

**Paul-Pierre Pastoret**

Professeur d'Immunologie  
et de Virologie  
Service de Virologie-Immunologie  
Faculté de Médecine Vétérinaire  
de l'Université de Liège

**André Govaerts**

Professeur d'Immunologie  
et d'Immunopathologie  
Faculté de Médecine  
de l'Université Libre  
de Bruxelles

**Hervé Bazin**

Professeur à la  
Faculté de Médecine de  
l'Université Catholique de Louvain  
et Commission des  
Communautés Européennes

# IMMUNOLOGIE ANIMALE

Préface de Jean Dausset

Médecine-Sciences  
**Flammarion**

4, rue Casimir-Delavigne, 75006 Paris

Pour recevoir le catalogue Flammarion Médecine-Sciences,  
il suffit d'envoyer vos nom et adresse à

**Flammarion Médecine-Sciences**

4, rue Casimir-Delavigne  
75006 PARIS

ISBN : 2-257-10221-5.  
© 1990 by Flammarion.  
Printed in France.

AGUILAR-S.  
Centre Méc

ANDERSSON

ANSARI AA  
Research C

BACH J.-F.

BAKER J.-R.  
Liverpool V

BARTA O. F.  
Medicine, B

BARTA V.-I.  
Blacksburg,

BAUDRIHAY  
Liège, Belg

BAZIN H. D.  
Faculté de  
Européennes  
Belgique.

BLANCOU J.  
la Rage et I

BLECHA F. D.

BODSON L.

BOIS J.-M. C.  
Canada.

BONIVER J.  
Université de

BREHELIN M.  
France.

BROCHIER B.  
Médecine Vé

BURNY A. Pr

CACECI T. Ph  
and State Un

CAPRON A. P.  
CNRS 624, B

CARNAUD C.  
France.



## LISTE DES COLLABORATEURS

AGUILAR-SETIEN A. Docteur en médecine vétérinaire, Chercheur titulaire, Département d'Immunologie, Centre Médical National, Mexico, Mexique.

ANDERSSON L. Docteur, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Suède.

ANSARI AA. Ph. D., Professeur, Directeur du Département d'Immunologie, Yerkes Regional Primate Research Center, Université d'Emory, Atlanta, USA.

BACH J.-F. Professeur, Chef du Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Paris, France.

BAKER J.-R. B.V.Sc., Ph. D., M.R.C.V.S., Department of Veterinary Pathology, University of Liverpool Veterinary Field Station, "Leahurst", Neston Wirral, Grande-Bretagne.

BARTA O. Professeur, Department of Pathobiology, Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, Blacksburg, USA.

BARTA V.-D. Laboratory Specialist. Virginia-Maryland Regional College of Veterinary Medicine, Blacksburg, USA.

BAUDRIHAYE M. Docteur en Médecine, Anatomopathologiste, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.

BAZIN H. Docteur vétérinaire, Docteur es Sciences, Professeur, Unité d'Immunologie Expérimentale, Faculté de Médecine, Université Catholique de Louvain, Belgique. Commission des Communautés Européennes, Direction générale de la science, de la recherche et du développement, Bruxelles, Belgique.

BLANCOU J. Docteur en médecine vétérinaire, Docteur es Sciences, CNEVA, Laboratoire d'Etudes sur la Rage et la Pathologie des animaux sauvages, Malzeville, France.

BLECHA F. Docteur en médecine vétérinaire, Professeur, Université d'Etat du Kansas, Manhattan, USA.

BODSON L. Professeur, Faculté de Philosophie et Lettres, Université de Liège, Belgique.

BOIS J.-M. Chargé de Recherche, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Québec, Canada.

BONIVER J. Professeur, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.

BREHELIN M. Chargé de recherche, Laboratoire de Pathologie Comparée, ERPAM, Montpellier, France.

BROCHIER B. Docteur en médecine vétérinaire, Département de Virologie-Immunologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.

BURNY A. Professeur, Département de Biologie Moléculaire, Université Libre de Bruxelles, Belgique.

CACECI T. Ph. D. Associate professor, Department of Biomedical Science, Virginia Polytechnic Institute and State University, Blacksburg, USA.

CAPRON A. Professeur, Centre d'Immunologie et de Biologie Parasitaire, Unité mixte INSERM U 167 - CNRS 624, Institut Pasteur, Lille, France.

CARNAUD C. Docteur vétérinaire, Directeur de recherche, INSERM U 25, Hôpital Necker, Paris, France.

CARTER S.D. Docteur, Lecturer, Département de Clinique et de Pathologie Vétérinaires, Université de Liverpool, Grande-Bretagne.

CAUCHY L. Docteur vétérinaire, Chef du Département de Pathologie Animale, INRA C.R. Tours-Nouzilly, Monnaie, France.

CESBRON J.-Y. Docteur. Centre d'Immunologie et de Biologie Parasitaire, Unité Mixte INSERM U 167 - CNRS 624, Institut Pasteur, Lille, France.

CHAOUAT G. Docteur en médecine, INSERM U 262, Clinique Universitaire Baudelocque, Paris, France.

CHAPPUIS G. Docteur vétérinaire, Laboratoire IFFA, Lyon, France.

CHARLEMAGNE J. Professeur, Université Pierre et Marie Curie, Directeur du Laboratoire d'Immunologie Comparée (CNRS UA 1135), Paris, France.

CHARLEY B. Docteur vétérinaire, Docteur es Sciences, Directeur de recherche, Station de Virologie et d'Immunologie Moléculaires, INRA, Jouy-en-Josas, France.

CHARPENTIER L.B. Sc. MBA. Faculté de Médecine, Université de Toronto, Canada.

CHARRON D. Professeur, Immunogénétique Moléculaire, Institut des Cordeliers, Paris, France.

COIGNOUL F. Docteur en médecine vétérinaire, Professeur, Département d'Anatomie Pathologique, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.

COLLETTE J. Docteur en médecine, Laboratoire de Radio-Immunologie, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.

COLOMBANI J. Professeur, Laboratoire d'Immunologie et d'Histocompatibilité, Institut d'Hématologie, Hôpital St-Louis, Paris, France.

CONTENT J. Professeur, Département de Virologie, Institut Pasteur du Brabant, Bruxelles, Belgique.

COOPER E.L. Professeur, Département d'Anatomie, Université de Californie, Los Angeles, USA.

COPPE P. Docteur en médecine vétérinaire, Centre d'Economie Rurale Marloie, Belgique.

CORBEL C. Chargé de recherche, Institut d'Embryologie Cellulaire et Moléculaire, Nogent-Sur-Marne, France.

DANTZER R. Docteur vétérinaire, Docteur es Sciences, Directeur de recherche, Psychobiologie des comportements adaptatifs, INRA, INSERM U 259, Bordeaux, France.

DARDENNE M. Directeur de recherche, INSERM U 25, Hôpital Necker, Paris, France.

DAUSSET J. Professeur honoraire au Collège de France, Président du Centre d'Etude du Polymorphisme Humain, Paris, France.

DE COSTER R. Docteur en médecine vétérinaire, Chef du Département d'Endocrinologie et d'Oncologie, Janssen Research Foundation, Beerse, Belgique.

DE VAUX SAINT CYR C. CNRS, Institut de la Recherche sur le Cancer, Villejuif, France.

DEFRESNE M.-P. Docteur en médecine, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.

DEGIOVANNI G. Laboratoire de Chirurgie Expérimentale, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.

DEMEUR C. Département de Biologie Moléculaire, Faculté des Sciences, Biologie Moléculaire, Université Libre de Bruxelles, Belgique.

DEPELCHIN A. Docteur en médecine vétérinaire, Professeur, Facultés Universitaires de Namur, Belgique.

DESCAMPS-LATSCHA B. Service de Néphrologie, Hôpital Necker, Paris, France.

DESCOTES J.  
CNRS UR

DESMETTRE

DUBISKI S.

DUBUISSON  
Virologie-In

DUDAN F.

FOUGEREAU

FRANCHIMO  
Université c

GARIN-BAST  
Maisons-AL

GEENEN V.  
Médecine, U

GENGOUX-V  
Louvain, Br

GERBER H.

GHYSDAEL J.

GOVAERTS A.  
de Médecine

GUENET J.-  
Mammifères

HAMERS R.  
Belgique.

HAUPTMANN

HAY J. Dép

HEINEN E.

HOEBEKE J.

HOMO-DELA

JONHSON R.  
Université d

KELLEY KW

LAGRANGE P

LAZARY S.

LEGROS J.-J.  
Faculté de M

LEO O. Doc

LEVIEUX D.  
Ruminants, I

LOSSON B. I  
Pathologie de

MAMMERICKX  
Recherches V

- DESCOTES J. Docteur, Laboratoire d'Immunotoxicologie Fondamentale et Clinique, INSERM U 80 - CNRS URA 1177 - UCBL, Faculté de Médecine A.-Carrel, Lyon, France.
- DESMETTRE P. Docteur vétérinaire, Directeur de recherche, Laboratoire IFFA, Lyon, France.
- DUBISKI S. MD, Ph. D., Professeur, Département d'Immunologie, Université de Toronto, Canada.
- DUBUISSON J. Docteur en médecine vétérinaire, Docteur es Sciences, Aspirant FNRS, Département de Virologie-Immunologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.
- DUDAN F. Docteur en Médecine Vétérinaire, Tierspital, Université de Berne, Suisse.
- FOUGEREAU M. Professeur, Service d'Immunologie, Marseille-Luminy, Marseille, France.
- FRANCHIMONT P. Professeur, Directeur du Laboratoire de Radio-Immunologie, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.
- GARIN-BASTUJI B. Docteur vétérinaire, CNEVA, Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, Maisons-Alfort, France.
- GEENEN V. Docteur en médecine, Chercheur du FNRS, Service d'Endocrinologie, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.
- GENGOUX-VINCKE P. Docteur en médecine, MSc, Médecine du Travail, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique.
- GERBER H. Professeur, Directeur de la Clinique des Chevaux de l'Université de Berne, Suisse.
- GHYSDAEL J. Docteur, Institut Pasteur de Lille, France.
- GOVAERTS A. Docteur en médecine, Professeur, Service d'Immunologie et d'Immunopathologie, Faculté de Médecine de l'Université Libre de Bruxelles, Belgique.
- GUENET J.-L. Docteur vétérinaire, Chef de Service à l'Institut Pasteur, Unité de Génétique des Mammifères, Paris, France.
- HAMERS R. Professeur, Département de Biologie Moléculaire, Vrije Universiteit Brussel, Bruxelles, Belgique.
- HAUPTMANN G. Professeur, Institut d'Hématologie et d'Immunologie, CHU Strasbourg, France.
- HAY J. Département de Pathologie, Université de Toronto, Canada.
- HEINEN E. Docteur en médecine, Institut d'Histologie Humaine, Université de Liège, Belgique.
- HOEBEKE J. Directeur de recherche CNRS, Institut Pasteur, Paris, France.
- HOMO-DELARCHE F. Chercheur INSERM U 25, Hôpital Necker, Paris, France.
- JONHSON R. MVSC. Ph. D., Research Scientist, Health of Laboratory Animals, Agriculture Canada, Université de Guelph, Canada.
- KELLEY KW. Ph. D., Laboratoire d'Immunophysiologie, Université de l'Illinois, Urbana, USA.
- LAGRANGE Ph. Professeur, Chef du Laboratoire Central de Microbiologie, Hotel-Dieu, Paris, France.
- LAZARY S. Professeur, Tierspital, Université de Berne, Suisse.
- LEGROS J.-J. Docteur en médecine, Agrégé de Faculté, Responsable de l'Unité de Neuroendocrinologie, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.
- LEO O. Docteur, Département de Biologie Moléculaire, Université Libre de Bruxelles, Belgique.
- LEVIEUX D. Docteur vétérinaire, Laboratoire des Maladies Nutritionnelles et d'Immunologie des Ruminants, INRA, CRZV de Theix, Ceyrat, France.
- LOSSON B. Docteur en médecine vétérinaire, Docteur es Sciences, Laboratoire de Parasitologie et Pathologie des Maladies Parasitaires, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.
- MAMMERICKX M. Docteur en médecine vétérinaire, Chef de Département, Institut National de Recherches Vétérinaires, Bruxelles, Belgique.

- McCLURE H.M. Docteur en médecine vétérinaire, Department of pathology, Yerkes Regional Primate Research Center, Université d'Emory, Atlanta, USA.
- MONTAGUTELLI X. Docteur, Unité de Génétique des Mammifères, Institut Pasteur, Paris, France.
- MOUTOU F. Docteur vétérinaire, CNEVA, Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, Maisons-Alfort, France.
- NEVEU P.-J. Docteur en médecine, Docteur en biologie humaine, Chargé de recherche INSERM U 259, INRA, Bordeaux, France.
- NEVEU T. Docteur es Sciences, Maître de recherche, Association Claude-Bernard, Centre d'Immunopathologie. Hôpital Paul-Brousse, Villejuif, France.
- PARAF A. Docteur vétérinaire, Directeur de Recherches, INRA, Laboratoire de Pathologie Porcine et d'Immunologie, Nouzilly, Monnaie, France.
- PARODI A.L. Professeur, Chaire d'Histologie et d'Anatomie Pathologique, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France.
- PASTORET P.-P. Docteur en médecine vétérinaire, Professeur, Département de Virologie-Immunologie, Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Liège, Belgique.
- PERSON J.-M. Professeur, Pathologie Générale, Microbiologie-Immunologie, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, France.
- PILOT J. Professeur, Chef de l'Unité d'Immunologie Microbienne, Institut Pasteur, Paris, Service de Bactériologie et d'Immunologie, Hôpital Antoine-Béclère, Clamart, France.
- PORTETELLE D. Docteur, Chef de travaux, Unité de Microbiologie, Faculté des Sciences Agronomiques, Gembloux, Belgique.
- POWELL J.D. Department of Pathology, Ecole de Médecine, Université d'Emory, Atlanta, USA.
- PRELAUD P. Docteur vétérinaire, Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie, Département Vétérinaire, Paris, France.
- RADERMECKER M.F. Docteur en médecine, Chef du Service de Pneumologie, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.
- REKIK M.R. DMV, DIPSAV, Ph. D. Département de microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire de l'Université de Montréal, Canada.
- RÉMOND M. Docteur, CNEVA, Laboratoire Central de Recherches Vétérinaires, Maisons-Alfort, France.
- RENJIFO X. Docteur en médecine vétérinaire, Département d'Anatomie Pathologique, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.
- REVILLARD J.-P. Médecin des hôpitaux, Professeur, Laboratoire d'Immunologie, INSERM U 80, CNRS URA 1177, UCBL, Lyon, France.
- RICHARD Y. Professeur agrégé, Microbiologie-Immunologie, Pathologie générale, Ecole Vétérinaire de Lyon, France.
- ROY R. Docteur en médecine vétérinaire, Professeur, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Canada.
- RUWET J.CL. Professeur, Chaire d'Ethologie et de Psychologie Animale, Faculté des Sciences, Université de Liège, Belgique.
- SALMON C. Professeur, Directeur général de l'Institut National de Transfusion Sanguine, Paris, France.
- SALMON H. Docteur vétérinaire, Docteur es Sciences, Directeur de recherche INRA, Laboratoire de Pathologie Porcine et d'Immunologie, Nouzilly, France.
- SCHAAF-LAFONTAINE N. Docteur, Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.

- SCHREUER  
Parasitolog
- SIBILLE Y  
Expériment  
Louvain, B
- SILIM A. \*  
Faculté de
- SIMAR L.J.  
Belgique.
- TEARE G.
- THIRIART C  
SMITH-KL
- THIRY E.  
Immunologi
- THOMAS I.  
Médecine V
- TUCKER E.L.  
Institute of
- URBAIN J. F
- VAIMAN M.  
Appliquée, I
- VAN BRESSE  
de Médecine
- VAN CUTSE
- VILLINGER I  
Yerkes Regi
- WERENNE J.
- WOLTER R.  
Maisons-Alf

\* Coordinateur c

- SCHREUER D. Docteur en médecine vétérinaire, Département de Microbiologie, Pathologie et Parasitologie, Université de la Caroline du Nord, Raleigh, USA.
- SIBILLE Y. Docteur en médecine, Service de Pneumologie, Médecine Interne, Unité de Médecine Expérimentale, International Institute of Cellular and Molecular Pathology, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique.
- SILIM A. \* DMV, MSc, Ph. D., Professeur agrégé, Département de Pathologie et Microbiologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Montréal, Canada.
- SIMAR L.J. Professeur, Institut d'Histologie Humaine, Faculté de Médecine, Université de Liège, Belgique.
- TEARE G. Department of Pathology, Université de Toronto, Canada.
- THIRIART C. Docteur en médecine vétérinaire, Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire, SMITH-KLINE RIT, Rixensart, Belgique.
- THIRY E. Docteur en médecine vétérinaire, Docteur es Sciences, Département de Virologie-Immunologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.
- THOMAS I. Docteur en médecine vétérinaire, Département de Virologie-Immunologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.
- TUCKER E.M. Docteur, Senior Principal Scientific Officer, Agriculture and Food Research Council, Institute of Animal Physiology and Genetics Research, Cambridge, Grande-Bretagne.
- URBAIN J. Professeur, Département de Biologie Moléculaire, Université Libre de Bruxelles, Belgique.
- VAIMAN M. Docteur vétérinaire, Docteur es Sciences, Directeur du Laboratoire de Radiobiologie Appliquée, Institut de Protection et de Sécurité Nucléaire DPS, Centre de Recherche de Jouy, France.
- VAN BRESSEM M.-F. Docteur en médecine vétérinaire, Département de Virologie-Immunologie, Faculté de Médecine Vétérinaire, Université de Liège, Belgique.
- VAN CUTSEM J. Janssen Research Foundation, Beerse, Belgique.
- VILLINGER F. Docteur en médecine vétérinaire, Research Associate, Department of Pathobiology, Yerkes Regional Primate Research Center, Université d'Emory, Atlanta, USA.
- WERENNE J. Professeur, Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles, Belgique.
- WOLTER R. Professeur, Chaire de nutrition et d'alimentation, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France.

\* Coordinateur de l'ouvrage pour les chapitres provenant de l'Amérique du Nord.

## SOMMAIRE

<b>Préface</b> , par J. DAUSSET .....	XXI
<b>Avant-propos</b> , par P.-P. PASTORET, A. GOVAERTS, H. BAZIN .....	XXIII

### IMMUNOLOGIE GÉNÉRALE

<b>Chapitre 1. Historique et introduction</b> , par P.-P. PASTORET, L. BODSON .....	3
Le temps des observations et des remèdes empiriques .....	3
Le temps de l'expérimentation .....	5
<b>Chapitre 2. Immunité non spécifique</b> , par A. DEPELCHIN .....	13
Défense de type cellulaire .....	14
Défense de type humoral .....	22
Défense d'ordre métabolique .....	25
<b>Chapitre 3. Antigénicité et immunogénicité</b> , par J. HOEBEKE .....	29
Propriétés de l'antigène .....	29
Epitopes et haptènes .....	30
Immunogénicité de diverses molécules .....	32
<b>Chapitre 4. Cellules immuno-compétentes</b> .....	35
Cellules lymphoïdes, par J.-F. BACH .....	35
Autres cellules immuno-compétentes, par B. DESCAMPS-LATSCHA .....	40
<b>Chapitre 5. Organes du système immunitaire</b> , par E. HEINEN, M.-P. DEFRESNE, J. BONIVER, L.J. SIMAR .....	51
Organes lymphoïdes primaires .....	51
Organes lymphoïdes secondaires .....	61
Organes lymphatiques des animaux axéniques .....	72
Modification de la structure des organes stimulés .....	73
Vaisseaux lymphatiques .....	74
Circulation lymphocytaire .....	77

<b>Chapitre 6. Immunoglobulines</b> , par M. FUGEREAU, H. BAZIN .....	81
Préambule : modalités et limites de la reconnaissance du soi et du non-soi .....	81
Structure des immunoglobulines .....	83
Organisation des gènes codant pour les immunoglobulines et origine de la diversité .....	90
Superfamille des immunoglobulines .....	97
Métabolisme des immunoglobulines .....	98
Propriétés physiologiques des immunoglobulines .....	100
<b>Chapitre 7. Antigènes d'histocompatibilité</b> , par J. COLOMBANI .....	105
Organisation génétique du CMH .....	106
Produits du CMH .....	107
Fonctions du CMH .....	113
Systèmes mineurs d'histocompatibilité .....	115
<b>Chapitre 8. Régulation de la réponse immune</b> .....	117
Sélection clonale, par J. URBAIN .....	117
Contrôle génétique de la réponse immune, par O. LÉO .....	119
Réseau idiotypique, par J. URBAIN .....	122
Interactions neuro-endocrino-immunitaires, par V. GEENEN, J.-J. LEGROS, P. FRANCHI-MONT .....	123
<b>Chapitre 9. Réponse humorale</b> , par H. BAZIN .....	131
Présentation des antigènes aux lymphocytes .....	131
Réponses immunes primaire et secondaire .....	138
Evolution des anticorps synthétisés au cours des réponses immunes .....	140
<b>Chapitre 10. Réponse cellulaire</b> , par J.-F. BACH .....	143
Production des lymphokines .....	143
Cellules T cytotoxiques .....	144
Cellules K .....	145
Cellules NK .....	146
<b>Chapitre 11. Cytokines</b> , par B. CHARLEY, J. CONTENT, P.-P. PASTORET .....	149
Définitions .....	150
Réseau des cytokines .....	151
Répertoire des cytokines .....	151
Principales cytokines animales .....	158
<b>Chapitre 12. Immunotolérance</b> , par C. DEMEUR, J. URBAIN, P.-P. PASTORET .....	163
Tolérance naturelle .....	164
Tolérance induite accidentelle .....	166
<b>Chapitre 13. Complément</b> , par G. HAUPTMANN .....	169
Composants du complément et leur biosynthèse .....	170
Substances activant le complément et les voies d'activation .....	174
Rôle biologique du complément .....	176
Polymorphisme du complément .....	177

<b>Chapitre 14.</b>	Ascidie
	De la m
<b>Chapitre 15.</b>	Thymus
	Bourse
<b>Chapitre 16.</b>	Problèm
	Événem
	Théorie
	Avortem
<b>Chapitre 17.</b>	R.-S. ROY, H
	Immunit
	Transmis
	Immunit
<b>Chapitre 18.</b>	Modifica
	Modifica
	Modifica
	Déclin de
<b>Chapitre 19.</b>	Immunit
	Immunit
	Immunit
<b>Chapitre 20.</b>	Introducti
	Immunit
	Immunit
	Immunit
	Immunit
	Immunit
<b>Chapitre 21.</b>	J. WÉRENNE ..
	Pathogénie
	Infections
	Antigènes
	Rôle des an
	Rôle des cé
	Immunit

81	<b>Chapitre 14. Phylogénie du système immunitaire, par E.-L. COOPER</b> .....	181
81	Ascidies .....	181
83	De la moelle osseuse aux lymphocytes T et B .....	182
90	<b>Chapitre 15. Ontogenèse du système immunitaire, par C. CORBEL</b> .....	187
97	Thymus .....	187
98	Bourse de Fabricius .....	190
100	<b>Chapitre 16. Immunologie de la reproduction, par G. CHAOUAT</b> .....	193
105	Problèmes d'antigénicité du fœtus par rapport à sa mère .....	193
106	Événements régulateurs .....	194
107	Théorie de l'immunotrophisme .....	195
113	Avortements d'origine immunitaire .....	195
115	<b>Chapitre 17. Immunité chez le fœtus et le nouveau-né, par A. SILIM, M.-R. REKIK,</b> <b>R.-S. ROY, H. SALMON, P.-P. PASTORET</b> .....	197
117	Immunité active du fœtus .....	197
119	Transmission de l'immunité passive .....	198
122	Immunité en période néonatale .....	204
HI-	<b>Chapitre 18. Immunologie du vieillissement, par F. HOMO-DELARCHE</b> .....	205
123	Modifications de l'immunité cellulaire .....	206
131	Modifications de l'immunité humorale .....	208
131	Modifications des cellules souches hématopoïétiques .....	208
138	Déclin des fonctions dû à l'âge et possibilités thérapeutiques .....	209
140	<b>Chapitre 19. Protection immune spécifique et non spécifique, par P.-H. LAGRANGE</b> .....	211
143	Immunité humorale .....	213
143	Immunité cellulaire .....	214
144	Immunité mixte .....	215
145	<b>Chapitre 20. Immunité locale</b> .....	217
146	Introduction, par H. BAZIN .....	217
149	Immunité du tractus digestif, par H. BAZIN .....	219
150	Immunité du tractus respiratoire, par Y. SIBILLE, J.-M. BOIS, A. SILIM .....	229
151	Immunité de la glande mammaire, par A. SILIM .....	234
151	Immunité du tractus urogénital, par R. DE COSTER, J.-P. VAN CUTSEM .....	237
158	Immunité de la peau, par P. GENGOUX-VINCKE .....	239
163	<b>Chapitre 21. Résistance envers les virus, par P.-P. PASTORET, J. DUBUISSON, E. THIRY,</b> <b>J. WÉRENNE</b> .....	243
164	Pathogénie des maladies virales .....	244
166	Infections virales persistantes .....	245
169	Antigènes viraux .....	245
170	Rôle des anticorps et du complément .....	250
174	Rôle des cellules T .....	253
176	Immunité non spécifique .....	256
177		



<b>Chapitre 22. Résistance envers les bactéries</b> , par J. PILLOT .....	261
Structure antigénique des bactéries .....	261
Mécanismes humoraux de la défense antibactérienne spécifique .....	264
Mécanismes cellulaires de la défense antibactérienne spécifique .....	266
Stratégie du système immunitaire pour la défense contre les bactéries .....	267
<b>Chapitre 23. Résistance envers les protozoaires</b> , par J.-Y. CESBRON, A. CAPRON .....	269
Absence d'immunité acquise .....	269
Immunité de prémunition .....	270
Immunité stérilisante .....	271
<b>Chapitre 24. Résistance envers les helminthes</b> , par J.-Y. CESBRON, A. CAPRON .....	275
Contrôle génétique de la réponse immune .....	275
Mécanismes d'échappement .....	276
Immunité naturelle acquise .....	277
Mécanismes effecteurs .....	277
Modulation de la réponse immune .....	279
Antigènes .....	279
<b>Chapitre 25. Résistance envers les ectoparasites</b> , par B. LOSSON .....	283
Système immunitaire et acariens parasites .....	284
Système immunitaire et insectes parasites .....	289
<b>Chapitre 26. Immunologie de la transplantation</b> , par A. GOVAERTS .....	293
Antigènes d'histocompatibilité .....	293
Aspects morphologiques et fonctionnels du rejet .....	295
Mécanismes du rejet .....	296
Réaction du greffon contre l'hôte (GVHR) .....	296
Transplantations et greffes allogéniques .....	297
Choix du donneur et du receveur .....	297
Traitement du rejet .....	298
<b>Chapitre 27. Résistance envers les tumeurs</b> , par N. SCHAAF-LAFONTAINE, M. BAUDRIHAYE, J. BONIVER .....	299
Antigènes de tumeur .....	299
Mécanismes effecteurs de l'immunité antitumorale .....	301

### IMMUNOPATHOLOGIE

<b>Chapitre 28. Réactions d'hypersensibilité</b> , par O. BARTA, V.-D. BARTA .....	309
Classification des hypersensibilités .....	309
Terminologie des hypersensibilités .....	309
Développement de l'hypersensibilité .....	310

### Chapitre 2

Antico  
Attach  
Particu  
Mécan  
Modula  
Conseq  
Maladi  
Interven

### Chapitre 30

Effectue  
Descrip  
Maladie  
Modes d

### Chapitre 31

Biologie  
Dévelop  
Patholog

### Chapitre 32

Modèles  
Etapas d  
Expressi  
Transfert  
Rôle des  
Régulatio  
Explorati

### Chapitre 33.

J. BONIVER ...

### Chapitre 34.

F. COIGNOUL

Altération  
Processus  
Image hém

### Chapitre 35. M

Modèles ex  
Pathogénie  
Tolérance  
Nouvelles

### Chapitre 36. T

Introduit  
Oncogènes

..... 261	<b>Chapitre 29. Hypersensibilité de type I</b> , par H. BAZIN, O. BARTA, V.-D. BARTA .....	313
..... 261	Anticorps de l'hypersensibilité de type I .....	315
..... 264	Attachement des anticorps IgE (et certains IgG) aux membranes cellulaires .....	316
..... 266	Particularités et contrôle de la réponse immunitaire à IgE .....	317
..... 267	Mécanismes de dégranulation des mastocytes .....	320
..... 269	Modulation du relargage des médiateurs des mastocytes .....	323
..... 269	Conséquences de la dégranulation .....	323
..... 270	Maladies associées à l'hypersensibilité de type I .....	323
..... 271	Interventions sur l'hypersensibilité de type I .....	324
..... 275	<b>Chapitre 30. Hypersensibilité de type II</b> , par R. JOHNSON .....	327
..... 275	Effecteurs de l'hypersensibilité de type II .....	327
..... 276	Description de la réaction .....	328
..... 277	Maladies liées à l'hypersensibilité de type II .....	329
..... 277	Modes d'intervention .....	332
..... 279	<b>Chapitre 31. Hypersensibilité de type III</b> , par O. BARTA, V.-D. BARTA .....	333
..... 279	Biologie des immunocomplexes (IC) .....	333
..... 283	Développement de la réaction de type III .....	334
..... 284	Pathologie associée à l'hypersensibilité de type III .....	335
..... 289	<b>Chapitre 32. Hypersensibilité de type IV</b> , par J.-P. REVILLARD .....	339
..... 293	Modèles de l'hypersensibilité retardée (HR) .....	340
..... 293	Étapes de l'induction de l'hypersensibilité retardée et mécanismes de l'immunisation .....	340
..... 295	Expression de l'hypersensibilité retardée .....	342
..... 296	Transfert de l'hypersensibilité retardée .....	344
..... 296	Rôle des cytokines dans l'hypersensibilité retardée .....	344
..... 297	Régulation et modulation pharmacologique de l'hypersensibilité retardée .....	345
..... 297	Exploration de l'hypersensibilité retardée .....	346
..... 298	<b>Chapitre 33. Relation entre la réponse immunitaire et la réaction inflammatoire</b> , par J. BONIVER .....	347
..... 299	<b>Chapitre 34. Modifications pathologiques non tumorales des organes lymphoïdes</b> , par F. COIGNOUL .....	349
..... 299	Altérations régressives .....	350
..... 301	Processus inflammatoires .....	351
..... 301	Image hématologique .....	353
..... 309	<b>Chapitre 35. Maladies auto-immunes</b> , par C. CARNAUD .....	355
..... 309	Modèles expérimentaux .....	355
..... 309	Pathogénie des maladies auto-immunes .....	358
..... 310	Tolérance au soi et circonstances de rupture .....	359
..... 310	Nouvelles approches thérapeutiques .....	360
..... 309	<b>Chapitre 36. Tumeurs du système immunitaire</b> .....	363
..... 309	Introduction, par A.-L. PARODI .....	363
..... 310	Oncogènes, par J. GHYSDAEL .....	367

Gammapathies monoclonales, par H. BAZIN, C. THIRIART .....	370
Infections par Retroviridae oncogènes .....	372
Introduction, par D. PORTETELLE, M. MAMMERICKX, A. BURNY .....	372
Rétroviroses aviaires : complexe leucoses-sarcomes de la poule et réticulo-endothéliose du dindon, par A.-L. PARODI .....	373
Rétroviroses du chat : la leucose féline et le syndrome d'immunodépression acquise féline (SIDAF), par A.-L. PARODI .....	374
Leucémie bovine, par D. PORTETELLE, M. MAMMERICKX, A. BURNY .....	376
Tumeurs du système immunitaire dues à des virus herpès, par L. CAUCHY .....	377
<b>Chapitre 37. Déficits immunitaires</b> , par A. GOVAERTS, O. BARTA, V.-D. BARTA .....	385
Déficits congénitaux ou primaires .....	386
Déficits acquis ou secondaires .....	389
<b>Chapitre 38. Immunotoxicologie</b> , par J. DESCOTES .....	393
Conséquences potentielles d'un effet immunotoxique .....	393
Méthodes d'étude en immunotoxicologie .....	394
Principes d'une exploration immunotoxicologique .....	395
Exemples de produits immunotoxiques .....	395
<b>Chapitre 39. Stress et réponse immune</b> , par R. DANTZER, P.-J. NEVEU, K.-W. KELLEY .....	397
Mécanismes réactionnels du stress .....	397
Effets du stress sur les réponses immunes .....	400
Implications .....	403
<b>Chapitre 40. Nutrition et réponse immune</b> , par R. WOLTER .....	407
Protéines et protéosynthèse .....	407
Lipides .....	412
Le fer : un exemple particulier .....	413
<b>Chapitre 41. Allergologie animale</b> , par P. PRELAUD .....	417
Anticorps anaphylactiques .....	417
Allergènes .....	418
Diagnostic spécifique des allergies .....	420
Hyposensibilisation .....	422
<b>IMMUNOLOGIE COMPARÉE</b>	
<b>Chapitre 42. Introduction à l'immunologie comparée</b> , par P.-P. PASTORET .....	427
<b>Chapitre 43. Immunologie des invertébrés</b> , par M. BREHÉLIN .....	429
Système immunitaire : aspects cytologiques .....	429
Médiateurs chimiques .....	430
Réactions immunes .....	431

**Chapitre**

Phyl

Orga

Imm

Imm

Imm

**Chapitre**

Phyl

Imm

Antic

**Chapitre**

Ontog

Organ

Cellu

Antig

Immu

Comp

Malac

**Chapitre**

F. VILLING

Comp

Immu

Phéno

Ontog

Ontog

Les pr

**Chapitre 4**

Systèr

Le sys

Autres

**Chapitre 4**

Histo

Immur

Antigè

Antigè

Structu

Transf

Comple

**Chapitre 5**

La sou

Le rat,

..... 370	<b>Chapitre 44. Immunologie des poissons</b> , par J. CHARLEMAGNE .....	433
..... 372	Phylogénie et systématique des poissons .....	433
..... 372	Organisation anatomique du système immunitaire .....	433
ose .....	Immunité humorale .....	436
..... 373	Immunité cellulaire .....	441
aise .....	Immunité non spécifique .....	443
..... 374	<b>Chapitre 45. Immunologie des poïkilothermes</b> , par J. CHARLEMAGNE .....	447
..... 376	Phylogénie des organes et des cellules du système immunitaire .....	451
..... 377	Immunité cellulaire .....	453
..... 385	Anticorps .....	454
..... 386	<b>Chapitre 46. Immunologie des oiseaux</b> , par A. SILIM, M.-R. REKIK .....	459
..... 389	Ontogenèse .....	459
..... 393	Organes du système immunitaire .....	460
..... 393	Cellules du système immunitaire .....	462
..... 394	Antigènes d'histocompatibilité et groupes sanguins .....	464
..... 395	Immunoglobulines .....	465
..... 395	Complément .....	466
..... 397	Maladies immunodépressives .....	466
..... 397	<b>Chapitre 47. Immunologie des primates</b> , par J.-D. POWELL, H.-M. MCCLURE,	
..... 400	F. VILLINGER, A.-A. ANSARI .....	471
..... 403	Complexe majeur d'histocompatibilité des primates .....	473
..... 407	Immunologie de la transplantation .....	474
..... 407	Phénotypage des cellules mononucléées du sang périphérique .....	476
..... 412	Ontogenèse de l'immunité cellulaire .....	481
..... 413	Ontogenèse de l'immunité humorale .....	483
..... 417	Les primates en tant que modèles d'étude de certaines maladies .....	484
..... 417	<b>Chapitre 48. Groupes sanguins de l'homme</b> , par C. SALMON .....	491
..... 417	Système ABO et ses associés : Hh Sese et Lewis .....	491
..... 418	Le système Rh et ses « semblables » .....	494
..... 420	Autres systèmes de groupes sanguins du globule rouge .....	496
..... 422	<b>Chapitre 49. Immunologie du lapin</b> , par S. DUBISKI, L. CHARPENTIER .....	497
..... 427	Histoire naturelle .....	497
..... 429	Immunologie cellulaire .....	498
..... 429	Antigènes d'histocompatibilité .....	498
..... 430	Antigènes érythrocytaires .....	498
..... 431	Structure et allotypes des immunoglobulines .....	499
	Transfert mère-enfant des immunoglobulines .....	502
	Complément .....	502
	<b>Chapitre 50. Immunologie des rongeurs</b> .....	505
	La souris, par M. DARDENNE, H. BAZIN, X. MONTAGUTELLI, J.L. GUENET .....	505
	Le rat, par H. BAZIN .....	511

Le cobaye, par T. NEVEU .....	515
Le hamster syrien, par C. DE VAUX SAINT-CYR .....	519
<b>Chapitre 51. Immunologie des cétacés, par M.-F. VAN BRESSEM, P.-P. PASTORET .....</b>	<b>525</b>
<b>Chapitre 52. Immunologie des carnivores .....</b>	<b>527</b>
Le chien et le chat, par J.-M. PERSON .....	527
Mustélinés et maladie aléoutienne, par M. REMOND .....	536
Le renard, par J. BLANCOU .....	539
Le blaireau d'Eurasie, par P.-P. PASTORET, B. BROCHIER, I. THOMAS .....	541
Les pinnipèdes, par J.-R. BAKER, S.-D. CARTER .....	542
<b>Chapitre 53. Immunologie du cheval, par F. DUDAN, H. GERBER, S. LAZARY .....</b>	<b>549</b>
Ontogénèse .....	549
Organes du système immunitaire .....	551
Cellules du système immunitaire .....	552
Complexe majeur d'histocompatibilité et groupes sanguins .....	552
Immunoglobulines .....	555
Transmission de l'immunité passive .....	557
Complément .....	561
<b>Chapitre 54. Immunologie du porc, par H. SALMON, M. VAIMAN, D. SCHREUER .....</b>	<b>565</b>
Cellules du système immunitaire .....	565
Organes du système immunitaire .....	567
Immunoglobulines .....	568
Ontogénèse .....	571
Complément .....	573
Complexe majeur d'histocompatibilité SLA du porc .....	574
<b>Chapitre 55. Immunologie des camélidés, par X. RENJIFO, P.-P. PASTORET .....</b>	<b>579</b>
Situation taxonomique et répartition .....	579
Organes du système lymphoïde .....	579
Groupes sanguins .....	580
Immunoglobulines .....	581
Transmission de l'immunité passive .....	581
Complément .....	581
<b>Chapitre 56. Immunologie des bovins, ovins et caprins .....</b>	<b>583</b>
Introduction, par P.-P. PASTORET .....	583
Cellules du système immunitaire, par R. HAMERS .....	583
Organes lymphoïdes, par T. CACECI .....	586
Circulations lymphatique et lymphocytaire, par G. TEARE, J.-B. HAY .....	592
Ontogénèse du système immunitaire, par O. BARTA, V.-D. BARTA .....	593
Immunoglobulines et transmission de l'immunité passive chez les ruminants, par D. LEVIEUX .....	596
Complément des ruminants, par O. BARTA, V.-D. BARTA .....	599

Group  
Systèm

**Chapitre 51.**

Histori  
Princip  
Hybrid  
Intérêts  
Inconv  
Emploi  
Perspec

**Chapitre 52.**

Electro  
Techni  
Sondes

**Chapitre 53.**

Mesure  
Mesure

**Chapitre 54.**

Transfo  
Mesure  
Evaluat  
Mesure

**Chapitre 55.**

A. AGUILAR-

Tests pr  
Analyse  
Examen  
Examen

**Chapitre 56.**

Prélèven  
Critères  
Interprét

**Chapitre 57.**

Techniqu  
Techniqu  
Principa

.....	515	Groupes sanguins des ruminants, par E.-M. TUCKER .....	601
.....	519	Système BoLA, par L. ANDERSSON .....	605
.....	525		
.....	527		
.....	527		
.....	536		
.....	539		
.....	541		
.....	542		
.....	549		
.....	549		
.....	551		
.....	552		
.....	552		
.....	555		
.....	557		
.....	561		
.....	565		
.....	565		
.....	567		
.....	568		
.....	571		
.....	573		
.....	574		
.....	579		
.....	579		
.....	579		
.....	580		
.....	581		
.....	581		
.....	581		
.....	583		
.....	583		
.....	583		
.....	586		
.....	592		
.....	593		
par			
.....	596		
.....	599		
<b>IMMUNOLOGIE APPLIQUÉE</b>			
		<b>Chapitre 57. Anticorps monoclonaux, par H. BAZIN .....</b>	<b>613</b>
		Historique .....	614
		Principe de la méthode .....	616
		Hybrides produisant des anticorps monoclonaux .....	616
		Intérêts des anticorps monoclonaux .....	619
		Inconvénients .....	619
		Emploi des anticorps monoclonaux .....	619
		Perspectives .....	620
		<b>Chapitre 58. Techniques biochimiques de détection, par D. CHARRON .....</b>	<b>623</b>
		Electrophorèse des protéines .....	623
		Techniques d'immunoempreinte (immuno-blot ou western blot) .....	628
		Sondes moléculaires .....	629
		<b>Chapitre 59. Mesure de l'immunité humorale, par H. BAZIN .....</b>	<b>633</b>
		Mesure des immunoglobulines .....	633
		Mesure des anticorps .....	641
		<b>Chapitre 60. Mesure de l'immunité cellulaire .....</b>	<b>643</b>
		Transformation lymphoblastique, par N. SCHAAF-LAFONTAINE .....	643
		Mesure de la cytotoxicité cellulaire, par G. DEGIOVANNI .....	644
		Evaluation in vivo de l'immunité cellulaire, par M. RADERMECKER .....	646
		Mesure des cytokines, par P. FRANCHIMONT, J. COLLETTE .....	647
		<b>Chapitre 61. Evaluation du potentiel immunitaire, par H. BAZIN, O. BARTA, V.-D. BARTA, A. AGUILAR-SETIEN .....</b>	<b>651</b>
		Tests préliminaires .....	651
		Analyses pratiquées in vitro .....	652
		Examens pratiqués in vivo .....	655
		Examens post mortem .....	656
		<b>Chapitre 62. Méthodologie de l'immunodiagnostic, par B. GARIN-BASTUJI, F. MOUTOU .....</b>	<b>657</b>
		Prélèvement sanguin .....	657
		Critères de prélèvement .....	659
		Interprétation des résultats .....	660
		<b>Chapitre 63. Diagnostic rapide et décentralisé, par P. DESMETTRE .....</b>	<b>665</b>
		Techniques immunoenzymatiques .....	666
		Techniques d'agglutination (corps bactériens ou test au latex) .....	667
		Principales applications des tests de diagnostic rapide .....	668

<b>Chapitre 64. Utilisation des anticorps dans l'agriculture et l'alimentation</b> , par A. PARAF ....	669
Production animale .....	670
Production végétale .....	670
Technologie agro-alimentaire .....	671
Recherche des additifs des contaminants et des toxiques dans l'alimentation .....	671
Contrôle des pesticides et pollution de l'environnement .....	673
<b>Chapitre 65. Résistance génétique aux infections</b> , par J.-L. GUENET, X. MONTAGUTELLI .....	675
Méthodes d'étude .....	676
Déterminisme génétique .....	676
Mécanismes impliqués .....	677
Exemples de résistance génétique chez les animaux domestiques .....	679
Utilisation de la connaissance des mécanismes de résistance et du déterminisme génétique ...	681
<b>Chapitre 66. Adjuvants de l'immunité</b> , par Y. RICHARD .....	685
Principaux adjuvants .....	686
Mode d'action .....	689
<b>Chapitre 67. Immunomodulation</b> , par F. BLECHA, A. GOVAERTS, P.-P. PASTORET, O. BARTA .....	693
Immunopotentiateurs .....	693
Immunodépresseurs .....	695
<b>Chapitre 68. Vaccins et vaccination</b> , par P. DESMETTRE, G. CHAPPUIS .....	699
Vaccins « classiques » .....	700
Vaccins issus des nouvelles technologies .....	702
Vaccination .....	703
<b>Chapitre 69. Immunité passive et congénitale</b> , par A. DEPELCHIN, P. COPPE .....	709
Immunité passive. Sérothérapie .....	710
Immunité congénitale. Colostrothérapie .....	712
Effets secondaires du transfert d'immunoglobulines .....	715
<b>Chapitre 70. Ethique en expérimentation animale</b> , par J.-Cl. RUWET .....	719
<b>Chapitre 71. En guise de conclusion</b> , par H. BAZIN .....	723
<b>Planche couleurs</b> .....	
<b>Glossaire</b> , par A. GOVAERTS .....	727
<b>Index</b> .....	737

*Immunolo*  
 pourrait aus  
 d'admiration  
 non-soi et p  
 Car, aussi  
 immunologic  
 peut-être le r  
 force qui cor  
 tout en les  
 Ainsi l'im  
 de l'individu  
 Mais comm  
 volume. A c  
 exploitée de  
 l'homme —  
 données géné  
 l'immunologi  
 voisines, cha  
 efficacité ! C  
 pourrions en  
 Un autre s  
 des millions  
 l'homme. Av  
 s'est progress  
 au fur et à m  
 situation envi  
 de l'organism  
 muqueuses o  
 Cependant,  
 leurs preuves  
 les cellules t  
 sophistiquées  
 un ballet incr  
 progressivem  
 remarquablem  
 que leurs réca  
 Le point de  
 doit pas nous  
 somme de « r  
 défense de l'h  
 avons un triste  
 déjoue tous les

.....	669
.....	670
.....	670
.....	671
.....	671
.....	673
.....	675
.....	676
.....	676
.....	677
.....	679
.....	681
.....	685
.....	686
.....	689
TA	693
.....	693
.....	695
.....	699
.....	700
.....	702
.....	703
.....	709
.....	710
.....	712
.....	715
.....	719
.....	723
.....	727
.....	737

## PRÉFACE

*Immunologie animale*, ce volume, le premier « text-book » d'immunologie générale francophone, pourrait aussi bien être intitulé *Traité de l'Immunité*, car tout au long de ces pages on est saisi d'admiration pour la nature qui a utilisé tous les subterfuges possibles pour protéger le soi contre le non-soi et paradoxalement pour défendre la vie contre la vie.

Car, aussi bien dans le règne végétal que dans le règne animal, la défense du soi par des procédés immunologiques n'est qu'un des aspects de la lutte incessante contre l'agresseur. Ce qui caractérise peut-être le mieux l'immunologie parmi toutes les autres stratégies utilisées par la nature, c'est ce tour de force qui consiste à développer des armes contre la totalité, ou la presque totalité de ce qui est étranger, tout en les rendant inoffensives contre ce qui est le soi.

Ainsi l'immunologie pourrait-elle se définir comme « un système très élaboré de défense de l'intégrité de l'individu contre le non-soi dans le respect du soi ».

Mais comment l'évolution a-t-elle pu tenir ce pari, lui aussi paradoxal ? C'est ici tout l'intérêt de ce volume. A chaque page on est émerveillé de découvrir qu'une même formule très générale a été exploitée de façon légèrement différente ou même franchement différente d'une espèce animale — dont l'homme — à une autre. François Jacob parle de « bricolage » pour désigner l'utilisation des mêmes données génétiques pour créer des organes aussi différents qu'un œil ou une mâchoire. Dans le cas de l'immunologie j'aimerais parler de « ruse », car, encore une fois, en employant des données génétiques voisines, chaque être a su ruser pour s'adapter à ses divers prédateurs. Et avec quelle finesse et quelle efficacité ! Certes l'efficacité est une évidence puisque sans elle l'espèce aurait disparu et nous ne pourrions en parler.

Un autre sujet d'émerveillement est la montée en puissance de ce système immunitaire tout au long des millions d'années de l'évolution dont les étapes successives ont été patiemment reconstituées par l'homme. Avec les mêmes molécules ou tout au moins les mêmes structures moléculaires, le système s'est progressivement, lentement diversifié, complexifié grâce à de petites touches à droite ou à gauche au fur et à mesure des besoins de protection contre de nouveaux prédateurs apparus dans une nouvelle situation environnementale. Et à chaque étape une spécialisation apparaît : protection non plus seulement de l'organisme entier mais protection plus spécifique d'organe, comme par exemple la peau et les muqueuses ou le poumon.

Cependant, au cours de cette longue évolution, rien n'est oublié. Les vieilles méthodes qui ont fait leurs preuves comme l'incompatibilité tissulaire empêchant les fusions contre nature, la phagocytose où les cellules tueuses aspécifiques sont toujours là, formant, avec les nouvelles découvertes bien plus sophistiquées — comme on dit maintenant bien mal à propos car les sophistes étaient de faux esprits — un ballet incroyablement subtil, en particulier chez les mammifères supérieurs. A ce ballet sont venus progressivement s'adjoindre toute une série de cascades moléculaires comme celles du complément remarquablement démêlées, ou celles des interleukines et lymphokines plus récemment découvertes ainsi que leurs récepteurs spécialisés, permettant le langage inter-cellulaire.

Le point de vue de la victime, de l'être qui défend son intégrité contre les agressions extérieures ne doit pas nous faire oublier celui de l'attaquant. Là aussi quel émerveillement lorsqu'on découvre la somme de « ruses » ici encore déployées pour déjouer les rouages pourtant multiples et coordonnés de la défense de l'hôte. Ce sont, sans doute, les virus et les rétro-virus qui recueillent la palme et nous en avons un triste et terrifiant exemple sous les yeux : celui de la facilité avec laquelle le virus du SIDA déjoue tous les obstacles non seulement de la nature mais aussi de l'imagination pourtant fertile et bien



stimulée des chercheurs. Cependant le spectre du SIDA ne doit pas nous cacher ce qui, à mon sens, constitue l'échec majeur, espérons-le passager, de l'immunologie : la lutte contre les parasites qui affectent des millions d'hommes détruisant — s'ils ne tuent pas — la qualité de vie et les possibilités de développement de populations entières.

Dans les pays dits développés, une préoccupation d'envergure demeure et s'amplifie au fur et à mesure de la prolongation de l'espérance de vie. Elle concerne les nombreuses maladies dues aux aberrations du système immunitaire sous essentiellement deux formes : les réactions d'hypersensibilité dont l'allergie qui — enfin — rentrent dans le giron de l'immunologie classique et des maladies auto-immunes qui représentent, dit-on, un tiers des causes de mort dans le monde occidental.

Mais le temps des espoirs est sans doute venu car malgré les victoires éclatantes que sont les vaccinations, les antibiotiques et les transplantations d'organe ou les greffes de moelle, il reste encore beaucoup à faire.

Et tout d'abord à comprendre. Le présent ouvrage y aidera considérablement car il permet aux spécialistes, trop souvent « spécialisés », de confronter leur expérience et d'échanger leurs modèles, en particulier animaux. Il permettra aussi des rapprochements d'idées, des comparaisons utiles qui seront sans doute fécondes, ou encore des hypothèses originales et donc des expériences auxquelles le chercheur isolé n'aurait pas pensé.

Les techniques modernes sont multiples et puissantes, et ouvrent aux scientifiques des perspectives auxquelles ils ne pouvaient même pas rêver il y a quelques années. Il n'y a pas si longtemps on allait du produit au gène. On va maintenant plus souvent, grâce aux progrès étonnants de la biologie moléculaire, directement du gène au produit.

Aux méthodes *in vivo*, se substituent maintenant le plus souvent des méthodes *in vitro* et ceci au grand bénéfice de nos amis les animaux qui ne doivent plus être utilisés pour les besoins de l'homme qu'en appliquant de nouvelles règles d'éthique les concernant.

Heureusement, l'histoire des victoires thérapeutiques nous enseigne qu'il n'est pas indispensable de comprendre entièrement, en les démontant, tous les rouages d'une maladie pour la prévenir ou la guérir. Un blocage de l'une quelconque des multiples réactions responsables peut entraîner le succès. Or, bien des rouages de l'immense machinerie immunologique sont désormais connus ; à l'exception, sans doute et elle est de taille, des mécanismes de régulation et de suppression. On peut donc, sans y attacher une connotation péjorative, parler de manipulations possibles du système immunitaire pour l'activer ou l'inhiber spécifiquement ou, mieux, spécifiquement.

Après tant d'années d'efforts par des milliers de chercheurs — en fait une seconde dans l'histoire de l'humanité — la voie est maintenant tracée pour trouver dans chaque cas particulier — qu'il s'agisse des animaux domestiques, de la préservation des espèces en voie de disparition et surtout bien sûr de l'homme — le déclic (je n'ose par dire le truc) qui permettra de traiter efficacement une affection dès l'apparition des premiers symptômes.

Plus prospective encore est l'idée de dépister non plus la maladie à son début mais plutôt une susceptibilité particulière d'un individu — susceptibilité inscrite dans son génome — permettant une véritable médecine prédictive individuelle probablement plus efficace et moins onéreuse qu'une médecine préventive de masse.

Il me reste à féliciter l'ensemble des auteurs de la clarté de leur exposé qui, avec concision, rappelle à chaque fois les bases théoriques pour s'élever ensuite dans la généralité des conceptions et des applications. On doit également remercier les « éditeurs » au sens anglo-saxon du terme qui ont su préserver l'harmonie d'un tel ensemble, entreprise redoutable, l'harmonie des concepts mais aussi du langage spécialisé dont on sait le caractère éphémère et évolutif (et parfois personnalisé).

Dans l'ensemble, un bel ouvrage d'immunologie comparée qui sera d'une grande utilité pour toute la communauté scientifique francophone ou non, car je ne doute pas qu'il sera traduit en d'autres langues.

Jean DAUSSET  
Prix Nobel

Les progrès  
répercussion  
questions f  
d'inconnues  
Jusqu'à c  
deux espèces  
étaient frag  
souris. Ceci  
délaié au  
opportun de  
et tente de p  
les converg  
L'ouvrage  
La premiè  
l'ensemble d  
de la reprod  
l'égard des  
La deuxièm  
communs au  
deux chapit  
La troisièm  
espèces les  
caractéristiq  
La dernièr  
de manière  
volontaireme  
consacré aux  
autres. L'ou  
recherche ex  
Ce livre s'  
anatomie ain  
nombreux au  
chaleureusem  
travail qu'ils  
accepté d'en  
L'ampleur  
spécialistes.  
excusons aup  
voisins. Nou  
d'homogéné  
majeures, et  
reconnaissant

## AVANT-PROPOS

Les progrès réalisés en biologie moléculaire au cours des vingt dernières années ont eu de profondes répercussions en immunologie. L'approche moléculaire a permis d'apporter une réponse à plusieurs questions fondamentales et a ainsi considérablement enrichi cette discipline. Même si beaucoup d'inconnues subsistent, l'immunologie a acquis une nouvelle maturité et une nouvelle cohérence.

Jusqu'à ces dernières années, les connaissances en immunologie étaient principalement fondées sur deux espèces de mammifères, l'homme et la souris. Les informations sur les autres espèces animales étaient fragmentaires et strictement appliquées, ou simplement obtenues par analogie avec l'homme ou la souris. Ceci n'est plus vrai à l'heure actuelle et, en immunologie animale, le modèle murin est souvent délaissé au profit d'études directement réalisées sur les espèces concernées. Il nous a paru dès lors opportun de proposer un ouvrage d'immunologie animale qui regroupe des observations souvent éparées et tente de présenter un tableau plus complet et mieux équilibré de l'immunologie générale en soulignant les convergences et les originalités des systèmes immunitaires développés par les diverses espèces.

L'ouvrage est articulé en quatre parties principales.

La première est consacrée à l'immunologie générale qui regroupe les notions actuelles applicables à l'ensemble des différentes espèces. Plusieurs thèmes inhabituels sont présentés, tels que l'immunologie de la reproduction et du vieillissement, ainsi que les divers modes de résistance des espèces animales à l'égard des virus, des bactéries, des parasites et de la transformation cancéreuse.

La deuxième partie traite de l'immunopathologie et examine les mécanismes physiopathologiques communs aux différentes espèces concernées sans s'attarder à décrire des tableaux cliniques détaillés; deux chapitres portent sur les répercussions du stress ou de la nutrition sur l'immunité.

La troisième partie s'intéresse à l'immunologie comparée. Elle tente de dégager les particularités des espèces les mieux étudiées — des invertébrés aux primates — et d'en décrire les principales caractéristiques, toujours selon le même plan.

La dernière partie traite des aspects plus techniques de l'immunologie appliquée. Celle-ci est présentée de manière concise et sélective. La description des principales techniques sérologiques a été volontairement omise car elle a fait l'objet de nombreux ouvrages spécialisés; un chapitre est cependant consacré aux techniques modernes d'analyse biochimique et conditionne la compréhension de nombreux autres. L'ouvrage comprend enfin un chapitre sur l'éthique en expérimentation animale car toute recherche expérimentale doit s'effectuer dans le respect de l'animal.

Ce livre s'adresse aux étudiants et aux praticiens en médecine humaine et vétérinaire, en biologie et en anatomie ainsi qu'aux chercheurs dans ces diverses disciplines. Il est le fruit de la collaboration de très nombreux auteurs francophones et de quelques anglophones. Nous tenons à les remercier tous très chaleureusement pour l'enthousiasme qu'ils ont mis à répondre à notre sollicitation et pour la qualité du travail qu'ils ont fourni. Nous tenons tout particulièrement à remercier le Professeur Jean Dausset qui a accepté d'en rédiger la préface.

L'ampleur du sujet traité nous a mis dans l'obligation de solliciter l'aide de très nombreux spécialistes. Nous avons parfois dû tempérer leur souci d'être complet dans leur domaine, nous nous en excusons auprès d'eux. Certaines redites n'ont cependant pu être évitées entre auteurs traitant de sujets voisins. Nous sommes également conscients de ce qu'en dépit de notre constant souci d'équilibre et d'homogénéité, les choix que nous avons dû faire sont responsables des imperfections, mineures et majeures, et des lacunes que le lecteur découvrira au fil du texte et que nous lui serons infiniment reconnaissants — même s'il ne nous les pardonne pas — de nous signaler.

Nous remercions tout spécialement le Professeur Amer Silim qui a assuré la coordination des chapitres de l'ouvrage provenant d'Amérique du Nord, les Professeurs Jean Hamburger, Jean-François Bach, Raymond Roy et Charles Pilet pour l'accueil qu'ils ont réservé à cette initiative et les encouragements qu'ils nous ont prodigués.

Cet ouvrage n'aurait jamais vu le jour sans le travail de secrétariat patient et dévoué de Marinette Muys et Françoise Bolle, et sans le soin apporté par René Brahy dans la préparation des figures; qu'ils soient assurés de notre plus vive reconnaissance. Nous remercions également Madame le Docteur Andrée Piekarski, Mesdames Evelyne Magne, Catherine Paul et Sabine Mary et la maison d'édition Flammarion de leur patience et de la qualité de la présente édition.

Paul-Pierre PASTORET    André GOVAERTS    Hervé BAZIN

ANT-PROPOS

es chapitres  
çois Bach,  
ouragements

e Marinette  
gures; qu'ils  
le Docteur  
on d'édition

rvé BAZIN

# IMMUNOLOGIE GÉNÉRALE

P.-P. Pastoret, L. Bodson

## HISTORIQUE ET INTRODUCTION

### LE TEMPS DES OBSERVATIONS ET DES REMÈDES EMPIRIQUES

Aussi loin que l'on puisse remonter dans l'histoire de l'élevage, les épizooties constituent pour les responsables du bétail et des animaux domestiques une préoccupation permanente. Nombre d'entre elles ont laissé dans les textes, depuis l'Antiquité, des traces plus ou moins circonstanciées. Mais les témoignages conservés à ce sujet sont, en majorité, trop vagues pour que les symptômes évoqués permettent aujourd'hui d'identifier, avec certitude, la plupart des maladies décrites. En revanche, ils traduisent explicitement les sentiments d'horreur et d'accablement dus, pour l'essentiel, à l'impuissance de l'homme d'autrefois devant la rapidité de l'expansion du fléau et son implacabilité qui confondait souvent, dans un même sort fatal, bêtes et gens. Tels sont les traits que les premiers auteurs ont le plus

systématiquement relevés en signalant les « pestes » qui, par période, ravageaient les élevages. Ces épizooties étaient en général perçues comme des châtements exemplaires déchaînés contre l'humanité par quelque dieu vengeur. Ainsi, les cinquième et sixième « plaies » infligées aux Egyptiens par Yahvé atteignent respectivement tout le bétail : chevaux, ânes, chameaux, bœufs, moutons (*Exode*, 9, 3-6); les premiers-nés des humains et du bétail (*Exode*, 11, 4). Lors de la guerre de Troie, c'est Apollon, pour faire expier aux Grecs le sacrilège commis par leur chef Agamemnon contre son prêtre, qui fait succomber les mulets et les chiens, puis les héros eux-mêmes (Homère, *Il.*, I, 49-50). La relation explicative établie, à défaut d'autres connaissances, entre les puissances surnaturelles et les maux endurés lors des épidémies et des épizooties est à l'origine des incantations et des cérémonies propitiatoires, non exemptes parfois de magie, qui constituèrent, pendant longtemps, le principal recours des populations désolées.

Les observations accumulées au gré des

diverses épidémies conduisirent cependant assez tôt à dégager deux notions fondamentales, indispensables l'une et l'autre à l'élaboration ultérieure de toute tactique curative ou, a fortiori, préventive. En effet, même si les mécanismes spécifiques du phénomène ne devaient pas être élucidés avant les travaux de l'immunologie moderne, les peuples anciens reconnurent de bonne heure le rôle de la contagion et les risques de la propagation entre les individus, soit à travers l'air ambiant, soit par contact direct ou indirect d'agents de contamination. Parallèlement, ils constatèrent que, lors de la récurrence d'une épidémie, ceux qui en avaient réchappé une première fois étaient épargnés ou, du moins, ne subissaient plus que des atteintes bénignes. C'est l'immunité ainsi acquise qui permit aux rescapés de la fameuse « peste » d'Athènes (430-429) d'approcher les nouveaux contaminés et de les soigner sans être eux-mêmes gravement menacés (Thucydide, II, 51, 6). Comme pour les humains, des mesures que l'empirisme prédominant ne privait pas de toute efficacité furent progressivement mises au point en faveur des animaux. Elles attestent, par rapport aux gestes de la médecine magico-religieuse qu'elles ne firent pas disparaître, un changement dans la mentalité où la volonté d'action l'emporte (Virgile, *Géorg.*, 456) sur la soumission passive à un destin jusqu'alors jugé inéluctable. Les agronomes latins et les compilateurs byzantins des *Geoponica* et des *Hippiatrica* à qui l'on doit les premiers exposés suivis sur ces questions [4] s'accordent pour préconiser, à côté des procédés issus des croyances populaires (par exemple Columelle, *Econ. rur.*, VII, 5, 17), une série de dispositions prophylactiques. Les plus importantes consistent à :

- isoler et confiner les bêtes malades;
- transférer les animaux sains dans des pâturages suffisamment éloignés pour ne pas être contaminés tout en veillant à empêcher les contacts avec le bétail indigène de façon à épargner à celui-ci les dangers de la contagion;
- répartir les troupeaux, surtout ceux d'ovins, en petits groupes de sujets;
- les confier à un nombre accru de gardiens, lesquels pourront ainsi s'en occuper plus attentivement et avec des chances de juguler l'épizootie d'autant meilleures que les éléments pathogènes se trouveront eux-mêmes limités en fonction des dimensions restreintes des unités de soins;
- contrôler méticuleusement la propreté des aliments et de l'eau de boisson fournis au bétail;

— assainir les étables y compris par des fumigations de plantes aromatiques;

— en cas d'échec, abattre systématiquement les bêtes et enfouir en profondeur les cadavres.

Ces instructions sanitaires sont assorties de remèdes variés, pour la plupart à base de plantes médicinales, de vin, d'huile, etc., qui, dès les premiers signes de la maladie, doivent être administrés aux animaux par voie orale ou étendus sur leur peau. Des variantes occasionnelles furent introduites dans l'emploi de toutes ces mesures, mais les principes qui les inspirèrent demeurèrent identiques jusqu'à la fin de l'Ancien Régime [17], au moment où l'immunologie prit son essor. Elles ne furent pas toujours couronnées de succès. Les revers enregistrés avec les méthodes préconisées par les éleveurs et les médecins vétérinaires des siècles antérieurs au XIX<sup>e</sup> tiennent cependant à des insuffisances dans la manière de s'organiser plus qu'aux conceptions, certes encore sommaires, qui présidèrent à leur élaboration.

Une autre découverte, opérée elle aussi dans l'Antiquité, devait contribuer au développement ultérieur de l'immunologie. La mithridatisation, d'après le nom de son inventeur Mithridate VI Eupator, roi du Pont (120-63), relève, en fait, de la toxicologie et consiste à rendre l'organisme insensible aux effets de substances toxiques en l'accoutumant à celles-ci par l'absorption quotidienne de doses croissantes [20]. Mithridate en éprouva à ses dépens l'efficacité puisqu'il lui fut impossible, lorsqu'il voulut se suicider, de succomber au poison. En dépit des observations sur l'immunité acquise naturellement, les applications dérivées du principe de la mithridatisation en médecine, humaine et vétérinaire, ne se firent cependant, autant que l'on peut en juger, que beaucoup plus tard. Elles concernèrent particulièrement l'une des maladies épidémiques les plus redoutables et les plus redoutées : la variole. Contrairement à une idée encore répandue, la technique de la variolisation qui confère l'immunité soit par inhalation de pustules de variole, soit par introduction de pus dans l'organisme sain, soit par contact avec des vêtements appartenant à des varioleux, est connue depuis longtemps en Europe occidentale. Comme en Afrique et en Asie, elle y était en fait pratiquée de longue date, du moins dans les campagnes [7]. Dans les milieux médicaux il est vrai, l'usage ne s'en répandit pas, non sans controverses, avant le deuxième quart du XVIII<sup>e</sup> siècle, sous l'impulsion de Lady Mary Wortley Montagu (1689-1762). Durant les quatre années (1717-1721) qu'elle avait passées à

Istanbul, au  
Bretagne au  
constater l'  
femmes gre  
inoculation  
étrangers. A  
contre la m  
dans sa jeu  
retour à Lon  
[7]. L'origi  
dans la cap  
entièrement  
emprunt à  
oriental de l  
introduit à  
entre Istanbu  
variolisation  
croûtes de pu  
en Chine, p  
l'Inde, depu  
soit de la pr  
variolisation  
européen dan  
Lady Montag  
vives opposi  
certain nomb  
d'inoculation  
Jenner (1749  
favorisa la r  
l'homme que  
vaccination c  
maladies cont

## LE TEMPS L'EXPÉRIMENTAL

« La maladie

## MALADIES

Les auteurs s  
début de l'im  
avec la décou  
anglais qui, ex  
ment que l'ino  
variole bovine  
enfants contre

Istanbul, avec son mari, ambassadeur de Grande-Bretagne auprès de la Sublime Porte, elle avait pu constater l'efficacité des interventions de deux femmes grecques qui variolisaient, notamment par inoculation de pus varioleux, les résidents étrangers. Attentive à tous les moyens de lutte contre la maladie qui l'avait elle-même frappée dans sa jeunesse, Mary Montagu œuvra, dès son retour à Londres, à faire connaître la variolisation [7]. L'origine du procédé tel qu'il était appliqué dans la capitale de l'Empire ottoman n'est pas entièrement démêlée. S'il ne s'agit pas d'un emprunt à la médecine empirique du bassin oriental de la Méditerranée, il pourrait avoir été introduit à la faveur des contacts commerciaux entre Istanbul et l'Extrême-Orient. L'usage de la variolisation (principalement par inhalation de croûtes de pustules varioliques) est en effet attesté en Chine, peut-être à la suite d'un emprunt à l'Inde, depuis le x<sup>e</sup>-x<sup>e</sup> siècle [21]. Quoi qu'il en soit de la provenance exacte de la technique de variolisation qui fut révélée au monde savant européen dans le cours du xviii<sup>e</sup> siècle, l'action de Lady Montagu s'avéra déterminante, en dépit de vives oppositions provoquées notamment par un certain nombre d'échecs inévitables avec ce type d'inoculation. Elle stimula les travaux d'Edward Jenner (1749-1823) et de ses précurseurs [8] et favorisa la mise au point, tant en faveur de l'homme que des animaux domestiques, de la vaccination contre la variole et, ensuite, les autres maladies contagieuses.

## LE TEMPS DE L'EXPÉRIMENTATION

*« La maladie est le bon point de vue sur la santé ».*

Nietzsche

## MALADIES INFECTIEUSES

Les auteurs sont unanimes à considérer que les débuts de l'immunologie expérimentale coïncident avec la découverte d'Edward Jenner, médecin anglais qui, en 1796, démontra expérimentalement que l'inoculation préalable du virus de la variole bovine protégeait ultérieurement des enfants contre les effets d'une inoculation par le

virus de la variole humaine. Le procédé mis au point par Jenner, la vaccination, tire son nom du latin *vacca* (la vache) et a réellement jeté les bases de l'immunologie, science qui, au départ, s'est principalement, si pas exclusivement, préoccupée de la protection envers les maladies contagieuses. Le procédé ne s'est cependant pas d'emblée imposé et, pendant de nombreuses années, la pratique de la variolisation importée par Lady Montagu s'est maintenue parallèlement à celle de la vaccination, car cette dernière était victime de préjugés nombreux et tenaces [7] (Fig. 1-1 et 1-2).

Il faudra de ce fait attendre plusieurs dizaines d'années et les travaux de Louis Pasteur (1822-1895), chimiste français (Fig. 1-3), avant de généraliser le concept de la vaccination. Il est vrai que les connaissances sur les mécanismes de la contagion étaient encore imprécises et certains niaient encore l'existence de celle-ci [9].

Certains contemporains de Louis Pasteur allaient également influencer cette évolution, notamment Louis Willems (1822-1907) médecin belge qui s'intéressait à la pleuro-pneumonie contagieuse des bovidés parce qu'elle infligeait des pertes sévères dans les étables d'engraissement de la distillerie familiale.

Louis Willems avait observé que s'il inoculait des bovins avec des produits virulents à la base de la queue, il les protégeait contre une atteinte ultérieure de la maladie. Dès qu'il se fut assuré de l'efficacité de son procédé et de la bénignité des lésions provoquées par son inoculation face à la gravité de la maladie naturelle, Louis Willems voulut, dès 1852, généraliser l'emploi de cette méthode de prévention, mais son application à grande échelle suscita des opinions contradictoires parmi les praticiens vétérinaires sollicités [16].

Plus près de Louis Pasteur, Victor Galtier (1842-1908), professeur à l'École vétérinaire de Lyon, travaillant sur la rage chez le mouton, parvint à les protéger contre une inoculation d'épreuve par l'administration préalable de produit virulent.

C'est cependant à Louis Pasteur que revient le mérite d'avoir donné à l'immunologie ses premières assises théoriques. Ses expériences de vaccination contre le choléra des poules ont joué un rôle déterminant par leur portée scientifique et leur rigueur expérimentale. L'expérience contradictoire de vaccination anti-charbonneuse des moutons de Pouilly-le-Fort en 1881 est restée célèbre. C'est également lui qui fut le premier à démontrer qu'il était possible d'atténuer un



**Figure 1-1** Edward Jenner (1749-1823) vaccinant un jeune enfant; bronze de Giulio Monteverde. Reproduit avec l'aimable autorisation de la « Welcome Institute Library », London.



**Figure 1-3** Portrait photographique de Louis Pasteur (1822-1895) dédié à Edmond Nocard (1850-1903). Reproduit avec l'aimable autorisation du Professeur Bernard Toma, Chaire des maladies contagieuses, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, France.



**Figure 1-2** Préparation du vaccin antivariolique à usage humain par scarification chez la génisse à l'ancien Office vaccinogène central de l'Etat à Cureghem, Belgique. (Bibliothèque de la Faculté de Médecine vétérinaire de l'Université de Liège, Cureghem, Bruxelles.)

## HISTORIQUE

germe, c'est  
lence. Les  
abouti à l'  
curative d'un  
Meister (187  
des répercus  
expériences  
Louis Pasteu  
tion ou du s  
naires de l'e  
1903) profes  
d'Alfort (vo  
élucider les m  
tion conférée  
L'immunc  
l'étude des m  
pratique de  
seront longte

## IMMUNITÉ ET/OU IMMUNISÉ

Dans le si  
(1853-1933)  
1943), s'atta  
Jules Hérico  
(1850-1935)  
en 1888 que  
l'immunité à  
sérum proven  
Yersin parvie  
térique chez  
remède à cet  
parallèlement  
dont Emil vo  
Robert Koch  
(1827-1917)  
de l'immunit  
animaux imm  
idée des antic  
dite de « l'ép  
vite abandon  
Louis Past  
travaux d'un  
Metchnikoff  
venir rejoind  
Pasteur de Pa  
précédente. C  
l'origine de l'  
la nature hur  
naturelle ou a  
1884, l'existe



germe, c'est-à-dire de lui faire perdre sa virulence. Les méthodes développées à cet effet ont abouti à la première vaccination antirabique curative d'un berger alsacien qui s'appelait Joseph Meister (1876-1940); cette découverte allait avoir des répercussions considérables. Dans le cadre des expériences menées sur les maladies contagieuses, Louis Pasteur a souvent bénéficié de la collaboration ou du soutien de plusieurs médecins vétérinaires de l'époque dont Edmond Nocard (1850-1903) professeur à l'École nationale vétérinaire d'Alfort (voir Fig. 1-3). Il restait dès lors à élucider les mécanismes responsables de la protection conférée par les vaccins.

L'immunologie moderne est donc née de l'étude des maladies infectieuses et de la nécessité pratique de s'en protéger; ces deux démarches seront longtemps confondues.

### IMMUNITÉ HUMORALE ET/OU IMMUNITÉ CELLULAIRE

Dans le sillage de Louis Pasteur, Emile Roux (1853-1933) aidé d'Alexandre Yersin (1863-1943), s'attaque à l'étude de la diphtérie. Comme Jules Héricourt (1850-1933) et Charles Richet (1850-1935) avaient été les premiers à démontrer en 1888 que l'on pouvait transmettre passivement l'immunité à un animal vierge par l'injection de sérum provenant d'un autre immunisé, Roux et Yersin parviennent à produire du sérum antidiphtérique chez le cheval dans le but de porter remède à cette infection. Ils menaient leurs études parallèlement à celles de chercheurs allemands, dont Emil von Behring (1854-1917) disciple de Robert Koch (1843-1910). Auguste Chauveau (1827-1917) avait proposé dès 1887, une théorie de l'immunité basée sur la présence chez les animaux immunisés de contrepoisons : première idée des anticorps. Cette théorie s'opposait à celle dite de « l'épuisement » de Pasteur qui fut bien vite abandonnée.

Louis Pasteur avait en outre remarqué les travaux d'un biologiste russe exilé en Italie, Elie Metchnikoff (1845-1916) et l'invita en 1888 à venir rejoindre l'équipe travaillant à l'Institut Pasteur de Paris qui venait d'être inauguré l'année précédente. C'est Elie Metchnikoff qui fut à l'origine de l'opposition durable entre partisans de la nature humorale ou cellulaire de l'immunité naturelle ou acquise. Il avait en effet démontré, en 1884, l'existence de cellules phagocytaires chez la

larve d'un invertébré, l'étoile de mer. Ces cellules étaient capables d'ingérer et de détruire des substances étrangères ou des bactéries et pouvaient développer une réaction granulomateuse. Il émit alors l'hypothèse que, comme les leucocytes des vertébrés étaient également doués de propriétés phagocytaires, ils représentaient le plus important moyen de défense à l'égard des infections. Comme l'idée dominante voulait que cette défense fut tributaire de facteurs humoraux, les vues de Metchnikoff ont été vigoureusement contestées. La bataille entre leurs partisans et leurs adversaires a duré plus de 60 ans et a exercé une profonde influence sur le développement de l'immunologie. Les travaux de Metchnikoff furent couronnés en 1908 par le prix Nobel qu'il reçut en partage avec Paul Ehrlich (1854-1915), le plus farouche partisan de la théorie humorale. Robert Koch allait également s'illustrer en immunité cellulaire par la description de l'hypersensibilité retardée.

Jules Bordet (1870-1961) (Fig. 1-4), qui fréquenta le laboratoire d'Elie Metchnikoff durant son séjour à l'Institut Pasteur de Paris, de 1894 à 1901, se consacra davantage à l'immunité humorale. Après avoir découvert le rôle important joué par le complément (qu'il appelait « alexine ») dans la réaction de l'antigène avec l'anticorps, il allait exercer une influence déterminante dans l'histoire de l'immunologie. Avant lui, il était généralement admis que le système immunitaire était uniquement destiné à combattre les agents pathogènes et leurs produits. Jules Bordet a été le premier à démontrer que la production d'anticorps pouvait être induite par des agents non infectieux comme les érythrocytes. Il établissait ainsi que l'intervention du système immunitaire pouvait dépasser les limites strictes des maladies infectieuses. Il fut également le premier à comprendre que la réaction antigène-anticorps était réversible. Cet élargissement spectaculaire du rôle de l'immunité qui sortait ainsi du cadre étroit des maladies infectieuses allait ouvrir une ère nouvelle pour l'immunologie et en faire une discipline autonome (Fig. 1-5).

### ANTIGÉNICITÉ ET IMMUNOGÉNICITÉ

Toujours dans la foulée des premiers pastoriens il faut signaler les contributions du vétérinaire français Gaston Ramon (1886-1963) (Fig. 1-6). Il a en effet observé qu'un chauffage modéré de la

Pasteur (1822-1903). Reproduit de Bernard Toma, vétérinaire



Le vaccinogène de Cureghem.



**Figure 1-4** Tableau de Paul Delvaux (1897-) représentant Jules Bordet (1870-1961) dans son laboratoire. Reproduit avec l'aimable autorisation de l'association des Amis de l'Institut Bordet, Bruxelles.



**Figure 1-5** Photographie des participants au premier congrès international de Microbiologie en 1930, qui englobait encore l'immunologie. Reproduit avec l'aimable autorisation du Professeur Franz Demeuter, Directeur de l'Institut Pasteur du Brabant à Bruxelles et conservateur du musée Jules Bordet.



**Figure 1-6** P. (1886-1963). Re Louis Blajan, Di à Paris.

toxine diphté  
transformait e  
immunogénici  
anticorps mai  
devint en cor  
préparer du va  
est égalemen  
ajoutés aux a  
production d'a  
Les travaux  
poursuivis par  
son équipe,  
fondamentale  
Landsteiner, en  
pu montrer qu  
moléculaire po  
ce qui allait ap  
l'antigénicité  
également disti

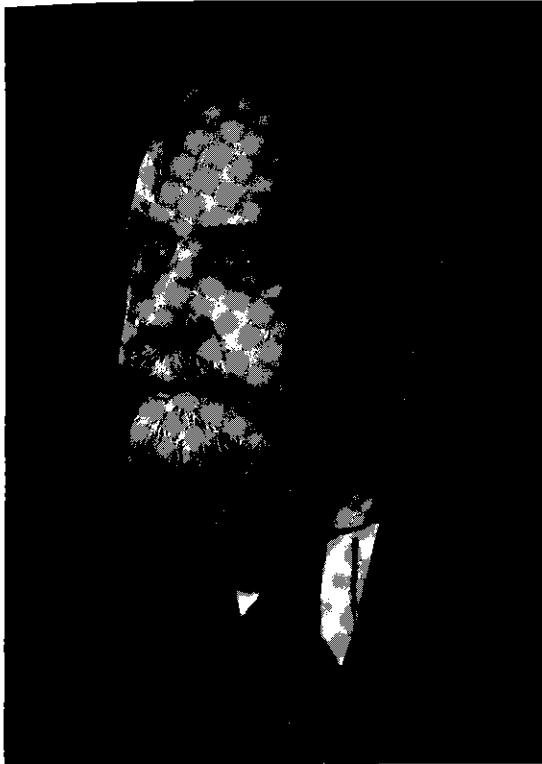


Figure 1-6 Portrait photographique de Gaston Ramon (1886-1963). Reproduit avec l'aimable autorisation du Docteur Louis Blajan, Directeur de l'Office international des Epizooties à Paris.

toxine diphtérique en présence de formol la transformait en une anatoxine qui conservait son immunogénicité et sa capacité de liaison aux anticorps mais perdait son pouvoir pathogène. Il devint en conséquence beaucoup plus facile de préparer du vaccin antidiphtérique. Gaston Ramon est également l'inventeur des adjuvants qui, ajoutés aux antigènes, permettent d'accroître la production d'anticorps spécifiques par l'animal.

Les travaux de Jules Bordet allaient être poursuivis par Karl Landsteiner (1868-1943) et son équipe, qui ont étudié de manière plus fondamentale la nature chimique des antigènes. Landsteiner, en découvrant les haptènes en 1921 a pu montrer que des substances de faible poids moléculaire pouvaient réagir avec des anticorps, ce qui allait apporter un élan décisif à l'étude de l'antigénicité et de l'immunogénicité. Il s'est également distingué par la découverte des groupes

sanguins ABO et Rhésus ouvrant ainsi la voie à la transfusion sanguine.

Les travaux de Landsteiner allaient aussi définitivement démontrer que le système immunitaire est capable de s'adapter à une variété infinie de situations différentes en répondant chaque fois par une réponse spécifique.

### THÉORIE CLONALE ET ANTICORPS MONOCLONAUX

La diversité infinie des situations auxquelles le système immunitaire d'un organisme est capable de répondre posait un problème fondamental en biologie et sa solution allait définitivement donner ses lettres de noblesse à l'immunologie qui devenait ainsi la science biologique de la diversité. Le problème clé de la diversité de la réponse allait être abordé par le biais des anticorps, ainsi dénommés par Emil von Behring.

Un autre problème, corollaire du premier, était posé par le fait que si l'organisme était exposé pour la deuxième fois à un même stimulus antigénique, il répondait plus rapidement et plus intensément que la première fois, comme s'il avait gardé la première exposition en mémoire. Toute théorie unificatrice devait également tenir compte de cette observation. Le problème central à résoudre était celui de savoir comment l'antigène guide la réponse immune. Deux camps se sont longtemps affrontés en soutenant des théories diamétralement opposées :

— les premières, dites informatrices, postulaient que l'antigène agit comme une matrice sur laquelle se moule l'anticorps;

— les autres, appelées sélectives, que les lymphocytes maintiennent une réserve d'anticorps prédéterminés parmi lesquels l'antigène sélectionne ceux qui lui répondent le mieux.

C'est la seconde conception qui a fini par s'imposer et a obtenu sa plus éclatante démonstration par l'obtention en 1975 d'anticorps monoclonaux par Georges F. Köhler (1946-) et César Milstein (1927-). Cette théorie, dite de sélection clonale, a eu ses partisans dès les premières heures de l'immunologie puisque Paul Ehrlich, dès 1900, proposait une théorie des « chaînes latérales » pour la formation des anticorps : elle postulait que les leucocytes possèdent à leur surface des récepteurs avec des chaînes latérales auxquels les substances étrangères se lient chimi-

quement. Cette liaison provoquerait la production par la cellule d'un large excès de copies du récepteur qui seraient déversées dans le torrent circulatoire. Selon Ehrlich les cellules produisent donc naturellement des chaînes latérales capables de se lier à toutes les substances étrangères.

Cette théorie fut battue en brèche par les découvertes de Ramon et celles plus fondamentales de Landsteiner. Il était en effet devenu évident qu'un animal est capable de répondre à un éventail pratiquement illimité de déterminants antigéniques, et notamment à des composés nouveaux, artificiellement synthétisés. Comme il ne pouvait posséder dans son patrimoine héréditaire la capacité de répondre à une telle diversité de situations, il fallait admettre que l'antigène agit comme une matrice. Cette théorie du moule (template), qui allait survivre pendant un quart de siècle a eu quelques partisans prestigieux dont Linus Pauling (1901-) qui pensait que la grande variété des liaisons spécifiques pouvait résulter de simples modifications de la structure quaternaire du repliement d'une même protéine.

Dès 1949 cependant deux chercheurs australiens Franck Macfarlane Burnet (1899-1985) et Frank J. Fenner (1914-) avaient souligné plusieurs insuffisances de cette théorie qui n'expliquait pas pourquoi les anticorps étaient, après une stimulation antigénique, produits en quantité supérieure à celle des antigènes qui leur servaient de matrice. En outre, la théorie n'intégrait pas le phénomène de rappel observé lorsque l'animal est exposé une seconde fois au même antigène. Le fait que la production d'anticorps se poursuit après la disparition de l'antigène n'était pas davantage résolu de même que les modifications de l'avidité des antisérums au fur et à mesure que la réponse progresse.

Mais la principale objection formulée à l'égard de cette théorie informatrice était qu'elle ignorait la tolérance immune, contrepartie obligée de la réponse immune. La tolérance est cette impossibilité pour l'organisme de répondre activement à certains antigènes, ce qui lui permet de respecter ses propres constituants; elle peut aussi être suscitée par un antigène étranger pour autant que celui-ci soit administré, selon les espèces, avant ou à la naissance.

David W. Talmage (1919-) élargit ensuite les suggestions faites par Niels Kaj Jerne (1911-) en supposant que les cellules productrices d'anticorps se multiplient lorsqu'elles rencontrent un antigène de même spécificité.

Tout était alors mûr pour que Burnet formule sa

théorie de la sélection clonale en accord avec les conceptions darwiniennes de la nature. Il partagea, en 1960, le prix Nobel avec Peter B. Medawar (1915-1987) qui avait jeté les bases de la compréhension de la tolérance immune. Gustav Nossal (1931-) qui travaillait dans le laboratoire de Burnet fut le premier à apporter des preuves expérimentales de la validité de cette théorie avant que Köhler et Milstein ne produisent à volonté des anticorps de spécificité prédéterminée. La théorie de la sélection clonale démontrée, il restait à expliquer comment l'animal est génétiquement capable de faire face à autant de situations différentes.

### STRUCTURE DES ANTICORPS ET IMMUNOGÉNÉTIQUE

Parallèlement aux efforts déployés pour expliquer la diversité des anticorps et la tolérance, il importait d'explorer les bases moléculaires du phénomène de reconnaissance spécifique et le contrôle génétique de la diversité. L'étude de la structure des immunoglobulines menée par Rodney R. Porter (1917-1985) et Gerald M. Edelman (1929-) montra l'existence de quatre chaînes polypeptidiques, deux lourdes et deux légères dont la séquence en acides aminés fut établie, ce qui donnait accès à l'analyse de la région variable, celle qui reconnaît le déterminant antigénique. Les bases moléculaires de la variabilité des immunoglobulines devaient ensuite être étudiées, grâce notamment à l'appoint spectaculaire des techniques dérivées de l'ingénierie génétique. Cette découverte valut le prix Nobel à Susumu Tonegawa (1939-) en 1987.

### IMMUNITÉ CELLULAIRE

Pendant plus d'un demi-siècle, l'immunologie se limita à l'étude de l'immunité humorale, notamment parce que les méthodes d'exploration de l'immunité cellulaire faisaient largement défaut. Toutefois, la découverte des réactions d'hypersensibilité retardée, qui font essentiellement appel à l'intervention de cellules, date des premières heures de l'immunologie, puisque c'est à la fin du siècle dernier que Robert Koch a décrit l'allergie tuberculique. Il fallut néanmoins attendre longtemps pour que l'on mette directement en évidence l'intervention primordiale des

lymphocyte  
James Gow  
restaurer la  
d'animaux  
préparation  
thymus fut  
que le gro  
celui de Ro  
(1927-) de  
Fabricius et  
cellules pro  
tion de l'e  
phocytes B  
anticorps é

En outre  
permis de  
cancérologi  
immunité a  
Peter Doher  
tion allogèr  
virale de  
l'interventio  
dans la reco  
nels par les  
aux études r  
mécanismes  
les études s  
connaissaien  
faut égalem  
accordé aux  
laire; ceci de  
féron, famil  
antiviral, a é  
Lindenmann

### RECONNAISSANCE ET TOLÉRANCE

Les travaux  
avaient mis  
mental, celui  
réactions im  
tances étrang  
est capable  
immunitaire,  
soit des viru  
cellules ou d  
capable de  
antigènes. L  
permis de r  
posées par

accord avec les  
a nature. Il  
avec Peter B.  
é les bases de  
immune. Gustav  
le laboratoire  
er des preuves  
e théorie avant  
t à volonté des  
ée. La théorie  
e, il restait à  
génétiqnement  
de situations

PS

és pour expli-  
la tolérance, il  
oléculaires du  
écifique et le  
L'étude de la  
s menée par  
et Gerald M.  
nce de quatre  
urdes et deux  
des aminés fut  
'analyse de la  
le déterminant  
s de la variabi-  
nt ensuite être  
point spectacu-  
ngénierie géné-  
prix Nobel à  
87.

l'immunologie  
nité humorale,  
es d'exploration  
ient largement  
e des réactions  
ont essentielle-  
lules, date des  
e, puisque c'est  
rt Koch a décrit  
llut néanmoins  
n mette directe-  
primordiale des

lymphocytes dans toutes les réponses immunes. James Gowans (1924-) montrait que l'on pouvait restaurer la compétence et la mémoire immunes d'animaux irradiés, par le simple transfert de préparations pures de lymphocytes. Le rôle du thymus fut découvert par Jacques Miller, alors que le groupe de Milan Hasék (1925-1985) et celui de Robert A. Good (1922-) et Bruce Glick (1927-) démontrèrent le rôle de la bourse de Fabricius chez le poulet dans la différenciation des cellules productrices d'anticorps. La démonstration de l'existence de deux catégories de lymphocytes B et T coopérant pour la production des anticorps était alors rapidement apportée.

En outre, l'étude de l'immunité cellulaire a permis de faire des progrès spectaculaires en cancérologie, en transplantation d'organes et en immunité antivirale. En 1975, Rolf Zinkernagel et Peter Doherty décrivent le phénomène de restriction allogénique dans le cadre d'une infection virale de la souris. Ce phénomène implique l'intervention des antigènes d'histocompatibilité dans la reconnaissance des antigènes conventionnels par les cellules T cytotoxiques. Parallèlement aux études menées sur l'immunité cellulaire et les mécanismes impliqués dans ce type de réponse, les études sur la tolérance et l'histocompatibilité connaissent également un intérêt croissant. Il faut également mentionner l'intérêt grandissant accordé aux cytokines dans la coopération cellulaire; ceci donnait une nouvelle jeunesse à l'interféron, famille de molécules dont le premier effet, antiviral, a été découvert par Alick Isaacs et Jean Lindenmann en 1957.

### RECONNAISSANCE DU SOI ET TOLÉRANCE

Les travaux de pionnier de Peter B. Medawar avaient mis en évidence un phénomène fondamental, celui de la tolérance, corollaire obligé des réactions immunitaires dirigées contre les substances étrangères à l'organisme. Si l'organisme est capable de rejeter, grâce à son système immunitaire, les envahisseurs étrangers, que ce soit des virus, des bactéries, des protéines, des cellules ou des tissus, il doit en revanche être capable de tolérer l'existence de ses propres antigènes. L'immunogénétique a progressivement permis de répondre à la plupart des questions posées par la reconnaissance du soi. Née de

l'étude des groupes sanguins chez l'homme et des antigènes de transplantation murins par Peter A. Gorer (1907-1961) et Georges D. Snell (1903-) puis humains par Jean Dausset (1916-) en 1958, l'immunogénétique s'est également imposée dès les années 1960 comme un domaine primordial de l'immunologie fondamentale, car les antigènes d'histocompatibilité jouent un rôle-clé dans la réponse immune.

### CONCLUSION

Cette histoire succincte de l'immunologie nous permet de dégager les principales caractéristiques du système immunitaire.

Le système immunitaire est là pour défendre l'ensemble de l'organisme quel que soit l'organe intéressé; il est donc diffus et certains de ses éléments effecteurs sont mobiles.

Le système immunitaire doit pouvoir résoudre une contradiction interne, celle de répondre à l'invasion d'un élément étranger en le rejetant et celle de tolérer tout ce qui appartient à l'organisme dont il doit maintenir l'intégrité. En outre, il doit être capable de mettre certains événements en mémoire. Pour répondre à ces différents impératifs, le système immunitaire dispose de trois registres différents : humoral, cellulaire et la tolérance. A chacun de ces modes est associée une forme de mémoire car, comme l'ont montré les premières vaccinations, l'organisme vacciné répond différemment à une nouvelle stimulation.

Le système immunitaire doit en outre être capable de faire rapidement face à une agression éventuelle. C'est pourquoi, à côté des mécanismes spécifiques qui mettent parfois un certain temps à s'installer, l'organisme possède une grande variété de mécanismes non spécifiques dont l'intervention est plus rapide. Ceux-ci interviennent directement, avant la réponse immune spécifique, qui seule est associée à un phénomène de mémoire. Par exemple, la phagocytose par les macrophages précède la réponse spécifique.

Les mécanismes de la réponse immune ne varient guère en fonction des différentes espèces de vertébrés. La structure fondamentale du système et des réponses est commune. C'est pourquoi l'histoire de l'immunologie vétérinaire se confond avec celle de l'immunologie générale et n'a pas été envisagée ici. Les modalités

spécifiques de la réponse seront cependant abordées dans les chapitres réservés à l'immunologie comparée.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

A history of immunology. Arthur M. Silverstein. Academic Press, 1989.

### Références

1. ADA GL, NOSSAL G. The clonal-selection theory. *Scientific American*, 1987, 257 (2) : 50.
2. BACH JF. Immunologie. Flammarion Médecine-Sciences, 1986.
3. BAXBY D. Jenner's smallpox vaccine. The riddle of vaccinia virus and its origin. Heinemann Educational Books, London, 1981.
4. BODSON L. La médecine vétérinaire des origines au XVI<sup>e</sup> siècle : esquisses de ses caractères et tendances. *In* : PP Pastoret, G Mees, M Mammerickx. De l'art à la science ou 150 ans de médecine vétérinaire à Cureghem, Bruxelles, Annales de médecine vétérinaire, 1986 : 1-15.
5. BORDENAVE G, TRUFFA-BACHI P. Metchnikoff, Bordet, Oudin and immunology today : the Pasteur Institute's first 100 years. *Immunology Today*, 1987, 8 : 283-316.
6. BORDET J. Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. Ed. Masson, Paris, 1920.
7. DARMON P. La longue traque de la variole. Les pionniers de la médecine préventive, Paris, Librairie académique Perrin, 1986, 503 pages.
8. DE RAYMOND F. Querelle de l'inoculation ou préhistoire de la vaccination. Paris, Vrin, 1982, 124 pages.
9. LECLAINCHE E. La médecine vétérinaire du XVIII<sup>e</sup> siècle à nos jours. *In* : Histoire générale de la Médecine, de la pharmacie, de l'Art dentaire et de l'Art vétérinaire. Tome 3. Albin Michel, Paris, 1949.
10. Molecular Biology and Infectious Diseases. Colloque du Centenaire de l'Institut Pasteur, 5-9 octobre 1987. Edited by M. Schwartz, Elsevier, 1988.
11. MOLLARET HH, BROSSOLLET J. Alexandre Yersin, le vainqueur de la peste. Fayard, 1985.
12. MONOD Théodore. Notice sur la vie et l'œuvre de Gaston Ramon (1886-1963). Académie des Sciences de l'Institut de France.
13. NICOL L. L'épopée pastorienne et la médecine vétérinaire. Chez l'Auteur. 1974. Garches.
14. Œuvres de Pasteur. Réunies par Pasteur Vallery-Radot. Tome VI. Maladies virulentes, virus-vaccins et prophylaxie de la rage. Masson et Cie, Editeurs, Paris, 1933.
15. Pasteur et la rage. Informations techniques des services vétérinaires, n° 92 à 95, Paris, 1985.
16. PASTORET PP. Histoire de l'enseignement et de la recherche vétérinaires en Belgique. *In* : Le Grand Livre de la Campagne. Pierre Mardaga Editeur, 1990.
17. PAULET JJ. Recherches historiques et physiques sur les maladies épizootiques, 2 vol., Paris, Ruault, 1775, 416 + 501 pages.
18. RAMON G. Contribution des vétérinaires au progrès scientifique, au bien-être de l'homme, à la sauvegarde contre les maladies et notamment contre les maladies infectieuses. *In* : L'animal et le vétérinaire, Paris, 1968.
19. TIZARD JR. An introduction to Veterinary immunology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto, 1977.
20. WATSON G. Theriac and Mithridatisation. A study in therapeutics, Londres, The Wellcome Historical Medical Library, 1966, 165 pages.
21. WONG K Ch, WU LT. History of Chinese Medicine, 2<sup>e</sup> Ed., Shanghai, National Quarantine Service, 1936 (réimpr., Taipei, Southern Materials Center, 1977) (1).

(1) Cette référence nous a été obligeamment communiquée par M. Georges METAILLE (Paris, C.N.R.S. - Muséum national d'Histoire naturelle). Nous lui exprimons nos plus vifs remerciements.

A. Depelch

Si l'organi  
défense spéc  
leur mise en  
bactérienne  
l'agent infecti  
lésions qui a  
sible au mom  
drait efficace  
transformerait  
le cas que d  
les défenses  
pathogènes)  
momentané d  
On qualifi  
naturelle celle  
l'agent infecti  
lui seul. Ses  
précocement  
l'agent infecti  
dérer que ces  
expliquent la  
animaux non  
spores tétaniques  
pourrait être d

A. Depelchin

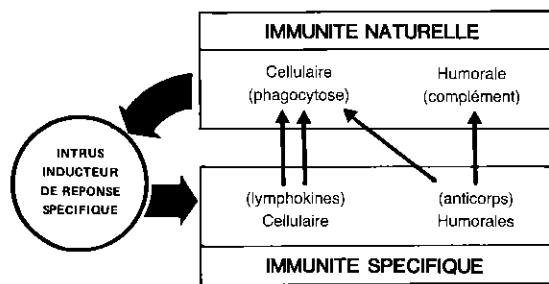
## IMMUNITÉ NON SPÉCIFIQUE

Si l'organisme ne disposait que de moyens de défense spécifiques, la latence nécessaire pour leur mise en place en cas de primo-infection bactérienne ou virale serait mise à profit par l'agent infectieux pour se multiplier et créer des lésions qui auraient atteint une ampleur irréversible au moment où la défense spécifique deviendrait efficace. Toute invasion bactérienne se transformerait en maladie infectieuse, ce qui n'est le cas que de bactéries capables de contourner les défenses naturelles de l'hôte (bactéries pathogènes) ou profitant d'un affaiblissement momentané de celles-ci (bactéries opportunistes).

On qualifie de défense non spécifique ou naturelle celle dont l'efficacité n'est ni induite par l'agent infectieux ni spécifiquement orientée vers lui seul. Ses mécanismes sont multiformes et précocement efficaces après l'introduction de l'agent infectieux. Par exemple, on peut considérer que ces mécanismes de défense naturelle expliquent la rareté des cas de tétanos chez des animaux non vaccinés, alors que l'ubiquité des spores tétaniques laisse présumer que toute plaie pourrait être contaminée.

Ces mécanismes de défense naturelle sont variés. On peut y inclure les revêtements cutanéomuqueux qui s'opposent à la pénétration d'intrus tant par leur texture que par des processus mécaniques (péristaltisme de la muqueuse intestinale, cils vibratiles de la muqueuse respiratoire, lavage des voies urinaires) et chimiques (pH, plus ou moins acide selon les espèces, de la peau, de l'estomac, du duodénum, des urines). En outre, les moyens de défense interne de l'organisme pour éliminer des agents infectieux qui y ont pénétré sont complexes : il s'agit surtout d'une défense de nature cellulaire (phagocytes), mais aussi humorale (anticorps naturels, complément, bactéricidines, interférons, etc.) et même métabolique (fièvre).

Tous ces moyens de défense agissent souvent en conjonction, comme c'est le cas dans la réaction inflammatoire. Ils peuvent aussi être exploités par l'organisme pour éliminer ses propres éléments cellulaires devenus anormaux par vieillissement ou par transformation maligne : cette immunosurveillance est cependant dévolue



**Figure 2-1** Effets rétroactifs de l'immunité spécifique sur les principaux moyens de défense non spécifique. Par la production de lymphokines, les lymphocytes activent les macrophages, tandis que les anticorps sont opsonisants pour les proies (intrus) et activateurs du complément par la voie classique.

prioritairement à des cellules cytotoxiques non spécifiques spécialisées (natural killers).

Ces diverses formes de défense naturelle sont capitales; ce sont elles qui arrêtent dès le départ la grande majorité des infections et qui élimineraient dès leur formation les cellules en voie de transformation maligne. Toutefois, si l'invasion tissulaire est trop importante, l'immunité naturelle est débordée et des défenses spécifiques entrent en jeu. Même dans ce cas, les moyens apportés par ces défenses spécifiques ont souvent pour objet de renforcer purement et simplement l'efficacité de l'immunité naturelle non spécifique. Les médiateurs spécifiques de ce surcroît d'efficacité sont d'une part les anticorps et d'autre part les lymphokines (Fig. 2-1).

## DÉFENSE DE TYPE CELLULAIRE

### PHAGOCYTOSE

#### Définition

La phagocytose est une propriété de certaines cellules, qui leur permet d'incorporer dans leur enceinte cytoplasmique des particules extérieures. Cette propriété fut découverte par Metchnikoff. Par comparaison avec les cellules mésodermiques des spongiaires, douées de mouvements amiboïdes, et dont la fonction est de capturer des

particules alimentaires, Metchnikoff observa que ces cellules conservaient la propriété de capturer des corps étrangers chez des organismes plus évolués, possédant un tube digestif différencié, tels que les larves d'échinodermes. Il pressentit dès lors pour ces cellules, à la lignée desquelles il fait appartenir les « globules blancs », une fonction de défense contre ce qu'il nomma « les nuisibles intrus ».

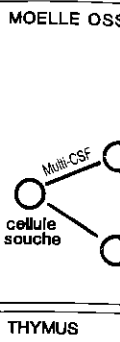
En 1882, il imagina et réalisa son expérience de base pour la théorie phagocytaire. Il inséra un corps étranger (épine de rosier saupoudrée de colorant carmin) dans le corps transparent d'une bipinnaire (larve d'étoile de mer). Un manchon compact de cellules mésodermiques se forma autour du corps étranger au cours des jours suivants, les grains de colorant se retrouvant à l'intérieur des cellules. En remplaçant ce corps étranger par des cellules étrangères (globules rouges ou bactéries), il observa qu'elles étaient phagocytées puis digérées à l'intérieur des cellules mésodermiques.

En 1884, il apporta la preuve que ce phénomène avait un rôle défensif contre les infections. Pour ce faire, il mit des daphnies (petits crustacés) en contact avec des spores d'un champignon qui peut les infecter. Ces spores effilées perforent la paroi digestive et s'introduisent dans la cavité générale où des cellules phagocytaires affluent pour les éliminer. Il montra que si les spores étaient peu nombreuses, les phagocytes en venaient à bout, mais qu'ils étaient débordés dans le cas où les spores étaient trop nombreuses. Dans ce cas, certaines spores restent libres et germent, leur forme végétative sécrétant un poison qui tue les daphnies. Cette expérience met bien en lumière le conflit « microbes/phagocytes », si important pour le devenir de toute infection.

La phagocytose est donc une propriété foncière de certaines cellules, qui participe à la lutte contre des agents infectieux [10], mais qui s'exerce aussi contre des particules inertes (carbone) et même contre des substances en solution (pinocytose).

#### La myélopoïèse et son contrôle

Chez les animaux supérieurs, deux groupes de cellules spécialisées ont seules conservé cette propriété de phagocytose. Elles proviennent toutes de lignées cellulaires issues de cellules-souches de la moelle osseuse, dont des descendantes suivent clonalement différentes voies de différenciation : lignées érythrocytaire, granulocytaire, monocy-



**Figure 2-2** Schéma des cellules-souches et Macrophage-CSF = Colony Growth Factor (BCGF-1 : IL-4).

taire, lymphocytaire, granulocytaire, lignées de lymphocytes T, éosinophiles (voir page 10) et les monocytaires, les éosinophiles, les lymphocytes T, les monocytaires.

Dans la moelle osseuse, leur maturation est contrôlée par la moelle osseuse elle-même, qui comprend : les érythrocytaires, les neutrophiles, les lymphocytes T, les monocytaires.

Dans la moelle osseuse, leur maturation est contrôlée par la moelle osseuse elle-même, qui comprend : les érythrocytaires, les neutrophiles, les lymphocytes T, les monocytaires. Leur orientation est contrôlée par des facteurs hormonaux. L'érythropoïèse de la lignée érythrocytaire produit in vivo son effet à partir de l'érythropoïèse de même pour les cellules-souches obtenus in vivo à partir de c



les alimentaires, Metchnikoff observa que les globules conservaient la propriété de capturer des corps étrangers chez des organismes plus élevés, possédant un tube digestif différencié, comme les larves d'échinodermes. Il pressentit l'importance pour ces cellules, à la lignée desquelles il appartenir les « globules blancs », une fonction de défense contre ce qu'il nomma « les microbes intrus ».

En 1882, il imagina et réalisa son expérience de base pour la théorie phagocytaire. Il inséra un corps étranger (épine de rosier saupoudrée de charbon de bois ou de charbon de charmin) dans le corps transparent d'une larve de daphnie (larve d'étoile de mer). Un manchon continu de cellules mésodermiques se forma autour du corps étranger au cours des jours suivants, les grains de colorant se retrouvant à l'intérieur des cellules. En remplaçant ce corps étranger par des cellules étrangères (globules rouges ou bactéries), il observa qu'elles étaient phagocytées puis digérées à l'intérieur des cellules mésodermiques.

En 1884, il apporta la preuve que ce phénomène avait un rôle défensif contre les infections. Pour ce faire, il mit des daphnies (petits crustacés) en contact avec des spores d'un champignon qui peut les infecter. Ces spores effilées traversent la paroi digestive et s'introduisent dans le sang circulant où des cellules phagocytaires sont présentes pour les éliminer. Il montra que si les spores étaient peu nombreuses, les phagocytes étaient capables de les éliminer à bout, mais qu'ils étaient débordés dans le sang où les spores étaient trop nombreuses. Dans certains cas, certaines spores restent libres et germent, sous forme végétative sécrétant un poison qui tue les daphnies. Cette expérience met bien en évidence le conflit « microbes/phagocytes », si important pour le devenir de toute infection.

La phagocytose est donc une propriété foncière de certaines cellules, qui participe à la lutte contre les agents infectieux [10], mais qui s'exerce aussi contre des particules inertes (carbone) et même contre des substances en solution (pinocytose).

### Myélopoïèse et son contrôle

Chez les animaux supérieurs, deux groupes de cellules sont spécialisées ont seules conservé cette propriété de phagocytose. Elles proviennent toutes des lignées cellulaires issues de cellules-souches de la moelle osseuse, dont des descendantes suivent deux voies de différenciation :

— lignée érythrocytaire, granulocytaire, monocy-

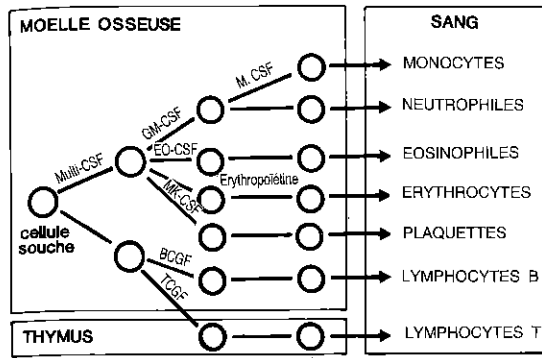


Figure 2-2 Schéma des différentes lignées cellulaires dérivant des cellules-souches de la moelle osseuse : GM = Granulocyte et Macrophage; EO = Eosinophile; MK = Mégacaryocyte; CSF = Colony Stimulating Factors (IL-3); TCGF = T Cell Growth Factor (IL-2); BCGF = B Cell Growth Factor (BCGF-1 : IL-4; BCGF-2 : IL-5).

taire, lymphocytaire, thrombocytaire; les lignées granulocytaires se subdivisent elles-mêmes en lignées de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles (voire basophiles). Seuls les neutrophiles et les monocytes sont dotés de capacité phagocytaire, les éosinophiles ne le sont que vis-à-vis de certains complexes antigènes-anticorps.

Dans la moelle osseuse, ces lignées subissent leur maturation complète. La population cellulaire de la moelle osseuse a pu être répertoriée et comprend : 25 p. cent de cellules de la lignée érythrocytaire, 55 p. cent de cellules de la lignée neutrophile, 16 p. cent de cellules des lignées lymphocytaires, 1 p. cent de cellules de la lignée monocyttaire (Fig. 2-2).

Dans la moelle osseuse, les cellules-souches pluripotentielles ne se différencient pas au hasard dans l'une ou l'autre lignée cellulaire spécialisée. Leur orientation de différenciation est influencée par des facteurs micro-environnementaux, de type hormonal. Le facteur le mieux connu est l'érythropoïétine, qui influence le développement de la lignée érythropoïétique : ce facteur est produit in vivo par les tissus en état d'hypoxie, et son effet a pour conséquence la stimulation d'une érythropoïèse compensatoire. Il en va sans doute de même pour les autres lignées dérivées des cellules-souches. Plusieurs facteurs ont pu être obtenus in vitro et se montrent actifs sur la formation de colonies cellulaires en milieu gélinifié à partir de cellules-souches :

— « colony stimulating factor » (multi-CSF ou IL-3), libéré par des cellules actives et assurant la prolifération de nouvelles cellules-souches; ce facteur influence non seulement la myélopoïèse, mais aussi l'érythropoïèse;

— « granulocyte-macrophage colony stimulating factor » (GM-CSF), produit par diverses sources (lymphocytes T, macrophages, cellules endothéliales) et stimulant la formation de nouveaux macrophages et des monocytes;

— « monocytic colony stimulating factor » (M-CSF), produit par des fibroblastes et assurant la maturation de la lignée monocyttaire.

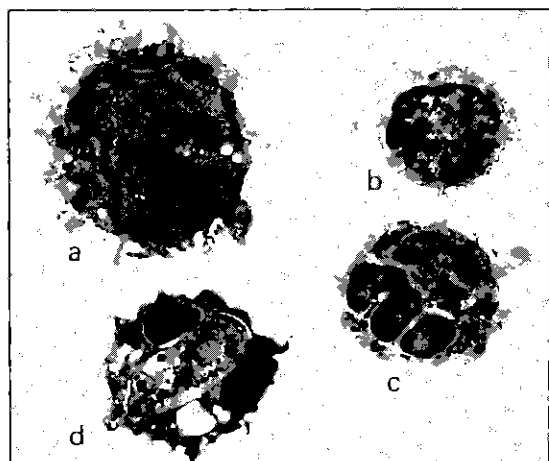
### Cellules phagocytaires

Après leur maturation médullaire, les cellules phagocytaires sont déversées dans le sang où elles vont gagner les différents tissus où elles exercent leur activité phagocytaire.

**Les polynucléaires neutrophiles** (polynucléaires microphages) ont une durée de vie courte. Leur maturation dans la moelle osseuse dure environ 10 jours, mais leur durée de vie dans la circulation est assez brève : elle est de 6 à 10 jours. Dans le sang circulateur est élevé (entre 6 et 10 milliards par litre), ils ne persistent que 1 ou 2 jours avant de disparaître.

**Les monocytes** ont, dans chaque tissu, une durée de vie différente de celle des neutrophiles. Leur présence intramédullaire est moyenne de 1 à 3 jours, et leur séjour dans le sang de 1 à 2 jours, mais ils persistent plus longtemps dans les tissus. En effet, les monocytes peuvent s'y transformer en histiocytes fixes, appelés *macrophages*. Ces cellules existent entre macrophages fixes et mobiles, mais leur répartition est arbitraire, car il arrive que des cellules fixes se reconvertissent en mobiles. Des cellules fixes résidentes sont ainsi présentes dans tous les tissus avec une densité particulière aux endroits où il y a au contact avec des particules étrangères : muqueuses conjonctives sous-muqueuses, séreuses, pleurales, alvéoles pulmonaires, glandes mammaires, organes lymphoïdes (ganglions), foie (cellules de Kupffer).

L'ensemble de ces histiocytes mobiles constitue le système histio-monocytaire. On peut le rendre visible par injection d'encre, dont les particules de carbone vont être phagocytées par les macrophages tissulaires, qui sont très abondants dans certains organes.



**Figure 2-3** Leucocytes bovins observés en microscopie électronique. a) Monocyte et b) Lymphocyte B; le piqueté membranaire apparent sur ces deux cellules est le résultat de leur marquage par un anticorps monoclonal anti-BoLA classe II (7C7) (technique de l'immunogold). c) Neutrophile sanguin et d) Neutrophile de la glande mammaire, ayant phagocyté une cellule en voie de digestion.

tion se fait par voie intraveineuse, le foie et la rate apparaissent noirs; par voie sous-cutanée ou intrapéritonéale, les ganglions lymphoïdes locaux sont marqués de noir. On appelait auparavant ce système « réticulo-endothélial » parce qu'on y situait des cellules adventitielles de l'endothélium capillaire et des cellules d'aspect réticulé (cellules à petit noyau et cytoplasme étendu avec des dendrites) : en réalité, ni ces cellules dendritiques ni les cellules endothéliales ou péricyaires ne sont capables de phagocytose vraie et le terme de système réticulo-endothélial doit être abandonné quand il s'agit de désigner le système macrophagique.

Chez la souris, on a pu estimer que la durée de vie des macrophages péritonéaux est de 20 à 40 jours et celle des macrophages hépatiques (cellules de Kupffer) de 60 jours au plus. On ignore le devenir exact des macrophages : certains meurent dans l'organisme, d'autres sont éliminés avec leur charge de particules phagocytées comme c'est le cas pour les macrophages alvéolaires.

### Rôle et propriétés des phagocytes

Le rôle physiologique de ces cellules est de débarrasser le sang, la lymphe et surtout les

tissus, des particules, notamment micro-organismes, et des cellules vieilles. Les particules et bactéries dans le sang sont principalement phagocytées par les macrophages du foie et de la rate. Les bactéries véhiculées par la lymphe seront phagocytées par des phagocytes libres dans les tissus ou par des macrophages ganglionnaires. Les particules et bactéries au sein des tissus sont phagocytées par des cellules sanguines s'infiltrant dans le foyer.

Les cellules phagocytaires sont un modèle d'adaptation à cette fonction : d'une part ces cellules sont mobiles et répondent à une attraction vers les lieux tissulaires où leur mission est nécessaire; d'autre part leur membrane et leur cytoplasme possèdent des propriétés qui assurent l'ingestion et la destruction des proies.

### Infiltration leucocytaire

Les phagocytes sanguins envahissent le tissu malade grâce à un double mécanisme.

**Le chimiotactisme.** L'accumulation des leucocytes dans un foyer infectieux résulte d'une locomotion de ces cellules orientée par un gradient chimique de facteurs dont certains sont d'origine bactérienne (polyosides) tandis que d'autres proviennent de l'hôte : facteurs dérivés du complément, lymphokines libérées par des lymphocytes, leucotriènes formés à partir des phospholipides membranaires des cellules lésées. Ces facteurs leucotaxiques endogènes sont responsables de l'accumulation de polynucléaires dans les lésions inflammatoires.

Le chimiotactisme de ces facteurs peut être mis en évidence par la chambre de Boyden : des leucocytes sanguins sont déposés sur une membrane millipore, placée sur un milieu liquide contenant une substance chimiotactiquement active. Après un certain temps de contact, des leucocytes sont retrouvés à la face inférieure de la membrane, au travers des pertuis de laquelle ils se sont insinués.

**La diapédèse.** Les phagocytes accumulés dans un foyer inflammatoire sont surtout des polynucléaires neutrophiles sanguins. En effet, les macrophages tissulaires ont peu tendance à se déplacer par attraction chimiotactique; de plus, la capacité de division restreinte des macrophages matures ne permet pas à ceux qui se trouvent dans un tissu infecté ou lésé, d'atteindre une densité locale suffisante pour assurer le nettoyage. Il faut donc prévoir une sortie privilégiée et massive des neutrophiles sanguins à partir du tractus circula-

toire qui av...  
consiste en...  
l'endothéliu...  
rentes s'infi...  
interendothé...  
de vasodilat...  
polynucléair...  
témoigne de...  
l'aspect plur...  
possèdent pa...  
laquelle les...  
cellules de l...  
matoire.

### Phagocytose

La phagoc...  
mécanisme d...  
Ce mécanism...  
séquentiels...  
particule.

### Adhérence

existent pou...  
cellules pha...  
— adhére...  
caractéristiq...  
la particule...  
charge, hyc...  
bactéries, n...  
vement, ont...  
phagocytes...  
charge est p...  
naires). Ce p...  
varie pas ent...  
que les pha...  
fonction dans...  
a tendance à...  
— reconn...  
géniques rec...  
ment activé...  
phagocytes p...  
le fragment...  
pour le C3 a...

Toute part...  
mieux les...  
absorption f...  
latin *opsona*...  
aliment). Ce...  
ingérer est im...  
par voie vein...  
rapidement l...  
recouvertes d...  
est par contre...  
génétiquement

nt micro-orga-  
es particules et  
alement phago-  
e et de la rate.  
lympe seront  
libres dans les  
gionnaires. Les  
les tissus sont  
ines s'infiltrant

nt un modèle  
l'une part ces  
à une attraction  
ur mission est  
mbre et leur  
és qui assurent  
proies.

missent le tissu  
isme.

mulation des  
x résulte d'une  
ientée par un  
nt certains sont  
s) tandis que  
facteurs dérivés  
bérées par des  
s à partir des  
cellules lésées.  
nes sont respon-  
nucléaires dans

rs peut être mis  
Boyden : des  
sur une mem-  
milieu liquide  
iotactiquement  
de contact, des  
inférieure de la  
de laquelle ils se

accumulés dans  
out des polynu-  
En effet, les  
tendance à se  
que; de plus, la  
es macrophages  
se trouvent dans  
dre une densité  
ettoyage. Il faut  
e et massive des  
tractus circula-

toire qui avoisine le tissu atteint. Le premier acte consiste en un accolement des neutrophiles sur l'endothélium (margination). Les cellules adhérentes s'infiltrent ensuite au niveau des jonctions interendothéliales; ce passage est facilité par l'état de vasodilatation locale. L'insinuation des cellules polynucléaires entre les cellules endothéliales témoigne de leur plasticité, due en grande partie à l'aspect plurilobé de leur noyau, avantage que ne possèdent pas les monocytes. C'est la raison pour laquelle les polynucléaires neutrophiles sont les cellules de loin majoritaires dans un foyer inflammatoire.

### Phagocytose proprement dite

La phagocytose proprement dite correspond au mécanisme cellulaire d'internalisation de la proie. Ce mécanisme est le résultat de deux phénomènes séquentiels : adhérence et ingestion de la particule.

**Adhérence de la particule.** Deux mécanismes existent pour l'attachement des particules aux cellules phagocytaires :

— adhérence non spécifique, basée sur les caractéristiques physicochimiques des surfaces de la particule et du phagocyte, telles que structure, charge, hydrophobicité. C'est ainsi que les bactéries, normalement chargées électronégativement, ont tendance à entrer en contact avec les phagocytes aux endroits de leur surface où la charge est positive (fins prolongements membranaires). Ce pouvoir d'adhésion non spécifique ne varie pas entre les pH 6,5 et 7,2, ce qui explique que les phagocytes continuent à exercer leur fonction dans les foyers inflammatoires dont le pH a tendance à s'acidifier;

— reconnaissance spécifique de particules antigéniques recouvertes d'anticorps ou de complément activé. En effet, la membrane des phagocytes porte des récepteurs spécifiques pour le fragment Fc des IgG (R.Fc<sub>γ</sub>) [2] et d'autres pour le C3 activé (R.C3b) [11, 12] (Fig. 2-4).

Toute particule supportant l'un ou l'autre (ou mieux les deux) de ces facteurs verra son absorption favorisée : c'est l'*opsonisation* (du latin *opsonare* = préparer culinairement un aliment). Cette opsonisation de la particule à ingérer est importante : des bactéries administrées par voie veineuse à des souris sont éliminées très rapidement lorsqu'elles ont été préalablement recouvertes d'anticorps *in vitro*; leur élimination est par contre nettement ralentie si les souris sont génétiquement déficientes en complément.

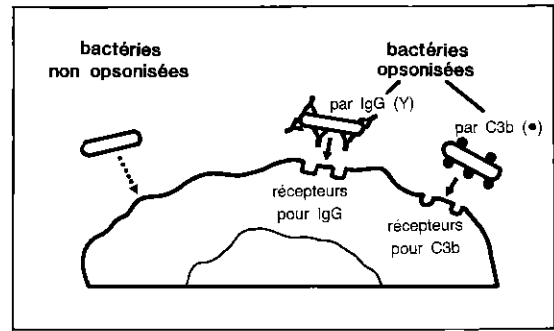


Figure 2-4 Modes d'adhérence des bactéries sur la membrane des phagocytes. (---▶) adhérence non spécifique; → adhérence spécifique.

**Ingestion de la particule, phagocytose proprement dite.** L'adhérence de la particule sur des R.Fc ou R.C3b opère un stimulus interne qui aboutit à une réaction de la membrane plasmique : d'une part, un complexe macroprotéique (clathrine) se dépose sur la face cytoplasmique de la membrane sous-jacente à la particule absorbée sur la face externe; cette face membranaire apparaît alors dense en microscopie électronique; d'autre part, sous l'action d'un réseau sous-jacent de microfilaments d'actomyosine, qui s'organise en réponse au stimulus, la membrane subit une contraction locale, formant un plissement membranaire à l'endroit de fixation de la particule qui s'enfonce ainsi dans la cavité en voie de formation. Cette cavité devient de plus en plus profonde. Finalement, ses bords supérieurs se rejoignent et leur soudure s'opère, enfermant la particule dans une vacuole au sein du cytoplasme: c'est le *phagosome* (coated vesicle) [8].

### Digestion de la particule. Effet bactéricide

Après la formation d'un phagosome, des lysosomes du cytoplasme sont attirés par lui; les membranes phagosomales et lysosomales fusionnent et le contenu lysosomal est déversé dans la vacuole contenant la particule phagocytée; cette vacuole s'appelle à ce moment *phago-lysosome*.

Les cellules phagocytaires sont à cet égard parfaitement adaptées à leur fonction, car elles sont littéralement bourrées de lysosomes : ce sont de véritables « sacs à lysosomes ».

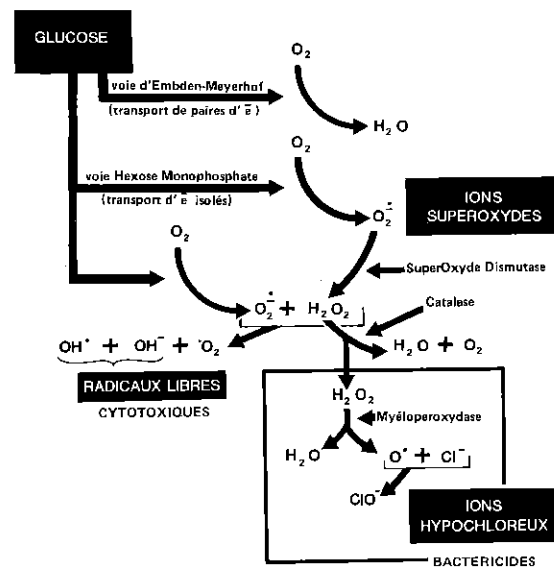
**Les types de lysosomes des phagocytes.** Chez les neutrophiles en particulier, les lysosomes sont

de deux types selon leur contenu et le moment de leur formation au cours de la différenciation cellulaire. Les granules primaires (encore appelés granules azurophiles à cause de leur teinte bleutée après coloration de May-Grünwald-Giemsa) sont formés uniquement au stade promyélocyte de la maturation des neutrophiles; ces granules sont particulièrement riches en myéloperoxydase (MPO); ils contiennent aussi de nombreuses hydrolases acides.

Des granules secondaires, plus petits et plus nombreux, apparaissent au stade myélocytaire; ces granules sont également appelés granules spécifiques, en raison de la spécificité d'action de certains de leurs éléments (lactoferrine). Du lysozyme est présent en relative abondance dans les deux types de granules.

**Mode d'action des enzymes lysosomales.** Bien que les enzymes hydrolasiques puissent dégrader de nombreux matériaux, y compris ceux des cadavres bactériens, elles ne semblent pas directement responsables de la mort bactérienne. Celle-ci est le fait de divers principes bactéricides contenus aussi dans les lysosomes. On distingue des systèmes bactéricides oxygène-indépendants : lysozyme (enzyme lytique pour la paroi des bactéries à Gram positif), lactoferrine (protéine possédant un coefficient de liaison au fer très élevé et jouant un rôle ferriprive pour les bactéries) et des systèmes oxygène-dépendants : le facteur bactéricide majeur est le peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  agissant en conjonction avec la myéloperoxydase (MPO) et avec un ion halogène ( $I^-$  ou  $Cl^-$ ). Dans le phagocyte, l'ingestion de proies stimule fortement le métabolisme oxydatif [1, 19]; en effet, la phagocytose est un processus exigeant beaucoup d'énergie, qui ne pourra être réalisé qu'en accélérant l'oxydation du glucose par la voie de l'hexose monophosphate. En même temps, la consommation d'oxygène augmente fortement et de grandes quantités d'ions superoxydes  $O_2^-$  et d' $H_2O_2$  sont produites dans la cellule. Cet  $H_2O_2$  est normalement détruit dans la cellule par sa catalase. Toutefois, une partie en diffuse dans le phagolysosome et s'y transforme en ions hypochloreux sous l'effet de la MPO et d'ions  $Cl^-$ . Ces ions  $ClO^-$  sont fortement bactéricides (Fig. 2-5).

Tous ces facteurs bactéricides : MPO, lysozyme, lactoferrine, protéines cationiques, ont un optimum d'activité à des pH 4 à 5; ce pH acide est effectivement réalisé dans la cellule au cours de la phagocytose par usage de la voie de l'hexose



**Figure 2-5** Voies métaboliques d'oxydation du glucose au cours de la phagocytose. Dans ce cas, la forte activation de la glycolyse oxydative (oxydative burst) emprunte largement le shunt de l'hexose monophosphate, qui débouche sur la production de dérivés de l'oxygène fortement oxydants et toxiques : ions superoxydes ( $O_2^-$ ), peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ), radicaux libres ( $OH^-$ ,  $HO^*$ ) qui peuvent être exocytés par la cellule et rendent compte de ses effets cytotoxiques sur les cellules environnantes. L' $H_2O_2$  qui diffuse dans le phagolysosome y est désintégré par une peroxydase en  $H_2O$  et oxygène singulet ( $O^*$ ); par liaison avec un ion halogène (chlore, iode), celui-ci forme un dérivé bactéricide.

phosphate, qui est productrice de plus d'acide lactique que la voie d'Embden-Meyerhof.

Finalement, dans le phagolysosome, les corps bactériens morts, comme toute autre cellule ou particule ingérée, pourront alors être digérés par les diverses hydrolases.

### Régurgitation du contenu phagolysosomal

En fin de digestion, un résidu indestructible peut subsister; il sera rejeté hors du phagocyte par un processus inverse de celui de l'ingestion. Les enzymes lysosomales présentes dans le phagolysosome sont ainsi externalisées. Leur action enzymatique, jointe à l'effet cytotoxique de radicaux libres, va entraîner une altération des cellules locales; ce phénomène est responsable pour une part prépondérante des lésions de l'inflammation



**Figure 2-6** Phagocytose et tation d'enzymes lysosomales; b) immunus fixés

chronique. enzymatique processus phagocytaires autre raison du compl phagocytes fiques. Le oxydatif et des lysosomes contenu enz contact av inversée) (E au contact corps auto-s'y sont déglomérulon plexes imm glomérules

### Sécrétion

Outre la formées, les synthétisent élastase, et laires dans macrophage font partie teurs de ne — IL-1 activant fa celle d'activ en présence

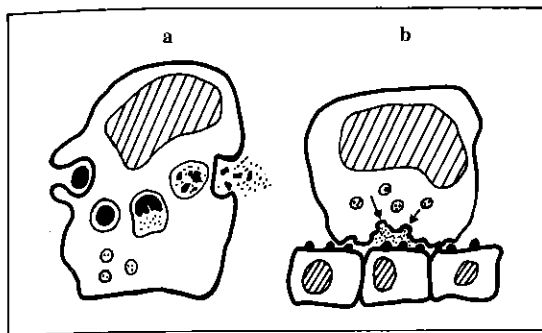
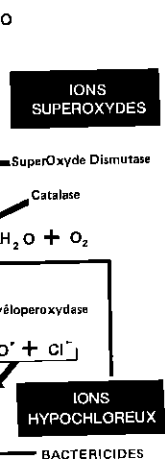


Figure 2-6 Externalisation du contenu lysosomal : a) régurgitation d'enzymes avec le reliquat non digéré dans le phagolysosome; b) endocytose inverse au contact de complexes immuns fixés sur des cellules-cibles.

chronique. Le même phénomène d'externalisation enzymatique peut se produire au cours d'un processus différent : lorsque la proie n'est pas phagocytable, à cause de sa taille ou pour toute autre raison, son opsonisation par des anticorps ou du complément activé va permettre aux phagocytes d'y adhérer par leurs récepteurs spécifiques. Le stimulus est ainsi donné au processus oxydatif et à celui de la fusion de la membrane des lysosomes avec la membrane plasmique; leur contenu enzymatique pourra entrer directement en contact avec la proie opsonisée (endocytose inversée) (Fig. 2-6). Ce phénomène peut se passer au contact de cellules tissulaires couvertes d'anticorps auto-immuns ou de complexes immuns qui s'y sont déposés et y ont activé le complément; la glomérulonéphrite consécutive au dépôt de complexes immuns sur la membrane basale des glomérules rénaux en est un exemple.

**Sécrétion d'enzymes et de médiateurs**

Outre la libération d'enzymes lysosomales préformées, les macrophages activés par phagocytose synthétisent certaines enzymes (collagénase, élastase, etc.) dégradant des constituants tissulaires dans le site inflammatoire. De plus, ces macrophages sécrètent des facteurs solubles, qui font partie des monokines et qui sont les médiateurs de nombreux effets; les principaux sont :

— IL-1 (interleukine 1) ou LAF (lymphocyte activating factor) qui, à côté d'autres fonctions, a celle d'activer la prolifération de lymphocytes T en présence d'un mitogène;

— PAF (facteur activateur des plaquettes) [9], qui a la propriété d'agréger les plaquettes sanguines et d'induire la libération de leur contenu (histamine, sérotonine);

— fibronectine, glycoprotéine qui interagit avec la fibrine, le collagène et des constituants des surfaces cellulaires pour y assurer l'adhésion cellulaire. Elle recruterait ainsi des fibroblastes, pour assurer le processus de réparation tissulaire;

— TNF (facteur nécrosant des tumeurs), à effet cytotoxique pour des cellules transformées et ayant de nombreux effets conduisant à l'état de choc septique;

— PGE2 (prostaglandine E2), qui inhibe les fonctions des lymphocytes T activés [9].

**Résistance de certaines bactéries à la destruction par les phagocytes**

Malgré l'adaptation des phagocytes à ingérer et détruire les bactéries, le conflit phagocyte/bactérie ne tourne pas toujours à l'avantage du premier. De nombreuses bactéries pathogènes ont leur virulence en grande partie liée à leur capacité de résistance à la phagocytose. On distingue ainsi des bactéries à vie extracellulaire et des bactéries à survie intracellulaire. Leur comportement face aux phagocytes peut être de trois ordres :

— certaines bactéries extracellulaires opposent un obstacle à leur capture par les phagocytes, soit à cause de leur grande mobilité (quoique ce bénéfice doit être très limité au sein des tissus), soit par la présence de capsules extrapariétales, dont la composition est telle qu'elles ne permettent pas l'accolement sur la membrane des phagocytes, voire qu'elles agissent comme facteur répulsif de ces derniers. Leur élimination sera possible après qu'une réponse immunitaire spécifique aura produit des anticorps anticapsulaires pour leur opsonisation;

— d'autres se laissent ingérer, mais libèrent des substances toxiques pour les leucocytes et en provoquent la mort après ingestion. Le cas le plus typique est celui du staphylocoque doré, qui possède une leucocidine responsable de l'accumulation de leucocytes morts (pyocytes) dans le foyer infectieux (pus);

— d'autres encore opposent une résistance à leur destruction intracellulaire, parce qu'elles sont indifférentes à l'action des enzymes lysosomales (*Salmonella*, *Brucella*, *Listeria*) ou parce qu'elles inhibent la fusion des lysosomes au phagosome : c'est le cas de *Mycobacterium tuberculosis*. Chez

tion du glucose au  
orte activation de la  
prunte largement le  
débouche sur la  
ement oxydants et  
oxyde d'hydrogène  
uvent être exocytés  
ets cytotoxiques sur  
i diffuse dans le  
oxydase en H<sub>2</sub>O et  
un ion halogène  
bactéricide.

le plus d'acide  
Meyerhof.  
some, les corps  
autre cellule ou  
être digérés par

du indestructible  
du phagocyte par  
l'ingestion. Les  
dans le phagoly-  
s. Leur action  
toxique de radi-  
ation des cellules  
nsable pour une  
e l'inflammation

ce bacille tuberculeux, on a pu individualiser le facteur responsable : il s'agit du « Cord factor » présent chez les seules souches virulentes et constitué de tréhalose dimycolate. Leur persistance au sein des phagocytes entraîne des infections latentes qui, lorsque les résistances immunitaires sont affaiblies, peuvent se transformer en nouvelles phases aiguës.

L'organisme tentera de compenser la résistance de ces bactéries à la phagocytose, par passage du relais aux processus immuns de la défense spécifique. En effet, le rôle des macrophages ne se limite pas à la destruction non spécifique des parasites; on connaît leur rôle en tant que cellules présentatrices de l'antigène dans l'initiation de la réponse spécifique. On peut considérer que, lorsque le nombre de bactéries est faible, les défenses de type macrophagique peuvent parvenir à les éliminer; en cas d'invasion bactérienne plus importante, la défense non spécifique est débordée et les moyens de l'immunité spécifique sont engagés; leur efficacité dépendra en grande partie de la synthèse de médiateurs d'origine lymphocytaire : anticorps opsonisants efficaces contre les bactéries extracellulaires, lymphokines (macrophage activating factor, migration inhibitory factor, etc.), actives sur les macrophages, les stimulant à éliminer les bactéries intracellulaires.

### Variations individuelles des fonctions phagocytaires

Le contrôle génétique de l'efficacité des macrophages a pu être démontré *in vivo*. Des lignées d'animaux génétiquement purs peuvent manifester des sensibilités très différentes à l'inoculation expérimentale de bactéries capables de survivre et de se multiplier dans les macrophages [7]. En outre, il s'est avéré que des lignées de souris sélectionnées pour leur haute production d'anticorps se défendaient moins bien contre des bactéries à survie intracellulaire que les lignées à faible production d'anticorps, qui se distinguent par ailleurs par une supériorité de leur fonction macrophagique : la destruction catabolique des antigènes dans les macrophages est plus rapide chez ces dernières que chez les souris bonnes productrices d'anticorps [5]. La qualité de la fonction macrophagique pourrait donc être le principal objet du contrôle génétique de la résistance naturelle à ce type d'infections. Des différences similaires ont également été observées chez le bovin [16, 17].

### CYTOTOXICITÉ NATURELLE

On appelle « cytotoxicité » la capacité d'un facteur d'entraîner la mort de cellules. Ce phénomène est particulièrement bénéfique pour l'organisme lorsqu'il le débarrasse de ses cellules anormales, telles que cellules cancéreuses et cellules infectées par des virus.

D'autres chapitres seront consacrés au rôle que joue le système immunitaire de défense spécifique dans ces phénomènes de cytotoxicité : lymphocytes T cytotoxiques, anticorps divers. Ce type de cytotoxicité reconnaît des antigènes spécifiques sur les membranes des cellules à éliminer : antigènes tumoraux ou antigènes viraux.

Toutefois, il a été reconnu que l'organisme était aussi doté de moyens de défense non spécifiques, reconnaissant des structures non identifiées sur une variété de cellules tumorales, tant syngéniques qu'allogéniques ou xénogéniques. La surveillance non spécifique et la surveillance spécifique sont deux moyens complémentaires, intervenant séquentiellement dans le processus de contrôle des tumeurs. La surveillance non spécifique doit être considérée comme une première ligne de défense contre les cancers et les infections virales, pleinement efficace pour autant que le nombre de cellules à éliminer soit peu élevé. Si cette défense naturelle n'est pas suffisante, le système immunitaire mettra en œuvre ses moyens de défense spécifiques, dont certains n'auront d'autre objectif que de focaliser spécifiquement sur les cellules à éliminer l'action non discriminante de certaines cellules cytotoxiques non spécifiques (cellules cytotoxiques anticorps-dépendantes ou ADCC). Les effecteurs non spécifiques de la surveillance cytotoxique sont de plusieurs natures.

### Cellules « tueuses naturelles » (NK)

L'existence de cellules NK parmi les leucocytes sanguins de souris a été reconnue par leur propriété de tuer des cellules-cibles tumorales *in vitro*, sans immunisation préalable de l'animal donneur de leucocytes. La (les) lignée(s) cellulaire(s) donnant naissance aux NK est (sont) encore mal précisée(s), de même que le processus par lequel ces NK reconnaissent les cellules à éliminer. Il semblerait que l'activité NK soit l'apanage de cellules de lignées différentes, se présentant morphologiquement comme des lymphocytes [20].

Bien qu'  
marqueurs  
T (on les a  
nuls ou no  
de certains  
T (récepte  
marqueur C  
de marque  
macrophage  
reconnus p  
exclusivem  
origine pou  
lymphoïdes  
rapprochant  
lignées sel  
thymus pou  
étonnant q  
dépourvus  
Chez la  
comme de  
d'aspect ly  
Dans le cy  
quelques gr  
mées LGI  
Toutefois, i  
lement NK  
(LAL = lar

Ce type d  
l'homme et  
de même qu  
qui laisse su  
défense cyt  
cours de l'é

Bien que les NK ne portent pas tous les marqueurs caractéristiques des lymphocytes B et T (on les appelle d'ailleurs souvent lymphocytes nus ou non B-non T), ils sont souvent porteurs de certains marqueurs phénotypiques des lignées T (récepteur pour érythrocytes de mouton, marqueur CD8). Toutefois, ils sont aussi porteurs de marqueurs membranaires des monocytes/macrophages, outre le fait qu'ils peuvent être reconnus par des marqueurs qui les caractérisent exclusivement (antigène NK). Dès lors, leur origine pourrait être intermédiaire entre les lignées lymphoïdes T et myéloïdes monocytaires, se rapprochant davantage de l'une ou l'autre de ces lignées selon le cas. Etant indépendantes du thymus pour leur maturation, il n'est donc pas étonnant qu'on les trouve chez des animaux dépourvus de thymus (souris Nude) (Fig. 2-7).

Chez la souris, les cellules NK se présentent comme de grandes cellules mononucléées, d'aspect lymphoblastique plus que monocyttaire. Dans le cytoplasme de nombreux NK existent quelques gros granules : ces cellules sont dénommées LGL (large granular lymphocytes). Toutefois, il existe aussi des cellules fonctionnellement NK qui sont dépourvues de tels granules (LAL = large agranular lymphocytes).

Ce type de cellules NK a aussi été trouvé chez l'homme et chez diverses espèces animales [14], de même que chez des invertébrés supérieurs; ce qui laisse supposer qu'il s'agit d'un mécanisme de défense cytotoxique apparu depuis longtemps au cours de l'évolution; des cellules NK apparaissent

d'ailleurs très tôt au cours de l'ontogénèse chez le fœtus humain.

Les cellules NK possèdent une activité cytolytique spontanée sur des cellules tumorales d'origines diverses en culture in vitro. Cette activité cytolytique des cellules NK d'individus normaux peut être rapidement accrue, particulièrement après contact avec de l'interféron. Mais elle est aussi sensible à des influences inhibitrices (macrophages, lymphocytes T suppresseurs, prostaglandines E, AMPc).

Plusieurs constatations autorisent à croire que les cellules NK sont aussi actives in vivo. Leur réactivité est plus démonstrative dans le sang que dans les organes lymphoïdes : elles sont à la base de l'élimination rapide d'un faible inoculum de cellules tumorales par voie sanguine chez la souris. Il est possible que leur action cytolytique contrôle naturellement la dissémination hémotogène des cellules cancéreuses et s'oppose ainsi aux métastases.

La sensibilité à l'action cytolytique des NK n'est pas limitée aux cellules malignes : les cellules indifférenciées, les cellules infectées par des virus, certains parasites extracellulaires (trypanosomes) y sont aussi sensibles. Ces cellules-cibles possèdent des éléments particuliers sur leur membrane (déterminants NK) qui sont reconnus par des récepteurs NK sur les cellules NK. Après cette reconnaissance, les cellules NK libèrent des facteurs cytotoxiques (perforines, cytotoxines) [13]. La nature biochimique des déterminants NK n'est pas encore précisée; il pourrait s'agir de

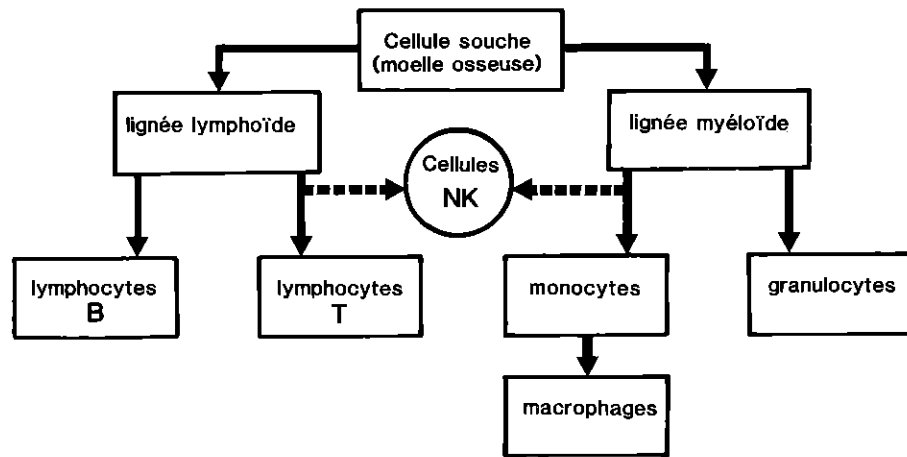


Figure 2-7 Origine présumptive des cellules NK.

capacité d'un  
ules. Ce phé-  
néfrique pour  
de ses cellules  
cancéreuses et  
rés au rôle que  
ense spécifique  
otoxicité : lym-  
ps divers. Ce  
ntigènes spéci-  
les à éliminer :  
viraux.  
organisme était  
on spécifiques,  
identifiées sur  
tant syngéni-  
iques. La sur-  
veillance spéci-  
ntaires, interve-  
processus de  
ance non spéci-  
e une première  
rs et les infec-  
pour autant que  
it peu élevé. Si  
s suffisante, le  
vre ses moyens  
rtains n'auront  
spécifiquement  
n non discrimi-  
iques non spéci-  
anticorps-dépen-  
non spécifiques  
ont de plusieurs

» (NK)

ni les leucocytes  
onnué par leur  
les tumorales in  
ble de l'animal  
lignée(s) cellu-  
NK est (sont)  
que le processus  
t les cellules à  
ctivité NK soit  
s différentes, se  
omme des lym-

séquences osidiques caractéristiques de certains états cellulaires.

Plus une cellule est indifférenciée, plus elle est sensible : par exemple, des cellules carcinomateuses embryonnaires sont plus rapidement lysées *in vivo* par des cellules NK, que des cellules endodermiques plus différenciées provenant du même tératome parental.

Étant donné que la cytotoxicité spécifique par lymphocytes T n'est dirigée que contre des cellules porteuses de certains antigènes (notamment les antigènes d'histocompatibilité), la cytotoxicité non spécifique par lymphocytes NK apparaît comme un moyen d'élimination des cellules peu différenciées, sur lesquelles les antigènes de maturation sont peu représentés et qui ne seraient dès lors pas neutralisées par les moyens spécifiques. D'où l'efficacité des cellules NK, constatée *in vitro* contre des cellules embryonnaires porteuses de constituants membranaires phylogénétiquement conservés. Leurs cibles principales sont en effet les cellules immatures bloquées dans des étapes initiales de leur différenciation et des cellules tumorales sur lesquelles sont réexprimés des antigènes embryonnaires.

### Monocytes et polynucléaires neutrophiles

Ces cellules possèdent aussi une activité cytotoxique spontanée contre des cellules tumorales en culture. Toutefois, cet effet peut être inégalement réparti entre ces cellules selon les espèces : ainsi chez les bovins, l'activité cytotoxique est principalement réservée aux neutrophiles alors que chez l'homme il semble que les monocytes soient plus actifs à cet égard [4].

L'effet de ces cellules est, selon le cas, soit cytolytique, soit simplement cytostatique. Il peut être fortement accru par certains facteurs libérés par des lymphocytes T activés (lymphokines, parmi lesquelles : l'interféron gamma qui est actuellement confondu avec le « macrophage activating factor »). Leur effet cytotoxique est aussi stimulé par des produits bactériens (endotoxines). Après stimulation, ces cellules libèrent des cytotoxines létales non seulement pour des cellules tumorales (« facteur nécrosant des tissus » libéré par les macrophages) mais aussi pour des cellules infectées de virus ou parasites. Elles jouent donc un rôle, dont l'importance est difficile à apprécier, dans le contrôle initial des infections virales.

### Cellules cytotoxiques anticorps-dépendantes (ADCC)

Les monocytes et polynucléaires, de même que certains LGL (mais pas tous) verront leur capacité de reconnaissance des cellules-cibles fortement accrue lorsque ces cibles sont recouvertes d'anticorps spécifiques. En effet, ces cellules cytotoxiques possèdent en commun des récepteurs pour la partie Fc des IgG. Par ces RFc, elles entrent facilement en contact avec les cellules à éliminer et focalisent sur elles leur pouvoir cytotoxique fondamentalement non spécifique. De cette manière, leur réactivité non spécifique sera exploitée par la réponse spécifique humorale dirigée contre des antigènes membranaires des cellules-cibles. L'efficacité des cellules ADCC ne sera dès lors plus laissée au hasard de leur rencontre d'une cellule-cible, mais sera électivement dirigée contre celle-ci.

## DÉFENSE DE TYPE HUMORAL

Les liquides organiques (sang, lymphe, sécrétions, sérosités) participent au processus de défense par des facteurs solubles dotés de propriétés antibactériennes ou antivirales selon le cas. Parmi ces facteurs humoraux, il faut mentionner :

### ANTICORPS NATURELS

On appelle anticorps naturels ceux qui existent dans le sérum d'individus normaux en dehors de toute immunisation spécifique d'origine infectieuse ou vaccinale. En réalité, ces anticorps naturels sont produits selon le même processus que les anticorps immuns résultant d'une immunisation spécifique. Il faut toutefois mentionner leur existence dans le cadre de l'immunité non spécifique eu égard au fait que leur présence dans les humeurs est « naturelle » c'est-à-dire non consécutive à une immunisation volontaire ou post-infectieuse.

À part les anticorps naturels éventuellement transmis de la mère au nouveau-né par voie transplacentaire ou colostrale, et disparaissant au cours des premiers temps de la vie, des anticorps naturels sont ultérieurement produits par l'individu lui-même, en nombre et en concentration

croissants, la période de la résorption bactérienne (origine végétale axéniques, de flore intestinale et seulement alimentaire). produites par le marqueur C

Les noms tant dans la réaction d'immunité normale avec des cellules normales par des bactéries n'est pas possèdent vis-à-vis d'une réaction avec appelle ces Mais le pou peut s'étendre rohémagglutination du sérum d'une d'une espèce de sérum de poly-magglutination diverses espèces globules rou-tinés par le espèce, on p-particulièrement humain (iso de groupe A espèces animales d'isohémagglutination celui des chats de gr

Des croisements entre anticorps naturels et la flore digestive naturel contiennent pro

### SYSTÈME

Le système ensemble de



croissants, pour atteindre un maximum à la fin de la période de croissance. Leur synthèse résulte de la résorption intestinale d'antigènes de la flore bactérienne normale ou des aliments ingérés (origine végétale principalement) : les animaux axéniques, élevés en isolateur aseptique et privés de flore intestinale, n'en produisent que très peu, et seulement en réponse à des antigènes d'origine alimentaire. Ces anticorps naturels sont des IgM produites par des lymphocytes B portant le marqueur CD5.

Les nombreux croisements antigéniques existant dans le monde vivant sont à la base de la réaction des anticorps naturels des sérums normaux avec des bactéries, des globules rouges, des cellules animales ou végétales. Les sérums normaux provoquent ainsi souvent l'agglutination de bactéries en suspension. Ce pouvoir agglutinant n'est pas constant : certains sérums le possèdent vis-à-vis de certaines bactéries et pas vis-à-vis d'autres, la situation pouvant être différente avec d'autres couples sérum-bactéries. On appelle ces anticorps : agglutinines naturelles. Mais le pouvoir agglutinant des sérums normaux peut s'étendre à des hématies. On qualifie d'hétérohémagglutinines naturelles les anticorps du sérum d'une espèce qui agglutinent des hématies d'une espèce animale différente; par exemple, le sérum de poule contient de nombreuses hétérohémagglutinines pour des globules rouges de diverses espèces animales. Dans le cas où des globules rouges de certains individus sont agglutinés par le sérum d'autres individus de la même espèce, on parle d'isohémagglutinines. Elles sont particulièrement démonstratives dans le sérum humain (isohémagglutinines contre les antigènes de groupe A et B). Le sérum de la plupart des espèces animales domestiques ne contient pas d'isohémagglutinines naturelles, à l'exception de celui des chiens de groupe sanguin DEA-7 (qui contient des anti-DEA-7 naturels) et celui des chats de groupe B qui contient des anti-A.

Des croisements antigéniques sont aussi fréquents entre bactéries et expliquent que des anticorps naturels contre des bactéries banales de la flore digestive peuvent jouer un rôle bénéfique naturel contre des bactéries pathogènes antigéniquement proches.

### SYSTÈME DU COMPLÉMENT

Le système du complément consiste en un ensemble de protéines sanguines qui sera détaillé

plus loin. Toutefois, les composants de ce système qui participent à la voie alternative de son activation (ces composants constituent le système de la properdine, d'après le nom d'un de ses éléments) sont susceptibles de jouer un rôle non spécifique important dans la défense antibactérienne et doivent donc être mentionnés parmi les facteurs humoraux de la défense naturelle.

Le rôle biologique de la voie alternative d'activation du complément semble important pour la défense contre certaines infections bactériennes, voire virales, sans nécessiter la mise en place de la défense humorale spécifique. Différents activateurs non spécifiques peuvent déclencher le processus de son activation :

— des constituants de parois bactériennes. Les bactéries à Gram négatif par leurs lipopolysaccharides pariétaux (endotoxines), sont toujours activatrices de la voie alternative. Mais des bactéries à Gram positif peuvent l'être aussi par des polysaccharides de surface;

— des composants polysaccharidiques de membranes cellulaires. Le fait est bien connu pour le zymosan, polysaccharide insoluble extrait de la membrane de levures; d'autres polysaccharides, telle l'inuline, partagent la même propriété. L'activation de la voie alternative n'est cependant pas engagée par les polysaccharides membranaires des cellules normales de l'organisme même. Les acides sialiques terminaux de ces chaînes polysaccharidiques semblent supporter la distinction du soi et du non-soi à ce niveau. Si on enlève ces acides sialiques au moyen de neuraminidase, les membranes du soi deviennent activatrices du complément. On peut ainsi comprendre que des cellules infectées par des virus et des cellules anormales (cancéreuses, vieilles, etc.) sur la surface desquelles il y a expression de polysaccharides modifiés peuvent devenir activatrices du complément et en subir l'effet cytolytique. On constate que des lambeaux de membranes cellulaires lésées agissent de même : ce fait permet de comprendre que, chez des accidentés avec lésions importantes, on observe une forte activation du complément dans les heures qui suivent l'accident, ce qui engendre la formation de C3a et C5a, responsables du « poumon de choc » avec accumulation de neutrophiles dans le tissu pulmonaire.

### BACTÉRICIDINES

On donne le nom de bactéricidines à des facteurs trouvés dans le sérum normal et exerçant

une activité bactéricide contre certaines bactéries. Ce pouvoir bactéricide n'existe cependant pas dans le plasma; sa mise en place exige la coagulation préalable du sang.

Plusieurs substances différentes sont douées de ce pouvoir bactéricide.

### Lysosyme

Le lysosyme est une protéine basique (15 kd) qui possède une fonction enzymatique mucolytique pour le mucopolypeptide basal de la paroi bactérienne : la muréine. Celle-ci est clivée par le lysozyme entre le N-acétyl-glucosamine et l'acide N-acétyl-muramique de leur chaîne polymérisée. Cette enzyme a été découverte par Fleming en 1922. Elle est présente dans les larmes, les sécrétions nasales, le colostrum; sa concentration est particulièrement élevée dans les granules lysosomiaux des polynucléaires neutrophiles et des macrophages pulmonaires d'où elle est relarguée en cas de lésion. Cette origine polynucléaire explique sa présence dans les sérosités inflammatoires et dans le sérum issu de la coagulation du sang total. On la trouve aussi en relative abondance dans le blanc d'œuf.

Elle est très active sur les bactéries à Gram positif saprophytes, mais son activité est peu importante sur les bactéries pathogènes qui se définissent précisément par leur aptitude à s'implanter dans les tissus malgré les défenses de l'hôte. Une suspension épaisse de germes sensibles, additionnée d'une trace de blanc d'œuf, se clarifie en quelques minutes.

Le lysosyme a pu être purifié sous forme cristalline. Son étude par cristallographie aux rayons X a défini sa structure tridimensionnelle : entre deux parties denses de la molécule, il existe une « crevasse » qui reconnaît spécifiquement les polysaccharides constitutifs de la muréine; une séquence de six sucres trouve place dans cette crevasse où la rupture entre la quatrième et la cinquième molécule de sucre est opérée.

### Bêta-lysines

Il a été reconnu que les plaquettes sanguines étaient la source d'une petite protéine basique (6 kd) qu'elles libéraient lors de leur agrégation au cours de la coagulation. Cette protéine est stockée dans les granules des plaquettes sanguines. On l'a appelée «  $\beta$ -lysine d'origine plaquettaire », pour la distinguer d'une autre

protéine différente, possédant la même activité, isolée à partir de lysosomes leucocytaires et baptisée «  $\beta$ -lysine non plaquettaire » (pour mettre l'accent sur l'incertitude quant à son origine). La preuve de l'origine plaquettaire de la  $\beta$ -lysine résulte de la constatation que le sérum, obtenu par coagulation du plasma, n'en contient pas, sauf si on a enrichi ce plasma en plaquettes sanguines.

Des  $\beta$ -lysines sont également trouvées dans la salive et dans les larmes, où leur présence serait assurée par une synthèse à partir de cellules sécrétrices des glandes salivaires et du canal lacrymal.

Leur effet sur les bactéries sensibles consiste en une lyse de leur paroi; après contact du sérum actif, la lyse de bactéries Gram positif s'effectue en quelques minutes. Il est vraisemblable que cette efficacité bactériolytique remarquable de la part du lysozyme et des  $\beta$ -lysines, capables de tuer les millions de bactéries saprophytes qui entrent continuellement en contact avec les tissus de l'organisme au niveau des plaies, fait partie des mécanismes naturels de défense non spécifique.

### INTERFÉRONS

En 1957, Isaacs et Lindenmann établissent in vitro les bases explicatives d'un phénomène observé in vivo : un animal en état d'infection virale est momentanément rendu réfractaire à une autre infection par un virus antigéniquement différent. Ce phénomène d'interférence dépend de l'émission d'un facteur soluble par les cellules infectées. L'analyse ultérieure du phénomène révéla qu'il résultait de l'action d'une famille de molécules glycoprotéiques : les interférons.

Parmi les interférons, on distingue :

**Des interférons de type 1 :** les interférons alpha, produits par des cultures leucocytaires, et l'interféron bêta, produit par des cultures fibroblastiques. Ces interférons de type 1 sont stables à pH acide ( $\rightarrow$  pH 2) et ont des poids moléculaires s'échelonnant de 20 à 40 kd. En principe, toute cellule peut synthétiser ce type d'interférons sous l'influence inductrice d'acides nucléiques exogènes introduits dans son cytoplasme sous forme de virus, de parasites ou micro-organismes intracellulaires (rickettsies, *Chlamydia*, *Brucella*, *Listeria*, toxoplasmes, leishmanies, etc.), de polynucléotides synthétiques. In vivo, ces interférons sont produits à un stade précoce de l'infection

virale : le t  
18<sup>e</sup> heure a  
entre le deu  
anticorps n  
même temp  
augmente,  
d'interférons  
défense anti  
Toutefois c  
interférons c  
le stimulus

**Un interfe**  
immun), pro  
soit par un  
auxquels ils  
interférons  
acide et par  
Cet interfe  
libérées par  
feste une ac  
virale moind  
mais intervie  
interactions

### PROTÉINE

En 1930,  
protéine par  
atteints de p  
coques). Il s  
faisait parti  
ques dont la  
ment augme  
formes de lé  
toire, infect  
protéique pla  
« phase prot  
La protéin  
dénommée «  
capacité de f  
C, antigène  
s'agit d'une  
caractéristiq  
de la CRP h  
de tous les  
téléostéens.  
protéine à t  
l'évolution s  
tions importa  
nismes de d  
La CRP a  
différents pr

même activité, macrocytaires et « stable » (pour quant à son caractère de la que le sérum, n'en contient en plaquettes

ouvées dans la présence serait air de cellules et du canal

les consiste en tact du sérum positif s'effectue semblable que remarquable de la s, capables de prophytes qui avec les tissus, fait partie des on spécifique.

établissent in n phénomène état d'infection infractaire à une antigéniquement ence dépend de ar les cellules du phénomène une famille de interférons. gue :

les interférons macrocytaires, et cultures fibro- l sont stables à ls moléculaires principe, toute interférons sous s nucléiques toplasme sous cro-organismes *typhimur*, *Brucella*, etc.), de poly- ces interférons de l'infection

virale : le taux sanguin en est décelable dès la 18<sup>e</sup> heure après l'infection et passe par un pic entre le deuxième et le sixième jour alors que les anticorps n'apparaissent qu'ultérieurement. En même temps que le taux sanguin des interférons augmente, la virémie décroît. La production d'interférons apparaît donc comme un moyen de défense antivirale précoce et non spécifique [6]. Toutefois cette protection est passagère : les interférons disparaissent rapidement dès que cesse le stimulus d'induction.

**Un interféron de type 2 :** (interféron gamma ou immun), produit par des lymphocytes T stimulés soit par un mitogène (PHA), soit par un antigène auxquels ils sont sensibilisés. Il se distingue des interférons de type 1 par sa dégradation à pH acide et par son poids moléculaire (70 à 90 kD). Cet interféron gamma fait partie des cytokines libérées par des lymphocytes T activés : il manifeste une activité inhibitrice sur la multiplication virale moindre que celle des interférons de type 1, mais intervient de manière déterminante dans les interactions cellulaires des réponses spécifiques.

### PROTÉINE C-RÉACTIVE (CRP)

En 1930, Tillet et Francis découvrent une protéine particulière dans le sérum de patients atteints de pneumonie à *S. pneumoniae* (pneumocoques). Il s'avéra par la suite que cette protéine faisait partie d'un groupe de protéines plasmatiques dont la concentration sanguine était fortement augmentée en réponse à de nombreuses formes de lésions tissulaires, de nature inflammatoire, infectieuse ou néoplasique : cette réponse protéique plasmatique est connue sous le nom de « phase protéique aiguë ».

La protéine découverte par Tillet-Francis fut dénommée « protéine C-réactive », étant donné sa capacité de former un précipité avec le polysaccharide C, antigène somatique des pneumocoques. Il s'agit d'une  $\alpha$ -globuline. Des protéines ayant des caractéristiques et propriétés comparables à celles de la CRP humaine, se retrouvent dans le plasma de tous les vertébrés, y compris les poissons téléostéens. La conservation de ce type de protéine à travers tout le phylum au cours de l'évolution suggère qu'elle doit avoir des fonctions importantes, probablement dans les mécanismes de défense non spécifique.

La CRP a la propriété de se lier à des ligands différents présents sur de nombreuses bactéries,

champignons et parasites; elle peut aussi se lier à des composants endogènes, tels que des phospholipides d'origine membranaire. Après fixation sur son ligand, la CRP possède des propriétés analogues à celles des anticorps : agglutination des ligands particuliers (bactéries)/activation du complément/opsonisation des proies, soit directement soit par formation de C3b.

La CRP confère ainsi une protection contre des infections causées par des bactéries. D'autre part, en se déposant sur des sites membranaires de cellules lésées, la CRP contribue à l'apparition des réactions inflammatoires nécessaires au processus de réparation tissulaire [18].

La biosynthèse de la CRP (et des protéines de la phase aiguë) est accomplie par les hépatocytes; cette synthèse est fortement accrue en réponse à divers stimuli : infections aiguës et réactions inflammatoires accompagnant des états pathologiques très divers, englobant des néoplasies, les infarctus du myocarde, l'injection de lipopolysaccharides bactériens (vaccins TABC), des maladies auto-immunes (lupus érythémateux), des maladies par complexes immuns (rhumatisme articulaire aigu).

La synthèse en est très rapide, de telle sorte que le taux sanguin de CRP est déjà élevé dans les heures qui suivent une infection. La CRP constitue donc une défense précoce contre de nombreuses infections; par son action sur les bactéries sensibles, la CRP mime l'action des anticorps, mais elle se distingue de ceux-ci par sa précocité, par son caractère non spécifique et par son indépendance du système immunitaire.

### DÉFENSE D'ORDRE MÉTABOLIQUE

Souvent signe avant-coureur d'un état infectieux, la fièvre résulte d'une modification du contrôle homéothermique dévolu à un centre hypothalamique. Le seuil thermique alertant ce centre thermorégulateur est relevé, de même manière que le niveau de réaction du thermostat commandant une installation de chauffage peut être modifié pour élever la température ambiante d'un local.

L'hyperthermie caractéristique de la fièvre est le résultat d'une chaîne réactionnelle engagée par

des « pyrétogènes exogènes » et retentissant in fine sur les neurones du centre thermorégulateur hypothalamique. Les principaux pyrétogènes exogènes sont des lipopolysaccharides bactériens, libérés par les bactéries à Gram négatif. Leur phagocytose par des cellules de la lignée monocyto-macrophagique y stimule la production de cytokines, parmi lesquelles se trouve l'interleukine 1 (IL-1). Le rôle de l'IL-1 est complexe : d'une part elle active les lymphocytes T dans le cadre de la réponse immune spécifique; d'autre part, elle exerce diverses médiations dans le cadre des défenses non spécifiques. L'IL-1 correspond non seulement au facteur LEM (leukocyte endogenous mediator) qui favorise la maturation, la marginalisation et la diapédèse de polynucléaires neutrophiles, et induit la synthèse des protéines de la phase aiguë par les hépatocytes, mais l'IL-1 s'identifie aussi au facteur « pyrétogène endogène », un des responsables de l'hyperthermie.

Le rôle de l'IL-1 dans ces différents domaines est indirect et dû à son pouvoir de libération d'autres médiateurs (IFN, CSF, prostaglandines PG). L'IL-1 serait un stimulateur de l'enzyme cyclo-oxygénase, qui transforme l'acide arachidonique en PG.

La participation de la cyclo-oxygénase dans l'induction de la fièvre est réelle, comme le prouve l'effet antipyrétique de l'aspirine et des anti-inflammatoires non stéroïdiens (indométacine) qui inhibent cette enzyme. Toutefois, le rôle des PG est peu clair : alors que l'acide arachidonique est pyrétogène, l'administration des PG connues ne l'est pas. Peut-être sont-ce des dérivés non encore identifiés de l'acide arachidonique qui influencent les neurones hypothalamiques et sont des médiateurs de la fièvre.

Le rôle bénéfique de l'hyperthermie dans la défense anti-infectieuse [3] est certain et reconnu depuis longtemps; avant l'ère des antibiotiques, certaines infections étaient même traitées par une hyperthermie provoquée. Certaines infections virales sont notablement thermo-dépendantes.

Il est vraisemblable que le bénéfice de l'élévation de température réside dans une augmentation du métabolisme cellulaire général. C'est pourquoi les antipyrétiques (aspirine) et les antagonistes des prostaglandines peuvent favoriser certaines infections : l'administration d'antipyrine à la poule la rend sensible au charbon, causé par *Bacillus anthracis*, alors qu'elle y résiste naturellement; l'immersion des pattes de cet animal dans de l'eau froide entraîne la même sensibilité, comme

Pasteur l'avait déjà montré en 1877; en outre, du fait de l'élévation de l'activité métabolique de tous les systèmes cellulaires, il s'ensuit une glycolyse anaérobie accrue, avec accumulation d'acide lactique dans les humeurs. Cette acidose est inhibitrice du développement de nombreux agents infectieux.

Il est donc contre-indiqué de s'opposer à toute manifestation d'hyperthermie dès le moindre signe de son apparition : il ne faut la contrer qu'en cas d'hyperthermie excessive ou de durée anormale.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN RC, STJERNHOLM RL, STEEL RH. Evidence for the generation of an electron excitation state in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 1972, 47 : 679-684.
2. ANDERSON CL, LOONEY RJ. Human leukocyte IgG<sub>Fc</sub> receptors. *Immunology Today*, 1986, 7 : 264-266.
3. ASHMAN RB, MULLERBACKER A. Infectious disease, fever and the immune response. *Immunology Today*, 1984, 5 : 268-271.
4. BIELEFELDT H, DAVIS WC, BABIUK LA. Functional and phenotypic characteristics of bovine natural cytotoxic cells. *Immunology*, 1985, 169 : 503-519.
5. BIOZZI G, SIQUEIRA M, STIFFEL C et al. Genetic selection for relevant immunological functions. In : M Fougereau, A Dausset, *Immunology* 80, New York, Academic Press, 1980 : 432-457.
6. BOCCI V. The physiological interferon response. *Immunology Today*, 1985, 6 : 7-9.
7. CURTIS J, ADU HO, TURK JL. A lack of correlation between antigen-specific cellular reactions and resistance to *Mycobacterium lepraemurium* in mice. *Immunology*, 1981, 43 : 293-301.
8. GRIFFIN JM JR, GRIFFIN JA, LEIDER JE et al. Studies on the mechanism of phagocytosis. *J Exp Med*, 1975, 142 : 1263.
9. HIGGS GA. Arachidonic acid metabolism in leukocytes. In : ML Karnowsky, L Bolis. *Phagocytosis : Past and Future*, New York, Academic Press, 1982 : 105-129.
10. HIRSCH JE. The phagocytic Cell in Host Resistance : a perspective summation. In : JA Bellanti, DH Dayton, New York, Raven Press, 1975 : 333-340.
11. HUBER H, POLLEY MJ, LUISCOTT WD et al. Human monocytes : distinct receptor sites for the third component of complement and for immunoglobulin G. *Science*, 1968, 162 : 1281.
12. KAPLAN G. Differences in the mode of phagocytosis with Fc and C3 receptors in macrophages. *Scand J Immunol*, 1977, 6 : 793-802.
13. KOREN HS. Proposed classification of leukocyte associated cytolytic molecules. *Immunology Today*, 1987, 3 : 69-71.
14. LEIBOLD W. Natural killing (NK) : some crucial questions. In : PJ Quinn, *Cell Mediated Immunity*, CBE Agriculture, Report Eur 8898, 1984 : 122-136.
15. LEIJH PCJ, VAN FURTH R, VAN ZWET TH. In vitro

determinat  
polymorph  
DW Weir,  
2. Cellulal  
1986, chap  
16. LOSTRIE-T  
Familial in  
cattle. In :  
Agriculture  
17. PAAPE MJ,  
defense of

7; en outre, du  
métabolique de  
s'ensuit une  
accumulation  
Cette acidose  
de nombreux

opposer à toute  
moindre signe  
entrer qu'en cas  
urée anormale.

RH. Evidence for  
on state in human  
s participation in  
ys Res Commun,

leukocyte IgGfC  
7 : 264-266.  
tious disease, fever  
y Today, 1984, 5 :

LA. Functional and  
natural cytotoxic  
519.

l. Genetic selection  
In : M Fougereau,  
k, Academic Press,

response. Immuno-

lack of correlation  
ions and resistance  
nice. Immunology,

E et al. Studies on  
b Med, 1975, 142 :

dism in leukocytes.  
ocytosis : Past and  
1982 : 105-129.

Host Resistance : a  
lanti, DH Dayton,  
-340.

WD et al. Human  
the third component  
bulin G. Science,

f phagocytosis with  
Scand J Immunol,

of leukocyte asso-  
y Today, 1987, 3 :

some crucial ques-  
ed Immunity, CEE  
: 122-136.

WET TH. In vitro

determination of phagocytosis and intracellular killing by  
polymorphonuclear and mononuclear phagocytes. In :  
DW Weir, The Handbook of Experimental Immunology.  
2. Cellular Immunology, Oxford, Blackwell Scientific,  
1986, chap. 46.

16. LOSTRIE-TRUSSART N, LETESSON JJ, DEPELCHIN A. Familial influence of polymorphonuclear functions in cattle. In : PJ Quinn, Cell Mediated Immunity, CEE Agriculture, Report Eur 8898, 1984 : 260-269.
17. PAAPE MJ, WERGIN WP, GUITRY AJ et al. Phagocytic defense of the ruminant mammary gland. In : JE Butler,

The Ruminant Immune System, New York, Plenum Press, 1981 : 555-578.

18. PEPYS MB. C-reactive protein and the acute phase response. Immunology Today, 1982, 3 : 27-30.
19. QUIE PG, YANAI M, ABRAMSON JS et al. Oxydative events associated with microbicidal activity in phagocytic cells. In : ML Karnowsky, L Bobis. Phagocytosis : Past and Future, New York, Academic Press, 1982 : 463-474.
20. REYNOLDS CW, ORTALDO JR. Natural killer activity : the definition of a function rather than a cell type. Immunology Today, 1987, 3 : 172-174.

J. Hoebeke

## ANTIGÉNICITÉ ET IMMUNOGÉNICITÉ

Avant d'examiner dans le détail les connaissances actuelles sur les bases moléculaires de l'antigénicité d'une molécule donnée, il est important de bien définir les notions d'antigénicité et d'immunogénicité. L'antigénicité est l'aptitude à contracter une liaison spécifique avec un anticorps ou un récepteur impliqué dans la réponse immune; l'immunogénicité est la capacité de stimuler la réponse immune. L'antigénicité n'a donc, par définition, pas de limites puisque chaque structure chimique de nature organique, pourvu que les conditions immunogéniques soient remplies, peut donner lieu à une réponse immune. Les deux premiers paragraphes étudient les propriétés des structures qui sont reconnues par le système immunitaire; le troisième examine les conditions de l'immunogénicité. Celles-ci peuvent être d'ordre intrinsèque, liées à la nature de la molécule antigénique et aux conditions d'immunisation ou d'ordre extrinsèque, dépendantes du potentiel génétique de l'espèce dans laquelle la réponse immune est suscitée. Un dernier para-

graphe examinera les connaissances actuelles sur la manière dont les cellules impliquées dans la réponse immune modifient les molécules antigéniques.

### PROPRIÉTÉS DE L'ANTIGÈNE

Etant donné la grande quantité de substances naturelles et synthétiques (protéines, polymères synthétiques d'acides aminés, polysaccharides, acides nucléiques et lipides) qui sont capables d'induire une réponse immune, la recherche d'une base structurale commune peut sembler vaine. Quelques propriétés de structure nécessaires à la reconnaissance spécifique par les anticorps ont cependant pu être reconnues par l'étude de l'antigénicité de divers polypeptides et polysaccharides synthétiques.

## POLYPEPTIDES SYNTHÉTIQUES

Dans une série de travaux désormais classiques, Sela et coll. [10] ont démontré l'importance de l'accessibilité au solvant d'un motif structural pour que celui-ci puisse être antigénique. En effet, des résidus tyrosine et acide glutamique attachés, par une chaîne poly-D,L-alanine, à une branche poly-L-lysine induisent des anticorps spécifiques contre ces résidus terminaux. Si, au contraire, la chaîne poly-D,L-alanine est reliée à la branche polylysine par l'intermédiaire de la tyrosine et de l'acide glutamique, les anticorps induits par cet antigène sont uniquement dirigés contre les résidus alanine.

Une seconde propriété, nécessaire à l'antigénicité d'une molécule, qui peut être déduite des travaux sur les polypeptides synthétiques, est la complexité structurale. Alors que les homopolymères d'acides aminés induisent une réponse immune faible, l'introduction d'un second ou d'un troisième acide aminé différent induit des anticorps à des taux similaires à ceux obtenus par injection d'un conjugué homopolymère-protéine.

Une troisième propriété a trait à la dimension optimale pour qu'une molécule soit antigénique. Le pouvoir inhibant d'oligolysines sur l'immuno-précipitation du conjugué polylysine-sérum-albumine bovine par des anticorps de lapin antipolylysine démontre que le degré d'inhibition n'augmente plus au-delà de la nonalysine tandis que les oligolysines composés de 5 ou de 6 lysines ont une efficacité optimale. Des résultats essentiellement similaires ont été obtenus en utilisant le système poly-D-acide glutamique.

## CARBOHYDRATES

La plupart des antigènes bactériens aussi bien que ceux des groupes sanguins sont de nature osidique. Leur étude structurale est présentée dans les chapitres 22 et 48. L'utilisation de polysaccharides à structure simple a, comme pour les polypeptides synthétiques, permis de préciser la taille optimale des déterminants antigéniques de nature osidique. Après avoir démontré que les dextrans, polysaccharides linéaires uniquement composés de résidus isomaltosiques, peuvent induire une réponse immune chez l'homme, Kabat a défini les dimensions moléculaires optimales du site de combinaison comme étant  $34 \times 27 \times 7 \text{ \AA}$ , ce qui correspond à celles de l'isomaltohexose

ayant le pouvoir inhibant optimal [5]. Il est intéressant de rapprocher cette valeur de celle définie pour le hexa-acide glutamique ( $36 \times 10 \times 6 \text{ \AA}$ ) inhibiteur optimal des anticorps anti-poly-D-acide glutamique.

## ÉPITOPES ET HAPTÈNES

Les propriétés d'accessibilité au solvant, de complexité minimale et de dimension optimale sont liées à la notion d'épitope ou de déterminant antigénique. Celui-ci peut être défini comme une partie d'un antigène, reconnue par le site de combinaison d'un anticorps ou d'un récepteur cellulaire impliqué dans la reconnaissance immune. Si l'antigène n'est constitué que d'un déterminant antigénique, il est appelé haptène et ne peut induire une réponse immune que lorsqu'il est conjugué en plusieurs exemplaires à un immunogène qui est appelé la molécule porteuse. Avant de décrire les antigènes à multiples déterminants antigéniques, il est important de s'arrêter aux haptènes puisqu'ils permettent d'étudier les propriétés structurales des déterminants antigéniques les plus simples.

## HAPTÈNES

Depuis les premiers travaux de Landsteiner [6] l'utilisation de molécules organiques simples que sont les haptènes a permis de mettre en relief non seulement la grande diversité de la réponse immune mais également sa grande spécificité. Ainsi, les isomères de substitution dans les noyaux aromatiques des haptènes sont reconnus avec des affinités très différentes; les isomères géométriques cis et trans sont facilement distingués par leurs anticorps spécifiques; la plupart des anticorps dirigés contre un des stéréo-isomères des carbohydrates ou des acides aminés sont incapables de reconnaître l'autre énantiomère. Une propriété remarquable de certains haptènes est d'induire une réponse spécifique pour l'une ou l'autre configuration bien que les deux soient immunogènes. Ainsi, les anticorps induits contre l'acide succinique reconnaissent mieux la conformation cis de l'acide maléique que la conformation trans de l'acide fumarique; les immunisations par le poly-D,L-alanine induisent de préférence

des anticorps  
mélange ra  
dipine cor  
beaucoup m  
actif.

Dans tou  
que des hap  
structure as  
combinaiso

## ÉPITOPES

Les épito  
propos de l'  
n'examiner  
protéines à  
continue en  
chaîne poly  
par les cellu  
que certains  
sont séquen  
c'est-à-dire  
proches assi  
mais non a

Il est ma  
nants antigé  
impliquant d  
cytotoxiques  
complexe n  
nature peptid  
séquence [9]  
visés en d  
l'interaction  
et l'autre rec  
[1]. L'interac  
tocompatibili  
monomolecu  
du complexe  
séquentielles  
action a une  
à  $10^6 \text{ M}^{-1}$ ,  
vitesse d'as  
faibles. Elle  
les acides a  
avec le récep  
ration adéqua  
des cellules  
deux exigenc

Une étude  
connus a pe  
tétrapeptidiq  
glycine suivi

al [5]. Il est  
aleur de celle  
ue ( $36 \times 10 \times$   
os anti-poly-D-

des anticorps contre le résidu D; l'injection d'un mélange racémique d'un analogue de la nicardipine conduit à des anticorps reconnaissant beaucoup mieux l'énantiomère physiologiquement actif.

Dans tous ces cas, la reconnaissance asymétrique des haptènes utilisés est uniquement due à la structure asymétrique tridimensionnelle du site de combinaison de l'anticorps.

### ÉPITOPES SÉQUENTIELS

u solvant, de  
nsion optimale  
de déterminant  
ini comme une  
par le site de  
d'un récepteur  
reconnaissance  
titué que d'un  
belé haptène et  
e que lorsqu'il  
nplaires à un  
écule porteuse.  
multiples déter-  
ant de s'arrêter  
t d'étudier les  
nants antigéni-

Les épitopes séquentiels ont déjà été évoqués à propos de l'antigénicité des polysaccharides: Nous n'examinerons ici que les épitopes séquentiels des protéines à savoir ceux constitués d'une séquence continue en acides aminés à l'intérieur d'une chaîne polypeptidique. Tous les épitopes reconnus par les cellules T semblent être de ce type, tandis que certains épitopes reconnus par les cellules B sont séquentiels et d'autres sont conformationnels c'est-à-dire qu'ils sont constitués d'acides aminés proches assurant la conformation de la protéine mais non adjacents dans la séquence primaire.

Il est maintenant bien établi que les déterminants antigéniques reconnus dans les réactions impliquant des cellules T (cellules auxiliaires ou cytotoxiques) dans un système restreint par le complexe majeur d'histocompatibilité, sont de nature peptidique et uniquement déterminés par la séquence [9]. Les épitopes T peuvent être subdivisés en deux parties: l'une responsable de l'interaction avec le système d'histocompatibilité et l'autre reconnue par le récepteur des cellules T [1]. L'interaction avec le complexe majeur d'histocompatibilité se fait d'une manière spécifique et monomoléculaire entre une région hypervariable du complexe et des peptides ayant des structures séquentielles homologues entre elles. Cette interaction a une constante d'affinité de l'ordre de  $10^5$  à  $10^6 \text{ M}^{-1}$ , déterminée par des constantes de vitesse d'association et de dissociation très faibles. Elle a comme conséquence de présenter les acides aminés impliqués dans l'interaction avec le récepteur des cellules T dans une configuration adéquate. Le motif séquentiel des épitopes des cellules T doit donc prendre en compte ces deux exigences structurales.

Une étude de tous les épitopes des cellules T connus a permis de faire ressortir une séquence térapeptidique commune (résidu chargé ou glycine suivi de deux acides aminés hydrophobes,

suivis d'un résidu polaire ou glycine) qui a démontré son potentiel prédictif [8]. Ce térapeptide doit être inclus dans une séquence minimale de 8 à 12 acides aminés pour permettre la stimulation complète des cellules T auxiliaires ou cytotoxiques.

L'étude approfondie des épitopes séquentiels d'une protéine reconnus par la réponse des cellules B a été menée à bonne fin en utilisant comme antigène la myohémérythrine, une protéine hémique musculaire des invertébrés correspondant à la myoglobine chez les vertébrés [4]. Les anticorps induits par cet antigène chez six lapins ont été testés pour leur capacité à reconnaître des hexapeptides couvrant la séquence complète de la protéine. Les résultats suggèrent d'abord qu'il y a une relation entre les régions à haute antigénicité et le titre de la réponse immune. En second lieu, ils ont permis de tester les différentes théories prédictives de l'antigénicité avec un modèle réel. Ces théories prévoient: la liaison du pouvoir antigénique d'une séquence à son hydrophilie, celle de l'antigénicité à la mobilité de la séquence au sein de la protéine entière ou celle des régions immunodominantes d'une protéine à leur accessibilité dans une sphère de diamètre correspondant aux dimensions du site de combinaison de l'anticorps ou à leur extrusion du volume central de la protéine compacte. Bien qu'une corrélation certaine existe entre ces théories et le modèle de la myohémérythrine, la théorie prédictive basée sur la mobilité d'un peptide au sein de la protéine entière correspond le plus au modèle. Il va de soi que d'autres modèles devront être étudiés afin de pouvoir affiner les différentes théories et les englober dans une théorie unique permettant de prédire exactement les épitopes séquentiels immunodominants dans une protéine.

### ÉPITOPES CONFORMATIONNELS

L'existence d'épitopes conformationnels ou épitopes discontinus dans une protéine a été mise en évidence pour la première fois sur le lysozyme. Ce même antigène a permis de visualiser également pour la première fois la structure tridimensionnelle du complexe antigène-anticorps et d'analyser les interactions existant entre les deux composants du complexe [2]. L'interaction de l'antigène avec l'anticorps peut être décrite par la métaphore classique « clé et serrure » à savoir que

Landsteiner [6]  
es simples que  
re en relief non  
de la réponse  
de spécificité.  
tion dans les  
sont reconnus  
s; les isomères  
ilement distin-  
s; la plupart des  
éo-isomères des  
nés sont inca-  
antiomère. Une  
s haptènes est  
pour l'une ou  
es deux soient  
s induits contre  
ieux la confor-  
e la conforma-  
immunisations  
de préférence



les surfaces de l'antigène en contact avec le site de combinaison de l'anticorps sont complémentaires (les résidus protubérants correspondant aux invaginations dans les deux molécules) (Planche couleur, Fig. 1). Cette complémentarité ne nécessite aucun changement conformationnel au niveau de l'antigène ou de l'anticorps.

Depuis la parution de cette première analyse tridimensionnelle d'un complexe antigène-anticorps, deux autres complexes ont été analysés, le premier utilisant également le lysozyme comme antigène [11], le second ayant la neuraminidase du virus de la grippe comme antigène [3]. Dans les deux cas, les épitopes reconnus sont de nature conformationnelle : l'épitope du lysozyme est constitué de trois segments oligopeptidiques (41-53, 67-72, 79-85); l'épitope de la neuraminidase est constitué des fragments 368-370, 400-403, 430-434 et probablement 325-350. Dans les deux derniers cas cependant, la métaphore « clé et serrure » n'est plus adaptée. En effet, l'interaction anticorps-lysozyme semble donner lieu à quelques changements légers dans la structure de l'épitope et une rotation de 180° d'un résidu tryptophane non impliqué dans l'interaction. Dans le cas du complexe avec la neuraminidase les changements conformationnels de l'antigène sont plus consistants et expliquent la neutralisation de l'enzyme malgré le fait que le site enzymatique ne soit pas impliqué dans l'interaction avec l'anticorps. En même temps l'analyse du site de liaison de l'anticorps suggère que là également des changements de conformation se sont produits. La métaphore avancée par les auteurs de l'analyse afin d'illustrer leurs résultats est celle « d'une poignée de main » dans laquelle la mobilité relative de l'antigène et de l'anticorps permet une complémentarité maximale. D'autres analyses cristallographiques de complexes antigène-anticorps seront nécessaires afin de déterminer les règles générales éventuelles régissant la reconnaissance des épitopes conformationnels.

## IMMUNOGÉNÉCITÉ DE DIVERSES MOLÉCULES

Comme il a été mentionné dans l'introduction, l'immunogénicité qui se définit par le pouvoir d'induire une réponse immunitaire est déterminée par la nature de l'antigène, la méthode d'immunisa-

tion et le potentiel génétique de l'animal immunisé. Ce dernier point étant discuté dans le chapitre 8, seuls les deux premiers seront abordés.

## NATURE DE L'ANTIGÈNE

Un premier groupe d'antigènes peut être défini par leur immunogénicité en absence de cellules T. Ce sont les antigènes T-indépendants. Les mieux connus sont les lipopolysaccharides des bactéries à Gram négatif, les polysaccharides comme les dextrans, le Ficoll et les lévanes, les poly-D-acides aminés et la flagelline bactérienne polymérisée. Une caractéristique particulière de tous ces antigènes est leur forme polymérique. Ainsi, la flagelline bactérienne monomérique est T-dépendante tandis que la flagelline polymérique est T-indépendante. Cette propriété est probablement à mettre en relation avec la nécessité d'induire un pontage entre les immunoglobulines de surface afin d'activer la cellule B. Une autre propriété des antigènes bactériens T-indépendants est leur pouvoir de stimuler la prolifération de cellules B en l'absence de récepteurs antigéniques spécifiques. Ce sont des activateurs polyclonaux des cellules B. Enfin, les antigènes T-indépendants induisent préférentiellement une réponse IgM mais peuvent occasionnellement induire une réponse secondaire de type IgG (IgG3, par exemple chez la souris).

La plupart des antigènes macromoléculaires de nature polypeptidique sont immunogéniques uniquement en présence de cellules T. Ce sont les antigènes T-dépendants caractérisés par leur pouvoir d'induire une réponse secondaire de type IgG. La reconnaissance de ces antigènes est liée à l'interaction d'une partie de leur séquence peptidique avec le complexe majeur d'histocompatibilité. Récemment, il a été démontré que des petits peptides composés d'au moins six acides aminés sont capables d'induire une production d'anticorps.

Ces peptides se distinguent donc du troisième groupe d'antigènes qui ne sont pas immunogéniques sans couplage préalable à un immunogène T-dépendant ou T-indépendant. Ce groupe est celui des haptènes et est composé principalement de molécules de poids moléculaire faible. Comme pour les antigènes T-indépendants, une condition essentielle pour que les haptènes puissent devenir immunogéniques est la présence de motifs antigéniques répétitifs sur la même molécule porteuse.

## MÉTOD

Selon la méthode d'immunisation, les cellules sont injectées ou

Ceci est l'antigène immunogène, c'est-à-dire la paralyse de la stimulation de l'antigène, c'est-à-dire les macrophages

## MÉTABOL

Les protéines macrophages la molécule de l'antigène fait qu'il est une signi-

La démonstration de l'antigène par des cellules physiologiques présentant l'antigène *monocytogène* cellules T et macrophages complexe majoritairement à la bactérie [12] macrophage immédiat de la bactérie.

Le traitement par la quinine ou le

de l'animal discuté dans le seront abordés.

peut être défini e de cellules T. ts. Les mieux s des bactéries es comme les s, les poly-D- rienne polymé- ère de tous ces ue. Ainsi, la e est T-dépen- blymérique est t probablement té d'induire un es de surface re propriété des s est leur pou- e cellules B en es spécifiques. ux des cellules dants induisent M mais peuvent onse secondaire chez la souris). moléculaires de immunogéniques T. Ce sont les s par leur pou- ndaire de type gènes est liée à séquence pepti- d'histocompati- ontré que des oins six acides une production nc du troisième s immunogéni- n immunogène Ce groupe est principalement faible. Comme , une condition uissent devenir e motifs antigé- écule porteuse.

## MÉTHODE D'IMMUNISATION

Selon la nature de l'immunogène, le choix de la méthode d'immunisation conduira à une réponse immune optimale. La plupart des antigènes particuliers à savoir les virus, les bactéries et les cellules sont immunogéniques en eux-mêmes et induisent une réponse immune lorsqu'ils sont injectés seuls.

Ceci est également le cas pour les macromolécules solubles T-indépendantes. Au contraire, les antigènes solubles T-dépendants sont très peu immunogènes et peuvent même devenir tolérogènes, c'est-à-dire qu'ils peuvent induire une paralysie de la réponse immune spécifique, s'ils sont injectés par voie intraveineuse à fortes doses. C'est pourquoi les antigènes solubles sont habituellement administrés en mélange avec des adjuvants, qui ont comme fonction de prolonger la stimulation antigénique en évitant la dispersion de l'antigène, de promouvoir des facteurs non spécifiques de chimiotaxie, de recruter des macrophages, des cellules T et B et de les activer.

## MÉTABOLISATION DE L'ANTIGÈNE

Les premiers essais suggérant qu'un antigène doit être métabolisé avant de pouvoir induire une réponse immune ont été effectués à l'aide de protéines radiomarquées. Bien que ces expériences démontrent clairement que les macrophages gardent une fraction métabolisée de la molécule durant plusieurs jours après présentation de l'antigène, l'information est limitée par le fait qu'il est impossible de savoir si cette fraction a une signification immunologique.

La démonstration directe d'une métabolisation de l'antigène préalablement à la reconnaissance par des cellules T fut faite en examinant l'attachement physique de cellules T aux macrophages présentant l'antigène. Utilisant la bactérie *Listeria monocytogenes*, Unanue et coll. ont établi que les cellules T spécifiques de l'antigène se lient aux macrophages qui expriment les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II identiques aux siennes après l'internalisation de la bactérie [12]. Les cellules T ne se lient pas au macrophage qui vient d'adsorber la bactérie, ni immédiatement après l'internalisation de cette bactérie.

Le traitement des macrophages par la chloroquine ou le chlorure d'ammonium, agents lysoso-

motropes inhibant le catabolisme intralysosomal, empêche la présentation efficace de l'antigène. Il faut donc que l'antigène passe par un compartiment lysosomal avant qu'un déterminant antigénique puisse être présenté à la surface de la cellule.

Ces résultats ont été confirmés pour des protéines globulaires. La plupart d'entre elles suivent le même chemin que *Listeria* à savoir une internalisation et un passage à travers un compartiment acide avant d'être présentées par le macrophage sous des formes allant de la molécule dénaturée à des petits fragments de protéolyse. Ces fragments protéolytiques, dont certains sont inaccessibles dans la protéine native, deviennent des déterminants antigéniques dans la molécule fragmentée.

Ces mécanismes assurant le catabolisme des antigènes dans les macrophages avant leur reconnaissance par des cellules spécifiques du système immunitaire sont également valables pour la présentation de l'antigène par les cellules B. Des cellules B spécifiques de la toxine tétanique et immortalisées par transformation avec le virus d'Epstein-Barr (*Human Herpesvirus 4*) sont capables de stimuler des hybridomes T spécifiques de l'antigène tétanique après incubation avec des concentrations picomolaires ( $10^{-12}$ M) de l'antigène. Cette stimulation est complètement inhibée si les cellules B sont préalablement fixées ou sont traitées à la chloroquine. Les cellules B non spécifiques de l'antigène sont également capables de présenter celui-ci mais à des concentrations 10 000 fois plus élevées [7]. Le catabolisme des antigènes par les cellules B spécifiques aurait donc comme avantage sur les cellules B non spécifiques ou les macrophages de concentrer les fragments antigéniques lors de la présentation dans le contexte du complexe majeur d'histocompatibilité.

Enfin, les cellules dendritiques de Langerhans, qui semblent jouer un rôle important en immunité de transplantation et qui portent à leur surface un grand nombre de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité pourraient agir par les mêmes mécanismes.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ALLEN PM, MATSUEDA GR, EVANS RJ, DUNBAR JB, MARSHALL GR, UNANUE ER. Identification of the T-cell and Ia contact residues of a T-cell antigenic epitope. *Nature*, 1987, 327 : 713-715.
2. AMIT AG, MARIUZZA RA, PHILLIPS SEV, POLJAK RJ.

- Three-dimensional structure of an antigen-antibody complex at 2.8 Å resolution. *Science*, 1986, 233 : 747-753.
3. COLMAN PM, LAVER WG, VARGHESE JN, BAKER AT, TULLOCH PA, AIR GM, WEBSTER RG. Three-dimensional structure of a complex of antibody with influenza virus neuraminidase. *Nature*, 1987, 326 : 358-363.
  4. GEYSEN MH, TAINER JA, RODDA SJ, MASON TJ, ALEXANDER H, GETZOFF ED, LERNER RA. Chemistry of antibody binding to a protein. *Science*, 1987, 35 : 1184-1190.
  5. KABAT EA. Heterogeneity in extent of the combining regions of human antidextran. *J Immunol*, 1956, 77 : 377-385.
  6. LANDSTEINER K. The specificity of serological reactions, revised edition, Cambridge, Harvard University Press, 1945, 310 pages.
  7. LANZAVECCHIA A. Antigen-specific interaction between T and B cells. *Nature*, 1985, 314 : 537-539.
  8. ROTHBARD JB, TAYLOR WR. A sequence pattern common to T cell epitopes. *EMBO J*, 1988, 7 : 93-100.
  9. SCHWARTZ RH. T-lymphocyte recognition of antigen in association with gene products of the major histocompatibility complex. *Annu Rev Immunol*, 1985, 3 : 237-262.
  10. SELA M. Antigenicity : some molecular aspects. *Science*, 1969, 166 : 1365-1374.
  11. SHERIFF S, SILVERTON EW, PADLAN EA, COHEN GH, SMITH-GILL SJ, FINZEL BC, DAVIES DR. Three-dimensional structure of an antibody-antigen complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84 : 8075-8079.
  12. UNANUE ER, ALLEN PM. The basis for the immunoregulatory role of macrophages and other accessory cells. *Science*, 1987, 236 : 551-557.

## CELLULES

J.-F. Bach

L'immunité  
cellules de  
étroite avec  
et macrophages  
hétérogènes,  
relations ayant  
d'emblée de  
qui produisent  
assurent l'in  
jouent un rôle  
La spécificité  
l'intervention  
réponses imm  
récepteurs sp  
Une fois  
produisent et

Interaction between T  
-539.  
Pattern common  
: 93-100.  
tion of antigen in  
major histocompati-  
985, 3 : 237-262.  
aspects. Science,

EA, COHEN GH,  
DR. Three-dimen-  
complex. Proc Natl  
D.  
r the immunoregu-  
r accessory cells.

# CELLULES IMMUNO-COMPÉTENTES

## CELLULES LYMPHOÏDES

**J.-F. Bach**

L'immunité spécifique est assurée par les cellules de la lignée lymphoïde en collaboration étroite avec les cellules phagocytaires (monocytes et macrophages). Les cellules lymphoïdes sont hétérogènes, réparties en de multiples sous-populations ayant des fonctions distinctes. Il convient d'emblée de faire la part entre les lymphocytes B qui produisent les anticorps et les cellules T qui assurent l'immunité à médiation cellulaire et jouent un rôle crucial dans l'immunorégulation.

La spécificité pour l'antigène qui caractérise l'intervention des cellules lymphoïdes dans les réponses immunes est fondée sur l'utilisation de récepteurs spécifiques pour l'antigène.

Une fois activées les cellules lymphoïdes produisent et excrètent de nombreux médiateurs :

spécifiques de l'antigène pour les cellules B, les anticorps; non spécifiques de l'antigène pour les cellules T, les lymphokines.

Les cellules lymphoïdes n'ont pas de caractères morphologiques remarquables qui permettent d'en reconnaître les diverses sous-populations ou les différents aspects fonctionnels. Il existe heureusement à la surface de ces différentes sous-populations des marqueurs membranaires spécifiques qui permettent leur identification et leur séparation. Ces marqueurs représentent en fait, pour la plupart, des molécules de différenciation qui jouent un rôle significatif, souvent essentiel dans l'activation des lymphocytes et dans le développement de leurs fonctions effectrices. Nous discuterons successivement dans ce chapitre des récepteurs et des marqueurs des cellules lymphoïdes, puis évoquerons leurs principales fonctions en mentionnant les lymphokines, produites par les cellules T, qui seront traitées avec plus de détails dans un autre chapitre. Nous évoquerons enfin les principales étapes de leur différenciation.

## RÉCEPTEURS POUR L'ANTIGÈNE

Les cellules B et T expriment sur leur membrane des récepteurs spécifiques pour l'antigène. Dans les deux cas, il s'agit de protéines multicaténaires, comportant une partie constante et une partie variable codées par deux gènes distincts, C et V. Dans les deux cas également, les gènes codant pour les parties variables sont le résultat de réarrangements survenus pendant l'embryogenèse à partir d'un nombre limité de gènes présents dans la lignée germinale. Dans les deux cas, le récepteur est exprimé de façon clonale : chaque lymphocyte, B ou T, exprime les mêmes molécules de récepteur.

En dépit de ces profondes analogies, liées à leur descendance d'un même gène ancestral, les récepteurs de cellules B et T présentent de très importantes différences.

*Du point de vue génétique*, la diversité des récepteurs B est issue de l'accumulation des réarrangements mais aussi des mutations qui surviennent au cours des divisions cellulaires provoquées par la stimulation antigénique alors que dans le cas des cellules T seuls les réarrangements interviennent : il n'y a pas de mutation.

*Du point de vue biochimique*, le récepteur des cellules B est composé de 4 chaînes polypeptidiques, deux chaînes lourdes et deux chaînes légères, il est excrété par la cellule B après excision du domaine intracytoplasmique sous la forme d'un anticorps. Il en existe 5 isotypes  $\alpha$ ,  $\delta$ ,  $\gamma$ ,  $\epsilon$ ,  $\mu$ .

Le récepteur des cellules T est un hétérodimère d'un poids moléculaire voisin de 40 kd. Il en existe deux types  $\alpha/\beta$  et  $\gamma/\delta$ .

*Du point de vue immunologique*, le récepteur des cellules B reconnaît directement l'antigène sans l'aide de molécules accessoires alors que le récepteur des cellules T ne reconnaît les antigènes qu'en association avec les antigènes majeurs d'histocompatibilité. Cette reconnaissance, qui nécessite une présentation de l'antigène sur une membrane cellulaire, nécessite en outre l'aide de molécules accessoires :

— CD3 contribue à la transduction du signal engendré par la liaison de l'antigène au récepteur;  
— les molécules d'adhésion CD4, CD8, LFA1 qui augmentent la solidité de la liaison du récepteur au complexe de l'antigène et du produit du complexe majeur d'histocompatibilité.

Les récepteurs des cellules B et T peuvent être

visualisés en immunofluorescence par divers anticorps :

— pour les cellules B : anticorps anti-Ig essentiellement spécifiques des différents isotypes (en évitant les fausses positivité liées à la fixation d'IgG sur le récepteur Fc exprimé en grandes quantités sur les cellules B);

— pour les cellules T : anticorps dirigés contre le récepteur lui-même, anticorps anti-partie constante (exemple : l'anticorps BMA chez l'homme), anticorps anti-partie variable, anticorps dirigés contre la molécule CD3, liée de façon non covalente mais néanmoins très étroite au récepteur.

## MARQUEURS DES CELLULES B ET T

Un antigène ou un récepteur peut être considéré comme un marqueur d'une population cellulaire quand il est exprimé sur cette population sans l'être sur la population de référence.

De nombreux antigènes de différenciation ont été reconnus sur les lymphocytes T humains et murins (Tableau 4-1). Ces antigènes ont été identifiés grâce à une concertation internationale des laboratoires ayant produit les anticorps dirigés contre les principaux de ces antigènes humains. Fait important, la plupart et peut-être la totalité de ces marqueurs représentent en fait des molécules jouant un rôle essentiel dans le fonctionnement de la cellule T.

La molécule CD3 joue, on l'a vu, un rôle essentiel dans la transduction du signal apporté par la liaison de l'antigène au récepteur des cellules T. Elle est présente sur toutes les cellules T matures mais est absente des cellules immatures du thymus situées dans le cortex.

Les molécules CD4 et CD8 sont des molécules d'adhésion se liant respectivement aux antigènes d'histocompatibilité de classe II et de classe I. Leur répartition complémentaire a permis d'identifier deux sous-populations majeures : la population CD4, douée de fonctions auxiliaires (amplificatrices des réponses immunes B ou T) et inductrices (stimulant la différenciation d'autres cellules T, auxiliaires ou suppressives); la population CD8 qui inclut les cellules T cytotoxiques et les cellules T suppressives. Tous les lymphocytes périphériques n'expriment qu'un seul de ces deux antigènes. Ils sont CD4<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup>. Inversement dans le thymus, il existe, nous le reverrons, des cellules dites doubles négatives CD4<sup>-</sup>CD8<sup>-</sup> ou doubles positives CD4<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>.

Tableau 4-1

Classe de différenciat

CD1

CD2

CD3

CD4

CD5

CD6

CD7

CD8

CD9

CD10

CD11a  
CD11b

CD16

CD25

CDw29

CD38

CD45R

Tableau 4-1 Principaux antigènes de différenciation des cellules de l'immunité chez l'homme.

Classe de différenciation	Equivalent murin	Principaux anticorps	Poids moléculaire (kd)	Fonction	Répartition
CD1	TL	OKT6 Anti-Leu 6	45		70-85 p. cent des thymocytes 0 p. cent des cellules T matures
CD2	Ly2	OKT11 Anti-Leu 5 9.6	60	Récepteur des rosettes E adhésine	Toutes les cellules T
CD3	?	OKT3 Anti-Leu 4 UCHT-1	5 chaînes (56-28)	Transduction du récepteur des cellules T	10-40 p. cent des thymocytes Toutes les cellules T matures
CD4	L3T4	OKT4 Anti-Leu 3	55	Adhésion des cellules T auxiliaires aux antigènes du CMH de classe II	75-80 p. cent des thymocytes 60-70 p. cent des cellules T circulantes + monocytes et cellules folliculaires
CD5	Ly1	OKT1 Anti-Leu 1 A50 10.2 T101	69		10-50 p. cent des thymocytes 100 p. cent des cellules T circulantes Minorité des cellules B
CD6		Anti-T12 12.1	120		Cellules T
CD7		Anti-Leu 9 2A1 W1T	40		Cellules T
CD8	Ly2	OKT8 OKT8 Anti-Leu 2 B 9-1.1	32	Adhésion des cellules T suppressives/cytotoxiques aux antigènes du CMH de classe I	75-80 p. cent des thymocytes 25-30 p. cent des cellules T circulantes
CD9		BA-21SJ 9A4 DuALL-1	24		Monocytes Cellules pré-B Plaquettes
CD10		J5 BA 3 Anti-CALLA	100		Cellules pré-B
CD11a CD11b	Anti-LFA-1	OKMI	174	Adhésine	Leucocytes Monocytes Granulocytes
CD16		Anti-Leu 11	50-60	Récepteur pour le Fc des IgG	Monocytes Lymphocytes T
CD25		Anti-Tac		Récepteur de l'interleukine 2	Cellules T activées
CDw29		4B4	135		Cellules CD4 <sup>+</sup> induites auxiliaires
CD38		Anti-T10			Lymphocytes T
CD45R		2H4 Anti-T200	205-220		Cellules CD4 <sup>+</sup> inductrices contrasuppressives

La population CD4<sup>+</sup> a été récemment subdivisée en deux sous-populations 4B4<sup>+</sup> et 2H4<sup>+</sup>, la première incluant les cellules T auxiliaires et inductrices d'auxiliaires, la seconde la population inductrice ou suppressive.

Parmi les autres marqueurs des cellules T cités dans le tableau 4-1, il convient d'insister sur la molécule CD2 qui est le récepteur pour les globules rouges de mouton (les cellules T forment des rosettes avec les hématies de mouton) et qui se lie à la molécule LFA-3.

Les marqueurs des cellules T sont relativement moins connus chez la souris que chez l'homme. On connaît néanmoins les principaux équivalents des antigènes décrits chez l'homme notamment les antigènes CD4 (appelé L3T4) et CD8 (appelé Ly2). On connaît en outre un antigène présent sur la totalité des cellules T matures ou non, l'antigène Thy-1 qui fut historiquement le premier marqueur antigénique décrit.

Les lymphocytes B expriment également des marqueurs de différenciation mais ceux-ci ont été moins étudiés que ceux des cellules T et leur nombre est encore limité.

Les cellules B et T expriment par ailleurs à leur surface un grand nombre de récepteurs (indépendamment des récepteurs pour l'antigène décrits plus haut). Citons *pour les cellules T* :

- le récepteur CD2 déjà cité, pour les hématies de mouton et la molécule LFA-3;
- le récepteur pour l'interleukine 2 (CD25);
- le récepteur pour l'histamine;
- le récepteur pour le fragment Fc des IgG et des IgM (essentiellement pour les cellules T activées).

*Pour les cellules B* on trouve les récepteurs suivants :

- le récepteur pour le fragment Fc des IgG;
- le récepteur pour le composant C3 du complément dont il existe plusieurs sous-types selon la nature du composant reconnu;
- le récepteur pour le virus d'Epstein-Barr.

Mentionnons enfin l'existence de marqueurs propres aux cellules T activées, en particulier les antigènes d'histocompatibilité de classe II et le récepteur pour l'interleukine 2.

### FONCTIONS ET PHYSIOLOGIE DES CELLULES B ET T

La seule fonction reconnue des cellules B est la production des anticorps, particulièrement active dans la forme la plus différenciée que représentent

les plasmocytes. Les cellules B possèdent néanmoins d'autres fonctions, telles que contribuer à présenter l'antigène aux cellules T en association avec les antigènes de classe II qu'elles expriment en grande quantité à leur surface.

Les cellules T ont des fonctions très diverses assurées par différentes sous-populations, encore qu'il ne soit pas toujours aisé dans un cas donné de savoir si une même cellule peut ou non exercer plusieurs fonctions.

De façon schématique, au-delà de la distinction essentielle évoquée plus haut entre cellules CD4<sup>+</sup>, reconnaissant les antigènes du CMH de classe II, et cellules CD8<sup>+</sup>, reconnaissant les antigènes de classe I, on peut identifier :

- des cellules T cytotoxiques provoquant la lyse des cellules porteuses des antigènes contre lesquels elles sont sensibilisées;
- des cellules T productrices de lymphokines.

Ces lymphokines peuvent avoir un effet pharmacologique direct. C'est le cas de celles impliquées dans les réactions d'hypersensibilité retardée. Elles peuvent agir sur d'autres cellules, notamment sur d'autres leucocytes, en particulier des lymphocytes. On parle alors d'interleukines. Ces interleukines sont en grande partie ou peut-être même en totalité responsables des fonctions immunorégulatrices des cellules T.

La physiologie des cellules B et T n'est qu'imparfaitement connue. On sait néanmoins que les cellules B et T circulent dans le sang, seules certaines parmi les T « recirculent » c'est-à-dire quittent le réseau sanguin au niveau des veinules post-capillaires, gagnent les ganglions puis le réseau lymphatique par lequel elles rejoignent le sang par le canal thoracique. Les lymphocytes T recirculants sont retrouvés dans la rate et les ganglions dans des aires spécialisées, thymodépendantes (aires paracorticales des ganglions et périartériolaires de la rate).

Les cellules B ont une durée de vie courte (quelques jours) alors que les cellules T sont réparties en deux sous-populations à courte et à longue durée de vie (plusieurs mois).

### DIFFÉRENCIATION DES CELLULES B ET T

Les cellules T et les cellules B sont issues d'une même cellule-souche lymphoïde. Les cellules T se différencient dans le thymus où elles acquièrent à la fois leur répertoire de spécificité et leur

compétence également un chez les ois n'en existe p

### Thymector

La thym premières he une immuno l'impossibili de développ retardée et d en quantité r ment à l'âge effets, tout pression qui vieillissement

Il existe d souris, notan dépourvue d tomisée, irra de moelle o cellules T anti-Thy en l'homme, le cellules T es

S'agissant permettent d les oiseaux d *in ovo*, ce qu qui est compl l'ontogenèse IgA si elle es mammifères, bulinémie e sérum anti-μ

Fait impo seules les ce cellules B (p qui confirme familles lym

Les précu cortex thymi négatives CD non formelle doubles nég devenir T. E l'effet de fa

Leur matu plusieurs mo

— une év successiveme

compétence immunitaire. Les cellules B ont également un organe spécialisé de différenciation chez les oiseaux, la bourse de Fabricius, mais il n'en existe pas d'équivalent chez les mammifères.

### Thymectomie et bursectomie

La thymectomie néonatale (dans les 24 premières heures de la vie) entraîne chez la souris une immunosuppression majeure caractérisée par l'impossibilité de rejeter les allogreffes de peau, de développer des réactions d'hypersensibilité retardée et de produire des anticorps de classe IgG en quantité normale. Réalisée plus tard et notamment à l'âge adulte, la thymectomie n'a plus ces effets, tout au plus accélère-t-elle l'immunodépression qui survient spontanément au cours du vieillissement.

Il existe d'autres modèles de déficit T chez la souris, notamment la souris nude congénitalement dépourvue de thymus, et la souris « B » thymectomisée, irradiée puis reconstituée par des cellules de moelle osseuse préalablement appauvries en cellules T par un traitement avec un sérum anti-Thy en présence de complément. Chez l'homme, le modèle le plus pur de ce déficit en cellules T est le syndrome de Di George.

S'agissant des cellules B, deux méthodes permettent d'empêcher leur différenciation. Chez les oiseaux on peut enlever la bourse de Fabricius *in ovo*, ce qui provoque une agammaglobulinémie qui est complète si elle est pratiquée assez tôt dans l'ontogenèse (elle n'intéresse que les IgG ou les IgA si elle est réalisée de façon retardée). Chez les mammifères, on peut provoquer une agammaglobulinémie en traitant les nouveau-nés par un sérum anti- $\mu$ .

Fait important, dans toutes ces expériences, seules les cellules T (pour la thymectomie) ou les cellules B (pour la bursectomie) sont touchées, ce qui confirme la grande indépendance des deux familles lymphocytaires.

Les précurseurs des cellules T entrent dans le cortex thymique sous la forme de cellules doubles négatives  $CD4^-CD8^-$ . Il est probable, bien que non formellement démontré, que ces cellules doubles négatives sont déjà prédéterminées à devenir T. Elles sont attirées dans le thymus sous l'effet de facteurs chimiotactiques.

Leur maturation intrathymique est associée à plusieurs modifications importantes :

- une évolution des marqueurs de membrane successivement :  $CD4^-CD8^-$  (cellules doubles

négatives) puis  $CD4^+CD8^+$  (cellules doubles positives) ou  $CD4^+CD8^-$  ou  $CD4^-CD8^+$  (cellules simples positives);

- l'acquisition du répertoire des spécificités pour l'antigène à l'occasion des multiples divisions dont témoigne le fort index mitotique. Cette acquisition du répertoire est le résultat d'une double sélection : sélection positive des cellules conservées et sélection négative (avec lyse) des cellules non conservées. Elle fait intervenir, comme nous l'avons vu plus haut, des réarrangements du récepteur des cellules T;

- une migration cellulaire du cortex vers la médullaire où les cellules ont atteint un niveau de différenciation proche de celui de la périphérie.

La différenciation intrathymique est induite par deux catégories de signaux très différents, cellulaires et humoraux (Tableau 4-II).

Tableau 4-II Signaux de différenciation des cellules T.

Antigènes d'histocompatibilité	Epithélium Macrophages Cellules dendritiques
Hormones thymiques	Epithélium
Interleukine 1	Macrophages Cellules dendritiques
Interleukine 2	Cellules T
Prostaglandines	Macrophages

Les signaux cellulaires sont essentiellement apportés par le contact avec les autoantigènes d'histocompatibilité de classe I et de classe II largement représentés sur les cellules épithéliales et sur les cellules dendritiques du thymus. Il a été montré chez la souris, grâce à des expériences utilisant des souris chimériques irradiées et restaurées par des cellules de moelle osseuse et de thymus, que c'était bien dans le thymus que les cellules T acquéraient leur spécificité pour les antigènes d'histocompatibilité dont la coprésentation est nécessaire à la reconnaissance de tout antigène par les cellules T.

Les signaux humoraux sont avant tout apportés par les hormones thymiques, polypeptides produits par le thymus. Deux de ces hormones ont été chimiquement bien caractérisées et obtenues sous forme synthétique, la thymopoïétine et la thymuline. D'autres médiateurs semblent également jouer un rôle et notamment l'interleukine 1 produite par les cellules dendritiques et l'interleukine 2 produite par les cellules T déjà formées.



## Maturation des cellules B

Les signaux de différenciation des cellules B sont encore mal connus. En revanche, on connaît bien les étapes de l'acquisition séquentielle des marqueurs des cellules B. La première étape est caractérisée par l'apparition de cellules avec Ig intracytoplasmique. Elle précède l'acquisition des Ig de membrane caractéristiques des cellules B matures.

Les cellules B seront, par ailleurs, également décrites dans le chapitre 8, consacré à la réponse immune humorale.

## Cellules NK

Elles sont examinées dans le chapitre 2 sur l'immunité non spécifique.

## AUTRES CELLULES IMMUNO-COMPÉTENTES

### B. Descamps-Latscha

#### CELLULES PHAGOCYTAIRES

Chez les mammifères, la fonction de phagocytose est partagée par les cellules de la lignée granulocytaire (polynucléaires neutrophiles) et les cellules de la lignée monocyte-macrophage (phagocytes mononucléés). En plus de cette fonction essentielle, les polynucléaires neutrophiles et les cellules du système des phagocytes mononucléés exercent d'autres fonctions constitutives et/ou inductibles telles que : sécrétion avec exocytose de métabolites effecteurs et/ou régulateurs agissant sur d'autres types de cellules; effet cytotoxique direct envers des cellules tumorales et parasitaires; cytotoxicité dépendante d'anticorps (ADCC) envers des cellules normales ou tumorales sensibilisées par des anticorps. Cet ensemble de fonctions permet aux cellules phagocytaires de jouer un rôle de premier plan dans la résistance de l'hôte envers des agents pathogènes et il est aujourd'hui bien établi qu'elles constituent les effecteurs majeurs de l'immunité dite non spécifique.

## Origine et devenir

Comme toutes les cellules sanguines, les polynucléaires neutrophiles et les monocytes sont produits dans les tissus hématopoïétiques et libérés dans la circulation au terme de toute une série d'étapes de détermination, prolifération et différenciation qui sont placées sous le contrôle d'interactions cellulaires et de divers facteurs de prolifération et de différenciation.

Les deux lignées de cellules phagocytaires sont issues d'un précurseur médullaire commun dont la détermination à partir de la cellule-souche dépend d'un facteur capable d'agir sur des précurseurs bipotents, le GM-CSF (granulocyte-monocyte colony stimulating factor).

Les cellules orientées vers la lignée granulocytaire se différencient en myéloblastes dont la maturation aboutit aux promyélocytes, métamyélocytes, granulocytes non segmentés et polynucléaires dont une partie est mise en réserve et l'autre passe dans le sang. Les cellules orientées vers la lignée monocyte-macrophagique se différencient en monoblastes, promonocytes puis en monocytes. Au cours de ces étapes de différenciation, les cellules phagocytaires acquièrent séquentiellement les organites et les constituants cytoplasmiques et membranaires indispensables à leurs fonctions effectrices de phagocytose et de bactéricidie.

Les granulocytes matures qui ont quitté la moelle osseuse se répartissent dans le sang en deux secteurs : l'un dit marginé où ils adhèrent à la paroi des vaisseaux; l'autre circulant où ils peuvent être dénombrés (2 700 à 7 500/mm<sup>3</sup>). Leur durée de vie est brève (10 à 12 heures); la disparition des cellules adultes se fait principalement par la destruction dans les tissus et par élimination intestinale.

L'augmentation du nombre absolu des polynucléaires neutrophiles au-delà des limites physiologiques (>8 000/mm<sup>3</sup>) ou polynucléose relève de deux mécanismes physiopathologiques : la réponse à l'infection d'origine bactérienne et la réaction inflammatoire. Elle peut également être induite par certaines drogues telles que les corticoïdes qui déclenchent le passage des cellules de la moelle dans le sang circulant ou l'adrénaline qui mobilise les cellules du secteur marginé. A l'inverse, une diminution significative (<500/mm<sup>3</sup>) des polynucléaires neutrophiles ou neutropénie peut être observée au cours de certaines infections virales, d'intoxications médicamenteuses, ou à la suite de certains traitements

(chimiothérapie) la pratique de miner l'origine neutropénie.

Les monocytes laire ne rester les tissus, i localisation, (foie); macrophages (t histiocytes (t cellules de macrophages macrophages cellules de la filiation de ce monocyte-mac authenticée p cellules expr 80) décrit ch monoclonal d

La durée tissulaires es 2 mois. Enfin inflammatoire en cellules é multinucléées.

Dans le san monocytes ar (1 000/mm<sup>3</sup>) début des inf mation ou au c

## Principales

Les polym cellules de l cytoplasme c neutrophiles e aspect polylob une chromatin

Les études cytochimie de tence de deux primaires très les hydrolases protéases neu myéloperoxyd saccharidases. denses et p lysozyme, la vitamine B<sub>12</sub> acides.

Les monocy Ils ne représ

(chimiothérapie et/ou radiothérapie). Dans ce cas, la pratique d'un myélogramme permet de déterminer l'origine centrale ou périphérique de la neutropénie.

Les monocytes qui quittent le secteur médullaire ne restent dans le sang que 2 à 3 jours. Dans les tissus, ils se différencient et, selon leur localisation, sont désignés : cellules de Küpffer (foie); macrophages alvéolaires (poumon); histiocytes (tissu conjonctif et moelle osseuse); cellules de Langerhans (tissus sous-cutanés); macrophages spléniques (libres ou résidents); macrophages des séreuses (plèvre et péritoine); cellules de la microglie (système nerveux). La filiation de ces divers types cellulaires à la lignée monocyte-macrophage a récemment pu être authentifiée par la démonstration que toutes ces cellules expriment le marqueur antigénique (F4/80) décrit chez la souris à l'aide d'un anticorps monoclonal développé par S. Gordon.

La durée de vie moyenne des macrophages tissulaires est longue, pouvant atteindre 1 à 2 mois. Enfin, les macrophages des réactions inflammatoires meurent in situ ou se transforment en cellules épithélioïdes et en cellules géantes multinucléées.

Dans le sang, une augmentation du nombre des monocytes au-delà des limites physiologiques ( $1\ 000/\text{mm}^3$ ) ou mononucléose est observée au début des infections bactériennes, d'une inflammation ou au cours de certaines infections virales.

### Principales caractéristiques

Les polynucléaires neutrophiles sont des cellules de 12 à 15  $\mu\text{m}$  de diamètre dont le cytoplasme contient d'abondantes granulations neutrophiles et azurophiles et dont le noyau a un aspect polylobé (3 à 5 lobes) caractérisé avec une chromatine dense et dépourvue de nucléole.

Les études en microscopie électronique et par cytochimie des polynucléaires montrent l'existence de deux types de granules. Les granules primaires très denses contiennent essentiellement les hydrolases acides, la protéase acide, les protéases neutres, les protéines cationiques, la myéloperoxydase, le lysozyme et les mucopolysaccharidases. Les granules secondaires moins denses et plus volumineux renferment le lysozyme, la lactoferrine, la protéine liant la vitamine B<sub>12</sub>, la collagénase et les protéines acides.

Les monocytes ont un diamètre de 10 à 15  $\mu\text{m}$ . Ils ne représentent que 2 à 3 p. cent des

leucocytes circulants. Leur cytoplasme très pâle contient de très fines granulations azurophiles et est aisément identifié par des colorations mettant en jeu leurs activités estérase ou phosphatase acide. Leur noyau volumineux et d'aspect parfois réniforme est également très caractéristique. Ils possèdent également les deux types de granules observés au sein des granulocytes neutrophiles.

Les macrophages ont une morphologie analogue à celle des monocytes, mais leur taille est plus grande (15 à 25  $\mu\text{m}$ ). En microscopie électronique, les microtubules, les lysosomes primaires et secondaires, l'appareil de Golgi, l'ergastoplasme granulaire, les microvillosités et les vacuoles de phagocytose sont plus développés, et ceci va de pair avec leur activité métabolique très intense. La maturation des monocytes en macrophages s'accompagne de modifications importantes de leur contenu enzymatique et, en particulier, de leur perte en myéloperoxydase.

Comme nous l'avons déjà mentionné, l'introduction des anticorps monoclonaux a permis de décrire la présence d'un marqueur antigénique propre aux cellules du système des phagocytes mononucléés de la souris. D'autres marqueurs antigéniques ont été décrits à la surface des cellules du système des phagocytes mononucléés (tels que le Mac 1 (chez la souris), le MO1, OKMI chez l'homme). Il est important de souligner que certains de ces marqueurs tels les antigènes d'histocompatibilité de classe II ou l'antigène LFA-1 ne sont pas restreints aux cellules phagocytaires, mais sont également exprimés par d'autres types de cellules et notamment les lymphocytes. Enfin, les cellules portent des récepteurs pour le fragment Fc des Ig et certains composants du complément (C3b, C3bi).

Une des caractéristiques essentielles des macrophages est leur capacité à subir toute une série de modifications, tant morphologiques que biochimiques ou fonctionnelles, en réponse à des lymphokines telles que le MAF (macrophage activating factor) ou l'interféron gamma qui sont produits par les lymphocytes T sensibilisés. Le terme générique d'activation des macrophages est souvent employé pour regrouper l'ensemble de ces modifications qui associent un pouvoir cyto-toxique accru envers des cellules tumorales, une augmentation de la capacité d'étalement, une augmentation de la capacité de synthèse de diverses molécules telles que le facteur activateur du plasminogène, l'élastase, la collagénase, ainsi que de l'activité d'autres enzymes membranaires et/ou lysosomiaux. Enfin, l'expression de certains

marqueurs et, en particulier de l'antigène F4/80, est diminuée.

## Principales fonctions

### Mobilité et chimiotactisme

L'extrême mobilité des cellules phagocytaires et leur capacité de développer considérablement leur membrane pour former des voiles cytoplasmiques ou pseudopodes et de quitter les vaisseaux sanguins (diapédèse) leur permet d'accéder très vite au site de l'infection. Cette faculté de mobilisation des cellules phagocytaires peut être analysée *in vivo*, chez l'animal (chambre de Clark dans l'oreille du lapin et chambre d'Algire chez la souris) ou chez l'homme grâce à la technique de Rebüch qui utilise un agent vésicant. Elle est sous la dépendance des filaments d'actine, de la myosine et de la protéine liant l'actine et la gelsoline.

En présence de certains agents tels que le C5a, le tripeptide formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine (FMLP) ou les leucotriènes, la mobilité des cellules phagocytaires est considérablement accrue et s'opère dans la direction déterminée par le gradient de la concentration de l'agent. Cette reconnaissance dite chimiotactique fait intervenir les microtubules qui stabilisent la cellule et l'aident à s'orienter et des récepteurs membranaires spécifiques de ces agents. La reconnaissance chimiotactique est suivie de l'internalisation des éléments membranaires activés qui sont eux-mêmes renouvelés par d'autres récepteurs issus des granules spécifiques.

### Phagocytose

Parvenues dans les espaces extravasculaires, les cellules phagocytaires peuvent y exercer leur fonction principale : la phagocytose. Elle comprend classiquement trois étapes : l'adhésion, l'ingestion et, selon les cas, la digestion, la persistance ou la multiplication du micro-organisme ingéré.

L'*adhésion* est l'étape au cours de laquelle la membrane de la cellule phagocytaire adhère à la particule qu'elle va englober. Le degré d'adhésivité dépend de facteurs cellulaires, extracellulaires et des propriétés de la particule.

Parmi les facteurs cellulaires, la polarisation de la membrane, la présence de récepteurs pour les opsonines du sérum (récepteurs pour le Fc des IgG et le C3b) et le mouvement des membranes favorisent l'adhésion de la particule à phagocyter.

Parmi les facteurs extracellulaires, il faut retenir l'effet de la température, du pH, de la force ionique et de certains constituants du milieu tels les cations divalents, certains lipides, certaines fractions du complément, les anticorps ou d'autres protéines non spécifiques. Enfin, certains facteurs « particulières » tels que les polysaccharides pneumococciques et la protéine M du streptocoque ont, à l'inverse, un effet inhibiteur de l'adhésion.

L'*ingestion* est l'étape au cours de laquelle la particule ancrée à la membrane cellulaire pénètre dans la cellule. Cette pénétration se produit par invagination de la membrane et formation secondaire d'une vacuole de phagocytose.

Le *devenir de la particule intracellulaire* peut être :

— soit la digestion consécutive à l'accolement et à la fusion des lysosomes avec la membrane du phagosome, puis au déversement des divers enzymes lysosomiaux dans le phagolysosome ainsi constitué;

— soit la persistance, qui se rencontre avec des particules inertes difficilement biodégradables, mais peut également être observée avec certains germes ou dans des phagocytes de patients atteints de déficits immunitaires portant sur les phagocytes (voir plus loin);

— soit la multiplication qui peut être observée avec certains parasites, virus et bactéries qui sont agents d'infections graves telles que la toxoplasmose, l'hépatite murine, l'ectromélie, la lèpre, la brucellose, la tuberculose et, comme cela vient d'être démontré, le SIDA.

### Activités métaboliques

Tout signal membranaire (interaction d'un ligand avec son récepteur ou adhésion précédant la phagocytose) déclenche dans le phagocyte une séquence d'événements métaboliques conduisant à la génération et à la sécrétion de nombreux produits actifs dans le compartiment intracellulaire.

On distingue essentiellement deux types d'activités métaboliques : l'activité métabolique respiratoire et les activités qui sont indépendantes de la consommation d'oxygène.

**Activité métabolique oxydative.** Le terme d'activation métabolique respiratoire (respiratory burst) englobe une série de réactions oxydatives en chaîne déclenchée par une stimulation appropriée de la membrane des phagocytes et caractérisée par une augmentation quasi instantanée et

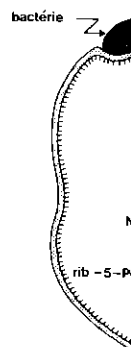


Figure 4-1 M (d'après B. R. Paris.

importante accroissement de la glucose par et la génération de l'oxygène (I) suivantes : moléculaire tion (spontanée) dismutase de l'oxygène H<sub>2</sub> radical hydroxyle Elle résulte d'une réaction localisée de NAD(P)H oxydase ci-dessus en NAD(P)H oxydase deux versant de la membrane son versant cytoplasmique par son versant extracellulaire.

A l'échelle de la cellule ou une stimulation active la NAD(P)H oxydase présente à la membrane englobée par la membrane se produit au sein de la vacuole.

L'effet bactéricide de l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est le résultat de réactions clés, il s'agit d'un effet toxique avec le système myéloperoxydase et peroxydase (figure 4-2 et

, il faut retenir  
H, de la force  
s du milieu tels  
pides, certaines  
corps ou d'autres  
certains facteurs  
polysaccharides  
M du strepto-  
inhibiteur de

s de laquelle la  
cellulaire pénètre  
se produit par  
formation secon-  
dinaire.

acellulaire peut

à l'accolement  
la membrane du  
ent des divers  
phagolysosome

encontre avec des  
biodégradables,  
ée avec certains  
patients atteints  
sur les phagocytes

peut être observée  
bactéries qui sont  
s que la toxo-  
l'ectromélie, la  
e et, comme cela

interaction d'un  
hésion précédant  
le phagocyte une  
ques conduisant à  
n de nombreux  
iment intracellu-

deux types d'acti-  
tabolique respira-  
lépendantes de la

itive. Le terme  
toire (respiratory  
ctions oxydatives  
stimulation appro-  
ocytes et caracté-  
si instantanée et

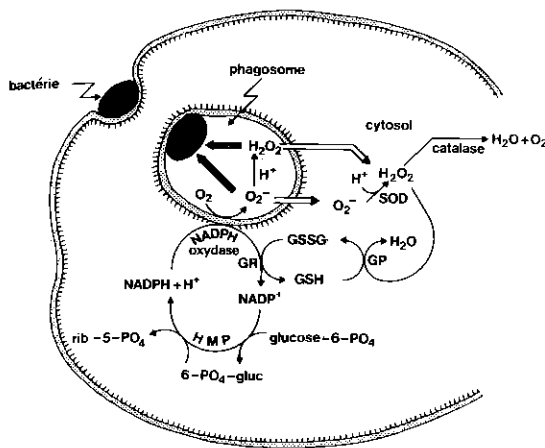


Figure 4-1 Métabolisme de l'oxygène dans les phagocytes (d'après B. Roos). Immunologie, J.-F. Bach, Flammarion, Paris.

importante de la consommation d'oxygène, un accroissement considérable du catabolisme du glucose par la voie des hexoses monophosphates et la génération des radicaux libres dérivés de l'oxygène (ROL) selon la séquence des réactions suivantes : réduction univalente de l'oxygène moléculaire en ion superoxyde  $O_2^-$  puis dismutation (spontanée ou induite par la superoxyde dismutase ou SOD) de  $O_2^-$  en peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$ , enfin formation secondaire de radical hydroxyle  $OH^\bullet$  et d'oxygène singulet  $^1O_2$ . Elle résulte de l'activation d'un système enzymatique localisé dans la membrane comportant une NAD(P)H oxydase. Comme l'indique le schéma ci-dessus emprunté à B. Roos (Fig. 4-1), la NAD(P)H oxydase est accessible aux substrats des deux versants de la membrane : au NAD(P)H par son versant cytosolique et à l'oxygène moléculaire par son versant externe.

A l'échelle cellulaire, l'adhésion de particules ou une stimulation appropriée de la membrane active la NAD(P)H oxydase qui est normalement présente à l'état quiescent. Si la particule est englobée par le phagocyte, la génération de ROL se produit au sein de la vacuole de phagocytose.

L'effet bactéricide des ROL et principalement d' $H_2O_2$  est le mieux documenté. Pour les polynucléaires, il s'opère selon le double mécanisme d'un effet toxique direct et/ou d'une association avec le système des peroxydases phagocytaires, la myéloperoxydase (MPO) des granulocytes et la peroxydase des éosinophiles (EPO), selon la figure 4-2 empruntée à Klebanoff et Clark.

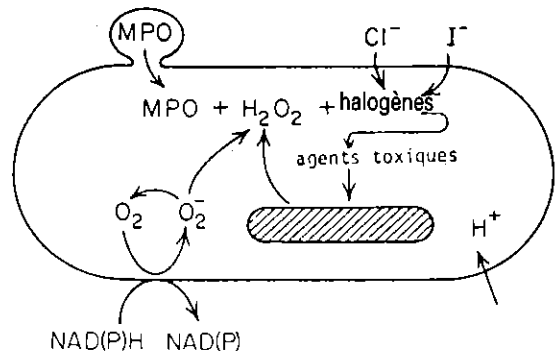


Figure 4-2 Bactéricidie dépendante de l'oxygène par le système myéloperoxydase- $H_2O_2$ -halogènes (d'après Klebanoff et Clark). Immunologie, J.-F. Bach, Flammarion, Paris.

Ce schéma est fondé sur l'étude de deux maladies héréditaires humaines : la granulomatoses chronique et le déficit en myéloperoxydase.

La granulomatoses chronique (chronic granulomatous disease, CGD) est une affection héréditaire liée à un déficit génétique complet en NAD(P)H oxydase. Ce déficit est retrouvé dans la totalité des cellules du système phagocytaire qui sont incapables de produire des ROL et ont un pouvoir bactéricide nul malgré une capacité normale de phagocytose. Les sujets qui sont atteints de cette maladie ont une très grande sensibilité envers la plupart des bactéries à l'exception des germes catalase (-), et donc riches en  $H_2O_2$  (pneumocoques, streptocoques et lactobacilles). De même, l'addition d' $H_2O_2$  permet in vitro de corriger l'absence d'effet bactéricide des phagocytes envers les autres germes, prouvant ainsi que le système des peroxydases est parfaitement fonctionnel chez ces sujets.

Dans le déficit génétique en myéloperoxydase, les cellules phagocytaires produisent des ROL de façon normale, voire accrue, mais ont un pouvoir bactéricide qui est très atténué et surtout particulièrement lent. Les sujets atteints de ce déficit peuvent mener une vie sensiblement normale et parviennent à guérir des nombreuses infections bactériennes qu'ils contractent alors que ceux atteints de CGD meurent souvent d'infection dans les deux premières années de la vie ou ont une existence constamment menacée quand ils survivent.

Il est maintenant bien établi grâce aux travaux de Johnston, Murray, Nathan et Nogueira que les ROL produits par les cellules monocyto-macrophagiques jouent un rôle effecteur déterminant vis-à-vis d'agents pathogènes à multiplication intracellulaire (*Leishmania*, trypanosome, ...) et de cellules tumorales, et que cette fonction peut être modulée par des signaux de régulation positifs, comme celui dû à l'interféron gamma actif à très faibles molarités, et négatifs de nature plus confuse.

Longtemps, on a pensé que ce phénomène d'activation métabolique respiratoire intervenait uniquement lors de la phagocytose et que la production de ces molécules hautement réactives que sont les ROL avait pour seul objet d'inactiver les germes ingérés par le phagocyte. Or, certains travaux récents ont révélé que des composés solubles tels que le calcium ionophore, le phorbol myristate acétate, la concanavaline A, des peptides chimiotactiques tels que le F-Met-Leu-Phe (FMLP) ou des substances plus physiologiques telles que la fraction C5 du complément activée (C5a), des complexes immuns ou enfin des anticorps, comme nous l'avons nous-mêmes montré, étaient capables de déclencher l'activité respiratoire des cellules phagocytaires.

De même, on avait longtemps cru que l'inactivation des bactéries était la seule fonction des ROL. Or, tout un ensemble de travaux a récemment montré que ces molécules peuvent exercer leur effet toxique envers d'autres agents pathogènes : parasites, cellules tumorales ainsi qu'envers les propres cellules de l'organisme (hématies, plaquettes, cellules endothéliales, fibroblastes, voire lymphocytes).

Des travaux récents ont par ailleurs montré que, outre ces fonctions microbicides, parasitocides et cytotoxiques essentielles, les dérivés de l'oxygène et en particulier  $O_2^-$  pouvaient, dans certaines conditions expérimentales, déclencher une libération de sérotonine à partir des plaquettes, inactiver le C5a ou le FMLP ou, fait encore plus remarquable, induire la production de certaines substances à partir de précurseurs d'origine plasmique ou cellulaire tels que le facteur chimiotactique de Petrone dérivé du plasma normal et le facteur suppresseur de Aune et Pierce dérivé du SIRS (soluble immune response suppressive factor).

Enfin, le rôle des cellules du système phagocytaire dans la genèse des réactions inflammatoires est bien établi et l'intervention des ROL au cours de ces réactions est suggérée par tout un ensemble de travaux récents montrant que ces molécules

sont capables d'induire une dépolymérisation de l'acide hyaluronique, de dégrader les protéoglycanes et le collagène dans les tissus cartilagineux, d'engendrer la libération d'acide arachidonique et, comme nous l'avons déjà mentionné, de générer un facteur chimiotactique dérivé du plasma.

En pathologie, le rôle des ROL a été invoqué à l'origine d'affections rhumatismales telles que la polyarthrite rhumatoïde et des lésions inflammatoires consécutives à la radiothérapie. Dans ces deux cas, l'administration de SOD (orgotéine) a été tentée et, de l'avis de certains auteurs, suivie de succès, au moins temporaire.

Ainsi, tout un faisceau d'arguments permet aujourd'hui de supposer que le phénomène d'activation métabolique respiratoire des phagocytes intervient dans de nombreux autres domaines que celui de la défense antibactérienne qui lui était initialement dévolu.

**Activités métaboliques indépendantes de la consommation d'oxygène.** Les granulocytes et les cellules du système des phagocytes mononucléés ont la capacité de synthétiser et/ou de sécréter toute une série de métabolites. Pour les granulocytes, il s'agit principalement des substances présentes dans les granules primaires et secondaires (cf. ci-dessus). La liste des substances pouvant être synthétisées par les cellules du système phagocytaire mononucléé est très longue et le lecteur intéressé pourra la trouver dans les ouvrages cités en référence. Pour ne citer que les principales, nous retiendrons l'interleukine 1 (IL-1), le facteur nécrosant des tumeurs (TNF), les principales molécules du complément, certains facteurs de la coagulation, les dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique (thromboxane-B<sub>2</sub>, leucotriènes et prostaglandines) et des facteurs de croissance tels que le GM-CSF. Cette énumération suffit à donner la dimension du rôle et de l'étendue des activités des phagocytes mononucléés, en dehors du domaine limité de l'immunité anti-infectieuse où ils ont longtemps été cantonnés. Il faut bien sûr y ajouter leur rôle majeur dans l'induction et la modulation de la réponse immune, qui est traité dans le chapitre 8 de cet ouvrage.

### POLYNUCLÉAIRES ÉOSINOPHILES

Bien qu'issue de la même cellule-souche, la lignée granulocytaire qui, dans la moelle osseuse donne naissance aux polynucléaires éosinophiles,

Figure 4-3 Gr  
(Thiery, 1967). C  
cellules incluses  
la forme. Noter l  
Hématologie, J.

est bien distin  
cléaires neutro

Dès le sta  
nophiles sont  
lations (0,6 à  
différentes de  
trophiles. Au  
de granulation  
daires sont c  
structure cris  
microscopie él  
gement et la  
l'autre. On ign  
de la maturati  
promyélocytes  
seconde popul  
n'a pu être m  
enzymatiques  
particulièreme  
rentes de celles  
acides, ribon

lymérisation de  
er les protéo-  
s tissus cartila-  
d'acide arachi-  
déjà mentionné,  
tique dérivé du

a été invoqué à  
es telles que la  
ions inflamma-  
rapie. Dans ces  
D (orgotéine) a  
auteurs, suivie

uments permet  
énomène d'acti-  
des phagocytes  
es domaines que  
ne qui lui était

endants de la  
anulocytes et les  
es mononucléés  
t/ou de sécréter  
Pour les granu-  
des substances  
naires et secon-  
des substances  
les cellules du  
est très longue  
trouver dans les  
ne citer que les  
erleukine 1 (IL-  
eurs (TNF), les  
ément, certains  
ivés du metabo-  
romboxane-B2,  
des facteurs de  
Cette énuméran-  
n du rôle et de  
ocytes mononu-  
té de l'immunité  
longtemps été  
jouter leur rôle  
odulation de la  
ans le chapitre 8

## OPHILES

ellule-souche, la  
e moelle osseuse  
es éosinophiles,



**Figure 4-3** Granulocyte éosinophile du sang coloré par la réaction acide périodique-thiosemicarbazide-protéinate d'argent (Thiery, 1967). Cette réaction contraste les particules de glycogène abondantes dans les granulocytes éosinophiles mûrs. Dans les cellules incluses en épon, le cristal des granulations n'est pas contrasté par l'argent et apparaît en négatif, ce qui facilite l'étude de la forme. Noter l'absence de cristal dans de rares granulations. Les mitochondries, petites, sont peu nombreuses ( $\times 8\ 000$  environ). Hématologie, J. Bernard, J.P. Lévy, B. Varet, Flammarion, Paris. (Cliché J. Breton-Gorius.)

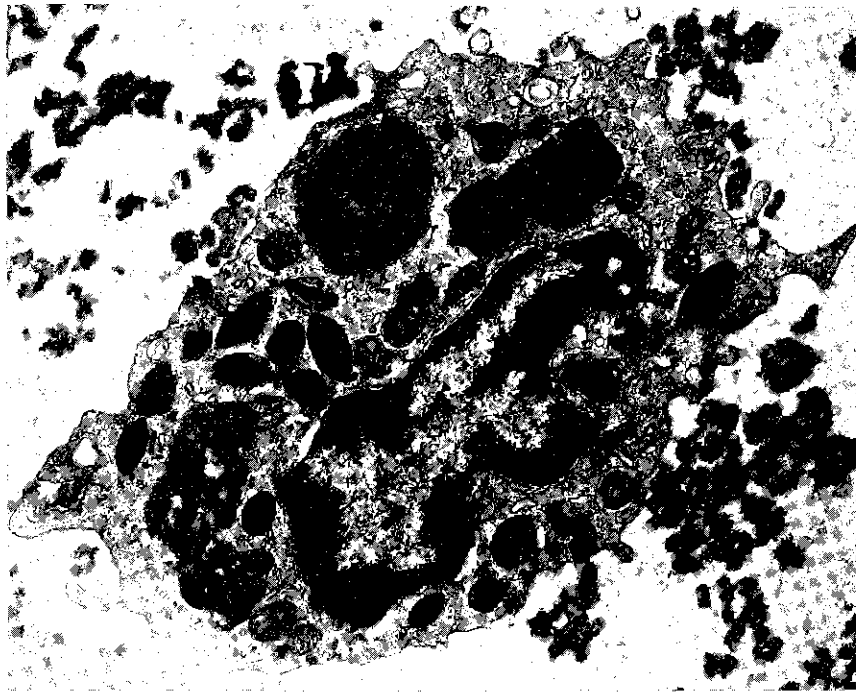
est bien distincte de celle qui aboutit aux polynucléaires neutrophiles.

Dès le stade promyélocyte, les futurs éosinophiles sont identifiables par leurs grosses granulations (0,6 à 1,3  $\mu\text{m}$ ), orangées, acidophiles, très différentes des granulations azurophiles et neutrophiles. Au stade du myélocyte, un second type de granulations apparaît. Ces granules dits secondaires sont caractérisés par la présence d'une structure cristalline centrale bien visible en microscopie électronique et dont la forme, l'arrangement et la périodicité varient d'une espèce à l'autre. On ignore si ces granulations proviennent de la maturation des granulations homogènes des promyélocytes, ou si elles représentent une seconde population distincte. Aucune différence n'a pu être mise en évidence dans les contenus enzymatiques des deux catégories de granulations particulièrement riches en peroxydases (différentes de celles des neutrophiles), en phosphatases acides, ribonucléases, cathepsines, glucuro-

nidases, arylsulfatases et en une protéine basique spécifique (Fig. 4-3).

Les polynucléaires éosinophiles mûrs sont une des populations leucocytaires les moins abondantes du sang (1 à 2 p. cent chez l'homme adulte normal) mais la réserve médullaire est importante et très rapidement mobilisable. Le temps de maturation dans la moelle serait d'environ 3 jours et la durée de vie dans le sang très brève (de 6 à 8 heures en moyenne).

En dehors de la moelle osseuse, les éosinophiles sont présents surtout dans les poumons, le tractus digestif et la peau. Dans ces organes, ils se distribuent dans le tissu conjonctif sous-épithélial. Enfin, on trouve également des éosinophiles dans les reins et l'utérus où des variations cycliques de leur taux, avec une augmentation lors de l'œstrus, ont été décrites chez certaines espèces animales (rat en particulier). En pathologie, une augmentation significative du nombre des éosinophiles sanguins (hyperéosino-



**Figure 4-4** Polynucléaire éosinophile ayant phagocyté des complexes antigènes-anticorps. Dégranulation. Présence de vacuoles de phagocytose contenant des complexes antigènes-anticorps et des restes granuleux ( $\times 10\ 000$  environ). Hématologie, J. Bernard, J.P. Lévy, B. Varet, Flammarion, Paris. (Cliché J. Breton-Gorius.)

philie) est observée au cours des affections allergiques telles que l'asthme ou les dermatoses atopiques et des parasitoses spécialement si le parasite a une localisation intratissulaire.

Les éosinophiles assurent leurs fonctions dans les tissus inflammatoires après avoir quitté le sang par diapédèse. Certaines de leurs fonctions telles que le chimiotactisme, la phagocytose, la bactéricidie sont communes aux polynucléaires avec, toutefois, des spécificités qui leur sont propres. Ainsi les éosinophiles sont particulièrement sensibles aux facteurs chimiotactiques activés dépendant de réactions antigènes-anticorps, du complément, ou à des facteurs plus spécifiques tels que le ECF-A (facteur chimiotactique pour les éosinophiles de l'anaphylaxie). De même, leur capacité de phagocyter des agents pathogènes et leur bactéricidie sont peu développées tandis que celle de phagocyter des complexes antigènes-anticorps mettant en jeu des IgE est particulièrement active et permet de les distinguer des autres variétés de polynucléaires et notamment des neutrophiles (Fig. 4-4). D'autres fonctions sont

caractéristiques des éosinophiles et responsables de leur rôle primordial dans les réactions d'hypersensibilité immédiate (voir chapitre 29).

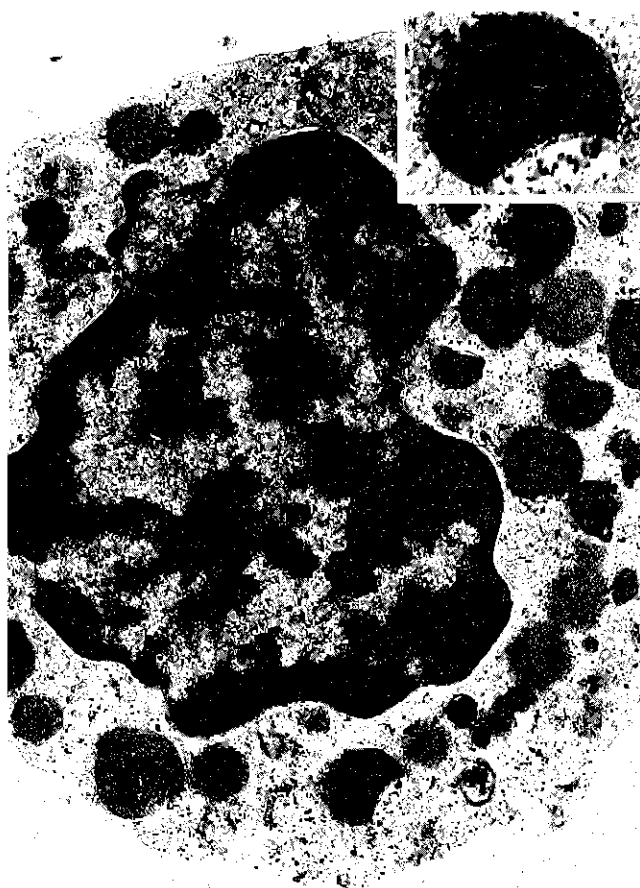
#### POLYNUCLÉAIRES BASOPHILES

Les polynucléaires basophiles sont formés dans la moelle osseuse après une maturation semblable mais indépendante de celle des polynucléaires neutrophiles et éosinophiles. Leurs précurseurs constituent 0,25 à 0,50 p. cent des cellules médullaires.

Dès le stade du promyélocyte, les granulations caractéristiques des cellules matures sont bien visibles en coexistence avec les granulations azurophiles banales des granulocytes. Dans les cellules matures, les granulations très nombreuses sont souvent situées au sein des vacuoles et masquent parfois le noyau de la cellule (Fig. 4-5). Elles sont de forme ovale ou triangulaire et aisément caractérisées par leur métachromasie

**Figure 4-5** granulocytes... que variable é... par la juxtapo... claires conten... nombreuses p... B. Varet, Fla

(avec color... et en jauné... leur conte... peroxydase... surtout très... métachrom... facteur acti... chimiotacti... SRA (slow... A l'exar... granulation... structure b... structure g



**Figure 4-5** Granulocyte basophile du sang. Le noyau, aux contours très irréguliers, a une structure comparable à celle des granulocytes neutrophiles. Le cytoplasme renferme des granulations limitées par une membrane et dont l'organisation interne, bien que variable est distincte de celle des granulations des neutrophiles, éosinophiles et des mastocytes : la majorité paraît constituée par la juxtaposition de granules denses, qu'on distingue mieux dans l'agrandissement illustré en encart. D'autres granulations plus claires contiennent des figures myéliniques. Le cytoplasme renferme de plus, quelques sacs de réticulum endoplasmique, et de nombreuses particules de glycogène. Vue d'ensemble :  $\times 30\ 550$ . Grossissement :  $\times 74\ 750$ . Hématologie, J. Bernard, J.P. Lévy, B. Varet, Flammarion, Paris. (Cliché J. Breton-Gorius.)

présence de vacuoles  
atologie, J. Bernard,

et responsables  
actions d'hyper-  
tre 29).

## PHILES

ont formés dans  
ration semblable  
s polynucléaires  
eurs précurseurs  
nt des cellules

les granulations  
ures sont bien  
les granulations  
cytes. Dans les  
très nombreuses  
des vacuoles et  
ellule (Fig. 4-5).  
a triangulaire et  
métachromasie

(avec coloration en rouge par les colorants bleus et en jaune par les colorants rouges). L'étude de leur contenu montre qu'elles renferment des peroxydases et des enzymes lysosomiaux et sont surtout très riches en héparine (responsable de leur métachromasie), histamine, bradykinine, en facteur activant les plaquettes ou PAF, en facteur chimiotactique pour les éosinophiles ECF-A, et en SRA (slow reactive substance of anaphylaxis).

A l'examen au microscope électronique, les granulations sont entourées d'une membrane de structure bilamellaire banale. Certaines ont une structure granulaire très régulière et homogène

faite de grains de 200 Å environ; d'autres contiennent à côté de ces grains des formations de type myélinique, probablement de nature lipidique.

Le nombre de basophiles circulants est très faible et varie selon les espèces. Il serait très diminué dans les maladies inflammatoires et dans l'urticaire, mais cette basocytopenie est difficile à apprécier étant donné le faible nombre de basophiles chez le sujet normal.

Les hyperbasophilies sont fréquentes dans la leucémie myéloïde chronique et des leucémies à basophiles autonomes ont également été décrites.

Les fonctions du polynucléaire basophile sont



encore mal connues et mal séparées de celles du mastocyte (voir ci-dessous). Leur capacité de phagocytose et de bactéricidie est très faible ou nulle. En revanche, leur réponse à des agents chimiotactiques est semblable à celle des autres variétés de polynucléaires. Il est bien établi qu'ils s'accumulent également dans les foyers inflammatoires, mais seulement en cas de sensibilisation à une substance étrangère.

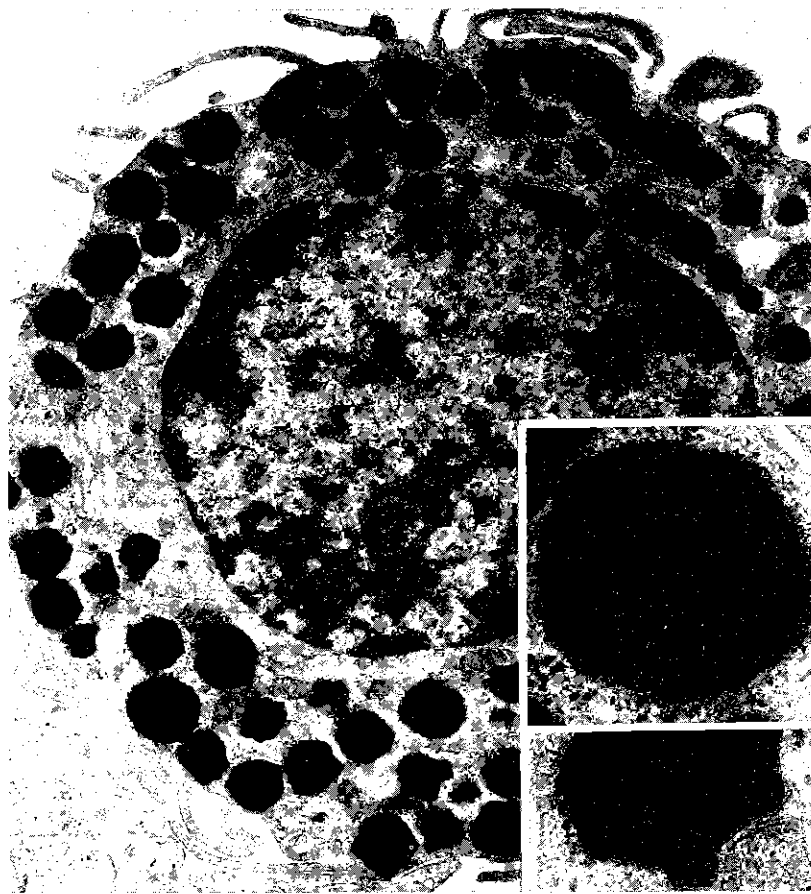
Par sa capacité à dégranuler et à libérer ainsi le contenu de ses granules, notamment l'histamine et l'ECF-A, le basophile pourrait jouer un rôle essentiel dans les réactions immunologiques de type hypersensibilité immédiate. In vitro les basophiles de sujets sensibilisés à un pollen se dégranulent spécifiquement en présence d'un

extrait du pollen sensibilisant et ce test est très utile au dépistage des sujets sensibilisés. En outre, les polynucléaires basophiles possèdent des récepteurs spécifiques pour les IgE et d'autres pour les IgG qui peuvent se fixer à leur surface.

Enfin, d'autres substances telles que les protéines cationiques des neutrophiles, des peroxydases provenant des éosinophiles et des anaphylatoxines sont également capables de provoquer cette dégranulation.

### MASTOCYTES

Les mastocytes sont des cellules du tissu conjonctif caractérisées par des granulations méta-



**Figure 4-6** Mastocyte de moelle osseuse. Noter la présence de nombreuses villosités caractéristiques de cette cellule. Les granulations, denses, ont des contours, tailles et structures internes variés ( $\times 18\ 300$ ). En encart : agrandissement des granulations montrant dans l'une, des structures cristallines constituées par un empilement régulier de lamelles denses juxtaposées à une partie amorphe et, dans l'autre, des enroulements composés de petites particules faisant saillie à la périphérie de la granulation ( $\times 80\ 000$ ). Hématologie, J. Bernard, J.P. Lévy, B. Varet, Flammarion, Paris. (Cliché J. Breton-Gorius.)

chromatique  
basophile  
apprécier,  
celui des b

L'origine  
mais il est  
nent pas  
cellule réti  
mastoblaste  
sont bien v  
et en co  
azurophiles  
tions sont  
de diamètr  
filamenteux

L'étude  
comme po  
mucopolys  
en histam  
présence d  
d'une prot  
zinc et de  
ment égal  
éosinophile

Cette p  
très étroite  
pair avec  
Comme le  
récepteurs

ce test est très sensibilisés. En outre, possèdent des récepteurs pour les autres pour les surfaces.

telles que les éosinophiles, des neutrophiles et des mastocytes capables de

cellules du tissu conjonctif et des mastocytes.

chromatiques voisines de celles du polynucléaire basophile (Fig. 4-6). Leur nombre, difficile à apprécier, serait beaucoup plus important que celui des basophiles.

L'origine des mastocytes est encore incertaine, mais il est généralement admis qu'ils n'appartiennent pas au tissu myéloïde et dérivent d'une cellule réticulaire indifférenciée. Dès le stade mastoblaste, les granulations métachromatiques sont bien visibles au sein du cytoplasme basophile et en coexistence avec des granulations azurophiles. Dans le mastocyte mûr, ces granulations sont prédominantes, volumineuses (300 Å de diamètre) et leur structure paraît souvent filamenteuse.

L'étude cytochimique de leur contenu montre, comme pour le basophile, une grande richesse en mucopolysaccharides (et notamment en héparine), en histamine et en sérotonine, ainsi que la présence de nombreuses enzymes protéolytiques, d'une protéine cationique riche en arginine, de zinc et de ruténium. Enfin, ces granules renferment également le facteur chimiotactique des éosinophiles de l'anaphylaxie (ECF-A).

Cette parenté morphologique et biochimique très étroite du mastocyte avec le basophile va de pair avec une grande parenté fonctionnelle. Comme le basophile, le mastocyte porte des récepteurs pour les IgE et les IgG, et par sa

capacité de dégranulation joue un rôle effecteur primordial dans les réactions de l'hypersensibilité.

## BIBLIOGRAPHIE

### *Cellules lymphoïdes*

- BACH JF. Thymic Hormones. *In* : Clinics in Immunology and Allergy. W.B. Saunders, Londres 1983, Vol. 3.
- HAYNES BF. The human thymic microenvironment. *Adv Immunol* 1984, 36 : 87.
- LITTMAN DR. The structure of the CD4 and CD8 genes. *Ann Rev Immunol* 1987, 5 : 561.
- ROYER HD, REINHERZ EL. T lymphocytes : ontogeny, function and relevance to clinical disorders. *New Engl J Med* 1987, 317 : 1136.
- SHEVACH EM. Macrophages and other accessory cells. *In* : WE Paul, *Fundamental Immunology*. Raven Press, New York 1984, p. 71.
- VON BOEHMER H. The developmental biology of T lymphocytes. *Ann Rev Immunol* 1988, 6 : 309.

### *Cellules phagocytaires*

- FAUVE R. L'immunité non spécifique. *In* : JF Bach, *Immunologie*, Flammarion Médecine-Sciences, 3<sup>e</sup> édition, Paris 1986, pp. 601-611.
- GALLIN JJ, GOLDSTEIN IM, SNYDERMAN R. *Inflammation, Basic Principles and Clinical Correlates*, Raven Press, New York, 1988.
- MILON G, DESCAMPS-LATSCHA B. Les cellules phagocytaires. *In* : JF Bach, *Immunologie*, Flammarion Médecine-Sciences, 3<sup>e</sup> édition, Paris 1986, pp. 61-78.

de cette cellule. Les

empilement régulier des granules, les microvillules faisant saillie sur la surface, Paris. (Cliché J.

E. Heinen, M.-P. Defresne, J. Boniver et L.J. Simar

## ORGANES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Les cellules lymphoïdes apparaissent dans des organes lymphoïdes dits centraux ou primaires, y subissent une première phase de maturation puis passent dans la circulation sanguine et lymphatique et peuplent des organes lymphoïdes dits périphériques ou secondaires (Fig. 5-1). Si à ce niveau, elles rencontrent l'antigène qu'elles reconnaissent spécifiquement et des conditions adéquates d'environnement, elles survivent, prolifèrent et subissent une seconde phase de maturation pour donner des cellules effectrices ou à mémoire qui peuvent exercer leurs fonctions sur place ou dans des tissus (conjonctifs ou épithéliaux) de l'organisme; la première phase est appelée lymphogenèse (ou lymphopoïèse), la seconde immunogenèse (ou immunopoïèse); pour l'homogénéité du texte nous utiliserons toujours la terminologie lympho- ou immunogenèse.

Les organes du système immunitaire se composent donc de cellules lymphoïdes mobiles et de cellules formant un micro-environnement spécifique (cellules de la trame et cellules dites accessoires) jouant un rôle déterminant dans la

migration, la survie, la prolifération, la différenciation et les fonctions des cellules lymphoïdes [2, 13, 14].

### ORGANES LYMPHOÏDES PRIMAIRES [6]

Ces organes sont le siège de la lymphogenèse. Chez les oiseaux, la bourse de Fabricius et le thymus produisent respectivement les cellules B (burso-dépendantes) et T (thymo-dépendantes). La situation est différente chez les mammifères : les moelles hématopoïétiques produisent des cellules pré-B achevant leur première phase de maturation sur place et des pré-T qui iront coloniser le thymus. Durant la vie fœtale, ce sont d'abord le foie et la rate puis les moelles osseuses qui forment des cellules pré-B (voir chapitre 15).

MOELLE  
HÉMATO

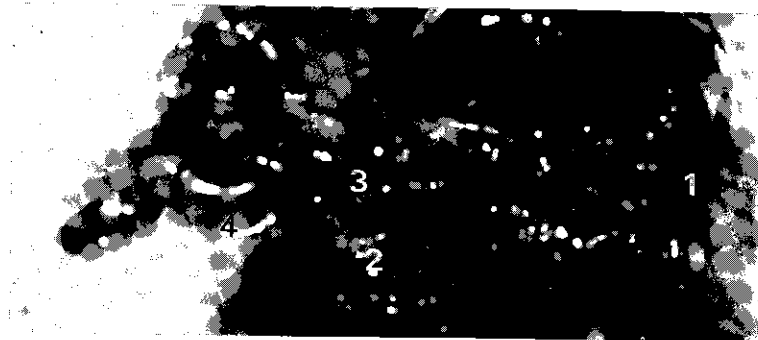
a

Figure 5-1 Les organes lymphoïdes primaires et secondaires.

a) 1. Thymus; 2. Amygdale; 3. Ganglions du cou; 4. Ganglions brachiaux et axillaires; 5. Rate; 6. Ganglions mésentériques et plaques de Peyer; 7. Ganglion inguinal; 8. Ganglion poplité; 9. Moelle osseuse hématopoïétique.  
b) 1. Thymus; 2. Ganglions du cou; 3. Ganglion axillaire; 4. Ganglion brachial.  
c) 1. Rate; 2. Plaque de Peyer; 3. Ganglions mésentériques; 4. Cæcum.



b



c

Chez les  
responsable  
seurs des li  
le système  
l'injection d

Située da  
moelle oss  
conjonctif l  
les artères  
osseuse se c  
puis se con  
geant vers le  
veineux est  
formée de c  
fibres réticu  
poïétiques,  
réticulées, d  
phages et de

Les précur  
dans la part  
osseuse, puis  
la zone cen  
circulation s  
Au départ, d  
proliférant a  
ration, elles  
typiques. Le  
passent par d  
de cellules-s  
pent des ce  
précoces) re  
spécifiques et  
gements gén  
(sélection des  
l'étape suiva  
contiennent d  
plasmiques; v  
*immatures* po  
leur surface (c  
arrangements  
des chaînes l  
cellules imm  
l'antigène qui  
qu'elles dégén  
expliquer la  
antigènes (vo  
immatures acq  
teurs de surfac  
tabilité de class  
des différentes

## MOELLE OSSEUSE HÉMATOPOÏÉTIQUE

Chez les mammifères, la moelle osseuse est responsable de la formation des cellules précurseurs des lignées B et T. Aussi peut-on restaurer le système immun des animaux irradiés par l'injection de cellules de moelle.

Située dans les espaces des os spongieux, la moelle osseuse rouge est constituée de tissu conjonctif lâche (tissu réticulé) très vascularisé : les artères nourricières perforant l'enceinte osseuse se capillarisent dans la zone périphérique, puis se continuent en des sinus veineux convergeant vers les veines centrales. La paroi des sinus veineux est mince, discontinue par endroits et formée de cellules endothéliales reposant sur des fibres réticulées. Parmi les cellules non hématopoïétiques, on trouve notamment des cellules réticulées d'aspect fibroblastique, des macrophages et des cellules adipeuses.

Les précurseurs de cellules B ou T prolifèrent dans la partie périphérique proche de l'enceinte osseuse, puis durant leur maturation évoluent vers la zone centrale où soit ils passent dans la circulation sanguine, soit dégèrent sur place. Au départ, ces cellules ont l'aspect de blastes proliférant activement puis, durant leur maturation, elles prennent l'aspect de lymphocytes typiques. Les cellules B de la moelle osseuse passent par différentes étapes évolutives : à partir de cellules-souches pluripotentielles se développent des cellules dites *pré-pré-B* (ou *pré-B précoces*) reconnaissables à l'aide d'anticorps spécifiques et sièges des premiers signes d'arrangements géniques des chaînes lourdes des Ig (sélection des gènes Dh et Jh, voir chapitre 6). A l'étape suivante, les cellules appelées *pré-B* contiennent des chaînes lourdes d'IgM intracytoplasmiques; viennent ensuite les cellules dites *immatures* possédant des IgM fonctionnelles à leur surface (ces cellules ont donc aussi réalisé les arrangements géniques nécessaires à l'expression des chaînes légères kappa ou lambda). Si ces cellules immatures entrent en contact avec l'antigène qui leur est spécifique, il semble qu'elles dégèrent. Ceci pourrait partiellement expliquer la tolérance à l'égard de certains antigènes (voir chapitre 12). Ces cellules immatures acquièrent des antigènes et des récepteurs de surface (antigènes majeurs d'histocompatibilité de classe II, récepteurs pour le fragment Fc des différentes classes, d'Ig, etc.) et quittent la

moelle osseuse; elles sont alors appelées *cellules vierges* ou *cellules B matures*. Ces cellules peuvent être activées au contact d'un antigène et donner lieu à une réponse immune dite primaire.

Les précurseurs des cellules T ne réalisent pas un tel réarrangement génique mais quittent la moelle osseuse et s'installent dans la zone corticale du thymus pour y réaliser leur remodelage génique aboutissant à l'expression de leur récepteur spécifique.

## BOURSE DE FABRICIUS

Une cellule-souche pluripotentielle doit subir deux événements majeurs pour devenir un lymphocyte B sécrétant des immunoglobulines. Le premier est de s'engager dans la voie de différenciation B, le second est d'acquérir la propriété de produire des Ig d'une spécificité particulière.

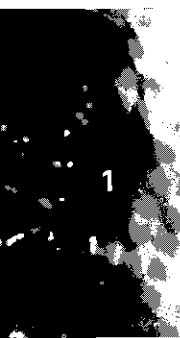
La moelle des mammifères est le siège d'une considérable activité hématopoïétique et participe au développement d'autres lignées. Les oiseaux possèdent par contre un organe spécialisé pour la seule production des lymphocytes B, la bourse de Fabricius, colonisée par des cellules-souches, contrôlant leur différenciation et libérant des lymphocytes B mûrs vers la périphérie. Le rôle de la bourse de Fabricius pour les lymphocytes B chez l'oiseau peut donc être comparé à celui du thymus pour les lymphocytes T. L'étude de la lymphogenèse B y est donc plus aisée que chez les mammifères.

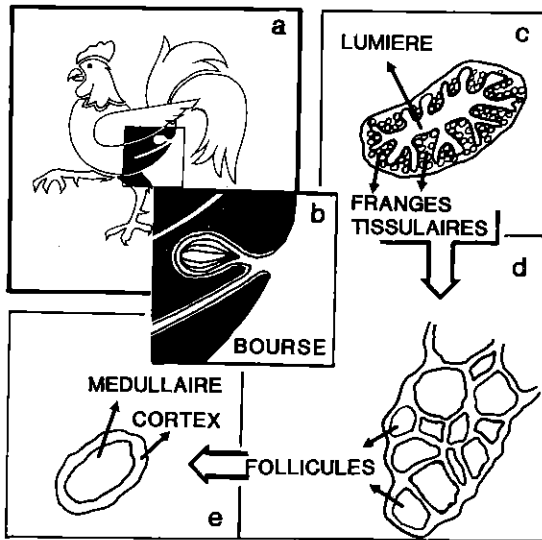
### Localisation, architecture et développement de la bourse de Fabricius

La bourse est localisée à la base du cloaque (Fig. 5-2). Le rudiment se développe au 4<sup>e</sup> jour de l'embryogenèse chez le poulet (voir chapitre 15) : il est formé d'une couche de cellules épithéliales qui se plisse progressivement. Les premières cellules souches colonisent l'ébauche bursale entre le 8<sup>e</sup> et le 14<sup>e</sup> jour de l'embryogenèse et induisent la formation des follicules (Fig. 5-3 a). Dans chaque follicule, les cellules-souches donnent naissance à une population de cellules exprimant des monomères d'IgM à leur surface.

Chaque follicule possède une médullaire peuplée par des cellules épithéliales, des macrophages, des cellules sécrétoires de nature dendri-

primaires et secondaires;  
4. Ganglions du cou; 4.  
Rate; 6. Ganglions  
Ganglion inguinal; 8.  
hématopoïétique.  
Ganglion axillaire;  
Ganglions mésentériques;





**Figure 5-2** Anatomie de la bourse de Fabricius (d'après Ratcliffe M.J.H.). La bourse de Fabricius (b), est localisée à la base du cloaque (a). Elle est formée d'une série de franges tissulaires entourant une lumière centrale (c). Chaque frange est composée de plusieurs follicules (d) possédant chacun une médullaire et un cortex (e).

tique, des lymphocytes, des lymphoblastes et quelques plasmocytes. Elle est entourée par une couche de cellules épithéliales (voir Fig. 5-3 a).

Le développement de la bourse se fait en deux étapes :

- l'étape embryonnaire pendant laquelle se déroulent la colonisation du rudiment et la croissance d'environ  $10^4$  follicules bursaux, par expansion de leurs clones B;

- l'étape post-éclosion durant laquelle les cellules bursales migrent vers les organes lymphoïdes périphériques. A 4 semaines, le système immunitaire B du poulet est développé et la bourse commence à involuer. A 6 mois, il ne reste que des vestiges nécrotiques, apparemment non fonctionnels.

### Cellules-souches prébursales

Les cellules-souches prébursales sont situées dans la moelle des embryons (Fig. 5-3 b). On n'en détecte plus chez les poussins âgés de trois jours; leur présence est donc limitée à certains stades du développement. Selon certains auteurs, il existerait aussi chez l'embryon des cellules-

souches pluripotentiels, capables de peupler le thymus et la bourse; ces cellules perdraient leur capacité de peupler la bourse après l'éclosion. On a estimé qu'environ 2 à 7 cellules-souches colonisent chaque follicule et qu'il n'existe aucune migration d'un follicule à l'autre. Les cellules-souches sont engagées dans la voie de différenciation B, elles ont déjà réarrangé les gènes codant pour les Ig et expriment des monomères d'IgM à leur surface : on peut, dans certaines conditions, inhiber leur capacité de coloniser la bourse embryonnaire en les incubant avec des anticorps anti-IgM.

Puisque la bourse de Fabricius contient environ  $10^4$  follicules colonisés par une moyenne de deux cellules-souches, on peut estimer à  $2 \times 10^4$  le nombre de réarrangements productifs dans le système B du poulet. Ces réarrangements donnent naissance à une population de précurseurs pour la lignée B.

Bien que les réarrangements se soient produits avant l'entrée des cellules-souches dans la bourse, cette dernière représente une étape obligatoire de la différenciation des lymphocytes B : elle permet le clonage et la prolifération de ces précurseurs.

### Cellules-souches bursales (Fig. 5-3 b)

Chaque follicule contient une population oligoclonale dérivant de quelques cellules-souches prébursales qui ont déjà réarrangé les gènes codant pour les IgM. On a montré que différentes spécificités naissent successivement dans les follicules bursaux embryonnaires. Cette diversification est nécessaire au développement complet du compartiment B : elle se produit au niveau des IgM et donne naissance au répertoire pré-immun. Les cellules B ainsi formées migrent en périphérie et peuvent subir une expansion clonale stimulée par différents antigènes circulants.

Un point important de ce système est la génération de la diversité à partir d'un nombre limité de réarrangements : par le mécanisme de conversion génique (voir chapitre 6).

Plusieurs questions restent sans réponse dans ce modèle : quels sont les signaux spécifiques qui induisent cette conversion génique ? Quelle est la fréquence de ces événements ? En effet, si l'on considère le taux de prolifération des cellules B dans la bourse en développement, elle devrait contenir  $10^{20}$  cellules à 3 semaines. Or, elle n'en contient que  $10^9$  à  $3.10^9$  et il y a environ  $6.10^9$  lymphocytes B en périphérie. On en déduit donc

**Figure 5-3** D  
a) Représentat  
b) Ontogénie e  
Les cellules f  
le 15<sup>e</sup> jour, des  
programmées p  
alentours du 11<sup>e</sup>  
Le follicule bu

es de peupler le  
perdraient leur  
l'éclosion. On  
souches coloni-  
n'existe aucune  
e. Les cellules-  
de différen-  
es gènes codant  
omères d'IgM à  
ines conditions,  
aiser la bourse  
ec des anticorps

contient environ  
oyenne de deux  
r à  $2 \times 10^4$  le  
ductifs dans le  
gements donnent  
curseurs pour la

g. 5-3 b)

population oligo-  
cellules-souches  
ngé les gènes  
que différentes  
nt dans les fol-  
ette diversifica-  
ent complet du  
au niveau des  
aire pré-immun.  
nt en périphérie  
lonale stimulée

ystème est la  
r d'un nombre  
mécanisme de  
6).

réponse dans ce  
spécifiques qui  
? Quelle est la  
n effet, si l'on  
des cellules B  
nt, elle devrait  
s. Or, elle n'en  
u environ  $6.10^9$   
en déduit donc

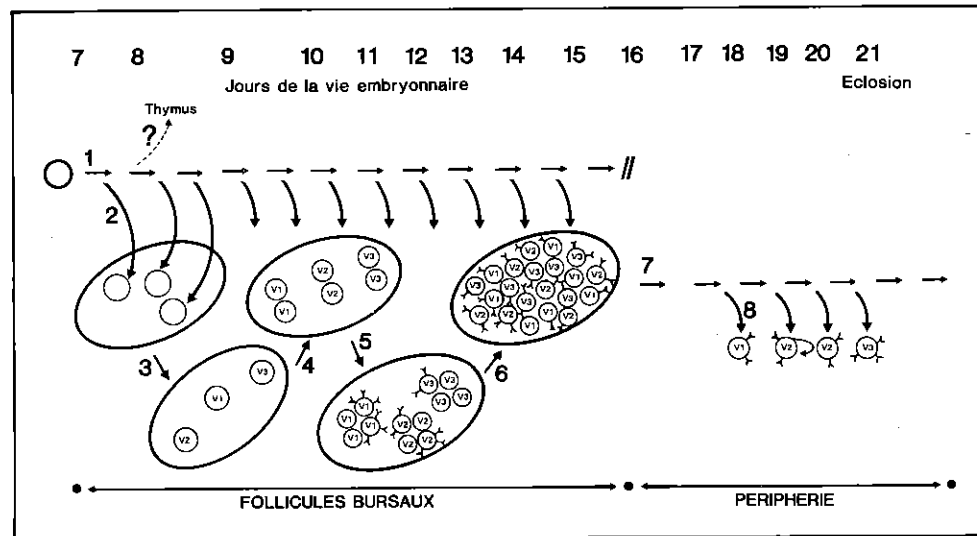
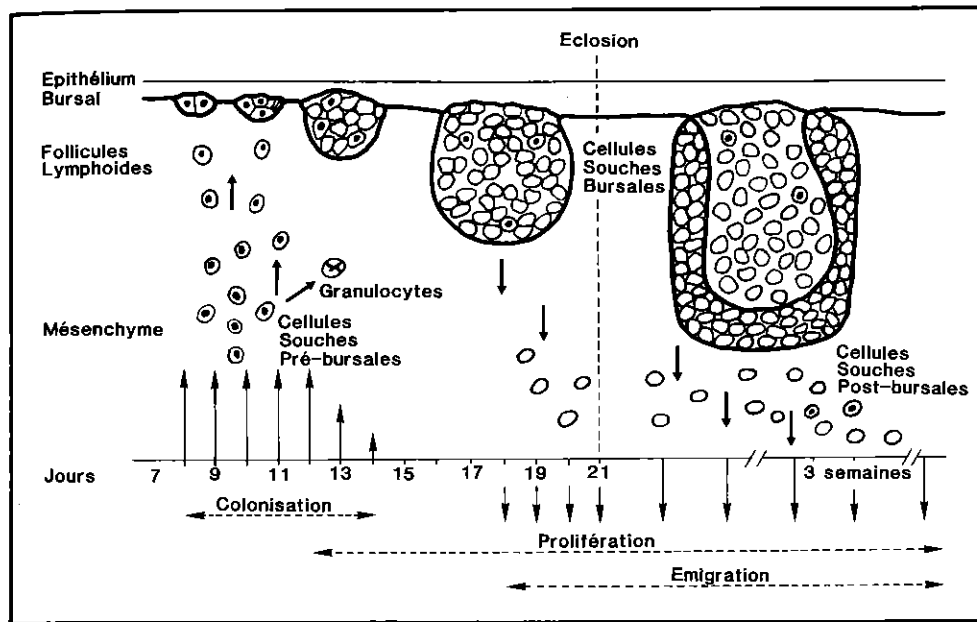


Figure 5-3 Développement de la bourse de Fabricius chez le poulet.

a) Représentation schématique du développement de la bourse (d'après Weill J.C. et Reynaud C.A., 1987).  
b) Ontogénèse des cellules B chez le poulet (d'après Ratcliffe M.J.H.).

Les cellules B pré-bursales (1) sont détectées dans la circulation embryonnaire du 7<sup>e</sup> au 16<sup>e</sup> jour du développement. Entre le 7<sup>e</sup> et le 15<sup>e</sup> jour, des follicules bursaux sont peuplés par des cellules-souches pré-bursales en faible nombre (2). Elles sont très rapidement programmées pour l'expression d'une région v particulière (3) et commencent alors à se diviser (4). Les slg sont observées aux alentours du 11<sup>e</sup>-12<sup>e</sup> jour (5), délai après lequel on observe une prolifération intense et une augmentation de l'expression des Ig (6). Le follicule bursal produit alors des cellules B (7) qui migrent vers la périphérie aux environs du 18<sup>e</sup> jour (8).

que 1 à 10 p. cent des cellules produites quittent la bourse chaque jour et que les autres meurent in situ. Cette estimation permet d'imaginer qu'il y a un taux élevé d'événements abortifs, probablement dus à l'imprécision du mécanisme de conversion génique : la cellule B doit posséder des IgM de surface pour se maintenir dans la réserve de cellules en division active.

### Rôle de la bourse dans la maturation des cellules B [15, 20]

L'épithélium de la bourse induit l'expression d'antigènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité à la surface des cellules-souches prébursales. Il sécrète en plus une hormone, la bursapoiétine qui est responsable de l'expression d'un antigène, appelé BU-1 à la surface des cellules B [8].

L'ablation de la bourse au 17<sup>e</sup> jour du développement embryonnaire du poulet entraîne une agammaglobulinémie totale. Une telle « bursectomie » est parfois observée chez les oiseaux infectés par le Birnavirus responsable de la maladie de Gumboro (voir chapitre 37). Par contre, si l'on enlève les tissus qui vont constituer l'épithélium bursal à la 60<sup>e</sup> heure de l'embryogenèse, on obtient des poulets immunodéficients qui possèdent cependant des cellules B circulantes et des Ig sériques. Il apparaît donc que la maturation des cellules B peut se dérouler, au moins partiellement, ailleurs que dans la bourse de Fabricius, dans un tissu dont la nature reste inconnue.

### Migration des lymphocytes B et maturation post-bursale

Chez le poulet, les cellules formées dans la bourse commencent à coloniser les organes périphériques aux environs du 18<sup>e</sup> jour de l'embryogenèse (voir Fig. 5-3 b). La bourse involue après l'éclosion; toutefois, la réserve périphérique des cellules B est maintenue et est capable de restaurer à long terme l'immunité humorale lorsqu'on l'injecte à un receveur présentant un déficit en cellules B.

On ne sait pas comment les clones B sont maintenus dans les organes lymphoïdes secondaires : soit par un phénomène constant de production et de mort cellulaire ou par des cellules B qui survivent longtemps.

Les cellules-souches périphériques n'ont pas la

même capacité de produire des variants somatiques que leur équivalent bursal, ce qui a comme conséquence une très faible capacité adaptative.

La principale différence dans l'ontogenèse des cellules B chez les oiseaux et chez les mammifères est l'absence de cellules pré-B chez les oiseaux (c'est-à-dire des cellules qui ne possèdent pas de sIg mais expriment des chaînes lourdes dans leur cytoplasme). Chez les mammifères adultes, les précurseurs se transforment continuellement en lymphocytes B dans la moelle. Par contre, chez le poulet adulte, toutes les cellules B dérivent de cellules qui expriment déjà des sIg au moment de l'éclosion.

Le répertoire des cellules B des mammifères est le résultat du réarrangement des gènes de la région variable de la lignée germinale et de leurs mutations somatiques. On peut penser qu'il en est de même chez les oiseaux puisque le répertoire des cellules B dérive d'un très petit nombre (moins de  $10^5$ ) de précurseurs programmés. Le follicule germinale qui est le siège d'une prolifération B intense est probablement le site de production de tels mutants somatiques. Il représente un matériel idéal pour étudier in situ les mutations somatiques dans un petit nombre de clones de cellules B. Le poulet reste donc un modèle expérimental intéressant pour étudier les stades précoces de la différenciation des lymphocytes B.

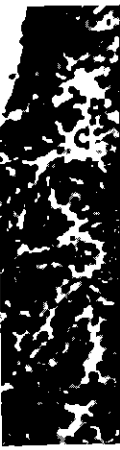
### THYMUS

Le thymus joue un rôle essentiel dans l'élaboration des mécanismes de défense immunitaire. C'est l'organe lymphoïde central responsable de la formation des lymphocytes T qui exercent un rôle de régulation dans les réponses immunes, et un rôle effecteur dans les réponses immunes cellulaires.

### Localisation, architecture et développement du thymus [10, 12]

Le thymus des vertébrés est situé derrière le sternum dans le médiastin antérosupérieur : il s'étend du péricarde qu'il recouvre partiellement à la base du cou où il envoie deux prolongements (Fig. 5-1).

Il est composé de différents types cellulaires (Fig. 5-4) :



Fig

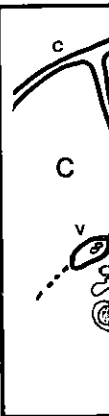


Figure 5-4 b  
thymus. c =  
= cellule int  
lb = lymph  
thymique, v  
de Doctorat

— chez  
dérive à l  
crête neu  
ectodermi  
uniqueme  
— les  
par contr  
Tout au  
s'organis



variants somati-  
que qui a comme  
spécificité adaptative.  
L'ontogenèse des  
cellules et chez les  
cellules pré-B chez  
cellules qui ne  
forment des chaînes  
(α et β). Chez les  
lymphocytes se transfor-  
ment en lymphocytes B dans la  
thymus adulte, toutes  
les cellules qui expriment  
des récepteurs.

Chez les mammifères est  
située dans la région  
corticale et de leurs  
cellules. On pense qu'il en est  
encore le répertoire  
de ce petit nombre  
de cellules programmées. Le  
thymus est le site de  
la sélection des cellules. Il repré-  
sente in situ les  
cellules d'un petit nombre de  
cellules. Il reste donc un  
site pour étudier les  
mécanismes de la sélection des lym-

cellules dans l'élabora-  
tion du système immunitaire.  
Le thymus est responsable de la  
sélection des cellules qui exercent un rôle  
dans les réponses immunes, et un  
site pour les cellules immunes cellu-

cellules [10, 12]

situé derrière le  
diaphragme supérieur : il  
est constitué partiellement à  
partir de prolongements

types cellulaires

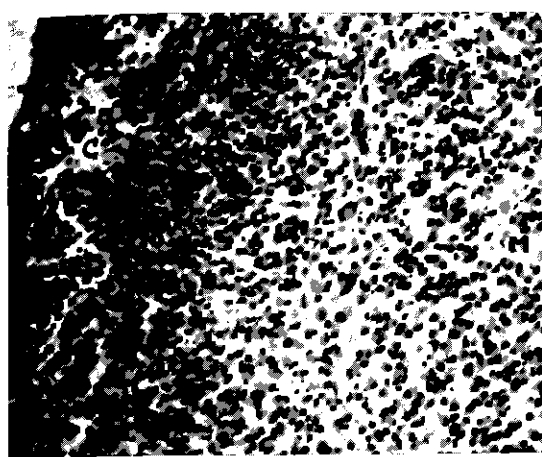


Figure 5-4 a Architecture du thymus.

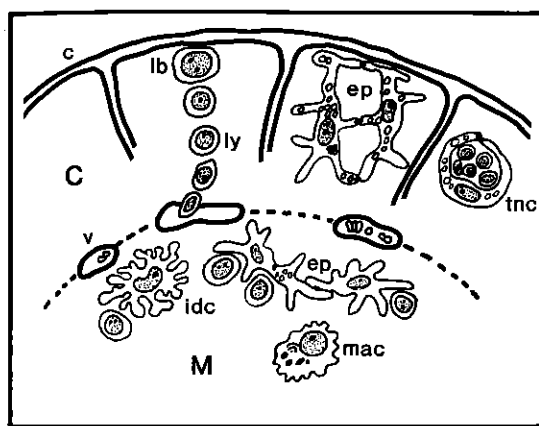


Figure 5-4 b Représentation schématique de l'architecture du thymus. c = capsule, C = cortex, ep = cellule épithéliale, idc = cellule interdigitante, M = médullaire, mac = macrophage, lb = lymphoblaste, ly = lymphocyte, tnc = cellule nurse thymique, v = vaisseau sanguin. (D'après Van Vliet E. Thèse de Doctorat 1985 Erasmus University Rotterdam).

— chez la souris et chez l'homme, l'épithélium dérive à la fois de la 3<sup>e</sup> poche pharyngée et de la crête neurale; il a donc une origine endo- et ectodermique; chez l'oiseau par contre, il provient uniquement de l'ectoderme;

— les cellules mésenchymateuses proviennent par contre du mésenchyme des arcs pharyngés.

Tout au début du développement, ces cellules s'organisent de façon assez simple : un amas de

cellules épithéliales est entouré d'une capsule de mésenchyme. Durant l'ontogenèse, cette ébauche est colonisée par des précurseurs de lymphocytes, de macrophages et de cellules dendritiques qui proviennent du foie fœtal chez l'embryon et de la moelle hématopoïétique après la naissance. Progressivement les masses stromales et lymphocytaires augmentent et les cellules de la trame s'organisent pour constituer l'architecture du thymus adulte, formé de deux lobes séparés qui présentent une structure lobulée. On y distingue une région corticale et une région médullaire qui diffèrent par la nature des cellules lymphoïdes et des cellules de la trame qui les occupent.

Des vaisseaux sanguins pénètrent au niveau de la jonction entre les zones corticale et médullaire. A cet endroit, se branchent des arcs et des réseaux capillaires qui irriguent respectivement le cortex et la région médullaire. Ces vaisseaux se continuent par des veines localisées dans la zone médullaire et à la jonction corticomédullaire. Dans le cortex, les capillaires sont entourés par des cellules épithéliales et des macrophages; de plus leurs cellules endothéliales sont unies par des jonctions serrées. Cette disposition constitue une barrière empêchant la diffusion des antigènes dans le cortex. Par contre dans la région médullaire, la paroi des veinules est perméable aux macromolécules qui peuvent ainsi accéder aux thymocytes locaux.

Le thymus joue un rôle capital dans le développement de la fonction immune; cependant, son rôle chez les adultes est encore un sujet controversé. En effet, à la fin du premier mois chez la souris, et dans les premières années de la vie chez l'homme, il commence à involuer spontanément. Les causes de cette involution sont encore inconnues, il faut la distinguer des atrophies provoquées par des causes extrinsèques comme le stress, les infections, la grossesse, la lactation, certains antibiotiques et certains états de malnutrition.

En dehors de toute agression externe, on retrouve des vestiges de tissu thymique entourés de tissus fibreux et graisseux chez des personnes âgées de plus de cent ans : les cellules épithéliales de ces résidus continuent à produire des hormones, et les études immunohistologiques montrent que les différentes sous-populations thymocytaires décrites dans le thymus jeune sont toujours présentes. Il semble donc que ces résidus thymiques soient toujours fonctionnels, et que le thymus garde un rôle actif dans la réponse immune tout au long de l'existence.

### Cellules de la trame (non lymphoïdes)

Les *cellules épithéliales* sont caractérisées par la présence de tonofilaments et de desmosomes. Il en existe plusieurs catégories différant par leur localisation, leur morphologie et leur phénotype. Dans le cortex, elles possèdent de longs prolongements cytoplasmiques qui forment un réseau de mailles : certaines d'entre elles, localisées dans la zone sous-capsulaire englobent des lymphocytes dans les replis de leur cytoplasme et forment ainsi des complexes lymphoépithéliaux dénommés « cellules nurses thymiques ». Elles expriment les antigènes de classe I et de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), une glycoprotéine appelée A2B5 caractéristique des cellules neuroendocrines, et contiennent de la thymuline et des neuropeptides.

Dans la région médullaire, les cellules épithéliales possèdent moins de prolongements cytoplasmiques et forment des îlots cellulaires plus compacts que dans le cortex. Elles expriment également la glycoprotéine A2B5 et contiennent de la thymuline et des neuropeptides. Elles ne sont toutefois pas identiques aux cellules constitutives des cellules nurses : elles possèdent en effet certaines structures moléculaires distinctes de celles présentes au niveau des cellules du cortex.

Les *macrophages* sont dispersés dans le cortex et la zone médullaire; ils sont particulièrement nombreux au niveau de la jonction entre ces deux régions. Ces cellules sont caractérisées par leur forme irrégulière et par la présence de nombreux phagolysosomes contenant des débris lymphocytaires. Enfin, les *cellules dendritiques* (ou cellules interdigitantes) sont situées uniquement dans la zone médullaire et à la jonction entre les régions corticale et médullaire. Leur cytoplasme, très pâle, contient des corps denses et des granules de Birbeck et envoie de nombreux prolongements entre les lymphocytes; leur noyau excentrique est réniforme. Leur membrane exprime des glycoprotéines de classe II du CMH.

### Sous-populations thymocytaires

[11, 18]

C'est dans le thymus que les précurseurs lymphocytaires T se multiplient et acquièrent le « répertoire » nécessaire à leur compétence immunologique. Ce processus est complexe et implique un accroissement numérique et l'acquisition de nombreux caractères nouveaux :

— des récepteurs membranaires leur conférant

la capacité de pénétrer dans les tissus lymphoïdes périphériques;

— une fonction (auxiliaire, suppressive ou cytotoxique);

— la spécificité qui requiert l'expression de plusieurs glycoprotéines membranaires : d'une part un complexe formé par la glycoprotéine CD3 et un récepteur spécifique pour l'antigène et d'autre part un récepteur pour le soi (c'est-à-dire les antigènes codés par le CMH). La spécificité du récepteur pour l'antigène dérive de réarrangements se produisant au sein des gènes T<sub>H</sub> (réarrangements comparables à ceux qui touchent les gènes d'immunoglobulines dans les lymphocytes B en formation). Le récepteur pour le « soi » est différent selon que le lymphocyte T est de type auxiliaire ou cytotoxique-suppresseur. Dans le premier cas, il s'agit de récepteurs pour les antigènes de classe II du CMH et dans le second cas pour ceux de classe I;

— la tolérance envers le « soi » : les lymphocytes T ne déclenchent pas de réponse immunitaire vis-à-vis des constituants propres à l'organisme dont ils font partie.

Schématiquement, on considère qu'il existe deux grandes catégories de thymocytes dont la localisation intrathymique correspond à l'organisation anatomique des cellules du stroma. Dans le cortex, on trouve des grandes cellules blastiques dans la zone sous-capsulaire et de petits thymocytes dans le cortex profond : cette population généralement considérée comme jeune représente 85 p. cent des cellules lymphoïdes thymiques. La région médullaire contient des thymocytes de taille moyenne qui possèdent des caractéristiques de cellules T périphériques et constituent 15 p. cent de l'ensemble des lymphocytes thymiques.

Avant de définir les populations thymocytaires, rappelons d'abord qu'elles proviennent de précurseurs, les prothymocytes, situés dans le foie et la moelle chez le fœtus et dans la moelle chez l'adulte. Un petit nombre de prothymocytes migre continuellement de la moelle vers le thymus, sous l'influence d'un facteur chimiotactique sécrété par les cellules épithéliales thymiques. Quelques précurseurs suffisent pour donner naissance à l'ensemble des populations thymocytaires. Leur évolution intrathymique est un processus extrêmement complexe qui n'est pas encore complètement élucidé à l'heure actuelle. Leur phénotype permet de définir plusieurs populations dont les caractéristiques principales sont résumées dans le tableau 5-I.

Tableau 5-I

## Cortex

Thymocytes b  
et du cortex e  
Blastes cortica  
Petits thymocy

## Région médullaire

Thymocytes d

Thymocytes d

a : CD5<sup>+</sup>; b :

On consi  
sont incap  
antigénique.  
engagés dan  
divisions su  
aux petits  
d'entre eux  
un mécanis

Dans la  
rative est fa  
sont en cy  
nécessaires  
capacités fo  
lymphocytes

Rappelons  
dent à des  
Toutefois, la  
ration intrat  
ignore encod  
sous-populat  
certains, le  
thymocytes  
CD8 et C  
thymocytes  
thymocytes  
les organes  
d'autres, il  
populations  
donneraient  
riques.

### Interaction et cellules

On consi  
tion de ly  
compétents

Tableau 5-1 Phénotype des thymocytes.

		p. cent	Thy 1	CD8	CD4
<i>Cortex</i>					
Thymocytes blastiques sous-capsulaires	a)	<1	-	-	-
et du cortex externe	b)	<1	+	-	-
Blastes corticaux		15	+	+	+
Petits thymocytes		70	+	+	+
<i>Région médullaire</i>					
Thymocytes de taille moyenne	c)	8	+	-	+
	d)	5	+	+	-
Thymocytes de grande taille		1	-	-	-

a : CD5<sup>-</sup>; b : CD5<sup>+</sup>; c : CD4<sup>+</sup>; d : CD8<sup>+</sup>.

On considère que les lymphocytes du cortex sont incapables de répondre à une stimulation antigénique. Quinze à 20 p. cent d'entre eux sont engagés dans le cycle cellulaire et effectuent 5 à 6 divisions successives avant de donner naissance aux petits thymocytes corticaux. La majorité d'entre eux meurt in situ pour des raisons et selon un mécanisme encore inexpliqués.

Dans la région médullaire, l'activité proliférative est faible : environ 5 p. cent des cellules sont en cycle. Elles possèdent les récepteurs nécessaires pour reconnaître l'antigène et des capacités fonctionnelles analogues à celles des lymphocytes T périphériques.

Rappelons que ces sous-populations correspondent à des stades de différenciation différents. Toutefois, la succession des événements de maturation intrathymique est encore mal connue. On ignore encore les relations exactes entre les sous-populations corticales et médullaires. Selon certains, les précurseurs thymocytaires (les thymocytes qui n'expriment pas les antigènes CD8 et CD4) donneraient naissance aux thymocytes corticaux dont proviendraient les thymocytes médullaires qui migreraient alors vers les organes lymphoïdes périphériques. Pour d'autres, il n'y aurait aucune relation entre les populations corticales et médullaires, les deux donneraient naissance aux lymphocytes périphériques.

**Interactions entre thymocytes et cellules du stroma [3, 4, 5]**

On considère à l'heure actuelle que la production de lymphocytes T immunologiquement compétents est sous le contrôle d'un « micro-

environnement » spécifique créé au sein du thymus par les cellules non lymphoïdes. Ces dernières exercent leurs effets par l'intermédiaire de facteurs solubles (hormones thymiques), et de contacts directs avec les lymphocytes.

Les hormones produites par les cellules de la trame thymique agissent sur deux types de cellules-cibles : les prothymocytes et les thymocytes. Nous avons déjà mentionné que certaines cellules épithéliales sécrètent un facteur chimiotactique qui induit la migration des prothymocytes vers le thymus. D'autres hormones, entre autres la thymosine et la thymuline, induisent la prolifération des cellules, l'expression de marqueurs T et de certaines fonctions.

Certaines étapes de différenciation ne peuvent s'accomplir qu'à la faveur d'interactions directes entre les thymocytes et les cellules de la trame. Des récepteurs présents à la surface des thymocytes reconnaissent certaines structures membranaires des cellules de la trame et forment avec ces dernières des complexes multicellulaires.

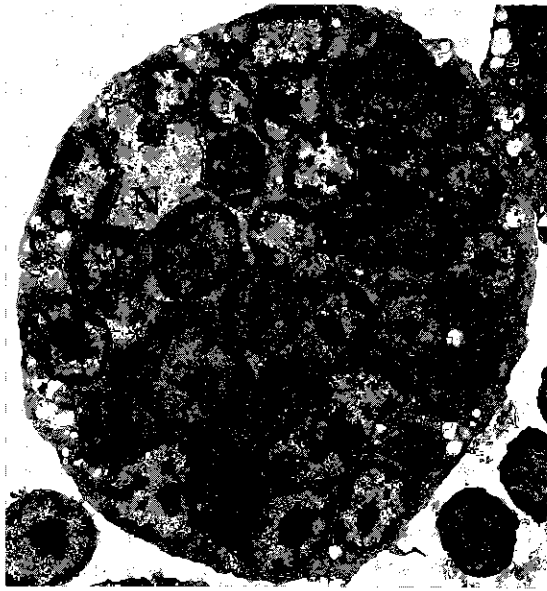
On en distingue trois types :

— les cellules nurses nourrices thymiques qui sont des complexes formés par des cellules épithéliales sous-capsulaires qui contiennent des thymocytes dans leurs prolongements cytoplasmiques (Fig. 5-5);

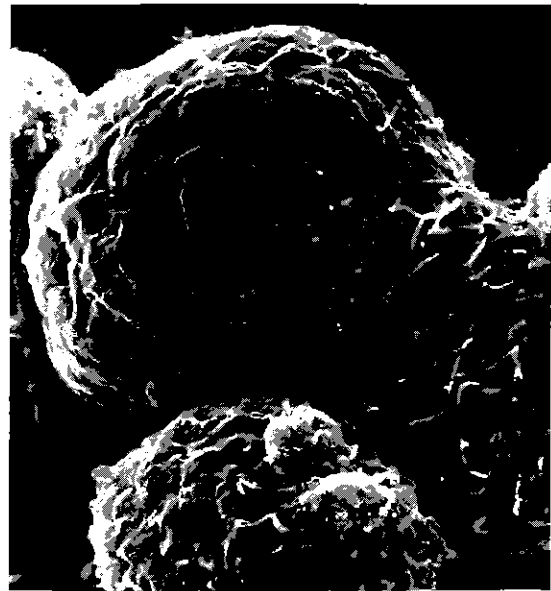
— les rosettes à macrophage qui résultent de l'association de cellules lymphoïdes entourant un macrophage du cortex ou de la zone de jonction entre le cortex et la zone médullaire;

— les rosettes à cellule interdigitante où la cellule du stroma est une cellule interdigitante de la jonction entre le cortex et la région médullaire (Fig. 5-6).

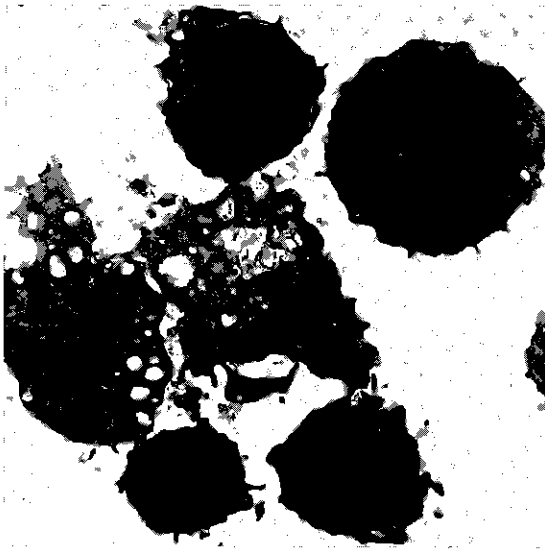
Les interactions entre ces différents éléments de



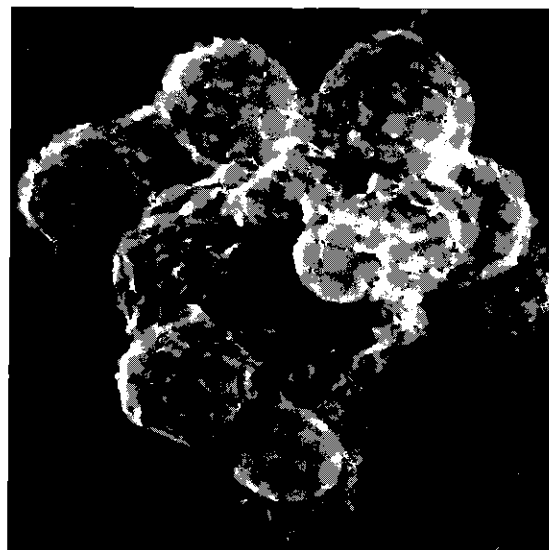
**Figure 5-5 a** Cellule nurse thymique observée au microscope électronique à transmission. Les prolongements cytoplasmiques de la cellule épithéliale (C) entourent complètement des lymphocytes et des cellules blastiques (B). (N) : noyau de la cellule épithéliale.



**Figure 5-5 b** Cellule nurse thymique observée au microscope électronique à balayage. Dans le revêtement de la cellule épithéliale, on observe des reliefs correspondant aux lymphocytes qu'elle contient.



**Figure 5-6 a** Rosette à cellule interdigitante observée au microscope électronique à transmission.



**Figure 5-6 b** Rosette à cellule interdigitante observée au microscope électronique à balayage. On observe des lymphocytes entourant une cellule stromale qui possède des caractéristiques de cellule interdigitante.

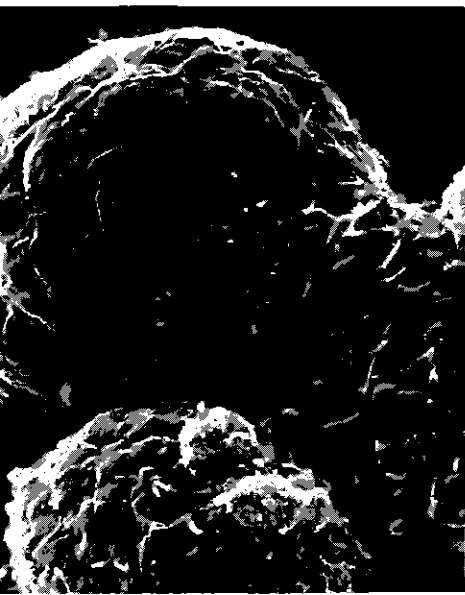
la trame  
séquence  
taires qui  
forment  
macrophag  
blissent de  
de subir l

Actuelle  
jouent un  
thymocyte  
envers l'an  
Les macro  
de classe I  
l'induction  
phocytair  
thymocytes  
molécules  
cellules ép  
expriment  
qu'apparâit  
seraient sé  
taires cap  
gers en ass  
Enfin, l'in  
sélectionné  
responsable

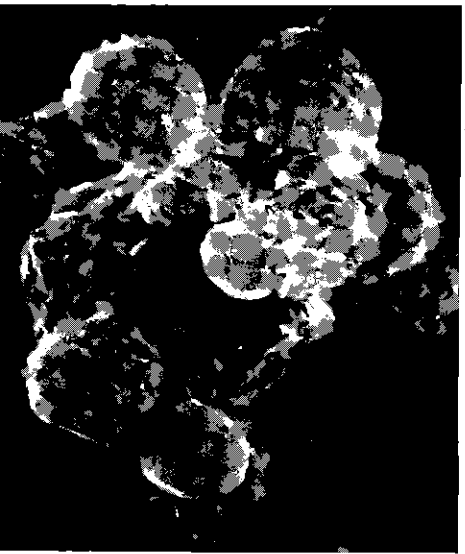
Toutefoi  
spécificité  
induites pa  
vention des

## Migration

Le nomb  
jour dans l  
seurs se d  
capsulaire,  
du cortex  
population l  
Seule une f  
migre vers  
que ce phér  
tion qui n'a  
possédant u  
thymiques s  
phénotype d  
compétents,  
structures s  
des veinule  
proviennent  
laire et en  
corticale.



5 b Cellule nurse thymique observée au microscope électronique à balayage. Dans le revêtement de la cellule, on observe des reliefs correspondant aux lymphocytes qu'elle contient.



6 b Rosette à cellule interdigitante observée au microscope électronique à balayage. On observe des lymphocytes entourant une cellule stromale qui possède des reliefs de cellule interdigitante.

la trame thymique se déroulent selon une séquence bien définie : les précurseurs thymocytaires qui viennent d'entrer dans le thymus forment d'abord des rosettes avec des macrophages. Environ deux jours après, ils établissent des contacts avec les cellules nurses avant de subir l'influence des cellules interdigitantes.

Actuellement, on admet que ces complexes jouent un rôle important dans la prolifération des thymocytes et dans leur éducation à la spécificité envers l'antigène et à la tolérance vis-à-vis du soi. Les macrophages qui ne possèdent pas d'antigène de classe II joueraient essentiellement un rôle dans l'induction de la prolifération d'une réserve lymphocytaire immature. Deux jours après, les thymocytes qui possèdent des récepteurs pour ces molécules de classe II interagiraient avec des cellules épithéliales formant les nurses qui, elles, expriment ces antigènes : c'est à ce niveau qu'apparaîtrait la glycoprotéine CD3, et que seraient sélectionnées les populations thymocytaires capables de reconnaître les antigènes étrangers en association avec les molécules du CMH. Enfin, l'interaction entre ces thymocytes ainsi sélectionnés et les cellules interdigitantes serait responsable de l'acquisition de la tolérance.

Toutefois, il faut signaler que, chez l'oiseau, la spécificité et la tolérance seraient toutes deux induites par l'épithélium thymique, sans l'intervention des cellules interdigitantes.

### Migration des thymocytes

Le nombre de prothymocytes pénétrant chaque jour dans le thymus est très faible. Les précurseurs se divisent surtout dans la région sous-capsulaire, et donnent naissance aux thymocytes du cortex profond; plus de 90 p. cent de la population lymphoïde ainsi produite meurt in situ. Seule une faible proportion (moins de 1 p. cent) migre vers les organes périphériques. On admet que ce phénomène résulte du processus de sélection qui n'autorise que la migration des cellules possédant une spécificité adéquate. Les migrants thymiques sont des thymocytes qui possèdent un phénotype de lymphocytes T immunologiquement compétents, ils expriment un récepteur pour des structures spécialisées situées sur l'endothélium des veinules post-capillaires des ganglions. Ils proviennent principalement de la région médullaire et en outre, selon certains, de la région corticale.

## ORGANES LYMPHOÏDES SECONDAIRES

Ces organes sont le siège de l'interaction, c'est-à-dire de la réaction des cellules lymphocytaires rencontrant les antigènes qu'elles reconnaissent spécifiquement. On peut schématiser la fonction des voies d'arrivée des antigènes en divisant ces organes en trois catégories : les ganglions lymphatiques qui drainent la lymphe, la rate située sur la circulation sanguine, les organes lymphoïdes associés aux muqueuses qui permettent aux antigènes de pénétrer au travers des épithéliums. Parmi ces derniers, on trouve les amygdales, les plaques de Peyer, les zones annexées aux muqueuses digestives, respiratoires, urinaires ou génitales.

### GANGLIONS LYMPHATIQUES

[7, 19]

Les ganglions lymphatiques sont présents chez tous les animaux ainsi l'homme en possède près de 300, le cheval plus de 8 000. Ce sont des formations arrondies dont le volume varie de quelques mm<sup>3</sup> à plusieurs cm<sup>3</sup> en fonction de la localisation et de l'espèce : chez le chat, ils sont de petite taille, chez le bœuf, ils peuvent atteindre et dépasser 15 cm<sup>3</sup>. Le volume des ganglions peut changer rapidement en fonction de l'importance des réponses immunitaires qui s'y développent, ces dernières peuvent considérablement se modifier dans le temps. Dans les ganglions, on distingue les ganglions lymphatiques, inguinaux, aortiques, mésentériques, axillaires et du cou (voir Fig. 5-1).

Les ganglions fonctionnent comme des filtres interposés sur la voie lymphatique. Dans les ganglions lymphatiques dits afférents y pénétrant par la périphérie. La lymphe chargée de cellules lymphocytaires antigéniques ou non, circule lentement à travers l'organe, baignant de très nombreux lymphocytes avant d'être recueillie par un vaisseau lymphatique efférent et d'aboutir, via le canal thoracique, à la circulation veineuse.

### Architecture générale

Une charpente conjonctive confère aux ganglions une certaine forme tout en per-

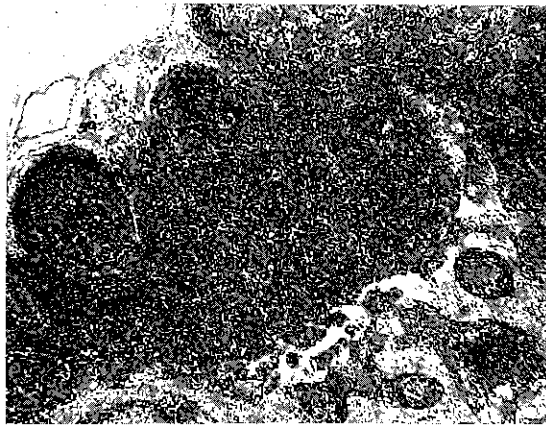


Figure 5-7 Ganglion lymphatique murin. 1. Vaisseau lymphatique afférent; 2. Capsule; 3. Sinus marginal; 4. Follicule lymphoïde; 5. Zone corticale; 6. Zone paracorticale; 7. Cordons médullaires; 8. Zone médullaire; 9. Sinus médullaires.

modification de volume et les déplacements aisés des liquides et de cellules (Fig. 5-7).

**Les vascularisations lymphatique et sanguine** présentent des caractères très particuliers permettant notamment la circulation de la lymphe et la recirculation de lymphocytes.

**Les lymphocytes** sont distribués dans trois zones qui communiquent intimement l'une avec l'autre :

— *le cortex* est situé en périphérie de l'organe et contient en majorité des lymphocytes B organisés en follicules lymphoïdes;

— *la région paracorticale*, sous-jacente au cortex, contient surtout des lymphocytes T. Elle réagit préférentiellement au cours d'une réponse immune cellulaire;

— *la médullaire* est constituée de sinus entourés de cordons cellulaires. Au cours d'une réponse humorale, ces cordons sont riches en plasmocytes.

### Charpente conjonctive

Le ganglion est limité extérieurement par une fine *capsule* constituée de faisceaux de fibres collagènes et de fibrocytes. Elle est perforée à divers endroits par de minces vaisseaux lymphatiques afférents. Au niveau du hile, la capsule est épaissie et s'invagine, et forme une sorte de manchon autour des vaisseaux mentionnés ci-dessus.

De la capsule et du hile partent quelques fines cloisons conjonctives qui s'enfoncent vers la profondeur sur de courtes distances. Ces cloisons contiennent des vaisseaux sanguins et des fibres nerveuses se terminant au niveau de la média de vaisseaux ou sur des cellules réticulées, les premières sont de type adrénérique, la fonction des secondes est inconnue. Tout le reste de l'organe est parcouru par un réseau de fibres réticulées synthétisées par des fibroblastes (cellules réticulées) que l'on trouve de place en place. Ce réseau forme des mailles dans lesquelles la lymphe se répand et les cellules se déplacent. De nombreux macrophages s'accrochent à ces fibres. Lorsque certaines cellules du tissu lymphoïde prolifèrent très rapidement à la suite d'une stimulation antigénique, les fibres réticulées peuvent être refoulées. Au cours du vieillissement, du tissu conjonctif fibreux et du tissu adipeux remplacent progressivement les cellules lymphoïdes du ganglion.

### Circulation lymphatique [9, 16, 17]

La lymphe aborde le ganglion par de petits vaisseaux lymphatiques afférents, munis de valvules qui s'abouchent dans un *sinus* dit *marginal* (ou sous-capsulaire). Celui-ci est limité sur sa face externe par un endothélium continu sans membrane basale et sur sa face interne par un endothélium discontinu.

Ce sinus est riche en macrophages libres ou fixés à la paroi et phagocytant des éléments charriés par la lymphe. Du sinus, la lymphe traverse le ganglion en convergeant vers les sinus de la médullaire. Pour ce faire, ou bien elle quitte le sinus marginal en passant entre les cellules endothéliales et s'insinue au travers du cortex puis

de la paroi...  
sinus intern...  
unissent plu...  
sinus de la...  
contenant...  
convergent...  
efférent. Le...  
laires, sont...  
plasmocytes...  
cordons mé...  
Quant à...  
sans empru...  
aussi recuei...  
les cellules...  
espaces qui...  
ceux des a...

Des lym...  
ces espace...  
plasmocytes...  
laires, ne l...

### Vascularis

L'artère...  
se divise r...  
branches...  
conjonctive...  
naissance à...  
corticale p...  
prédominan...  
post-capilla...



Figure 5-8 Au ganglion. Au lymphocytes (→)

uée de sinus  
au cours d'une  
sont riches en

ement par une  
eaux de fibres  
est perforée à  
eaux lymphati-  
la capsule est  
une sorte de  
mentionnés ci-

quelques fines  
ncent vers la  
s. Ces cloisons  
s et des fibres  
de la média de  
réticulées, les  
ue, la fonction  
t le reste de  
seau de fibres  
oblastes (cel-  
place en place.  
s lesquelles la  
déplacent. De  
à ces fibres.  
ssu lymphoïde  
e d'une stimu-  
culées peuvent  
llissement, du  
adipeux rem-  
es lymphoïdes

6, 17]

par de petits  
s, munis de  
un sinus dit  
ui-ci est limité  
hélium continu  
e interne par un

ages libres ou  
des éléments  
us, la lymphe  
t vers les sinus  
bien elle quitte  
re les cellules  
du cortex puis

de la paracorticale, ou bien elle emprunte des *sinus intermédiaires* étroits, à trajets sinueux qui unissent plus directement le sinus marginal aux *sinus de la médullaire*. Ces derniers, vastes et contenant un nombre élevé de macrophages, convergent pour former le vaisseau lymphatique efférent. Les tissus situés entre les sinus médullaires, sont emplis de cellules lymphoïdes, de plasmocytes et de macrophages formant ainsi les cordons médullaires.

Quant à la lymphe qui a traversé le ganglion sans emprunter les sinus intermédiaires, elle est aussi recueillie par les sinus de la médullaire dont les cellules endothéliales ménagent entre elles des espaces qui sont toutefois de moindre calibre que ceux des autres sinus ganglionnaires.

Des lymphocytes peuvent passer au travers de ces espaces en se déformant, alors que les plasmocytes, nombreux dans les cordons médullaires, ne le font généralement pas.

### Vascularisation sanguine

L'artère qui pénètre dans le ganglion par le hile se divise rapidement en un certain nombre de branches qui empruntent les fines travées conjonctives intraganglionnaires. Elles donnent naissance à un réseau de capillaires dans la zone corticale puis, dans les zones paracorticales (à prédominance de lymphocytes T), à des veinules post-capillaires à paroi particulière qui sont le

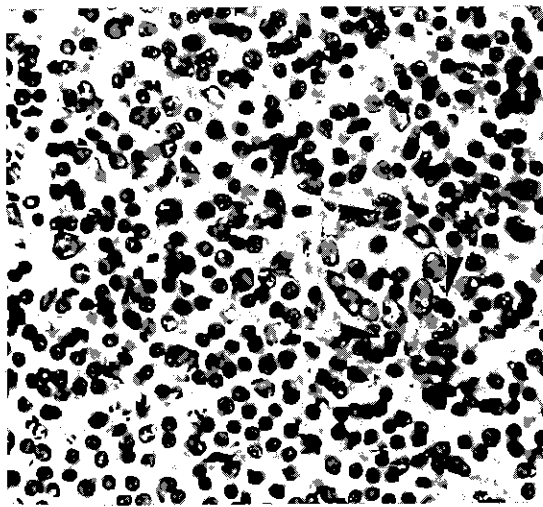


Figure 5-8 Zone paracorticale (thymo-dépendante) d'un ganglion. Au niveau d'une veinule post-capillaire, des lymphocytes (→) transitent par la paroi endothéliale.

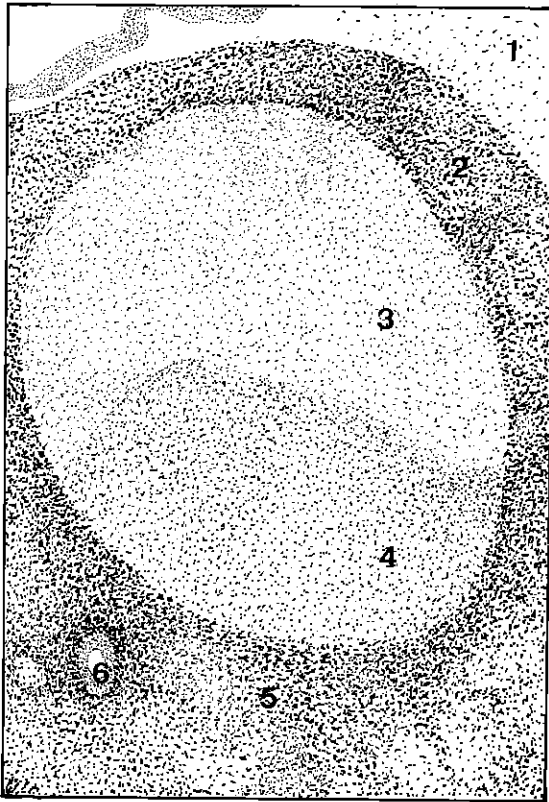
lieu de passage des lymphocytes (Fig. 5-8). L'endothélium de ces vaisseaux, au lieu de présenter l'aspect aplati habituel, est constitué de cellules aussi hautes que larges, faisant saillie dans la lumière. Les études au microscope électronique ont montré que les lymphocytes quittant le sang creusent dans le cytoplasme de ces cellules de véritables tunnels. Les lymphocytes B et T possèdent à leur surface des ligands leur permettant de se fixer spécifiquement à ces cellules endothéliales : certains reconnaissent les veinules post-capillaires des ganglions, d'autres ceux des amygdales ou des plaques de Peyer ou encore ceux de la muqueuse respiratoire. Ces veinules à endothélium élevé se rejoignent au niveau de la médullaire pour former la veine hilaire.

### Tissu lymphoïde

Comme nous l'avons déjà signalé, les cellules lymphoïdes sont réparties en trois régions : le cortex, la région paracorticale et les cordons médullaires.

L'élément caractéristique de la *région corticale* est la présence de follicules lymphoïdes primaires et secondaires. Un *follicule primaire* est une masse nodulaire de petits lymphocytes, en majorité du type B (IgM et IgD positifs), qui n'ont pas été stimulés par un antigène. Quelques lymphocytes T et des macrophages y sont mêlés. Un *follicule secondaire* est un follicule qui s'est modifié à la suite d'une stimulation antigénique (Fig. 5-9). Il se distingue du précédent par la présence d'un centre germinatif entouré d'une couronne de petits lymphocytes IgM et IgD positifs. Le centre germinatif est constitué de cellules lymphoïdes plus grandes correspondant à des blastes B et à des stades de transition entre les petits lymphocytes et les blastes. On y reconnaît une polarité : à la base (opposée au sinus marginal) se trouve la zone sombre comprenant des centroblastes (grandes cellules B en phase proliférative) précurseurs d'immunoblastes ou de centrocytes, la zone claire située au-dessus contient des centrocytes (de taille moyenne) en cours de maturation et évoluant probablement pour donner des cellules B à mémoire (Fig. 5-10).

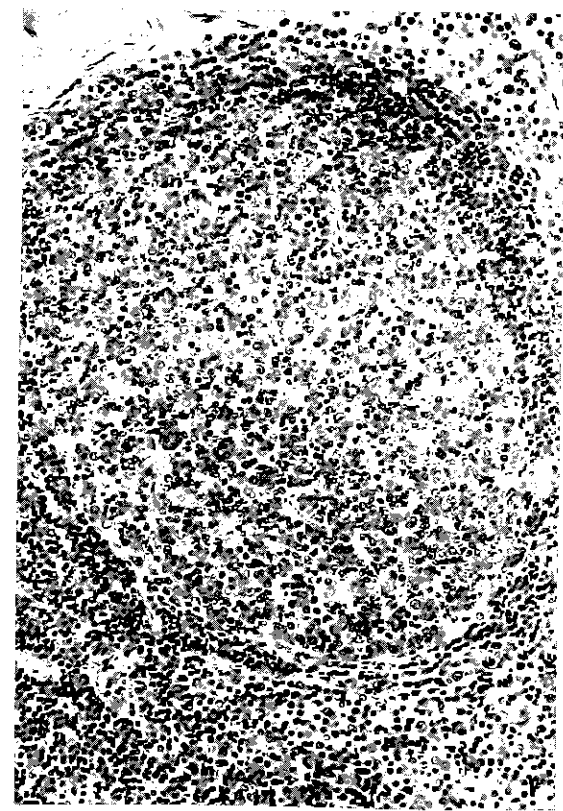
Le centre germinatif contient donc des blastes précurseurs de plasmocytes (les immunoblastes) et de cellules à mémoire. Ces éléments une fois formés ne persistent pas longtemps dans le centre, mais migrent vers la médullaire soit en traversant la paracorticale, soit en utilisant le trajet des sinus.



**Figure 5-9** Follicule lymphoïde secondaire. 1. Sinus marginal; 2. Couronne; 3. Zone claire; 4. Zone sombre; 5. Zone thymo-dépendante; 6. Veinule post-capillaire. (La zone claire et la zone sombre constituent le centre germinatif.)

A côté des cellules B on y décèle des lymphocytes T de phénotype auxiliaire (environ 5 p. cent) et des macrophages dits « à corps colorables » (tingible bodies) capables de phagocyter un grand nombre de cellules lymphoïdes, même celles qui sont entrées dans le cycle mitotique. Chez le rat, les lymphocytes T expriment à la fois le phénotype de cellules auxiliaires et de cellules suppressives et possèdent un antigène en commun avec les cellules tueuses naturelles (NK). Les rôles de ces cellules T semblent multiples (influence sur la prolifération et la commutation) mais tous ne sont pas clairement établis.

Enfin, signalons la présence dans les centres germinatifs de cellules peu nombreuses (2 p. cent) appelées *cellules folliculaires dendritiques* et caractérisées par la présence de multiples prolongements cytoplasmiques qui enveloppent les cellules lymphoïdes voisines (Fig. 5-11). Leur origine reste inconnue et leurs rôles sont à l'étude. Il est toutefois établi que, grâce à des récepteurs membranaires, elles accumulent à leur surface et



**Figure 5-10** follicule lymphoïde secondaire. 1) Veinule post-capillaire; 2) Zone sombre; 3) Zone claire; 4) Couronne.

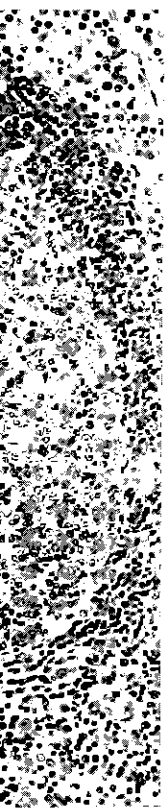
pour de longues périodes des anticorps complexés à des antigènes (Fig. 5-12). On a suggéré que, grâce à cette rétention qui n'est pas suivie d'endocytose, elles interviendraient dans le développement des centres germinatifs, l'accroissement de l'affinité des anticorps produits, la formation des lymphocytes B à mémoire et la régulation de la production des anticorps.

Outre les phénomènes décrits ci-dessus, les centres germinatifs sont le siège de la commutation isotypique c'est-à-dire du changement de l'isotype d'Ig des lymphocytes (voir chapitres 6 et 9). Ainsi, au début d'une réponse primaire, la plupart des cellules B sont  $IgM^+$ , lors d'une stimulation de rappel elles se transforment en cellules  $IgM^-$ . Ce sont des facteurs locaux dérivés de cellules T ou autres qui induisent la commutation; à titre d'exemple, les cellules  $IgA^+$  se forment surtout dans les follicules situés le long des muqueuses intestinales. Il semble aussi que ces cellules subissent une activité d'hypermutagenicité introduisant des changements au niveau de

la zone va peut contri Ig observé antigénique sont donc conditionna phocytes, isotypique aboutissant soit des pla que l'on p d'isotype e anticorps p

A l'oppo trouve des follicules, humorale stimulé ils





sombre; 5. Zone germinatif.)

corps complexés  
a suggéré que,  
est pas suivie  
t dans le déve-  
s, l'accroisse-  
s produits, la  
mémoire et la  
anticorps.

ci-dessus, les  
e la commuta-  
hangement de  
r chapitres 6 et  
e primaire, la  
+, lors d'une  
ansforment en  
locaux dérivés  
ent la commu-  
cules IgA<sup>+</sup> se  
situés le long  
mble aussi que  
l'hypermutagé-  
s au niveau de

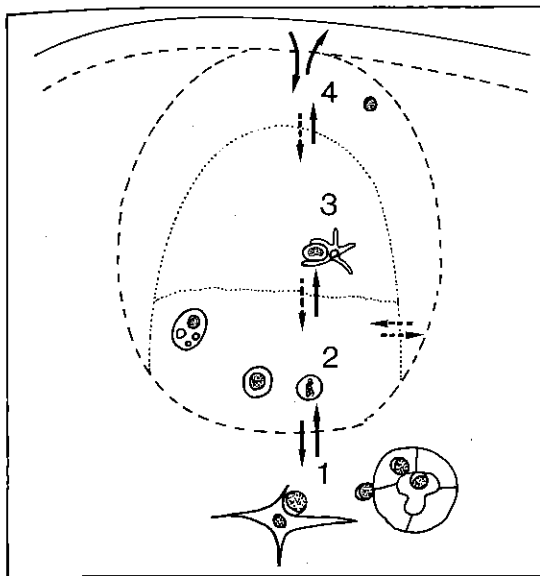


Figure 5-10 Schéma de l'évolution de cellules B dans un follicule lymphoïde stimulé, situé dans la zone corticale d'un ganglion lymphatique. —> : évolution probable; - - -> : évolution possible mais non démontrée.

- 1) Veinule post-capillaire dans la zone thymo-dépendante, des lymphocytes B y transitent, viennent au contact de la lymphe, de cellules T et de macrophages ou de cellules interdigitantes.
- 2) Zone sombre du centre germinatif : centroblastes provenant de lymphocytes stimulés et macrophages à tingible bodies.
- 3) Zone claire du centre germinatif : centrocytes dérivant probablement de centroblastes et cellules folliculaires dendritiques créant un micro-environnement propice à l'évolution des centrocytes.
- 4) Couronne de petits lymphocytes B capables de recirculer.

la zone variable des Ig (voir chapitre 6), ce qui peut contribuer à l'accroissement de l'affinité des Ig observé notamment durant des stimulations antigéniques prolongées. Les centres germinatifs sont donc des micro-environnements particuliers conditionnant la migration spécifique des lymphocytes, leur prolifération, leur commutation isotypique et le phénomène d'hypermutagénicité aboutissant à la formation de cellules B donnant soit des plasmocytes, soit des cellules B mémoires que l'on peut caractériser par un changement d'isotype et par l'accroissement de l'affinité des anticorps produits.

A l'opposé du cortex, à proximité du hile, on trouve des *cordons médullaires* qui, comme les follicules, s'hypertrophient en cas de réponse humorale (Fig. 5-13). Dans un ganglion peu stimulé ils contiennent un faible nombre de

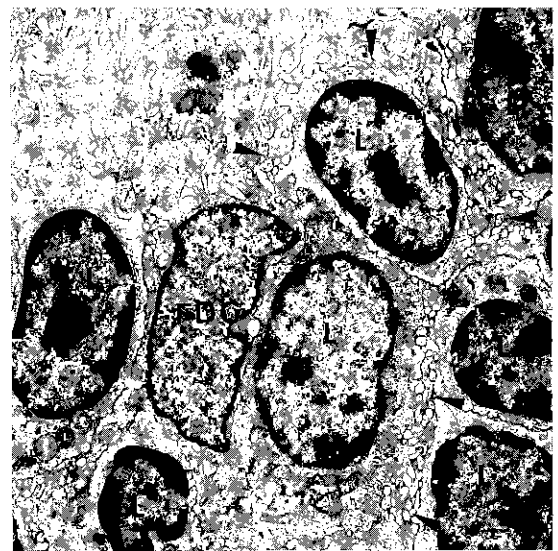


Figure 5-11 Cellule folliculaire dendritique (FDC) enveloppant des cellules lymphoïdes (L) dans un centre germinatif.

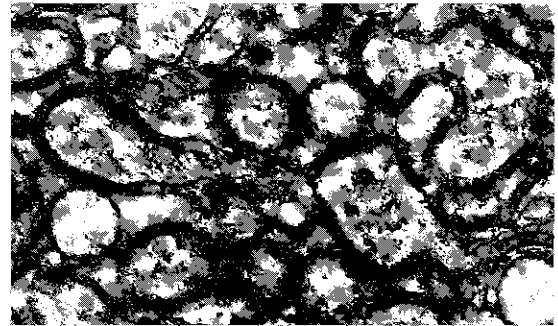


Figure 5-12 Replis cytoplasmiques d'une cellule folliculaire dendritique de souris après stimulation par de la ferritine de cheval; entre ces replis (dans l'espace extracellulaire) de la ferritine de cheval est visible (points noirs), elle est retenue à la surface des cellules sous la forme de complexes immuns.

lymphocytes, en cas de réponse immune humorale ils sont riches en cellules et particulièrement en plasmocytes. Ceux-ci proviennent d'immunoblastes B apparus quelques jours plus tôt dans les follicules et qui ont migré au travers de la paracorticale pour aboutir dans la médullaire. C'est là qu'ils achèvent leur maturation en plasmocytes. Ceux-ci présentent tous les caractères morphologiques d'une cellule synthétisant de grandes quantités de protéines destinées à être sécrétées. Le cytoplasme contient un réticulum endoplasmique rugueux très abondant dans lequel

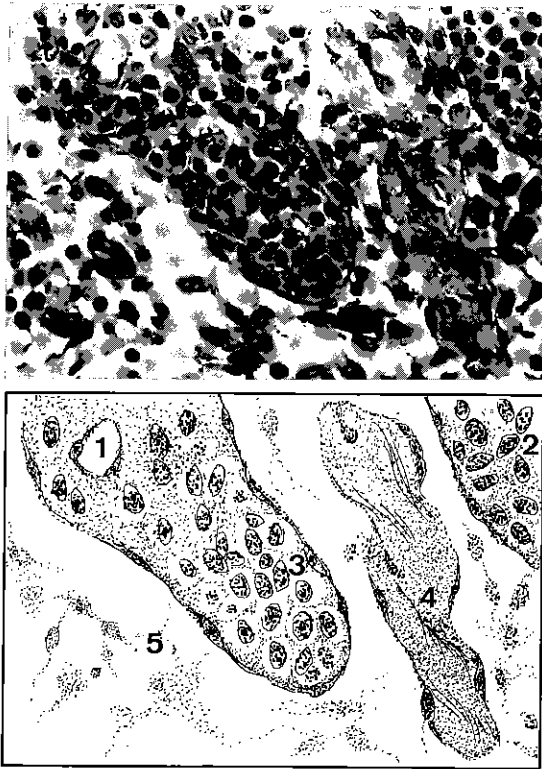


Figure 5-13 Zone médullaire d'un ganglion. 1. Vaisseau sanguin; 2. Cordon; 3. Cordon contenant des plasmocytes; 4. Trabécule conjonctive + nerf; 5. Sinus médullaire.

les anticorps s'accumulent avant de passer dans un appareil de Golgi fort développé. Dans le noyau, souvent excentrique, la chromatine est, par endroit, condensée en blocs à disposition radiaire, ce qui lui donne un aspect de roue de charrette. Le plasmocyte est une cellule qui ne se divise plus et qui meurt après une à deux semaines de synthèse d'immunoglobulines. Celles-ci sont excrétées dans les sinus médullaires d'où elles gagnent le vaisseau lymphatique efférent et puis le sang. Dans les cordons médullaires, immunoblastes et plasmocytes ne sont pas simplement dispersés au hasard. Ils sont groupés autour de vaisseaux sanguins, au contact de macrophages et de cellules lymphoïdes avec lesquels ils ont des contacts étroits qui peuvent être mis en évidence au microscope électronique. Exceptionnellement, des plasmocytes peuvent quitter le ganglion et se retrouver en petit nombre dans le sang. Les plasmocytes que l'on trouve dans les tissus non lymphoïdes et qui sont le siège de certaines réactions inflammatoires, proviennent de la trans-

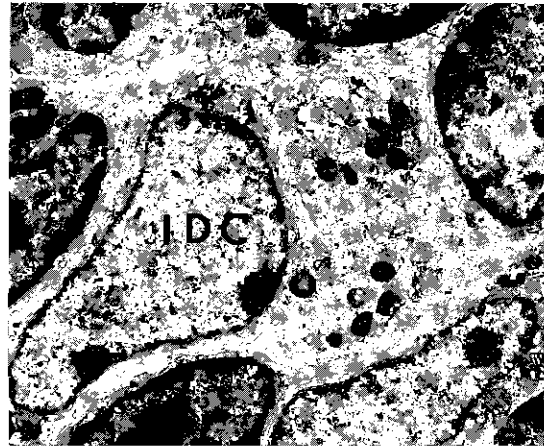


Figure 5-14 Cellule interdigitante (IDC) dans la zone paracorticale d'un ganglion.

formation locale de petits lymphocytes. Il est à noter que beaucoup de ces lymphocytes se fixent dans les moelles osseuses et s'y transforment en plasmocytes. Enfin, en toute circonstance, les cordons médullaires sont un lieu de passage des lymphocytes depuis le parenchyme ganglionnaire vers la lymphe efférente. D'autres lymphocytes peuvent gagner les sinus de la médullaire depuis le cortex ou la paracorticale en empruntant les sinus intermédiaires.

La région paracorticale, moins dense que le cortex du ganglion, contient principalement les petits lymphocytes T. Si cette paracorticale est localisée entre le cortex et la médullaire elle se prolonge toutefois vers la périphérie du ganglion par des travées qui aboutissent jusqu'au sinus marginal, en passant entre les follicules.

En plus des lymphocytes T, cette paracorticale contient des macrophages et des cellules dites interdigitantes (Fig. 5-14) (d'origine monocytaire ou dérivées des cellules de Langerhans), qui possèdent de longs prolongements cytoplasmiques s'insinuant entre les rangées voisines des lymphocytes. Leur rôle reste mal connu mais comme elles possèdent de nombreux antigènes de classe II elles pourraient intervenir dans la présentation des antigènes responsables de l'immunité cellulaire. Au cours d'une immunisation cellulaire, la région paracorticale s'hypertrophie : des lymphocytes T stimulés se transforment en blastes qui se divisent pour donner des lymphocytes T à mémoire. Rappelons enfin que la paracorticale est un lieu de transit, d'une part pour des cellules B passant les veinules post-capillaires et gagnant la

corticale  
corticale

## RATE

La rate  
situé dans  
et interposé  
rôle dans  
cellulaires,  
— phagocytose  
seraient par  
lorsque des  
le torrent  
rapidement

— élimination  
voire anormale  
— stockage  
dans la circulation

Malgré ce rôle  
à la vie, la rate  
assurées par les  
tiques, moelle

## Structure

La rate  
s'enfoncent  
conjonctives  
quels s'attachent  
s'étendant dans

Le parenchyme  
blanche riche en  
pulpe rouge  
forment des  
l'organe suite à  
laire. Nous  
structures.

## Le squelette

La capsule  
est formée d'une  
une épaisseur  
vagine profonde  
constitue une  
sanguins et

De la face  
trabécules assés  
conjonctif de  
l'organe. Les  
empruntent ces  
et à l'inverse  
d'espèces, de

corticale et, d'autre part, pour les cellules corticales B gagnant la médullaire.

**RATE**

La rate est un volumineux organe lymphoïde situé dans le quart supérieur gauche de l'abdomen et interposé sur le trajet du sang. En dehors de son rôle dans les réponses immunes humorales ou cellulaires, elle exerce aussi d'autres fonctions :

- phagocytose des éléments étrangers qui seraient passés par le sang. Ainsi par exemple, lorsque des bactéries parviennent à pénétrer dans le torrent circulatoire, elles sont en majorité rapidement captées par les phagocytes spléniques;
- élimination des cellules sanguines vieilles, voire anormales, particulièrement les hématies;
- stockage de plaquettes, qu'elle peut libérer dans la circulation en cas de besoin.

Malgré ces rôles, la rate n'est pas indispensable à la vie, la plupart de ses fonctions sont en effet assurées par d'autres organes : ganglions lymphatiques, moelles hématopoïétiques, foie, etc.

**Structure générale**

La rate est limitée par une capsule d'où s'enfoncent vers la profondeur des travées conjonctives bien constituées : les trabécules auxquelles s'attache un réseau de fibres réticulées s'étendant dans tout l'organe (Fig. 5-15).

Le parenchyme est constitué de la pulpe blanche riche en éléments lymphoïdes et de la pulpe rouge, infiltrée de sang. Ces deux zones forment des plages disposées au travers de l'organe suivant l'architecture du système vasculaire. Nous examinerons en détail ces diverses structures.

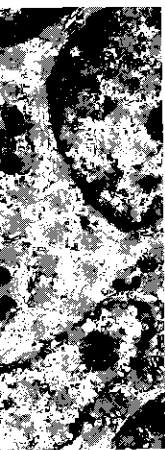
**Le squelette conjonctif**

La *capsule*, revêtue du mésothélium péritonéal, est formée d'un tissu conjonctif dense et présente une épaisseur de quelques millimètres. Elle s'invagine profondément au niveau du hile où elle constitue une sorte de gaine autour des vaisseaux sanguins et lymphatiques et autour des nerfs.

De la face interne de la capsule se détachent des trabécules assez larges, également constitués de conjonctif dense et qui cloisonnent complètement l'organe. Les branches des vaisseaux hilaires empruntent ces trabécules pour gagner les pulpes et à l'inverse pour en revenir. Dans beaucoup d'espèces, des muscles lisses sont présents dans la

capsule et les trabécules et, en cas de stress ou d'hémorragie, se contractent chassant le sang contenu dans la rate vers la circulation.

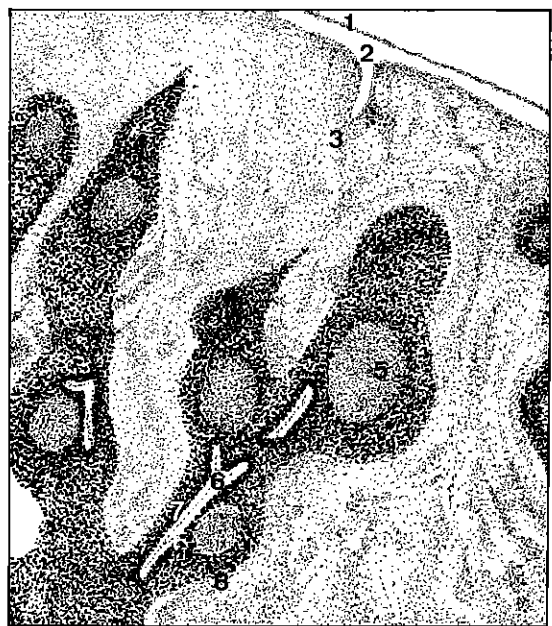
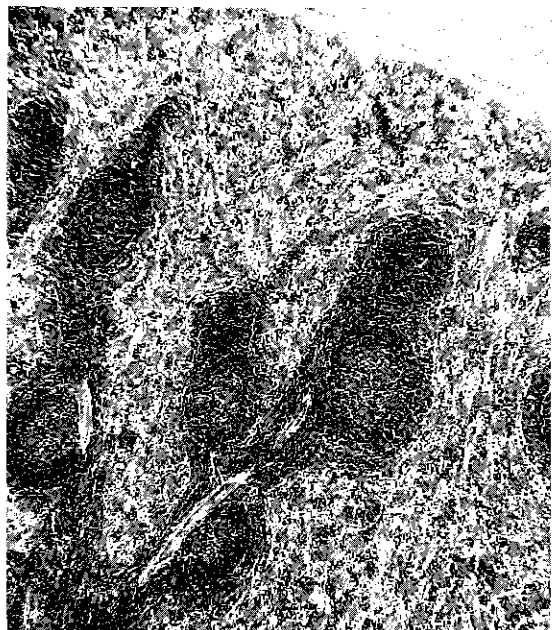
La *trame réticulée* est fort semblable à celle des



C) dans la zone

ocytes. Il est à  
ocytes se fixent  
transforment en  
constance, les  
de passage des  
ganglionnaire  
lymphocytes  
médullaire depuis  
empruntant les

dense que le  
principalement les  
paracorticale est  
médullaire elle se  
rie du ganglion  
jusqu'au sinus  
licules.  
te paracorticale  
cellules dites  
ne monocyttaire  
ngerhans), qui  
cytoplasmiques  
sines des lym-  
au mais comme  
gènes de clas-  
ns la presenta-  
de l'immunité  
nisation cellu-  
ertrophie : des  
ment en blastes  
mphocytes T à  
paracorticale est  
des cellules B  
s et gagnant la



**Figure 5-15** Rate de rongeur. 1. Mésothélium; 2. Capsule; 3. Pulpe rouge; 4. Pulpe blanche; 5. Follicule lymphoïde; 6. Artériole centrale; 7. Gaine périartériolaire; 8. Zone marginale.

ganglions lymphatiques et constitue une sorte de filtre au travers duquel passe le sang. Des macrophages peuvent s'y fixer par des prolongements cytoplasmiques et des cellules sanguines, y séjourner pendant des temps variables. Les cellules réticulées sont considérées par certains comme étant des myofibroblastes formant un système contractile.

### La vascularisation

Ainsi que nous l'avons mentionné plus haut, la disposition des pulpes de la rate est déterminée par sa vascularisation.

Après avoir pénétré dans l'organe au niveau du hile, l'artère splénique se divise en branches qui suivent le trajet des trabécules et sont de ce fait appelées *artères trabéculaires*. Leurs ramifications quittent les travées conjonctives pour constituer les *artéριοles centrales*. Celles-ci sont entourées d'un abondant tissu lymphoïde qui représente la pulpe blanche. Cette dernière se subdivise en deux zones : d'une part une gaine lymphoïde continue dite périartérielle formant un manchon autour des artères centrales et d'autre part des follicules lymphoïdes typiques. Ces deux régions sont irriguées par de nombreuses petites branches des artères centrales qui forment un réseau capillaire.

Après avoir irrigué la pulpe blanche, ces artères centrales ou leurs branches aboutissent à la pulpe rouge en passant au travers d'une région intermédiaire : la *zone marginale*. Elles donnent naissance à un vaste réseau capillaire particulier constituant les *sinusoïdes* de la rate dont l'étude détaillée sera abordée dans le paragraphe consacré à la pulpe rouge.

Le sang des sinusoides spléniques est recueilli par des veines pulpaire qui pénètrent dans les trabécules (*veines trabéculaires*) pour ensuite regagner le hile.

### La pulpe blanche

Au même titre que dans les ganglions lymphatiques, on trouve dans la rate des zones où prédominent soit les lymphocytes B, soit les lymphocytes T.

Les lymphocytes T constituent les *gaines lymphoïdes périartérielles*. En cas d'immunisation, les antigènes amenés par le sang stimulent ces lymphocytes qui se transforment en immunoblastes T puis prolifèrent et donnent des lymphocytes T sensibilisés et des lymphocytes T à mémoire.

En périphérie de cette gaine, on trouve les follicules lymphoïdes. Leur constitution n'est guère différente de celle que nous avons décrite dans les ganglions lymphatiques. Ici aussi les follicules primaires, lorsqu'ils sont stimulés par un antigène, se transforment en follicules secondaires possédant un centre germinatif plus ou moins développé. Les immunoblastes B produits dans ces centres les quittent pour se transformer en plasmocytes dans la pulpe rouge.

### La pulpe rouge

La pulpe rouge est une sorte d'éponge remplie de sang provenant des artères centrales de la pulpe blanche. Ces artères, dont le calibre a progressivement diminué, se résolvent dans la pulpe rouge en branches plus ou moins rectilignes et qui ne s'anastomosent pas : les *artéριοles pénicillaires* (Fig. 5-16). Une partie du sang artériel aboutit dans des capillaires très larges : les *sinusoides de la rate*. Beaucoup d'auteurs estiment qu'une autre partie se répand directement entre les fibres

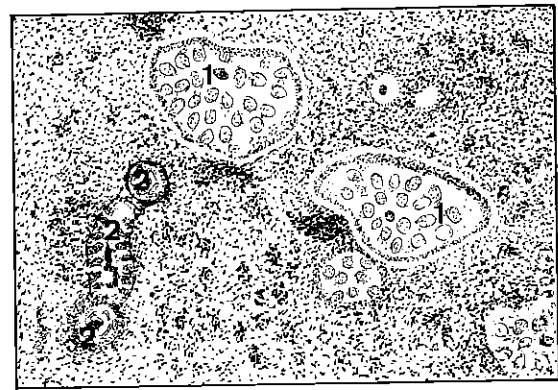
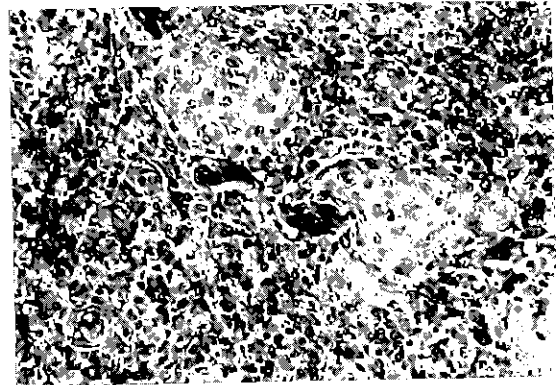


Figure 5-16 Pulpe rouge d'une rate. 1. Capillaires à housse; 2. Artéριοles pénicillaires.

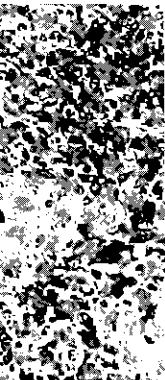


Figure 5-17  
Tissu réticulé

réticulées  
certaines  
artériels é  
paroi des  
des épais  
tués de n  
cellules é  
à housse

on trouve les  
stitution n'est  
avons décrite  
Ici aussi les  
stimulés par  
illicules secon-  
inatif plus ou  
tes B produits  
se transformer  
ge.

éponge remplie  
ales de la pulpe  
e a progressive-  
pulpe rouge en  
mes et qui ne  
es pénicillaires  
artériel aboutit  
s sinusoides de  
nt qu'une autre  
ntre les fibres



capillaires à housse;

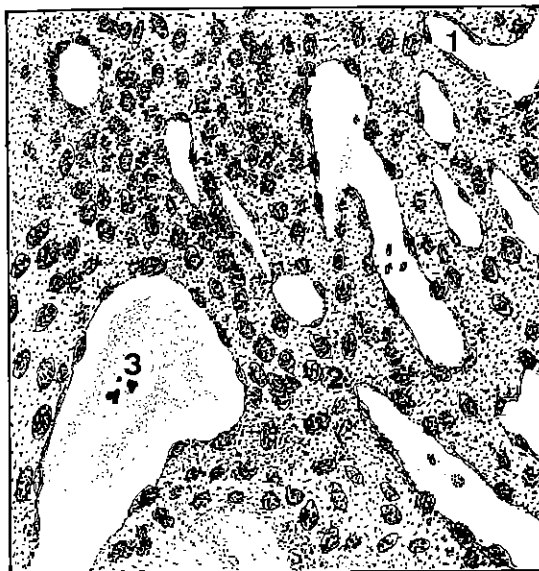
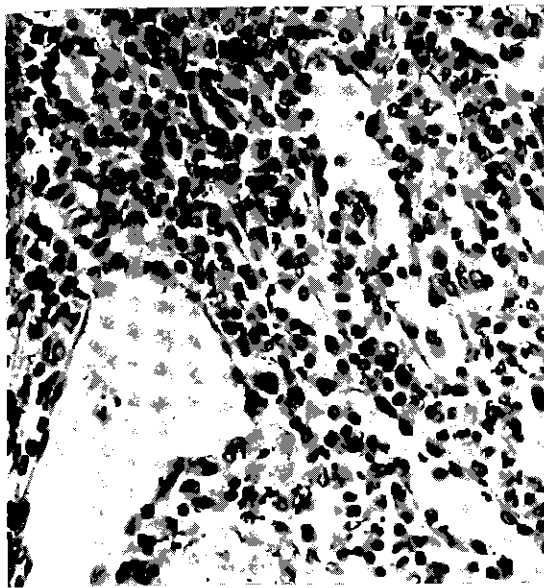


Figure 5-17 Pulpe rouge d'une rate. 1. Sinus veineux; 2. Tissu réticulé; 3. Veine pulpaire.

réticulées de la pulpe rouge, les extrémités de certaines artères pénicillaires ou des capillaires artériels étant ouvertes. Chez certains animaux, la paroi des capillaires artériels terminaux présente des épaissements elliptiques localisés, constitués de macrophages en étroit contact avec des cellules endothéliales contractiles. Ces capillaires à housse (de Schweigger-Seidel) (voir Fig. 5-16)

sont très rares chez l'homme et leur rôle est discuté.

A partir des sinusoides (Fig. 5-17), le sang peut passer également dans les mailles du tissu réticulé en traversant leurs parois qui sont adaptées à ces passages. Les cellules endothéliales de ces capillaires ne sont pas unies par des desmosomes ou autres jonctions, ce qui facilite le passage des éléments figurés du sang entre deux cellules. De plus, l'espace intercellulaire peut s'élargir après contraction des cellules endothéliales qui contiennent des microfilaments parallèles à leur grand axe. La membrane basale elle-même est discontinue et régulièrement perforée de larges fenêtres polygonales. Enfin, sur sa surface externe, le capillaire sinusoides est limité par des anneaux régulièrement disposés de fibres réticulées qui se prolongent en réseau réticulé de la pulpe. Entre les vaisseaux se trouvent mélangés : les fibrocytes du tissu réticulé, les cellules qui ont quitté le sang et les cellules qui ont migré depuis la pulpe blanche et forment des colonnes appelées cordons de Billroth. Erythrocytes, polynucléaires, lymphocytes, monocytes et plaquettes circulent entre les fibres réticulées; certains sont phagocytés par les macrophages et puis détruits, d'autres sont stockés durant un temps plus ou moins long dans l'organe, la plupart regagnent les sinus veineux et la circulation.

Les plasmocytes par contre ne quittent guère la rate. Ils s'accumulent dans la pulpe rouge sous forme d'îlots et libèrent vers le sang des anticorps qu'ils ont synthétisés.

### La zone marginale

A la jonction entre pulpe rouge et pulpe blanche, s'étend une bande de tissu lymphoïde assez lâche, riche en macrophages, appelée *zone marginale*. A son niveau s'ouvrent de nombreuses terminaisons artérielles, ce qui permet au sang de se répandre en grande quantité dans cette région. C'est apparemment à ce niveau que les lymphocytes B, qui la peuplent ou y transitent (cellules B circulantes à mémoire), rencontrent l'antigène et sont activés puis gagnent les follicules lymphoïdes par la gaine périartériolaire. D'après certains auteurs, la zone marginale serait également la zone de concentration et de prolifération de lymphocytes B responsables de la réponse humorale thymo-indépendante.

Les antigènes libérés au niveau de la zone marginale sont également captés par des macrophages ou des cellules interdigitantes et

présentés aux cellules T, qui, en réponse, peuvent proliférer dans la zone périartériolaire ou exercer leur fonction au niveau de la pulpe blanche ou ailleurs. En effet, les cellules T sensibilisées ou à mémoire peuvent transiter par la pulpe rouge, passer dans les sinusoides veineux puis gagner d'autres tissus. Il semble que les cellules T puissent aussi gagner les quelques vaisseaux lymphatiques qui trouvent leur point de départ dans les trabécules entourant les artères.

Les nombreux macrophages de la rate phagocytent ou endocytent les diverses substances étrangères amenées par le sang qui est ainsi épuré. Cette activité, qui est particulièrement intense dans la pulpe rouge et la zone marginale, est plus développée que partout ailleurs dans l'organisme. Elle lui permet notamment de se débarrasser très rapidement des bactéries fortuitement introduites dans le sang.

### FORMATIONS LYMPHOÏDES DES MUQUEUSES

Le tube digestif ainsi que les voies respiratoires et uro-génitales sont des portes d'entrée naturelles pour de nombreux antigènes, particulièrement des bactéries. Leurs muqueuses sont pourvues « d'avant-gardes » prêtes à réagir, il s'agit de cellules lymphoïdes infiltrant le derme qui supporte l'épithélium de recouvrement. Elles sont associées à des macrophages et des polynucléaires. Lymphocytes T et B peuvent réagir aux antigènes qui traversent l'épithélium et se transformer les premiers en cellules sensibilisées, les seconds en plasmocytes. Dans certaines parties des muqueuses constamment soumises à des contacts avec les micro-organismes, hôtes habituels des cavités naturelles, les cellules lymphoïdes sont très nombreuses et forment de véritables organes lymphoïdes constitués de follicules et de zones thymo-dépendantes.

C'est le cas dans la cavité buccale où se trouvent les *amygdales* et dans l'intestin où l'on observe des *follicules lymphoïdes* isolés. Au niveau de la partie terminale de l'iléon, ils confluent en véritables plaques dites *plaques de Peyer*. Ils sont également très nombreux dans l'*appendice* et à l'extrémité du *cæcum*.

### Amygdales

Chez les primates, les amygdales forment le cercle de Waldeyer disposé autour du pharynx. Il



Figure 5-18 Amygdale palatine humaine : des follicules secondaires ainsi que du tissu lymphoïde interfolliculaire (thymo-dépendant) sont visibles de part et d'autre d'une crypte.

est composé d'une paire d'*amygdales palatines* localisées entre les piliers du voile du palais, d'une paire d'*amygdales tubaires* situées au début des trompes d'Eustache, d'une *amygdale linguale* localisée en arrière du V lingual et d'une *amygdale pharyngienne* à la face postérieure du pharynx. Les amygdales sont constituées d'une agglomération de tissu lymphoïde sous un épithélium qui est du type malpighien (pavimenteux stratifié) au niveau des amygdales palatines (Fig. 5-18) et linguale et du type respiratoire au niveau des amygdales pharyngiennes et tubaires. Le tissu lymphoïde est formé de follicules lymphoïdes séparés par des zones riches en lymphocytes T et en macrophages environnant les veinules post-capillaires. Les centres germinatifs des follicules ont souvent une position excentrique. Les plasmocytes sont présents en grand nombre sous l'épithélium notamment tout au long des cryptes. La lumière de celles-ci est encombrée de lymphocytes, de cellules épithéliales desquamées, voire de débris alimentaires et de bactéries. La stagnation de ce matériel favorise le développement d'infections pharyngiennes à partir des cryptes. La présence permanente de bactéries est en partie responsable de l'infiltration massive de cellules lymphoïdes dans l'épithélium.

### Follicules du tube digestif et plaques de Peyer

Dans la partie haute du tube digestif (œsophage et estomac) des follicules isolés se rencontrent de place en place. Tout au long de l'intestin grêle,

sous l'épithélium, les follicules lymphoïdes de Peyer, situés dans la muqueuse du méso-intestin, sont également très nombreux.

Ces follicules sont associés à des cellules thymo-dépendantes au voisinage de la muqueuse.

Chez le mouton, les follicules lymphoïdes sont peu développés et les structures sont peu renfermées.

### L'appendice

Le tissu lymphoïde est présent dans les mêmes aspects que dans les autres follicules, sous l'épithélium de la circonférence de l'appendice, dépendante de l'intestin grêle. Les follicules sont formés de cellules lymphoïdes dont les microvillosités sont orientées vers la lumière et jouent un rôle important dans la capture d'antigènes. Les plaques de Peyer sont aussi présentes dans l'appendice.

### Caractéristiques des formations des muqueuses

La majeure partie des formations lymphoïdes est de type B. Elles sont situées dans la muqueuse et traversent la muqueuse pour atteindre la sous-muqueuse. Elles sont encore à l'état de follicules, surtout dans l'amygdale. Les immunoglobulines sont sécrétées dans la lumière grâce au système de drainage. Enfin, une partie de ces cellules peut être drainée dans la circulation sanguine. Il semble que les cellules lymphoïdes dans l'amygdale, la muqueuse, les plaques de Peyer, les follicules lymphoïdes et les plaques de Peyer ont été amenées.





me : des follicules  
de interfolliculaire  
et d'autre d'une

dales palatines  
oile du palais,  
situées au début  
ngdale linguale  
gual et d'une  
postérieure du  
nstituées d'une  
sous un épithé-  
n (pavimenteux  
dales palatines  
respiratoire au  
nes et tubaires.  
follicules lym-  
riches en lym-  
environnant les  
tres germinatifs  
position excen-  
sents en grand  
ent tout au long  
i est encombrée  
s épithéliales  
mentaires et de  
ériel favorise le  
ngiennes à partir  
nte de bactéries  
lstration massive  
ithélium.

estif (œsophage  
e rencontrent de  
l'intestin grêle,

sous l'épithélium, on trouve un certain nombre de follicules lymphoïdes qui forment les plaques de Peyer, situées à l'opposé de l'insertion du mésentère. Entre les follicules, on trouve des aires thymo-dépendantes similaires aux zones paracorticales des ganglions. Des follicules se retrouvent également dans la paroi du gros intestin.

Ces follicules isolés ou groupés sont toujours associés à des zones thymo-dépendantes organisées au voisinage de veinules post-capillaires.

Chez les ruminants et particulièrement le mouton, les plaques de Peyer de l'iléon se développent tôt durant la vie fœtale mais régressent peu de temps après la naissance; ces structures s'étendent sur une longueur d'un mètre et renferment environ 100 000 follicules.

### L'appendice

Le tissu lymphoïde de l'appendice présente les mêmes aspects qu'au niveau des amygdales. Des follicules, souvent stimulés, sont répartis sur toute la circonférence et espacés par des zones thymo-dépendantes contenant des veinules post-capillaires. Le dôme épithélial surplombant les follicules est formé de cellules unistratifiées cylindriques dont certaines, pourvues de nombreuses microvillosités, présentent des relations étroites avec des cellules lymphoïdes et macrophagiques et jouent en apparence un rôle dans le transfert d'antigènes (cellules « M »). Ces mêmes cellules sont aussi présentes au niveau des épithéliums des plaques de Peyer et des amygdales.

### Caractéristiques fonctionnelles des formations lymphoïdes des muqueuses

La majorité des cellules lymphoïdes y sont de type B. Elles réagissent aux antigènes ayant traversé la muqueuse par un mécanisme qui reste encore à élucider. Les plasmocytes synthétisent surtout des immunoglobulines du type A, sauf dans l'amygdale où elles sont du type M puis G. Les immunoglobulines de type A passent dans les sécrétions des voies respiratoires ou digestives grâce au composant sécrétoire (voir chapitre 20). Enfin, une partie des immunoglobulines A peut être drainée par la lymphe et gagner le sang. Il semble que des immunoglobulines G synthétisées dans l'amygdale puissent aussi traverser la muqueuse; une grande partie des immunoglobulines trouvées dans la cavité buccale y ont ainsi été amenées par la salive.

L'épithélium de ces muqueuses est souvent infiltré de cellules T (de phénotype CD8 surtout) dont la fonction précise est encore inconnue; on y trouve également des cellules NK, des macrophages et des mastocytes. Toutes ces cellules agissent les unes sur les autres mais peuvent aussi influencer les cellules épithéliales (prolifération ou sécrétion de mucus).

### MOELLE OSSEUSE HÉMATOPOÏÉTIQUE

En raison de sa capacité à produire des lymphocytes (lymphogénèse), la moelle osseuse est classée parmi les organes lymphoïdes primaires. Elle héberge également un grand nombre de cellules productrices d'anticorps (plasmocytes) et peut dès lors aussi être rangée parmi les organes lymphoïdes secondaires.

### Localisation des plasmocytes

Les plasmocytes apparaissent dispersés dans la moelle osseuse; on les trouve fréquemment au voisinage de vaisseaux sanguins associés à des macrophages et de petits lymphocytes, mais ils ont aussi des contacts avec des cellules précurseurs de cellules sanguines.

### Origine des plasmocytes

Les plasmocytes de la moelle osseuse hématopoïétique sécrètent, en ordre décroissant, des IgA, IgG et IgM. Ils proviennent essentiellement des organes lymphoïdes périphériques, surtout des ganglions lymphatiques.

Durant la vie, le nombre de cellules productrices d'anticorps croît constamment passant, par exemple chez la souris, de 35 000 à l'âge de 4 semaines à 3 600 000 à l'âge de 2 ans. Chez l'adulte humain, les plasmocytes représentent 2 à 5 p. cent des cellules des moelles.

Le nombre total de plasmocytes des moelles osseuses est plus important que celui de la rate ou des ganglions. Les moelles n'étant pas capables par elles-mêmes de répondre à une stimulation antigénique, du moins thymo-dépendante (absence de follicules lymphoïdes), la présence de cellules productrices d'anticorps s'explique par la migration de cellules B à partir des organes lymphatiques périphériques. L'immunogénèse stricto sensu

n'a donc pas lieu dans les moelles mais uniquement sa phase finale.

Si l'on tente de classer les organes en fonction de leur capacité de produire des Ig, il apparaît que le tube digestif est le lieu principal de la production d'anticorps, viennent ensuite les moelles osseuses puis la rate et les ganglions.

## ORGANES LYMPHATIQUES DES ANIMAUX AXÉNIQUES

Si les nouveau-nés (souris, rats, porcs, moutons, etc.) sont prélevés par césarienne et élevés dans des conditions stériles (germ-free),

leur système immunitaire est peu développé. Les concentrations des immunoglobulines sériques sont inférieures à celles des animaux élevés dans des conditions normales, sans qu'il y ait cependant une réelle agammaglobulinémie. La proportion des divers isotypes est aussi modifiée, ainsi on trouve surtout des IgM et peu d'IgA ou d'IgE. Ceci signifie entre autres que le système immunitaire (la lymphogénèse), même en absence d'antigènes, aboutit à la sécrétion d'anticorps ou à la formation de cellules T effectrices. L'absence d'antigènes n'est cependant pas complète étant donné la présence d'autoantigènes ou de produits d'expression de gènes de virus transmis de manière génétique ou épigénétique et principalement d'antigènes alimentaires. Il est à noter que ces animaux axéniques ne produisent pas d'anti-

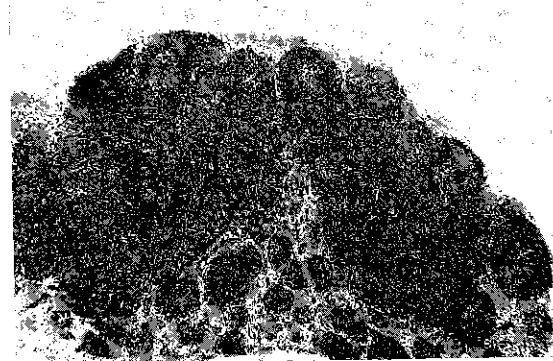
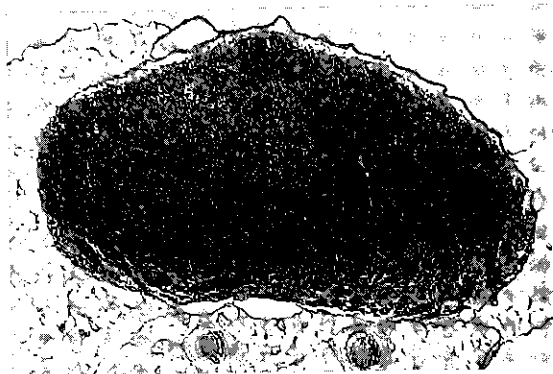


Figure 5-19 Ganglion inguinal d'une souris axénique (à gauche) et d'une souris stimulée par un antigène (à droite) photographiés au même grossissement.

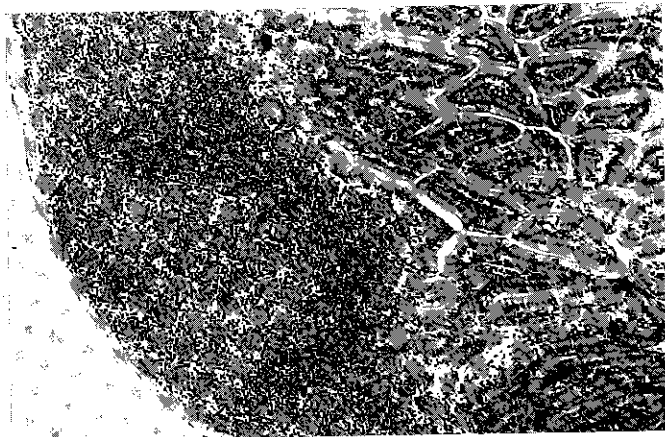


Figure 5-20 Plaques de Peyer d'une souris axénique (à gauche) et d'une souris normale (à droite) photographées au même grossissement.

corps dits «  
ceux mainte

Les orga  
ment à ces  
moelle osse  
pré-B et pré  
moins de  
thymus ne

Les orga  
leur faible  
responsable  
pulpe blan  
médullaires  
culièrement  
de type pri  
les cordons  
lymphoïdes  
l'endothéliu  
généraleme  
transitent.

ques est r  
lamina pro  
phoïdes, n  
de Peyer s  
follicules  
nombre. L  
par des an  
après une  
production  
et de don  
d'hypersen  
NK ou K  
mais leur

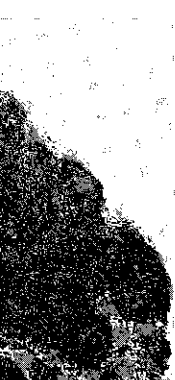
## MODIF DE LA DES O

Un ani  
normal po  
effet, il ré  
tation, da  
son revê  
antigènes  
« naturels  
organes l  
des signé  
contact a

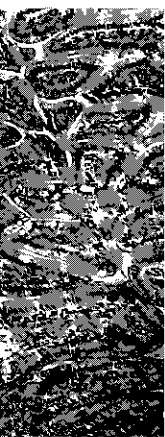
Si expé  
par voie



développé. Les globulines sériques sont élevées dans les animaux à qui on a administré un antigène. La proportion est modifiée, ainsi qu'on voit pour l'IgA ou l'IgE. Le système immunitaire est en absence d'anticorps ou à des titres faibles. L'absence d'anticorps est complète étant donné qu'il n'y a pas de produits immunologiques transmis de la mère à l'enfant et principalement à noter que les animaux ne possèdent pas d'anti-



Micrographies (droite) photographiés



Micrographies au même

corps dits « naturels » sécrétés normalement par ceux maintenus dans leur milieu habituel.

Les organes lymphoïdes répondent différemment à ces conditions pauvres en antigènes : la moelle osseuse produit apparemment des cellules pré-B et pré-T de manière normale, mais renferme moins de plasmocytes. L'histomorphologie du thymus ne semble pas modifiée.

Les organes périphériques sont caractérisés par leur faible volume et la réduction des zones responsables de la production de cellules B ou T : pulpe blanche de la rate, zones corticales et médullaires des ganglions (Fig. 5-19). Plus particulièrement, les follicules sont pour ainsi dire tous de type primaire (absence de centre germinatif) et les cordons médullaires sont dépourvus de cellules lymphoïdes et plasmocytaires. Notons aussi que l'endothélium des veinules post-capillaires est généralement bas et que peu de lymphocytes y transitent. La paroi intestinale des souris axéniques est mince, les cryptes sont courtes et la lamina propria peu peuplée de cellules lymphoïdes, notamment de plasmocytes. Les plaques de Peyer sont peu développées (Fig. 5-20), leurs follicules sont de type primaire et en faible nombre. Lorsque de tels animaux sont stimulés par des antigènes, ils sont capables de répondre, après une période de latence assez longue par la production d'anticorps et de cellules T effectrices et de donner lieu, par exemple, à des réactions d'hypersensibilité de type retardé. Les cellules NK ou K sont présentes chez de tels animaux, mais leur activité semble réduite.

### MODIFICATION DE LA STRUCTURE DES ORGANES STIMULÉS

Un animal maintenu dans son environnement normal possède un système immunitaire actif. En effet, il rencontre des antigènes dans son alimentation, dans l'air qu'il respire ou par contact avec son revêtement cutané. Il réagit contre ces antigènes et produit ainsi des anticorps dits « naturels » et des cellules T de divers types. Les organes lymphoïdes périphériques montrent donc des signes d'activité variable en fonction du contact avec l'antigène et de sa nature.

Si expérimentalement on introduit un antigène par voie entérale, sous-cutanée ou intraveineuse,

celui-ci peut donner lieu à une réponse immune qui se remarquera au niveau des organes lymphoïdes périphériques et au niveau sérique. Ainsi on assiste à l'hypertrophie visible ou palpable des ganglions de drainage et de la rate, tout comme d'ailleurs en cas d'infection ou lors d'autres états pathologiques (voir chapitre 34).

Lors d'une première stimulation, ces organes montrent dès les premiers jours des signes morphologiques de changement : si l'antigène est administré par la voie sous-cutanée, on constate l'apparition de blastes (cellules lymphoïdes B et T à cytoplasme basophile ou pyroninophile) dans les ganglions drainant ce site. De plus, la migration de cellules lymphoïdes au travers de veinules post-capillaires est accrue alors que, durant les premières 24 heures, la sortie des lymphocytes par les vaisseaux lymphatiques efférents est ralentie.

Les follicules primaires développent des centres germinatifs : des centroblastes en division y sont d'abord visibles et très vite des macrophages à corps colorables apparaissent également. Durant les premiers jours de réponse, les centres germinatifs sont uniquement formés de centroblastes. La subdivision en zones claire et sombre est visible seulement après une semaine environ mais persiste pendant plusieurs semaines ou mois. Au début de la stimulation, les cellules B sont surtout IgM positives, puis par commutation isotopique, elles expriment aussi les autres isotypes d'immunoglobulines. Durant cette même période, des cellules B synthétisant des anticorps à haute affinité sont produites grâce au phénomène d'hypermutagenicité et à la sélection clonale. A la fin de la réponse envers l'antigène injecté, les centroblastes disparaissent et les centres régressent peu à peu.

Dans les cordons médullaires, le nombre de cellules, plasmocytaires notamment, augmente quelques jours après la stimulation. Car après, on constate aussi un enrichissement en plasmocytes des moelles osseuses.

Les zones thymo-dépendantes grossissent aussi soit en raison d'une immigration accrue de lymphocytes transitant par les veinules post-capillaires (dont l'endothélium est très élevé), soit par le passage d'immunoblastes sortant des follicules et venant coloniser les cordons médullaires en s'y transformant en plasmocytes, soit enfin par suite de la prolifération de cellules T en son sein. Il en résulte une modification de l'histologie des ganglions drainants et un net accroissement de leur taille.

Si l'antigène est injecté par voie intraveineuse,

la rate sera surtout affectée et plus particulièrement la pulpe blanche qui augmentera de volume; la pulpe rouge sera plus riche en cellules lymphoïdes et en plasmocytes; l'hypertrophie subséquente de la rate sera aussi fonction du temps et de l'intensité de la stimulation. De même, les tissus associés aux muqueuses réagiront à des stimulations antigéniques locales.

Lors d'une stimulation secondaire (de rappel), les phénomènes réactionnels sont généralement plus rapides et plus intenses. Ainsi, les follicules secondaires apparaissent plus tôt, sont plus nombreux et de plus grande taille, le nombre de plasmocytes plus élevé et la quantité de petits lymphocytes circulants, capables de réagir spécifiquement, accrue.

Au niveau du site même de l'introduction de l'antigène, des lymphocytes T ou B, des plasmocytes, des monocytes ou des polynucléaires peuvent s'accumuler et former un granulome inflammatoire (voir chapitre 34). De telles stimulations ont aussi des répercussions au niveau sérique; ceci sera exposé dans le chapitre 9.

Globalement, on peut dire que les réponses à l'introduction d'un antigène se déroulent en fonction des différents micro-environnements créés par les cellules lymphoïdes, macrophagiques ou de la trame. Ainsi, par exemple, les cellules folliculaires dendritiques, en captant des complexes immuns et par leur contact avec les lymphocytes influencent la migration, la survie, l'activation, la prolifération et la différenciation des cellules B des centres germinatifs. Au niveau des zones thymo-dépendantes, ce sont les cellules interdigitantes qui déterminent les phénomènes concernant les cellules T.

De plus, les cellules formatrices d'immunoglobulines (plasmocytes) et les cellules T effectrices ne se différencient et n'exercent leurs fonctions qu'en relation étroite avec les conditions locales dépendant à la fois de facteurs externes (antigènes notamment) et de facteurs internes (cellules environnantes agissant par contact direct ou par l'intermédiaire de cytokines) (voir Régulation, chapitre 8).

## VAISSEAUX LYMPHATIQUES

Le système lymphatique, constitué de vaisseaux et de ganglions lymphatiques, est surtout développé chez les mammifères. Comparé aux verté-

brés inférieurs, leur système lymphatique présente deux particularités importantes. D'une part, les vaisseaux possèdent des valvules mais sont dépourvus de cœurs lymphatiques. D'autre part, sur le trajet des vaisseaux se trouvent de nombreux ganglions lymphatiques organisés comme des filtres (Fig. 5-21).

### CAPILLAIRES, VAISSEAUX ET TRONCS COLLECTEURS

On distingue trois niveaux : les capillaires, les vaisseaux et les grands troncs collecteurs qui se connectent à des veines et déversent ainsi la lymphe dans le torrent circulatoire sanguin.

#### Capillaires lymphatiques

Débutant sous la forme de cul-de-sac, les capillaires forment soit des éléments séparés (chylifères des villosités intestinales), soit un réseau plexiforme. Ils sont délimités par un très mince endothélium dépourvu au départ d'une membrane basale mais attaché au réseau conjonctif voisin par de fines fibres collagènes. La lumière, souvent collabée, est maintenue ouverte lorsque, par exemple sous une accumulation locale de liquide inflammatoire, les tissus sont distendus et une traction est exercée sur les fibres collagènes. La lumière des capillaires est de forme irrégulière.

Les capillaires lymphatiques sont présents dans tous les tissus vascularisés et donc absents des épithéliums, cartilages, cristallin et cornée, ainsi que de la moelle osseuse, du cordon ombilical et des annexes fœtales.

Ces capillaires sont susceptibles de grandes variations de forme selon l'état fonctionnel de l'organe. L'endothélium semble continu, la lymphe se forme par passage au travers des cellules endothéliales mais localement des espaces intercellulaires laissent filtrer le liquide interstitiel (notamment au niveau du diaphragme).

#### Vaisseaux lymphatiques

Les vaisseaux lymphatiques diffèrent des capillaires surtout par deux caractères : ils sont valvulés et possèdent une paroi complexe composée d'éléments conjonctifs et de muscles lisses.



Figure 5-21 Schéma d'une cisterna du chyle cervicaux profonds; Fl, ganglion ilio-fémoral; Il, ganglion ilio-lombaire; Ma, ganglions médioparotidien; Po, ganglion rétropharyngien; Lombo-aortiques) Grassé. Traité de sang et lymphe

Les valvules sont renforcées par un renflement sur les parois. Ces vaisseaux ont une forme irrégulière dans les organes; ils sont connectés aux veines, les vaisseaux lymphatiques ont une position différente des vaisseaux sanguins. Les éléments plus petits sont d'assez grande taille. Les uns réalisent généralement des vaisseaux

matique présente  
D'une part, les  
es mais sont  
. D'autre part,  
uvent de nom-  
rganisés comme

capillaires, les  
llecteurs qui se  
ersent ainsi la  
e sanguin.

cul-de-sac, les  
éments séparés  
nales), soit un  
ités par un très  
u départ d'une  
hé au réseau  
s collagènes. La  
intenne ouverte  
e accumulation  
les tissus sont  
ée sur les fibres  
res est de forme

nt présents dans  
onc absents des  
et cornée, ainsi  
don ombilical et

les de grandes  
fonctionnel de  
de continu, la  
au travers des  
ment des espaces  
quide interstitiel  
agme).

fèrent des capil-  
s : ils sont val-  
plexe composée  
scles lisses.

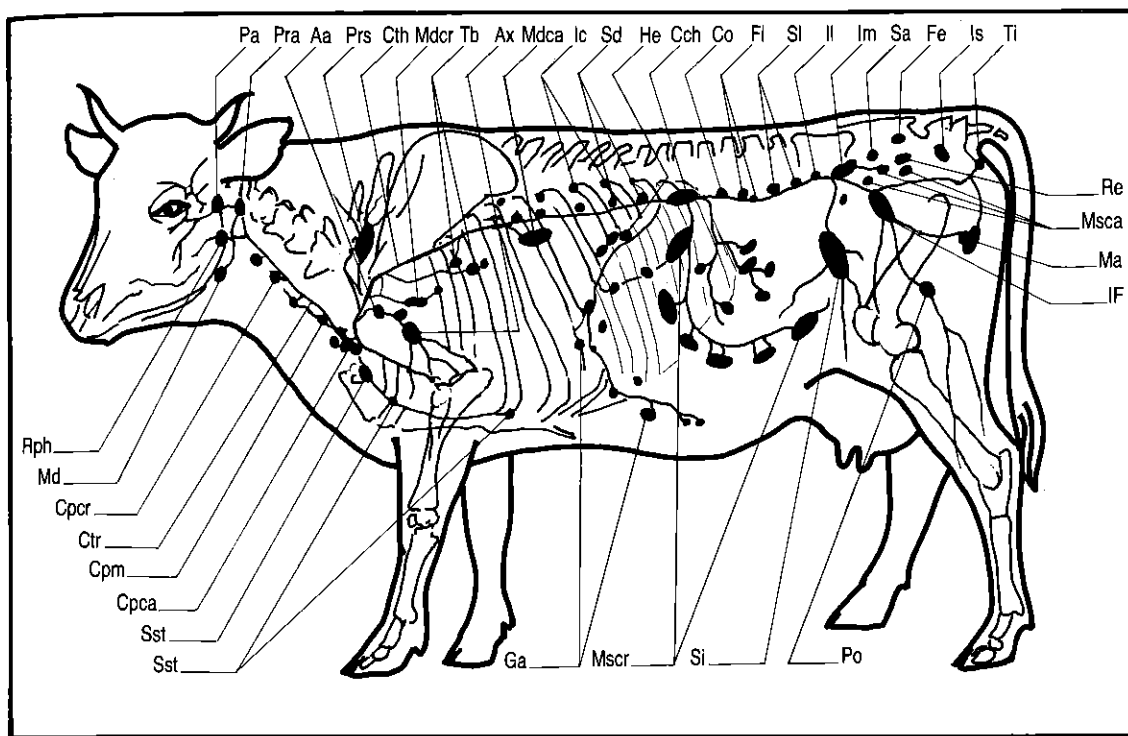


Figure 5-21 Schéma général du système lymphatique du bovin. Aa, ganglion axillaire accessoire; Ax, ganglion axillaire; Cch, citerne du chyle (citerne de Pecquet); Co, ganglions coliques; Cpca, ganglions cervicaux profonds caudaux; Cpcr, ganglions cervicaux profonds crâniens; Cpm, ganglions cervicaux profonds moyens; Cth, canal thoracique; Ctr, canal trachéal; Fe, ganglion fessier; Fl, ganglions du flanc; Ga, ganglions gastriques; He, ganglions hépatiques; Ic, ganglions intercostaux; If, ganglion ilio-fémoral; Il, ganglions iliaques latéraux (ou circonflexes iliaques); Im, ganglions iliaques médiaux; Is, ganglions ischiatiques; Ma, ganglions mammaires (ou rétomammaires); Md, ganglion mandibulaire; Mdca, ganglions médiastinaux caudaux; Mdcr, ganglions médiastinaux crâniens; Msca, ganglions mésentériques caudaux; Mscr, ganglions mésentériques crâniens; Pa, ganglion parotidien; Po, ganglion poplité; Pra, ganglion préatloïdien; Prs, ganglions préscapulaires; Re, ganglions du rectum; Rph, ganglion rétropharyngien; Sa, ganglions sacraux; Sd, ganglions sous-dorsaux; Si, ganglions subiliaques; Sl, ganglions sous-lombaires (ou lombo-aortiques); Sst, ganglions sus-sternaux; Tb, ganglions trachéo-bronchiques; Ti, ganglion de la tubérosité ischiatique. (P.P. Grassé. Traité de zoologie, tome XVI « Mammifères », Fascicule IV. « Système nerveux, organes des sens, appareil circulatoire, sang et lymph », 1972, Masson, Paris. Reproduit avec autorisation.)

Les valvules, constituées à partir de l'intima, sont renforcées par des muscles lisses formant un renflement supra-valvulaire.

Ces vaisseaux à paroi mince ont souvent une forme irrégulière, moulée dans les interstices des organes; ils sont dilatables. Plus nombreux que les veines, les vaisseaux lymphatiques ont une disposition différente : au lieu de s'anastomoser en des éléments plus importants, ils restent distincts sur d'assez grandes longueurs et cheminent parallèlement les uns aux autres. Les confluences se réalisent généralement au niveau des ganglions. Ces vaisseaux, qui peuvent franchir le plan

médian du corps, se disposent en réseaux superficiels ou profonds. Lésés, ils peuvent aisément se régénérer.

### Collecteurs terminaux de la lymphe

Le plus important est le canal thoracique, il draine la totalité du corps excepté la partie collectée par la veine lymphatique droite. Son calibre est relativement faible (moins d'un cm chez le cheval ou le bœuf). Dans la région lombaire, il possède de nombreuses valvules et

une épaisse tunique musculaire. Dans la partie haute, la fréquence des valvules diminue ainsi que la musculature. Certaines espèces possèdent deux canaux thoraciques.

Le canal thoracique débute par un renflement drainant les membres postérieurs et les viscères (la citerne de Pecquet), puis se place à droite de l'aorte thoracique, ensuite à gauche de la trachée pour enfin s'aboucher dans l'angle de jonction des veines jugulaire et sous-clavière gauches. Des variations importantes sont observées à ce point de vue d'une espèce à l'autre.

## LYMPHE

La composition cellulaire de la lymphe varie selon les endroits et les circonstances. Les gros vaisseaux contiennent 500 000 à 1 000 000 de cellules/ml de lymphe. Il s'agit surtout de lymphocytes (80 à 90 p. cent), de monocytes ou de cellules dendritiques (5 à 10 p. cent); les polynucléaires et les globules rouges n'y sont rencontrés qu'exceptionnellement; les plaquettes sont absentes.

Les vaisseaux lymphatiques sous-cutanés renferment environ 25 p. cent de macrophages, de monocytes ou de cellules de Langerhans : ces dernières sont sous la forme de cellules à membrane ondulante (veiled cells). Ces vaisseaux convergent vers les ganglions drainant la peau. Par la lymphe efférente d'un ganglion d'un gramme sortent environ 3 000 000 de cellules par heure, il s'agit surtout de lymphocytes recirculants. Contrairement aux vaisseaux afférents, les vaisseaux efférents ne contiennent pas de macrophages typiques, ceux-ci sont donc retenus dans les ganglions. Plus particulièrement, ce sont les cellules exprimant un taux élevé d'antigènes de classe II qui sont retenues.

Signalons encore que la lymphe du système lymphatique intestinal se charge, au cours de la digestion, de fines gouttelettes de graisse, les chylomicrons.

## PROGRESSION DE LA LYMPHE

Dans beaucoup d'organes, il existe des fentes lymphatiques, non délimitées par un endothélium mais formant des voies d'écoulement conduisant

le liquide interstitiel jusqu'aux capillaires lymphatiques.

Le passage du liquide interstitiel dans les capillaires semble être à la fois un phénomène actif et passif : actif par le transport au travers des cellules endothéliales, passif par l'ouverture d'espaces intercellulaires et de la lumière des capillaires sous la traction des fibres collagènes attachées à l'endothélium (notamment lors d'une accumulation d'un exsudat inflammatoire).

La progression de la lymphe dans les vaisseaux les plus minces est due aux compressions périodiques, parfois légères, exercées par les organes voisins (pulsations artérielles, contractions musculaires, mouvements péristaltiques des viscères). Les valvules empêchent le reflux de la lymphe; les vaisseaux pourvus de fibres musculaires la propulsent activement.

Au niveau du canal thoracique, la lymphe est aspirée lors de l'inspiration, à ce moment le diaphragme comprimant le contenu abdominal pousse encore la lymphe à des niveaux supérieurs dans les vaisseaux. Lors de l'expiration, les valvules s'opposent au reflux et la lymphe est alors chassée dans les veines.

Chez les vertébrés inférieurs, la progression de la lymphe est assurée par des cœurs lymphatiques.

## GANGLIONS LYMPHATIQUES

Les ganglions ou nœuds lymphatiques sont disposés sur le trajet de la circulation lymphatique : des vaisseaux afférents se terminent dans un sinus marginal tandis qu'au niveau des sinus médullaires se dégage un vaisseau efférent. Rappelons que ces ganglions sont des sites de filtration de la lymphe, de passage et de production de cellules lymphoïdes.

Ils peuvent être isolés mais sont souvent regroupés en des ensembles appelés « lymphocentres ». Au niveau de la tête on distingue, par exemple, les lymphocentres parotidiens et mandibulaires; dans la région du cou se localisent les lymphocentres cervicaux profonds ou supérieurs (Fig. 5-22).

Ces ganglions sont en général situés près de gros vaisseaux sanguins, dans le voisinage des grands plis articulaires, près des attaches des mésos aux parois des grandes cavités splanchniques. Ils peuvent être superficiels ou profonds.

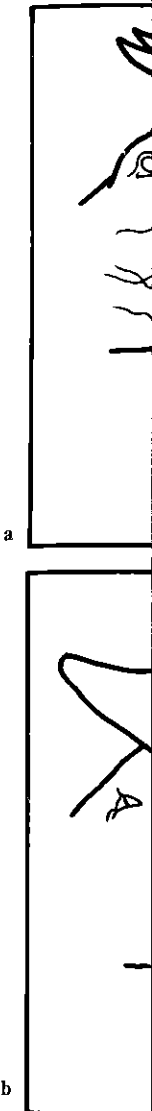


Figure 5-22. Courants de la lymphe. a) d'écoulement de la lymphe dans les capillaires lymphatiques; b) d'écoulement de la lymphe dans les capillaires lymphatiques. a) d'écoulement de la lymphe dans les capillaires lymphatiques; b) d'écoulement de la lymphe dans les capillaires lymphatiques.

illaires lymph-

stitiel dans les  
un phénomène  
rt au travers des  
par l'ouverture  
la lumière des  
bres collagènes  
ment lors d'une  
mmatoire).

ns les vaisseaux  
pressions péri-  
par les organes  
ractions muscu-  
des viscères).

de la lymphe; les  
laire la propul-  
la lymphe est  
ce moment le  
enu abdominal  
eaux supérieurs  
expiration, les  
la lymphe est

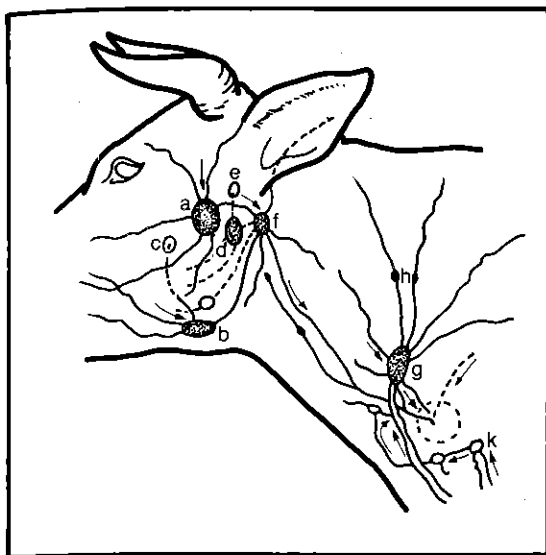
progression de  
s lymphatiques.

JES

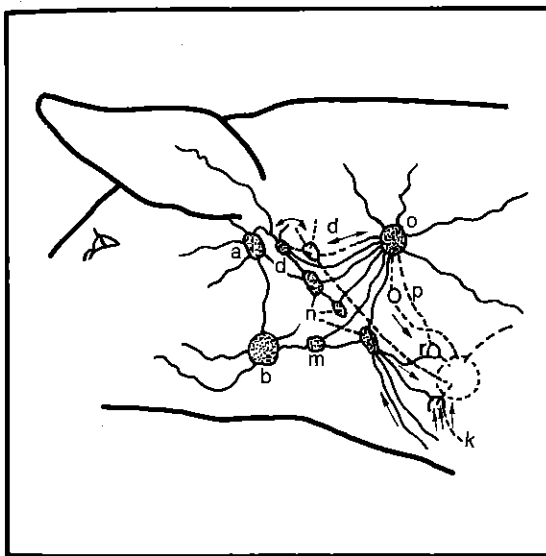
lymphatiques sont  
ulation lymph-  
terminent dans  
niveau des sinus  
sseau efférent.  
nt des sites de  
e et de produc-

s sont souvent  
belés « lympho-  
n distingue, par  
idiens et mandi-  
se localisent les  
s ou supérieurs

situés près de  
e voisinage des  
es attaches des  
cavités splanch-  
els ou profonds.



a



b

Figure 5-22 Schéma des ganglions lymphatiques et des courants de la lymphe dans la tête, le cou et la région pectorale. a) du bœuf; b) du porc. Les ganglions profonds sont délimités par des lignes de points. a, ganglions parotidiens; b, ganglions mandibulaires; c, ganglions ptérygoïdiens; d, ganglions rétropharyngiens médiaux; e, ganglion hyoïdien caudal; f, ganglion rétropharyngien latéral; g, ganglion cervical superficiel caudal (bœuf); h, ganglions cervicaux nucaux; k, ganglions axillaires des premières côtes; m, ganglions mandibulaires accessoires; n, ganglions cervicaux superficiels ventraux; o, ganglions cervicaux superficiels caudaux (porc); p, ganglion cervical superficiel moyen; r, ganglion cervical profond caudal. (P.P. Grassé. Traité de zoologie, tome XVI « Mammifères », Fascicule IV, « Système nerveux, organes des sens, appareil circulatoire, sang et lymphe », 1972, Masson, Paris. Reproduit avec autorisation, d'après Zietzschmann).

## CIRCULATION LYMPHOCYTAIRE

Les lymphocytes mûrs, qu'ils soient B ou T, circulent continuellement dans l'organisme, transitent d'un organe lymphoïde à l'autre par l'intermédiaire de la lymphe et du sang. Ils participent à ce phénomène à divers degrés, selon leur fonction et leur stade de différenciation.

De ces migrations dépend le fonctionnement adéquat du système immunitaire :

- elles permettent à la plupart des lymphocytes de rencontrer les antigènes dans à peu près tous les endroits de l'organisme;
- elles rendent possible les interactions entre les cellules lymphoïdes et les différentes catégories de cellules accessoires;
- elles assurent la répartition des populations de cellules effectrices et à mémoire dans les organes et les tissus, permettant le développement d'une réponse immune différente selon le site où elle se déroule.

## RECONNAISSANCE DES VEINULES POST-CAPILLAIRES PAR LES LYMPHOCYTES

Les lymphocytes circulants du sang colonisent les différents organes lymphoïdes de manière sélective. Leur localisation préférentielle dans les ganglions périphériques ou dans les organes lymphoïdes des muqueuses (comme les plaques de Peyer et l'appendice) résulte de leur aptitude à se fixer aux cellules endothéliales des veinules post-capillaires de ces organes (Fig. 5-23).

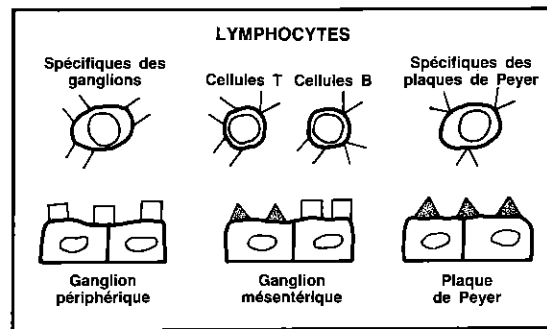


Figure 5-23 Modèle de reconnaissance des veinules post-capillaires par les lymphocytes (d'après Stevens et al. 1982).

Ces vaisseaux ont une morphologie particulière : leur endothélium est cuboïde et on les appelle veinules post-capillaires à endothélium élevé [high endothelial venules (HEV)].

Les lymphocytes font la distinction entre les cellules endothéliales des HEV des différents organes lymphoïdes : ces dernières possèdent en effet des molécules de surface (adressines vasculaires) différentes suivant qu'elles sont situées dans les ganglions périphériques ou dans les plaques de Peyer. Les cellules endothéliales des HEV dans les ganglions mésentériques expriment les deux types de molécules. La plupart des lymphocytes possèdent deux catégories de récepteurs et peuvent donc établir des interactions avec l'endothélium des HEV dans tous les organes lymphoïdes, alors que certains d'entre eux n'expriment qu'un seul type de récepteur, soit pour l'endothélium des HEV des ganglions périphériques, soit pour celui des HEV des plaques de Peyer.

Le récepteur lymphocytaire impliqué dans les interactions avec l'endothélium des HEV des ganglions périphériques a été identifié, chez la souris et chez l'homme : il s'agit d'une glycoprotéine de 90 kd identifiable par un anticorps monoclonal (MEL-14) et qui constitue le récepteur de migration. Un autre récepteur a été caractérisé chez l'homme : il s'agit du récepteur « hermès-1 », qui se lie à toutes les HEV, quelle que soit leur localisation.

### EXPRESSION DES RÉCEPTEURS DE MIGRATION

La plupart des cellules pré-B expriment des taux faibles, (non fonctionnels) de récepteurs de migration. De même, seuls 1 à 3 p. cent des thymocytes adultes possèdent des taux de récepteurs comparables à ceux qu'on observe sur les lymphocytes T mûrs circulants. Cette fréquence correspond à la proportion de thymocytes qui migrent journellement vers les organes lymphoïdes périphériques.

Ces cellules possèdent les caractères phénotypiques et fonctionnels des lymphocytes T périphériques et des cellules lymphoïdes de la zone médullaire. Toutefois elles sont exclusivement localisées dans le cortex thymique. Elles appartiennent donc à une population corticale mûre qui contient probablement les précurseurs immédiats des migrants thymiques.

Toutes les cellules B IgD<sup>+</sup> et IgM<sup>+</sup>, ainsi que

la plupart des lymphocytes T mûrs sont présents dans les ganglions, les plaques de Peyer et le sang. Ces cellules sont donc capables de se lier aux HEV des ganglions et des plaques de Peyer. On peut donc raisonnablement penser que les populations lymphoïdes « vierges » provenant des moelles osseuses possèdent plusieurs types de récepteurs de migration et sont donc capables de circuler librement dans les tissus lymphoïdes. Ces cellules se concentrent notamment dans les follicules primaires ou la couronne des follicules secondaires.

Les lymphocytes B et T migrent différemment : les cellules T interagissent davantage que les lymphocytes B avec les HEV des ganglions périphériques (environ 1,5 fois plus), alors que 2 à 3 fois plus de lymphocytes B que de cellules T se lient aux HEV des plaques de Peyer. Ces interactions préférentielles se reflètent dans la composition des organes lymphoïdes : les cellules résidentes des plaques de Peyer sont en majorité des lymphocytes B alors que celles des ganglions périphériques sont pour la plupart des lymphocytes T.

Une population particulière de lymphocytes (CD5<sup>+</sup>) exprimant un taux élevé d'IgM, et faible d'IgD, peuple la cavité péritonéale et la zone marginale de la rate; ces cellules n'existent pas dans les ganglions et ne participent pas au compartiment des lymphocytes circulants. Elles ne possèdent pas de récepteurs de migration.

### RÉGULATION DE L'EXPRESSION DES RÉCEPTEURS DE MIGRATION

Chez la souris, les lymphocytes stimulés par des antigènes, présentent une phase durant laquelle ils perdent leurs propriétés migratrices. Ils restent donc localisés au site initial et répondent au stimulus antigénique par une expansion clonale.

Les lymphocytes B ou T mémoires qui quittent le site lymphoïde par la lymphe efférente possèdent des propriétés migratrices très différentes de celles exprimées par les cellules lymphoïdes « vierges ». C'est ainsi que les cellules provenant des ganglions périphériques retournent de manière sélective vers les ganglions et les foyers inflammatoires de la peau, tandis que celles de la lymphe intestinale migrent de manière préférentielle vers les muqueuses. On considère que le stimulus antigénique induit une période de diffé-

renciation de les récepteur déplacement limités : mo passage ver ont acquis l les follicule récepteurs, caractéristiq produite.

### SYNTHÈSE

Les cellul des lympho n'exprimo tionnelles, c

Lorsqu'ils phoïdes péri possèdent de les HEV des

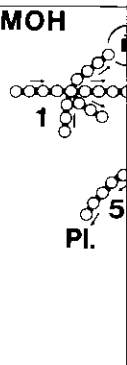


Figure 5-24  
1) Lymphogénèse hématoïétique générique déterminée en place.  
2) Dans le sang, les cellules sont appelées cellules lymphoïdes.  
3) Si, dans les ganglions, elles reconnaissent un antigène, sinon elles meurent.  
4) Les cellules lymphoïdes prolifèrent, subissent une sélection clonale et se différencient en plasmocytes, cellules à longue vie.  
5) Les pro-plasmocytes, par exemple la cellule à longue vie, migrent vers les muqueuses.  
6) Les cellules lymphoïdes à longue vie migrent vers les muqueuses en réponse aux antigènes ou m

s sont présents de Peyer et le bles de se lier ques de Peyer. penser que les provenant des eurs types de nc capables de mphoïdes. Ces dans les fol- des follicules

différemment : ntage que les des ganglions s), alors que 2 e de cellules T de Peyer. Ces ètent dans la s : les cellules ont en majorité s des ganglions part des lym-

e lymphocytes 'IgM, et faible ale et la zone n'existent pas cipent pas au ulants. Elles ne migration.

SION  
RATION

es stimulés par phase durant s migratrices. nitial et répon- une expansion

res qui quittent fférente possè- s différentes de es lymphoïdes ules provenant ent de manière foyers inflam- e celles de la nière préféren- nsidère que le période de diffé-

renciation durant laquelle les lymphocytes perdent les récepteurs de migration. Par exemple, les déplacements de lymphocytes B activés sont limités : mouvements à l'intérieur du follicule ou passage vers les cordons médullaires. Lorsqu'ils ont acquis leurs propriétés effectrices, ils quittent les follicules et expriment à nouveau de tels récepteurs, spécifiques pour la classe de HEV caractéristique du site où l'immunisation s'est produite.

SYNTHÈSE DES RÉCEPTEURS

Les cellules pré-B dans la moelle et la plupart des lymphocytes T immatures dans le thymus n'expriment que des quantités faibles, non fonctionnelles, de récepteurs de migration.

Lorsqu'ils se dirigent vers les organes lymphoïdes périphériques, les lymphocytes B et T possèdent des taux importants de récepteurs pour les HEV des ganglions et des plaques de Peyer; ils

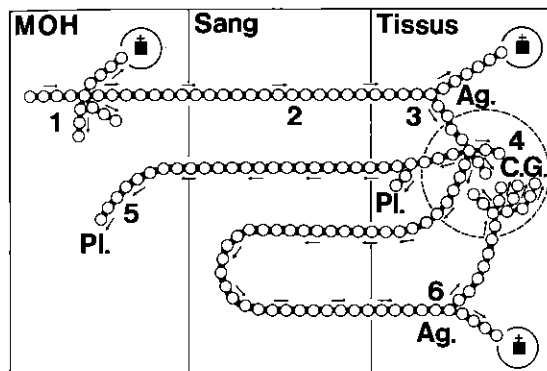


Figure 5-24 Migration de cellules B.

- 1) Lymphogenèse de cellules B dans les moelles osseuses hématopoïétiques (MOH); les cellules, après le réarrangement génique déterminant leur répertoire, émigrent ou meurent sur place.
- 2) Dans le sang, ces cellules appelées vierges sont aussi appelées cellules à durée de vie courte;
- 3) Si, dans les tissus, ces cellules rencontrent les antigènes qu'elles reconnaissent spécifiquement, elles sont activées, sinon elles meurent.
- 4) Les cellules activées passent dans les centres germinatifs, y prolifèrent, subissent la commutation isotypique et l'hypermutagenicité et se différencient soit en cellules précurseurs de plasmocytes, soit en cellules B mémoires.
- 5) Les pro-plasmocytes migrent en des sites déterminés, par exemple la MOH, et y produisent des Ig.
- 6) Les cellules B mémoires sont capables de recirculer; ces cellules à longue durée de vie sont à nouveau activées par des antigènes ou meurent.

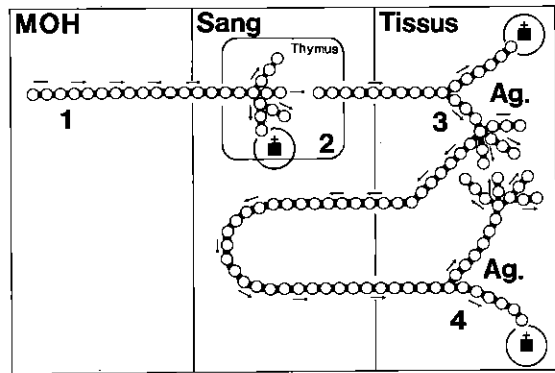


Figure 5-25 Migration de cellules T.

- 1) Les cellules pré-T apparaissent dans les moelles osseuses hématopoïétiques et migrent vers le thymus.
- 2) Au niveau du thymus ces cellules prolifèrent, acquièrent leurs récepteurs et antigènes spécifiques de surface puis quittent le thymus, sinon elles meurent sur place.
- 3) Si ces cellules T mûres rencontrent l'antigène qui leur est spécifique, elles sont activées et prolifèrent dans les zones thymo-dépendantes, sinon elles meurent sur place (cellules à durée de vie courte).
- 4) Les cellules T produites après activation sont des cellules T à mémoire et capables de recirculer, si elles rencontrent à nouveau l'antigène elles recommencent à proliférer, sinon elles meurent après des temps assez longs (cellules à durée de vie longue).

peuvent donc circuler dans l'organisme jusqu'à ce qu'ils rencontrent un antigène ou jusqu'à ce qu'ils meurent (Fig. 5-24 et 5-25).

Lorsqu'ils sont stimulés par un antigène, les lymphocytes perdent leurs récepteurs de migration, prolifèrent et expriment probablement d'autres molécules responsables de leur séquestration dans un micro-environnement donné. Durant cette période, ils se différencient en cellules effectrices à mémoire et sont sélectionnés pour exprimer les récepteurs de déterminants spécifiques, soit des ganglions, soit des plaques de Peyer, soit d'autres organes.

Lorsqu'ils quittent le site de stimulation antigénique, ils vont donc se localiser de manière sélective dans des tissus identiques à celui où le stimulus antigénique initial s'est produit. Ce processus améliore l'efficacité de la réponse immune en dirigeant les cellules effectrices vers les tissus qui peuvent être exposés à l'antigène stimulant et en unifiant cette réponse au niveau de tissus distants mais possédant des caractéristiques communes.

## BIBLIOGRAPHIE

## Référence générale

GRASSÉ PP. Traité de Zoologie, Anatomie, Systématique, Biologie. Tome XVI. Masson, Paris, 1965.

## Références

1. ALT FW, BLACKWELL TK, DE PINHO RA et al. Regulation of genome rearrangement events during lymphocyte differentiation. *Immunol Rev*, 1986, 89 : 5-30.
2. BACH JF. *Immunologie*, Flammarion, 1986.
3. DEFRESNE MP, PLUM J, DESME DTM, BONIVER J. Enzyme analysis of thymic nurse cells. *Thymus*, 1988, 11 : 221-230.
4. FOWLKES BJ, MATHIESON BJ. Intrathymic differentiation : Thymocyte heterogeneity and the characterization of early T-cell precursors. *Surv Immunol Res* 1985, 4 : 96-106.
5. GEENEN V, DEFRESNE MP, ROBERT F, LEGROS JJ, FRANCHIMONT P, BONIVER J. The neurohormonal thymic microenvironment : immunocytochemical evidence that thymic nurse cells are neuroendocrine cells. *Neuroendocrinology*, 1988, 47 : 365-368.
6. HAM AW, CORMAK DH. *Histology*, VIIIth edition. JB Lippincott Company, 1979.
7. HEINEN E, KINET-DENOEL C, CORMANN N. The lymph follicle : a hard nut to crack. *Immunol Today*, 1988, 9 : 240-243.
8. HOUSSAINT E, DIEZ E, HALLET MM. The bursal microenvironment : phenotypic characterization of the epithelial antibodies. *Immunology*, 1986, 58 : 43-49.
9. JALKANEN S, REICHERT RA, GALLATIN WM et al. Homing receptors and the control of lymphocyte migration. *Immunol Rev*, 1986, 91 : 39-60.
10. KENDALL MD. The cells of the thymus. *In* : MD Kendall. *The Thymus Gland*, Academic Press, New York, 1981, pp. 63-84.
11. KYEWSKI BA, MOMBOURG F, SCHIRRMACHER V. Phenotype of stromal cell-associated thymocytes in situ is compatible with selection of the T-cell repertoire at an « immature » stage of thymic T-cell differentiation. *Eur J Immunol*, 1987, 17 : 961-967.
12. LE DOUARIN NM, JOTEREAU FV. The ontogeny of the thymus. *In* : MD Kendall. *The Thymus Gland*, 1981, pp. 37-62.
13. LENNERT K. *Malignant lymphomas other than Hodgkin's disease*. Springer Verlag, Berlin, 1978.
14. PAUL WF. *Fundamental Immunology*. Raven Press, New York, 1984.
15. RATCLIFFE MJH. The ontogeny and cloning of B cells in the bursa of Fabricius. *Immunology Today*, 1985, 6 : 223-227.
16. SAINTE-MARIE G, PENG FS, BELISLE C. Overall structure and pattern of lymph flow in the rat lymph node. *Amer J Anat*, 1982, 164 : 275-309.
17. STEVENS SK, WEISSMAN IL, BUTCHER EC. Differences in the migration of B and T lymphocytes : organ selective localization in vivo and the role of lymphocyte-endothelial cell recognition. *J Immunol*, 1982, 128 : 844-851.
18. STUTMAN O. Intrathymic and extrathymic T cell maturation. *Immunol Rev*, 1978, 42 : 138-184.
19. VILLARD AC, SESMA MP, VAZQUEZ JJ. Innervation of mouse lymph nodes : nerve endings on muscular vessels and reticular cells. *Amer J Anat*, 1987, 179 : 175-185.
20. WEILL JC, REYNAUD CA. The chicken B cell compartment. *Science*, 1987, 238 : 1094-1098.

*Les photographies et les graphiques sont de C. Kinet, G. Goffinet et R. Brahy.*

M. Fouger

PRÉAMI  
MODA  
DE LA  
DU SO

LES DEU  
DE REC

Le systé  
physiologi  
par son ap  
structures  
ment disti  
— les  
— les  
« extérieu  
La reco  
classiquen  
tielle de l  
système in



ATIN WM et al.  
of lymphocyte  
39-60.

In : MD Kendall  
New York, 1981,

CHIRRMACHER V.  
Lymphocytes in situ is  
all repertoire at an  
differentiation. Eur J

e ontogeny of the  
mus Gland, 1981,

er than Hodgkin's  
8.  
Raven Press, New

oning of B cells in  
Today, 1985, 6 :

. Overall structure  
mph node. Amer J

EC. Differences in  
s : organ selective  
phocyte-endothelial  
28 : 844-851.

ymic T cell matu-  
-184.

JJ. Innervation of  
n muscular vessels  
7, 179 : 175-185.  
en B cell compart-  
8.

M. Fougereau, H. Bazin

## IMMUNOGLOBULINES

### PRÉAMBULE : MODALITÉS ET LIMITES DE LA RECONNAISSANCE DU SOI ET DU NON-SOI

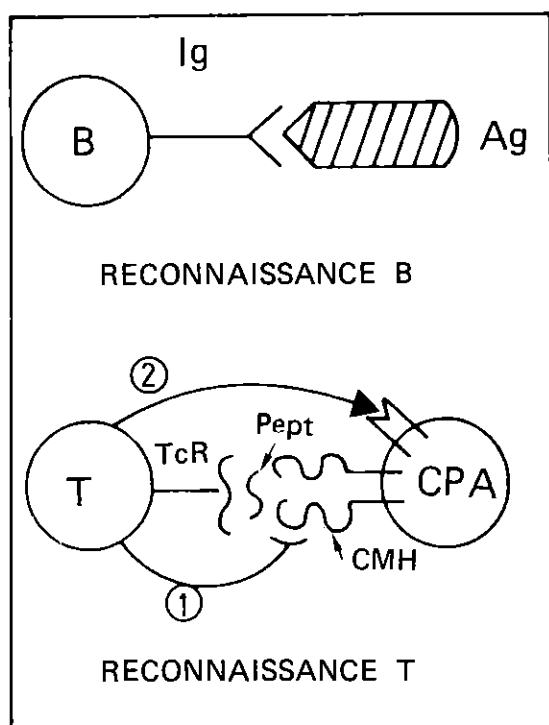
#### LES DEUX TYPES DE RECONNAISSANCE

Le système immunitaire constitue un système physiologique majeur des vertébrés, caractérisé par son aptitude à reconnaître spécifiquement des structures antigéniques que l'on peut schématiquement distinguer en deux grands groupes :

- les antigènes du soi;
- les autres antigènes, dits du non-soi ou « extérieurs ».

La reconnaissance du soi et du non-soi apparaît classiquement comme une caractéristique essentielle de la physiologie et de la raison d'être du système immunitaire. Cette fonction de reconnais-

sance s'appuie sur des partenaires cellulaires, les lymphocytes, eux-mêmes subdivisés en lymphocytes B et en lymphocytes T, en fonction de leur mode de différenciation qui les conduira à exercer la fonction de reconnaissance de deux manières bien distinctes (Fig. 6-1). Les lymphocytes B expriment à leur surface des immunoglobulines membranaires qui interagissent directement et spécifiquement avec un épitope, ou déterminant antigénique, caractéristique de la structure généralement conformationnelle d'une portion d'une molécule d'antigène. A la suite de mécanismes complexes de coopération cellulaire dont il sera fait état plus loin, les lymphocytes B stimulés par l'épitope de l'antigène vont se différencier en blastes puis en plasmocytes qui vont sécréter l'immunoglobuline ou anticorps spécifique de l'épitope stimulant. Cet anticorps « circulant », car présent dans le sang, est en tous points identique à l'immunoglobuline du lymphocyte B stimulé par l'épitope, à l'exception d'une portion membranaire présente sur l'immunoglobuline ancrée sur le lymphocyte et qui



**Figure 6-1** Reconnaissance B et T. Les lymphocytes B reconnaissent directement un épitope de l'antigène, par leur récepteur qui est une immunoglobuline membranaire. Les lymphocytes T reconnaissent un fragment de l'antigène, présenté par une cellule présentatrice (CPA), dans un contexte d'association avec une molécule codée par le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). TcR : récepteur T. 1 et 2 désignent des molécules auxiliaires d'adhésion qui favorisent l'interaction entre le lymphocyte T et la cellule présentatrice.

disparaît dans l'anticorps correspondant sécrété par le plasmocyte.

La reconnaissance par les lymphocytes T est très différente de la reconnaissance par les anticorps. En premier lieu, le récepteur spécifique de l'antigène porté par les cellules T est une molécule différente des immunoglobulines et porte le nom de récepteur T, ou  $T_i$ . De plus, ce récepteur reconnaît non pas un épitope conformationnel de manière directe, mais un peptide dérivé de l'antigène protéique originel qui a dû subir un traitement de la part d'une cellule dite « présentatrice » ou CPA (cellule présentatrice de l'antigène). Cette cellule peut être un macrophage, un monocyte, une cellule dendritique ou un lymphocyte B. L'antigène endocyté par cette cellule est partiellement dégradé à

l'intérieur de compartiments spécialisés puis se trouve réexprimé à la surface de la CPA en association avec une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité, système HLA chez l'homme, système H2 chez la souris, etc. On distingue classiquement des molécules de classe I (HLA-A, HLA-B, HLA-C et H2K, H2D, H2L) et des molécules de classe II (HLA-D chez l'homme, la chez la souris) ainsi qu'il sera précisé dans un autre chapitre. La réexpression des peptides de l'antigène se fait généralement, lors de la première stimulation, en association avec des molécules dites de classe II. Le récepteur T du lymphocyte reconnaît alors l'ensemble « peptide présenté par les molécules du CMH », en même temps que d'autres molécules d'interaction assurent une cohésion au complexe bicellulaire. A la différence des immunoglobulines, le récepteur T ne sera jamais sécrété et restera toujours ancré dans la membrane plasmique du lymphocyte T. On verra dans des chapitres ultérieurs des illustrations de cette dualité.

Ce qui nous intéresse ici, ce ne sont pas toutes les modalités différentes à travers lesquelles s'exerce la fonction essentielle de reconnaissance du système immunitaire, mais bien la communauté des problèmes soulevés par la reconnaissance elle-même.

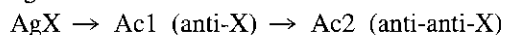
### LIMITES DU SOI ET DU NON-SOI

C'est Oudin qui, à la suite de ses découvertes successives de l'allotypie et de l'idiotypie, a défini les différentes catégories de spécificités antigéniques, distinguant :

— les spécificités isotypiques, caractéristiques d'une espèce animale. Ainsi la sérum-albumine de lapin (SAL) porte des épitopes qui se retrouvent dans la SAL de tous les lapins;

— les spécificités allotypiques, portées par des antigènes communs à un groupe d'individus, à l'intérieur d'une même espèce. Les groupes sanguins sont un bon exemple de spécificité allotypique;

— les spécificités idiotypiques sont portées par des anticorps dirigés contre des antigènes déterminés, et synthétisés par un animal — ou un groupe d'animaux — donné. Cette notion est un peu plus subtile à saisir car elle implique qu'un anticorps puisse également fonctionner comme antigène. Dans la cascade suivante :



on voit que  
anticorps sp  
Ac1. Cet an  
la producti  
reconnaître.  
possède des  
nants idiotyp  
moins en  
l'antigène  
structures s  
anticorps an  
noter que la

peut se pro  
individu, et

(AgX →

de telle sor  
« cascade id  
typique dont  
on retiendra

— un ant  
antigène pou  
thétisé;

— il peu  
cascade de r

— les ant

idiotypique d  
particulier d'  
jouant un rô  
de la produc

Au-delà d  
naissance, le  
contre des m  
pas, mais p  
structural et  
chapitre des

l'évidence q  
pathologie :

dans le lupu  
cepteur d'ad  
d'anti-îlots  $\beta$

insulino-dépe  
certaines thy

que quelques  
santé est la

« naturels »  
période anté-  
foule de m

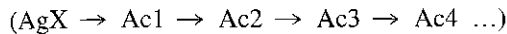
qu'aucune p  
d'observation  
sance du sc  
mécanismes s

dérèler que c'

on voit que l'antigène X induit la synthèse d'un anticorps spécifique anti-X que nous appellerons Ac1. Cet anticorps Ac1 peut, à son tour, induire la production d'un anticorps Ac2 qui va le reconnaître. Pourquoi ? Parce que l'anticorps Ac1 possède des structures particulières ou déterminants idiotypiques ou idiotopes, qui sont liés — au moins en partie — au fait qu'il reconnaît l'antigène X. L'anticorps Ac2 reconnaît ces structures sur Ac1 et l'on dit qu'Ac2 est un anticorps anti-idiotypique. Il est intéressant de noter que la séquence :



peut se produire spontanément chez le même individu, et même continuer



de telle sorte que l'on voit se développer une « cascade idiotypique », amorce d'un réseau idiotypique dont il sera fait état plus loin. A ce stade, on retiendra trois éléments :

— un anticorps peut se comporter comme un antigène pour l'organisme qui l'a lui-même synthétisé;

— il peut amorcer la constitution d'une cascade de reconnaissance;

— les anticorps sont imbriqués dans un réseau idiotypique qui peut être considéré comme un cas particulier d'auto-immunité physiologique active, jouant un rôle essentiel dans la régulation interne de la production des immunoglobulines.

Au-delà de ce premier paradoxe d'autoreconnaissance, le système immunitaire peut-il réagir contre des molécules du soi, ne lui appartenant pas, mais participant à l'ensemble de l'édifice structural et fonctionnel de l'individu ? Le vaste chapitre des maladies auto-immunes indique à l'évidence que ces réactions sont possibles en pathologie : l'existence d'anticorps anti-ADN dans le lupus érythémateux disséminé, d'anticorps anti-récepteur d'acétylcholine dans la myasthénie, d'anti-îlots  $\beta$  du pancréas dans le diabète juvénile insulino-dépendant, d'antithyroglobuline dans certaines thyroïdites auto-immunes... n'en sont que quelques exemples. Mais bien plus intéressante est la mise en évidence d'anticorps « naturels » — produits en faible quantité dès la période anté- ou néonatale — dirigés contre une foule de molécules de l'organisme, sans qu'aucune pathologie n'en découle. Ce type d'observation amène à penser que la reconnaissance du soi et du non-soi opère par des mécanismes similaires actifs et l'on peut considérer que c'est le niveau de la réponse qui

différencie un état d'auto-immunité physiologique d'une maladie auto-immune. Il convient donc de distinguer le répertoire de la reconnaissance de sa régulation.

C'est à l'étude d'une partie de ce répertoire, celui des immunoglobulines, que sera consacrée la première partie de ce chapitre, la deuxième traitant du métabolisme et des propriétés physiologiques des immunoglobulines.

## STRUCTURE DES IMMUNOGLOBULINES

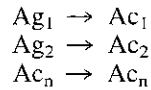
### DUALITÉ STRUCTURALE DES IMMUNOGLOBULINES ET PROBLÈME DU RÉPERTOIRE

La notion, typiquement darwinienne, selon laquelle les différents antigènes sont reconnus par des anticorps de structures différentes, potentiellement inscrites dans l'ADN, a inspiré les théories sélectives (Ehrlich, Burnet, Jerne) qui sont actuellement universellement acceptées, sous le terme de théorie de la sélection clonale. Selon cette théorie, chaque clone de lymphocytes B exprime un seul et même type de spécificité anticorps. A titre d'exemple, le système immunitaire de l'homme adulte comporte environ  $10^{12}$  lymphocytes dont environ 1/5 de lymphocytes B. Si l'on estime la taille moyenne d'un clone entre  $10^2$  et  $10^4$  cellules, on peut considérer qu'à un moment donné le nombre moyen de clones pourrait se situer aux environs de  $10^8$ , ce qui sous-entend la possibilité théorique de synthétiser  $10^8$  molécules d'anticorps possédant des spécificités différentes. Le généticien se préoccupera bien sûr d'établir combien de gènes seront nécessaires pour synthétiser ces  $10^8$  anticorps différents, sachant que la limite supérieure du nombre total de gènes chez l'homme se situerait aux environs de  $10^5$ .

Par ailleurs, outre la fonction de reconnaissance, on sait que les molécules d'anticorps sont capables d'assumer des fonctions effectrices diverses telles que la fixation du complément, le passage transplacentaire, la fixation aux mastocytes, etc. C'est dire qu'il existe une dualité fonctionnelle des anticorps à laquelle se superpose une dualité structurale que l'analyse biochimique permettra de confirmer.

## MODÈLES D'ÉTUDE DES IMMUNOGLOBULINES

La formulation simple de la reconnaissance Ag-Ac selon un schéma du type :



ne paraît en général pas recevable pour deux raisons essentielles. La première tient à l'hétérogénéité des antigènes « conventionnels », représentés comme une mosaïque de déterminants antigéniques, chaque déterminant étant reconnu par des anticorps distincts. Cette cause d'hétérogénéité est la plus simple à cerner. La seconde est plus subtile, en même temps qu'elle est plus fondamentale. Elle exprime l'idée que le système de reconnaissance est essentiellement dégénéré. Au lieu de considérer l'ensemble du système selon la formulation ci-dessus, on peut admettre qu'il existe en fait un réseau de reconnaissance, impliquant un ensemble de réactions croisées. Dans ces conditions, un déterminant antigénique peut être reconnu par une population d'anticorps et, inversement, un même anticorps peut se combiner à divers déterminants. Cette situation crée des difficultés pour l'immunochimiste qui, pour aborder l'étude de la structure fine des immunoglobulines, doit pouvoir disposer d'un matériel d'étude homogène.

Les modèles d'étude visent donc à proposer de tels systèmes. Ces systèmes dérivent directement de la conception clonale de l'origine des anticorps et comprennent principalement :

*Les protéines de myélome* (voir chapitre 36) :

— chez l'homme, le myélome constitue une cancérisation naturelle d'un clone homogène de plasmocytes et se traduit, sur le plan sérologique, par l'apparition, le plus souvent à forte concentration, d'une immunoglobuline monoclonale;

— chez la souris BALB/c, le plasmocytome est induit et chez le rat Louvain, il est spontané. L'intérêt des plasmocytomes (ou immunocytomes) de rongeurs réside dans la possibilité qu'ils offrent d'être transplantables indéfiniment car ils sont originaires de souches consanguines. Un certain nombre de lignées ont été établies *in vitro* et des mutants intéressants ont été isolés et perpétués.

*Les anticorps monoclonaux produits par les hybridomes* (voir chapitre 57).

## STRUCTURE DES IgG

### Structure multicaténaire des IgG

Les anticorps obtenus classiquement après une immunisation normalement conduite, sont des macromolécules multicaténares symétriques, d'un poids moléculaire de 150 000 daltons, et appartiennent à la classe des IgG, qui représente chez l'homme et dans les espèces étudiées, environ 70 p. cent des immunoglobulines circulantes totales. Ils sont bivalents, comportant 2 sites identiques de combinaison pour l'antigène. C'est l'étude de cette classe d'anticorps qui a permis de définir les caractéristiques structurales essentielles des immunoglobulines. Deux approches distinctes devaient aboutir à la formulation du modèle topologique classique des immunoglobulines (Fig. 6-2) :

— la mise en évidence par Edelman de 2 types de chaînes polypeptidiques : lourdes ou H (« heavy », PM : 53 000) et légères ou L (« light », PM : 22 000). La molécule d'IgG contient 2 chaînes lourdes identiques et 2 chaînes légères identiques. Les chaînes sont réunies par des ponts disulfures et par des liaisons non covalentes;

— le clivage enzymatique par la papaïne qui permet à Porter d'identifier 2 types de fragments : les Fab (ou fragment « antigen binding ») et le Fc (fragment « cristallisable »). La molécule contient 2 fragments Fab et 1 fragment Fc, chaque fragment ayant un PM de 50 000 daltons. Chacun des

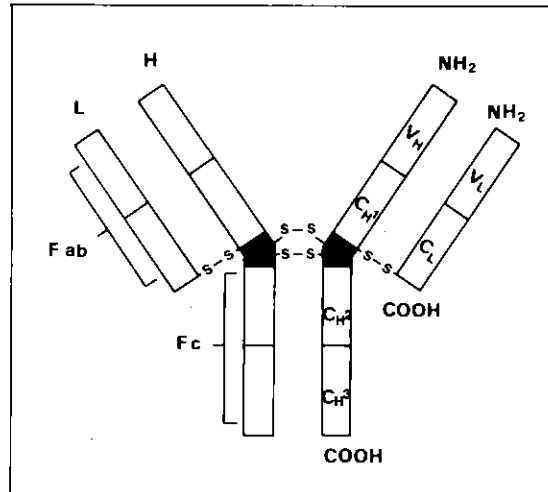


Figure 6-2 Modèle topologique des IgG.

fragments pour l'ant...  
fragment...  
la premiè...  
tions de re...  
sont local...  
molécule;...  
— d'au...  
peuvent ê...  
clive la...  
fragment...  
covalent...  
clive les...  
Fc, laissa...  
Fab (po...  
binding »

Les cha...  
chaînes...  
chacun...  
et d'une

Chaînes

Les pr...  
cées en...  
sait de p...  
urinaires...  
myélome...  
portions...  
NH<sub>2</sub>-term...  
COOH-ter...  
sont con...  
constitu...  
110 résid...  
disulfure...  
3 zones...  
fortemen...  
région C...  
positions...  
l'express...  
existe, e...  
chaînes...  
construi...  
ci-dessu...  
séquence...  
les régi...

Chaîne

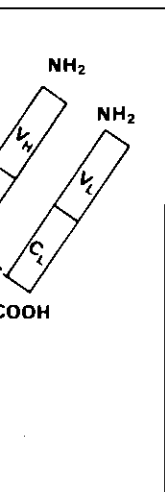
Elles...  
terminal...  
contient...  
pont dis...

## IgG

ment après une suite, sont des métriques, d'un tons, et appar- représente chez ées, environ 70 es circulantes portant 2 sites antigène. C'est qui a permis de ales essentielles oches distinctes on du modèle unoglobulines

man de 2 types ourdes ou H légères ou L molécule d'IgG es et 2 chaînes ont réunies par s liaisons non

la papaine qui de fragments : ding ») et le Fc blécule contient e, chaque frag- ns. Chacun des



des IgG.

fragments Fab comporte un site de combinaison pour l'antigène. Il est intéressant de noter que le fragment Fc fixe le complément, ce qui constitue la première preuve expérimentale que les fonctions de reconnaissance et les fonctions effectrices sont localisées sur des portions distinctes de la molécule;

— d'autres clivages enzymatiques classiques peuvent être facilement obtenus. Ainsi, la pepsine clive la molécule en dégradant partiellement le fragment Fc et en laissant subsister un dimère covalent de 110 000 daltons (Fab')<sub>2</sub>. La plasmine clive les chaînes lourdes au milieu du fragment Fc, laissant un fragment de 125 000 daltons dit Fab<sub>b</sub> (pour fragment « antigen and complement binding »).

### Les chaînes lourdes et les chaînes légères sont constituées chacune d'une région variable et d'une région constante

#### Chaînes légères

Les premières chaînes légères ont été séquencées en 1965 par Hilschmann et Craig. Il s'agissait de protéines de Bence-Jones, chaînes légères urinaires identifiées chez des malades atteints de myélome. Ces chaînes sont constituées de deux portions d'égale longueur, définissant une moitié NH<sub>2</sub>-terminale, variable (V), et une moitié COOH-terminale constante (C). Ces 2 régions sont construites selon le même plan d'ensemble constitué par un enchaînement d'environ 110 résidus d'acides aminés, renfermant un pont disulfure intracaténaire. La région V comporte 3 zones hypervariables et présente des séquences fortement variables d'une chaîne à l'autre. La région C est strictement invariante, sauf pour deux positions (chez l'homme), qui sont associées à l'expression de séries alléliques (facteurs Km). Il existe, en fait, 2 types de chaînes légères : les chaînes kappa et les chaînes lambda, toutes deux construites sur le même modèle général défini ci-dessus, mais différant profondément dans leurs séquences aussi bien dans les régions V que dans les régions C.

#### Chaînes lourdes

Elles comportent une région variable NH<sub>2</sub>-terminale et une région constante. La région V contient environ 115 résidus d'acides aminés et un pont disulfure intracaténaire. La région C, 3 fois

plus longue que celle des chaînes légères, renferme 3 éléments de 110 résidus d'acides aminés avec, pour chacun, un pont disulfure intracaténaire.

#### Ponts intercaténaux

Il existe un pont disulfure entre H et L et 2 à 5 ponts disulfures entre les chaînes H. Les ponts disulfures inter-HH sont situés dans une région dite « charnière », qui est directement intéressée par le clivage par la papaine. Dans des conditions de réduction ménagée, seuls ces ponts sont ouverts. Les chaînes restent associées par des liaisons non covalentes que l'on peut rompre en exposant le matériel réduit à des conditions dissociantes (pH acide, urée, guanidine, etc.).

#### Ponts intracaténaux

Les chaînes légères comportent 2 ponts intracaténaux, les chaînes lourdes en possèdent 4, chaque pont intéressant un segment d'environ 110 résidus d'acides aminés. La caractéristique de ces ponts est qu'ils sont donc disposés linéairement sur les 2 types de chaînes. Il existe toutefois quelques exceptions à cette disposition (par exemple sur une partie des chaînes kappa des immunoglobulines du lapin).

#### Architecture fine des régions variables

Les données relatives à la structure primaire des immunoglobulines se sont considérablement accrues au cours de ces dernières années. Cela tient d'une part au développement de la méthodologie des hybridomes et, d'autre part, à la puissance d'analyse qu'autorisent les méthodes d'étude de la séquence de l'ADN. Les tentatives d'explication de l'origine de la diversité ont pu ainsi être réexaminées en prenant en compte un nombre beaucoup plus élevé d'échantillons, par exemple grâce aux résultats obtenus pour les systèmes phosphoryl-choline (PC), dextrane (Dex), levane, arsanylate (Ars), nitro-iodo-phényl (NP), ou GAT (acide glutamique, alanine, tyrosine) pour ne citer que les principaux.

Les données de base, déjà définies en 1967 par C. Milstein, ont été confirmées, mais aussi considérablement précisées. Les régions variables sont construites selon le même schéma, qu'il s'agisse de chaînes légères (kappa ou lambda) ou des chaînes lourdes. On y distingue 2 types de positions selon que les résidus d'acides aminés sont relativement conservés ou, au contraire,

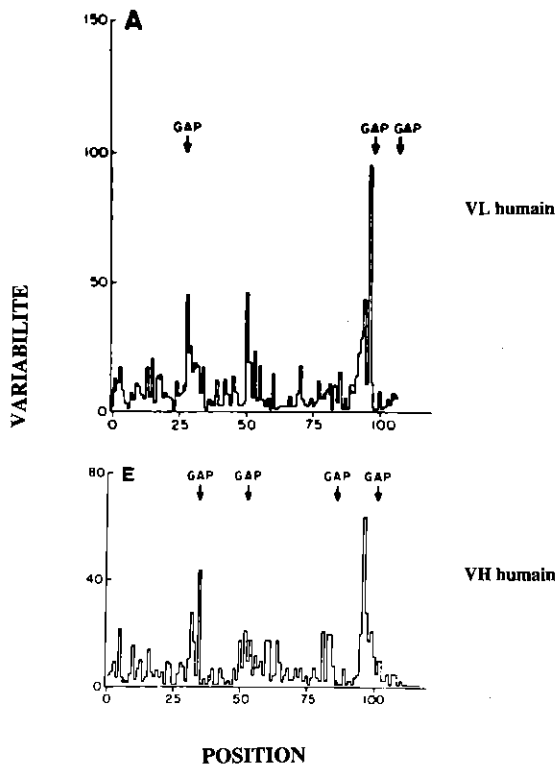


Figure 6-3 Représentation schématique de la variabilité, selon Kabat. GAP : régions où l'on peut identifier de courtes délétions.

fortement variables. Les positions fortement variables sont regroupées dans 3 sections, occupant des localisations sensiblement homologues pour les chaînes H et L, et que l'on appelle les « régions hypervariables », ou « régions déterminant la complémentarité » (CDR). Elles sont clairement perceptibles selon la représentation de Kabat et Wu (Fig. 6-3) qui exprime pour chaque position le rapport de variabilité  $v$ , tel que

$$v = \frac{\text{nombre d'acides aminés présents à une position donnée}}{\text{fréquence de l'acide aminé le plus représenté à cette position}}$$

Les régions hypervariables sont séparées par les régions de charpente (Framework) qui n'expriment qu'un bruit de fond de variabilité. Les régions de charpente permettent de classer les différentes régions V à l'intérieur de chaque catégorie  $V_{\kappa}$ ,  $V_{\lambda}$ , ou  $V_H$  en sous-groupes de

variabilité, de telle sorte que dans chacun des sous-groupes, les régions V ne diffèrent entre elles que par moins d'un certain pourcentage — arbitrairement fixé — de substitution d'acides aminés. La définition des sous-groupes apparaît donc très largement subjective, mais permet néanmoins de se faire une idée du nombre minimum de gènes présents dans la lignée germinale. Nous verrons plus loin que l'analyse directe de la structure et de l'organisation des gènes V sur les chromosomes confirme l'existence de familles de gènes homologues, recoupant la notion de sous-groupe.

## Hypothèse des domaines et structure tridimensionnelle des IgG

### Hypothèse des domaines

Le segment qui comprend environ 110 résidus d'acides aminés et un pont disulfure intracaténaire constitue une pseudo-unité à partir de laquelle la molécule est construite. La chaîne légère comporte 2 segments (1 V, 1 C), la chaîne lourde 4 (1 V, 3 C). Ces différents segments présentent une homologie qui dépasse la simple analogie signalée ci-dessus. Les comparaisons de séquences font ressortir des taux d'homologie interne qui atteignent 30 p. cent. Edelman devait suggérer, à la suite de la détermination de la séquence complète d'une IgG humaine, en 1969, que chaque région d'homologie avait été sélectionnée au cours de l'évolution pour une fonction particulière, les régions V pour la fonction de reconnaissance, les différents segments d'homologie des régions constantes pour différentes fonctions effectrices. Cela suppose que chaque région d'homologie possède sa propre structure tridimensionnelle (au niveau de laquelle s'exercent les pressions de sélection), indépendamment des autres (Fig. 6-4).

Cette conception est connue comme « l'hypothèse des domaines », particulièrement intéressante sur le plan de l'évolution. La courte région (une vingtaine d'acides aminés) qui réunit les fragments Fab et Fc échappe à l'organisation en domaines. Douée d'une certaine flexibilité, on la désigne sous le nom de « région charnière ». Il existe des arguments solides en faveur de l'hypothèse des domaines. Ainsi, le clivage chimique et enzymatique des chaînes polypeptidiques dans les zones interdomaines permet l'isolement des différents domaines. L'isolement du

Figure 6-4 tridimensionnelle

fragment F que en est être dissocié  $V_H$ . Il co l'antigène l'argument résultats de

### Approche

L'analyse fragments molécule confirme p

Figure 6-5 tique des do indiquent l' dits «  $\beta$ -plis

chacun des  
différent entre  
pourcentage —  
tion d'acides  
oupes apparaît  
mais permet  
du nombre  
dans la lignée  
que l'analyse  
organisation des  
l'existence  
recoupant la

es IgG

on 110 résidus  
intracaténaire  
de laquelle la  
chaîne légère  
la chaîne  
2 segments  
asse la simple  
comparaisons de  
d'homologie  
Edelman devait  
mination de la  
aine, en 1969,  
avait été sélec-  
r une fonction  
la fonction de  
ments d'hom-  
pour différentes  
se que chaque  
propre structure  
laquelle s'exer-  
dépendamment

ne comme  
articulièrement  
ion. La courte  
nés) qui réunit  
l'organisation  
flexibilité, on  
« charnière ». Il  
en faveur de  
si, le clivage  
es polypeptidi-  
permet l'isole-  
l'isolement du

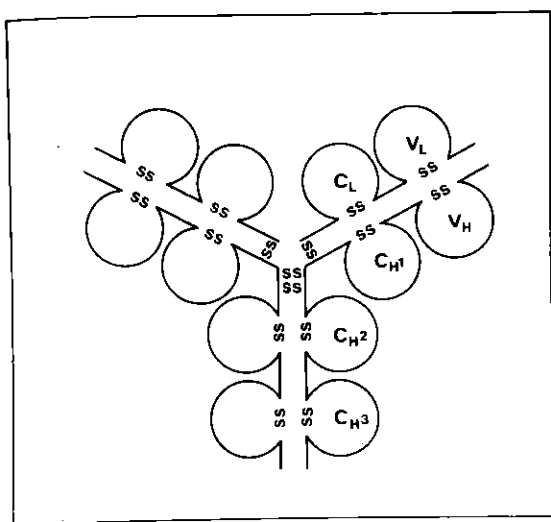


Figure 6-4 Organisation de la molécule d'IgG en domaines tridimensionnels.

fragment Fv (fraction variable) par clivage pepsique en est le meilleur exemple. Ce fragment peut être dissocié en ses 2 domaines constitutifs : V<sub>L</sub> et V<sub>H</sub>. Il contient un site de combinaison avec l'antigène qui a conservé son intégrité. Mais l'argument le plus définitif s'appuie sur les résultats des clichés de diffraction aux rayons X.

*Approche cristallographique*

L'analyse par diffraction aux rayons X de fragments Fab, de fragments F(ab')<sub>2</sub>, puis d'une molécule complète obtenue à l'état cristallisé, confirme pleinement le bien-fondé de l'hypothèse

des domaines. Les fragments Fab comportent 4 régions globulaires, 2 pour les chaînes légères et 2 pour la portion de chaîne lourde qui les constitue. Le fragment Fc apparaît comme composé également de 4 domaines. Les différents domaines ont une organisation semblable qui s'inscrit dans un parallélépipède de dimensions 4 × 2,5 × 2,5 nm. Chacun de ces domaines possède la même organisation spatiale générale (Fig. 6-5). On y distingue clairement 7 segments sensiblement linéaires de structure antiparallèle β plissée qui est une structure secondaire rigide classique des protéines, ces segments étant réunis les uns aux autres par des boucles, des hélices et d'autres structures de longueurs variables. L'ensemble des segments linéaires antiparallèles est organisé sensiblement suivant 2 plans parallèles liés entre eux par un pont disulfure intracaténaire, qui dans ces conditions apparaît inaccessible aux réactifs, ce qui explique qu'il n'est pas touché dans les conditions de réduction ménagée. Les domaines variables possèdent une boucle supplémentaire par rapport aux domaines constants, cette boucle étant, avec d'autres, partie intégrante du site actif. La taille du site actif paraît essentiellement variable selon les molécules étudiées. Il peut apparaître comme une rainure assez superficielle (dimensions 1,6 × 0,7 × 0,6 nm) ou bien comme une cavité beaucoup plus grande (2 × 1,5 × 1,2 nm), ces dimensions étant à rapprocher d'expériences beaucoup plus anciennes de Kabat qui avait montré que l'interaction entre le dextrane et un anti-dextrane pouvait être inhibée totalement par l'isomaltose, épitope du dextrane, dont la taille est de 3,4 × 1,2 × 0,7 nm.

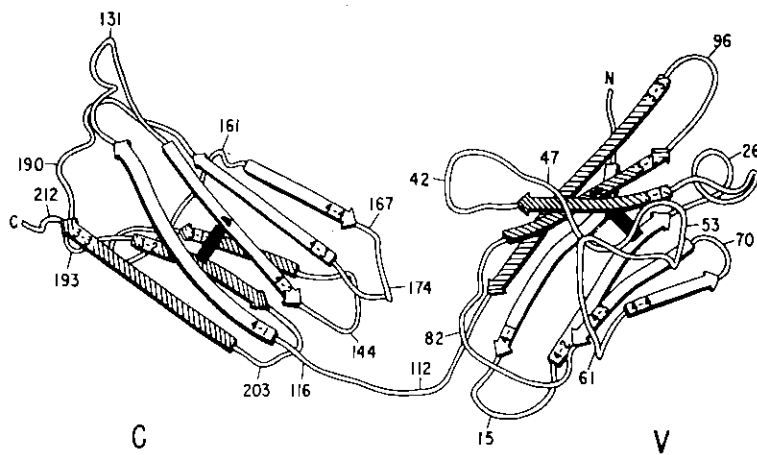


Figure 6-5 Le repliement schématisé des domaines V et C. Les flèches indiquent l'organisation en feuillets dits « β-plissés ».

Le message le plus important concernant le site de combinaison, sur le plan structural, reste néanmoins la très grande diversité de conformation selon les systèmes analysés. La notion simpliste, assimilant un épitope à une proéminence et le site de combinaison de l'anticorps à une cavité, a volé en éclat après la publication par le groupe de Pljak de la première structure cocristalline d'un complexe lysozyme-Fab antilysozyme qui montre clairement que l'antigène et l'anticorps interagissent par de nombreux atomes impliquant de part et d'autre une dizaine d'acides aminés, regroupés dans une interface étendue et relativement plane.

L'analyse cristallographique d'un tel complexe confirme en outre que les régions hypervariables des chaînes H et des chaînes L participent directement, comme on pouvait s'y attendre, à l'interaction avec l'antigène. Cette observation comporte une conséquence génétique fondamentale puisque l'on peut envisager une combinaison aléatoire de  $n$  chaînes H et de  $n$  chaînes L conduisant à la synthèse de  $n^2$  anticorps. Cela représente par conséquent une économie fantastique du nombre de gènes nécessaires pour produire le répertoire potentiel dont il a été question dans l'introduction à ce chapitre. Nous y reviendrons un peu plus loin lors de l'étude des gènes codant pour les immunoglobulines.

## CLASSES D'IMMUNOGLOBULINES

### Réponse primaire, réponse secondaire et commutation

On connaît depuis longtemps les caractéristiques moléculaires des réponses primaires et secondaires. Lors de la première injection d'un antigène X (on se placera dans le cas général d'un système T-dépendant), les anticorps apparaissent au bout de quelques jours, passent par un plateau de concentration, puis diminuent jusqu'à retomber quasiment au niveau du bruit de fond. On peut montrer que les anticorps formés dans les tout premiers jours sont différents des IgG précédemment décrites. Il s'agit de grosses molécules, dont le poids moléculaire approche 1 million de daltons, ce sont des IgM. On dit que les IgM et les IgG constituent des classes différentes d'immunoglobulines. Au fur et à mesure que l'état d'immunisation se développe, les IgM anti-X sont remplacées par des IgG, également anti-X. Cette

observation est importante car cette commutation (ou « Switch ») moléculaire se fait à l'intérieur d'une même cellule B. Ainsi, la spécificité n'a pas changé, en accord avec la théorie clonale, mais la classe, déterminée par la portion constante des chaînes lourdes est devenue d'une autre nature. Il y a eu réarrangement moléculaire, au niveau de l'ADN, selon des modalités qui seront précisées ultérieurement.

La réponse secondaire, qui se produit lors d'une injection ultérieure de l'antigène, se traduit par une synthèse rapide et élevée d'IgG. Ces différents aspects de la réponse anticorps nous conduiront à retenir :

— qu'en réponse primaire, les IgM sont synthétisées en premier lieu;

— qu'elles sont généralement remplacées rapidement au sein de la même cellule par des IgG de même spécificité, ce qui constitue le phénomène de commutation;

— que la réponse secondaire, à prédominance IgG, se produit très rapidement, ce qui implique l'existence de cellules ayant conservé le souvenir d'une première stimulation. C'est le phénomène de mémoire immunologique.

Commutation et mémoire sont deux éléments importants de la physiologie du système immunitaire qui seront évoqués en détail ultérieurement.

### Caractéristiques physicochimiques des classes ou isotopes d'immunoglobulines

Les principales caractéristiques des classes d'immunoglobulines sont rassemblées dans le tableau 6-1. Il existe chez les mammifères 5 classes d'immunoglobulines : les IgG — déjà longuement décrites —, les IgM, les IgA, les IgD et les IgE qui comportent toutes une structure de base H<sub>2</sub>L<sub>2</sub>, avec des chaînes H distinctes de chaque classe et appelées respectivement  $\gamma$ ,  $\mu$ ,  $\alpha$ ,  $\delta$  et  $\epsilon$ .

#### Les IgM

D'un poids moléculaire d'environ 870 000 daltons, ces Ig comportent des chaînes  $\mu$  à 4 domaines constants, le second domaine occupant la position homologue de la « région charnière » des IgG. La structure de base  $\mu$ 2L<sub>2</sub> est polymérisée sous forme de pentamère auquel s'adjoit une chaîne J, de poids moléculaire 15 000, riche en cystéyls et qui semble produire un « agrafage » de deux chaînes  $\mu$  adjacentes (Fig. 6-6). Elle

Formule mo  
Polymérisati  
Sous-classes

Nombre de  
Poids molécul  
Teneur en s

pourrait j  
du pontag  
A noter  
pentamère  
atteignant  
dériver de  
molécule  
combinais  
IgM sont  
des chaîn  
poids mo





Tableau 6-1 Principales caractéristiques physico-chimiques des classes d'immunoglobulines humaines.

Propriétés	IgG	IgA	IgM	IgD	IgE
Formule moléculaire de base	$\gamma 2\kappa 2$ ou $\gamma 2\lambda 2$	$\alpha 2\kappa 2$ ou $\alpha 2\lambda 2$	$\mu 2\kappa 2$ ou $\mu 2\lambda 2$	$\delta 2\kappa 2$ ou $\delta 2\lambda 2$	$\epsilon 2\kappa 2$ ou $\epsilon 2\lambda 2$
Polymérisation	Non	( $\alpha 2L 2$ ) <sub>2</sub> , J, SC	( $\mu 2L 2$ ) <sub>5</sub> , J	Non	Non
Sous-classes	IgG1, IgG2, IgG3, IgG4	IgA1, IgA2	Non	Non	Non
Nombre de domaines C <sub>H</sub>	3	3	4	3	4
Poids moléculaire	150 000	160 000	870 000	175 000	190 000
Teneur en sucres (p. cent)	3	7	10	9	13

pourrait jouer un rôle essentiel dans la cinétique du pontage S-S des différentes sous-unités  $\mu 2L 2$ . A noter qu'il existe une seule chaîne J par pentamère, le poids moléculaire de l'ensemble atteignant 870 000 daltons. Il est possible de dériver des fragments Fab (10) et Fc (5) de cette molécule qui comporte 10 sites potentiels de combinaison pour l'antigène. Notons enfin que les IgM sont riches en sucres implantés en 5 positions des chaînes lourdes et représentant 10 p. cent du poids moléculaire total.

Les IgA

Ces molécules sont constituées à partir du protomère de base ( $\alpha 2L 2$ ). Les chaînes  $\alpha$  comportent 3 domaines constants. Ce protomère existe souvent sous forme de dimère covalent, stabilisé par une chaîne J, analogue à celle des IgM. Ces molécules associées à des composants sécrétoires, deviennent des IgA sécrétoires (sIgA), qui se retrouvent essentiellement dans les sécrétions (voir Fig. 6-6).

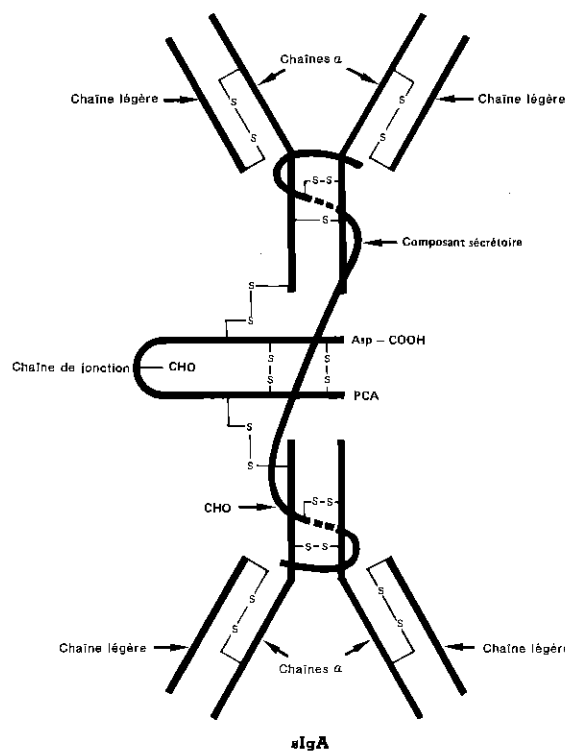
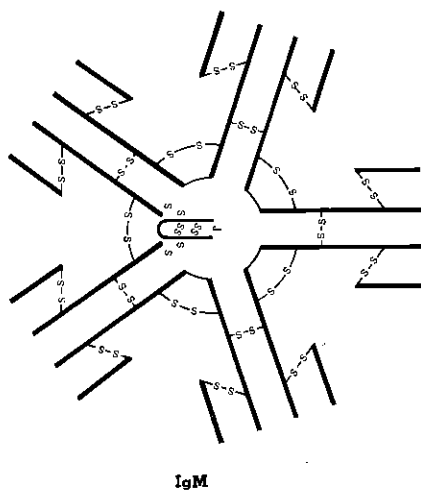


Figure 6-6 Structure schématique des IgM pentamériques et des IgA sécrétoires.

### Les IgD

Représentant une fraction infime des Ig, les IgD, de formule  $\delta 2L2$ , sont essentiellement membranaires, ancrées dans la membrane plasmique du lymphocyte B. Leur rôle reste toujours mystérieux. Elles sont le plus souvent coexprimées dans les lymphocytes B matures avec les IgM, dont elles partagent les mêmes régions variables  $V_H$  et  $V_L$ , ne constituant ainsi pas d'entorse à la théorie clonale. Les chaînes  $\delta$  contiennent 2 domaines constants et une grande région charnière chez le rat et la souris; elles contiennent 3 domaines constants chez l'homme.

### Les IgE

Alors que les concentrations des 3 principales classes d'Ig circulantes, IgG, IgM et IgA s'expriment en mg/ml, celle des IgE, chez un individu normal, est de l'ordre de quelques dizaines ou centaines de ng par ml. Les molécules, monomériques et de formule  $\epsilon 2L2$  contiennent une chaîne  $\epsilon$  constituée de 4 domaines constants. Ces molécules régissent les phénomènes d'anaphylaxie ou des manifestations de l'hypersensibilité immédiate (rhume des foins, urticaire, intolérances violentes diverses...). La pharmacologie de ces phénomènes sera exposée en détail dans le chapitre 29.

## ORGANISATION DES GÈNES CODANT POUR LES IMMUNOGLOBULINES ET ORIGINE DE LA DIVERSITÉ

### DIVERSITÉ DE RECONNAISSANCE ET FONCTIONS EFFECTRICES

Comme nous l'avons expliqué au début de ce chapitre, une molécule d'immunoglobuline exerce deux types de fonctions :

— une fonction de reconnaissance, dont la base structurale repose sur l'existence de régions variables  $V_H$  et  $V_L$  associées dans le site de combinaison (site anticorps) au sein du fragment  $F_v$ ;

— diverses fonctions dites effectrices qui s'appuient sur la multiplicité des domaines constants et des classes d'immunoglobulines. La

plupart de ces fonctions sont dévolues à des domaines du fragment  $F_c$ .

Le paradoxe génétique qui est posé par cette dualité fonctionnelle (reconnaissance - fonctions effectrices) s'appuyant sur une diversité structurale (régions V - régions C) est la nécessité de disposer d'un grand nombre de régions variables pour faire face à la diversité des épitopes, alors qu'un petit nombre de régions constantes, limité en fait aux divers isotypes H et L a été identifié. Pour le généticien le paradoxe s'exprime ainsi : une chaîne d'immunoglobuline est codée par deux ensembles de gènes distincts, les uns nombreux, codant pour les régions V, les autres peu nombreux, codant pour les régions C. Il importe de connaître le nombre de gènes dans chaque catégorie, leur organisation sur les chromosomes et enfin, de savoir comment ils se joignent pour former une chaîne fonctionnelle. Il faut ajouter à cela, le problème posé par l'existence du phénomène de commutation qui implique qu'un même gène  $V_H$  peut être associé successivement à divers gènes  $C_H$  (exemple : transition d'IgM en IgG).

Il a été établi que les immunoglobulines sont effectivement codées par un grand nombre de gènes V et un petit nombre de gènes C qui sont groupés en trois systèmes de translocation, à savoir  $V_H-C_H$ ,  $V_K-C_K$ ,  $V_\lambda-C_\lambda$ . Ces trois ensembles sont portés par des chromosomes distincts, respectivement 12, 6 et 16 chez la souris; 6, 4 et 11 chez le rat; 14, 2 et 22 chez l'homme.

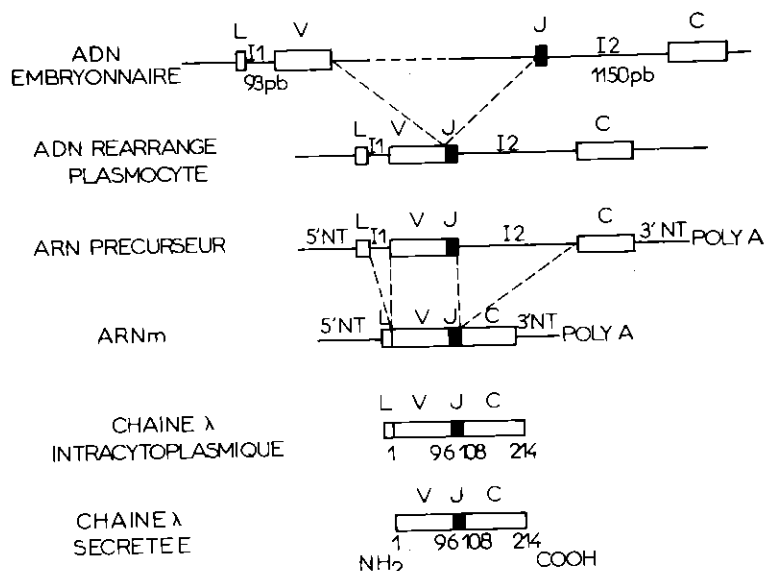
### ORGANISATION DES GÈNES CODANT POUR LES CHAÎNES LÉGÈRES

#### Système lambda

Tonegawa a identifié, en 1978, deux fragments de restriction d'ADN embryonnaire de souris, hybridant, l'un avec une sonde  $V_\lambda$ , l'autre avec une sonde  $C_\lambda$ . Les gènes  $V_\lambda$  et  $C_\lambda$  sont donc séparés sur l'ADN germinale. On identifie en outre un segment L en 5' de V qui code pour une extrémité  $NH_2$  hydrophobe, qui sera clivée par une protéase après sa synthèse sur le polysome. Sur l'ADN du plasmocytome correspondant, les deux gènes V et C se trouvent tous deux sur un même fragment de restriction, au sein duquel ils sont rapprochés sans toutefois être contigus. L'analyse moléculaire a permis d'identifier un court segment situé à 1,2 kilobase (kb) en 5' de

Figure 6-7  
conduisant de  
des gènes co  
légère à la  
polypeptidiqu  
immunoglobul  
(éléments de l  
traduits en pr

C, et dont l  
région varia  
de jonction  
inattendu au  
en acides a  
sépare J de  
rangé » du  
un intron pa  
qui sont trac  
donc les élé  
— l'infor  
d'une chaîn  
séparés par  
— l'enser  
J-C sur l'AD  
— l'ADN  
aboutir à la c  
sion dans le  
— deux i  
rangé, l'un e  
— le mes  
— la chaî  
précurseur co  
segment préc  
est excisé a  
précise, le g  
-20 à -5, V  
J couvre le  
chaîne;  
— le rapp  
de signaux d



**Figure 6-7** Etapes moléculaires conduisant de l'organisation germinale des gènes codant pour une chaîne légère à la synthèse de la chaîne polypeptidique présente dans une immunoglobuline. I1 et I2 : introns (éléments de l'ADN qui ne seront pas traduits en protéine).

C, et dont la séquence correspond à la fin de la région variable de la chaîne lambda. Ce segment de jonction ou gène J est donc un élément inattendu au seul vu de l'analyse de la séquence en acides aminés. Le segment de 1,2 kb qui sépare J de C est maintenu dans l'ADN « réarrangé » du plasmocyte. Non traduit, il constitue un intron par opposition aux exons (L, V, J, C) qui sont traduits en protéine. Cette étude indique donc les éléments suivants (Fig. 6-7) :

- l'information qui conduit à la synthèse d'une chaîne lambda est morcelée en exons séparés par des introns;
- l'ensemble L-V est éloigné de l'ensemble J-C sur l'ADN germinale;
- l'ADN doit subir un réarrangement pour aboutir à la configuration qui autorise son expression dans le plasmocyte;
- deux introns subsistent dans l'ADN réarrangé, l'un entre L et V, l'autre entre J et C;
- le message a perdu les introns;
- la chaîne est synthétisée sous forme d'un précurseur codé par L et le début du gène V. Le segment précurseur NH<sub>2</sub> terminal supplémentaire est excisé avant la sécrétion. De façon plus précise, le gène L code pour les acides aminés -20 à -5, V correspondant au segment -4 à 95, J couvre le segment 96-108, et C la fin de la chaîne;
- le rapprochement V-J nécessite l'existence de signaux de reconnaissance (voir plus loin);

— l'élimination des introns se produit sur un précurseur de l'ARNm, par épissage, ce qui implique également l'existence de signaux particuliers de reconnaissance.

Il a été montré ultérieurement que, chez la souris, il existe deux systèmes de translocation distincts, un ensemble V<sub>λ</sub>1-J<sub>3</sub>C<sub>3</sub>J<sub>1</sub>C<sub>1</sub> et un ensemble V<sub>λ</sub>2-J<sub>2</sub>C<sub>2</sub>J<sub>4</sub>C<sub>4</sub>, tous deux situés sur le chromosome 16.

Chez l'homme, Leder a rapporté l'existence d'au moins 6 gènes apparentés à C<sub>λ</sub>. Quatre correspondent aux isotopes décrits, et 2 sont des pseudo-gènes.

### Système kappa

Une situation analogue a été rapportée pour le système kappa murin par Tonegawa et Leder. Un seul gène C<sub>k</sub> a été identifié. Il est précédé en 5' par 5 gènes J. Ces 5 gènes, espacés les uns des autres par environ 300 paires de bases sont numérotés de 1 à 5, le 3<sup>e</sup> semblant être un pseudo-gène. Il existe 4 J<sub>k</sub> chez l'homme. Selon le gène J<sub>k</sub> qui vient se placer au contact d'un gène V<sub>k</sub>, l'ADN réarrangé du plasmocyte peut présenter diverses structures dont un exemple est représenté à la figure 6-8. Ici encore, la nécessité d'éliminer par épissage les segments non traduits s'impose. La correspondance entre les différents segments L, V, J, C et les acides aminés de la

### CODANT

deux fragments de souris, l'autre avec C<sub>λ</sub> sont donc identifiées en outre code pour une sera clivée par le polysome. correspondant, les deux sur un sein duquel ils être contigus. l'identifier un (kb) en 5' de

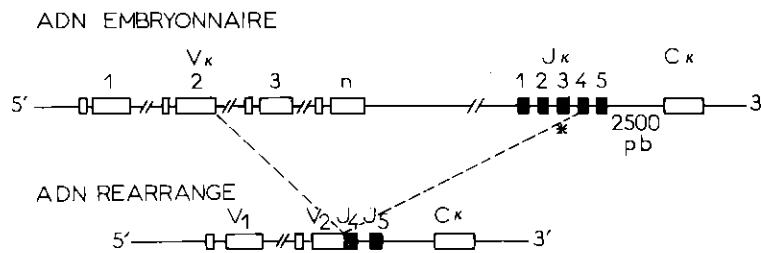


Figure 6-8 Un exemple de réarrangement des exons codant pour la chaîne légère kappa de la souris.

chaîne protéique est identique à ce qui a été décrit pour les chaînes kappa.

**Mécanismes possibles des réarrangements V-J-C**

Les signaux de reconnaissance sur l'ADN sont classiquement construits selon les schémas de

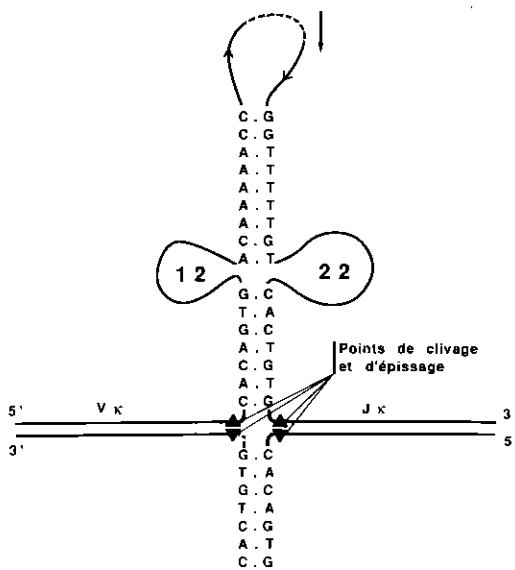
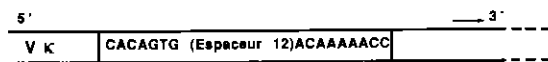


Figure 6-9 Les signaux de réarrangement permettent le rapprochement de l'extrémité 3' d'une région V de l'extrémité 5' d'une région J. On notera que ces signaux peuvent se lire dans les sens CACAGTG ou GTGTCAC d'où leur nom de « pseudo-palindromiques » qui constitue la base même de l'appariement de ces segments, reposant sur la complémentarité (A-T; C-G) des bases dans l'ADN.

complémentarité antiparallèle, éventuellement palindromiques ou pseudo-palindromiques (Fig. 6-9). L'analyse de la séquence nucléotidique fait apparaître de telles structures complémentaires en 3' de V et en 5' de J. Cela est vrai pour les 2 systèmes kappa et lambda. Les signaux de reconnaissance comportent un heptamère et un nonamère séparés par un segment (espaceur) de 12 ou de 22 nucléotides. La façon dont ces signaux peuvent permettre un rapprochement des gènes V et J est illustrée à la figure 6-9 pour le système kappa. On voit que l'espaceur en 3' de Vκ comporte 12 nucléotides, alors que celui en 5' de Jκ en comporte 22. Cette opposition existe également pour le système lambda, mais les situations sont inversées : c'est l'espaceur de Vλ qui contient 22 nucléotides, celui de Jλ en comportant 12. Cette opposition pourrait donc être la règle et refléter un mécanisme particulier dans la mise en place des appariements. Il est à noter que 12 nucléotides correspondent à 1 tour de la double hélice de l'ADN. L'ensemble des opérations que nécessitent le rapprochement des différents segments de l'ADN, le clivage des brins, leur ligation... impliquent un ensemble complexe d'enzymes qui sont actuellement en cours d'isolement et d'analyse.

**ORGANISATION DES GÈNES CODANT POUR LES CHAÎNES LOURDES**

**Réarrangements V-D-J-C**

La séquence de l'ADN génomique renfermant les segments codant pour la région constante de la chaîne γ chez la souris a été obtenue en 1979 et séquencée par le groupe de Honjo. Les 4 gènes J<sub>H</sub> sont situés en 5' des exons C. Ils sont donc utilisés, quelle que soit la classe exprimée, ce choix intervenant secondairement, à la faveur du

mécanism  
évoqué. L  
permis de  
taires att  
heptamère  
ensemble  
(pour « d  
et les exo  
rablement  
gènes D  
par la na  
longueur.  
diversité  
l'essenti  
chaînes lo  
Des se  
groupes de  
Tonegawa  
structure  
l'essenti  
flanqués  
construite  
nonamère  
centrale  
nonamère  
réarrange  
prenant en  
ailleurs, il  
totalité de  
chaînes H  
notera que  
lorsqu'elle  
ou exon. L  
introns de  
paires de



Figure 6-10 souris.

mécanisme de commutation précédemment évoqué. La séquence de la région des gènes  $J_H$  a permis de montrer que les régions complémentaires attendues, de type nonamère (espaceur) heptamère étaient effectivement trouvées. Un ensemble de gènes supplémentaires, appelés D (pour « diversité ») s'intercale entre les exons V et les exons J, ce qui permet d'accroître considérablement la variabilité des chaînes lourdes. Ces gènes D sont extraordinairement variables, tant par la nature de leur séquence que par leur longueur. Ils constituent une cause majeure de la diversité des immunoglobulines, et codent pour l'essentiel de la 3<sup>e</sup> région hypervariable des chaînes lourdes.

Des segments génomiques contenant des groupes de gènes D ont été isolés et séquencés par Tonegawa, en 1982. Ils sont constitués par une structure centrale oligonucléotidique, qui assure l'essentiel du codage de la région D et sont flanqués de deux régions de signalisation construites sur le modèle attendu, à savoir : 5' - nonamère (espaceur 12) heptamère - structure centrale codante - heptamère (espaceur 12) nonamère - 3'. On voit que le schéma de réarrangement s'organise de façon cohérente, en prenant en compte l'ensemble des données. Par ailleurs, il existe 8 gènes  $C_H$  chez la souris et la totalité des gènes gouvernant la synthèse des chaînes H est rassemblée sur la figure 6-10. On notera que chaque domaine (et la région charnière lorsqu'elle existe) est codé par un segment distinct ou exon. Les différents exons sont séparés par des introns dont la longueur varie entre 100 et 300 paires de nucléotides. La même organisation

générale a été retrouvée pour toutes les régions  $C_H$  étudiées.

En plus des exons correspondant à la structure polypeptidique, chaque ensemble de gènes  $C_H$  comporte, en 3', des petits exons supplémentaires qui codent vraisemblablement pour une queue hydrophobe COOH-terminale qui correspondrait à autant de formes membranaires des différentes immunoglobulines.

Les 8 ensembles d'exons attendus, compte tenu de l'existence des 8 isotypes  $C_H$  chez la souris, ont été isolés, identifiés et partiellement séquencés, essentiellement par l'équipe de Honjo. Chaque groupe est séparé du suivant par plusieurs milliers de paires de bases. L'ensemble couvre plus de 200 kb, et comporte l'ordre suivant :  $C_\mu$ ,  $C_\delta$ ,  $C_\gamma 3$ ,  $C_\gamma 1$ ,  $C_\gamma 2b$ ,  $C_\gamma 2a$ ,  $C_\epsilon$  et  $C_\alpha$ . Il n'existe donc qu'un seul groupe d'exons par isotype. Dans les autres espèces étudiées, l'ordre des exons est plus ou moins le même. Chez le rat,  $C_\mu$ ,  $C_\delta$ ,  $C_\gamma 2c$  et  $C_\gamma 2a$  (dans cet ordre ou en sens inverse),  $C_\gamma 1$ ,  $C_\gamma 2b$ ,  $C_\epsilon$ ,  $C_\alpha$ , l'ordre général des isotypes est respecté. Chez l'homme,  $C_\mu$ ,  $C_\delta$ ,  $C_\gamma 3$ ,  $C_\gamma 1$ ,  $C_\epsilon 2$ ,  $C_\alpha 1$ ,  $C_\gamma 2$ ,  $C_\gamma 4$ ,  $C_\epsilon 1$ ,  $C_\alpha 2$ , il y a une duplication du segment des gènes des chaînes constantes  $\gamma$ ,  $\epsilon$  et  $\alpha$ , le gène  $C_\epsilon 2$  étant un pseudo-gène et les gènes  $C_\alpha 1$  et  $C_\alpha 2$  codant pour les deux sous-classes d'IgA humaines.

### Signaux de commutation

La possibilité d'associer une même région  $V_H$  à différentes régions  $C_H$  implique l'existence d'un signal de reconnaissance entre les différents ensembles d'exons  $C_H$ . Le groupe de Honjo a déterminé la séquence de plusieurs régions non codantes situées entre ces différents ensembles. Une structure pseudo-répétitive de plusieurs centaines de nucléotides, organisée à partir d'une pseudo-unité de 49 bases a été identifiée entre les groupes d'exons des différentes classes. Ces régions S peuvent être le support d'événements de recombinaison entre les différentes classes et sont donc d'excellents candidats à la fonction de commutation qui pourrait s'effectuer, soit par formation d'une boucle de délétion, soit par recombinaison impliquant l'échange de chromatides. Il n'existe pas de signal de commutation entre les chaînes  $\mu$  et  $\delta$ , l'expression simultanée ou séquentielle des 2 classes correspondantes pouvant résulter d'une épissure différentielle.

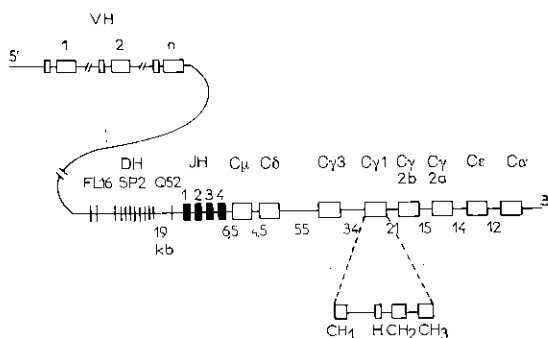


Figure 6-10 Organisation des gènes du locus H chez la souris.

CODANT  
ES

e renfermant  
nstante de la  
e en 1979 et  
es 4 gènes  $J_H$   
s sont donc  
exprimée, ce  
la faveur du

## DIFFÉRENTES RÉPONSES À L'ORIGINE DE LA DIVERSITÉ DES ANTICORPS

### Dégénérescence de la reconnaissance

Comme il a été dit au début de ce chapitre, la reconnaissance immunitaire doit être considérée comme dégénérée, en ce sens qu'un même épitope peut être reconnu par des anticorps différents et, à l'inverse, un même anticorps peut se fixer à de nombreux épitopes distincts. C'est donc là un premier moyen de faire une économie du répertoire et donc du nombre de gènes nécessaire à son élaboration.

### Contribution de la lignée germinale à la diversité : combinatoire par réarrangements géniques

Pour le généticien c'est là le problème majeur : combien de gènes sont-ils nécessaires au codage des immunoglobulines représentant l'ensemble du répertoire potentiel ? La réponse dépend de l'espèce animale étudiée, mais seuls les systèmes des gènes des Ig humaines et surtout de la souris commencent à être cernés avec une certaine précision, bien qu'il s'agisse encore d'estimations.

Chez la souris, en oubliant délibérément les chaînes lambda qui possèdent peu de gènes variables, le bilan de la diversité résultant du réarrangement peut être estimé selon le schéma suivant :

$$\begin{array}{l} V_{\kappa} 100 \text{ à } 300 \text{ gènes} \\ J_{\kappa} 4 \text{ gènes} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} V_{\kappa} 100 \text{ à } 300 \text{ gènes} \\ J_{\kappa} 4 \text{ gènes} \end{array}} \right\} \begin{array}{l} \text{soit } 300 \times 4 = \\ 1\ 200 \text{ chaînes possibles} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} V_H 100 \text{ à } 300 \text{ gènes} \\ D > 12 \text{ gènes} \\ J_H 4 \text{ gènes} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} V_H 100 \text{ à } 300 \text{ gènes} \\ D > 12 \text{ gènes} \\ J_H 4 \text{ gènes} \end{array}} \right\} \begin{array}{l} \text{soit } 300 \times 12 \times 4 = \\ 14\ 400 \text{ chaînes H} \\ \text{possibles} \end{array}$$

Avec seulement quelques centaines de gènes, sans doute moins d'un millier, on peut donc, par le jeu des réarrangements aléatoires fabriquer plus de 1 000 chaînes légères et peut-être plus de 15 000 chaînes lourdes différentes.

### Combinatoire H × L

Ainsi qu'il est clairement démontré par les études cristallographiques, les deux chaînes participent au site de combinaison de l'anticorps pour

l'antigène. Si l'on considère que cette association peut se faire au hasard — ce qui n'est peut-être pas entièrement vrai — on voit aisément qu'à partir des nombres estimés ci-dessus on arrive facilement à :  $1\ 200 L \times 15\ 000 H = 1,8 \times 10^7$  molécules d'anticorps distincts. Si l'on se souvient de l'estimation du nombre de clones B différents ( $10^8$ ), on voit que par le seul jeu des réarrangements géniques et des associations  $H \times L$  on arrive pratiquement à la même valeur, ce qui conduirait à supposer que la totalité de la diversité est entièrement inscrite dans la lignée germinale.

### Autres sources de diversité

L'analyse des systèmes de réarrangements et la comparaison du répertoire exprimé au répertoire génétique potentiel montrent qu'en réalité l'estimation ci-dessus peut être largement amplifiée de plusieurs ordres de grandeur (c'est-à-dire au moins 1 000 fois plus). Il existe plusieurs causes connues à cette amplification de la diversité :

— la diversité « jonctionnelle » qui résulte d'une certaine imprécision de la jonction des différents segments géniques ( $V_H-D_H-J_H$  et  $V_L-J_L$ ), ce qui permet d'obtenir à chaque point de jonction 3 types de codons, selon que le réarrangement s'est effectué après le 1<sup>er</sup>, le 2<sup>e</sup> ou le 3<sup>e</sup> nucléotide du triplet considéré, ce qui entraîne bien entendu la traduction d'acides aminés différents;

— la diversité « N », observée essentiellement lors des réarrangements  $V_H-D_H$  et qui se traduit par l'addition de nucléotides dans le génome, mais introduits aléatoirement par l'action d'une enzyme appelée terminale transférase ou TdT. Le nombre de nucléotides ainsi ajoutés peut atteindre plusieurs unités;

— l'apparition de mutations somatiques, qui survient avec une fréquence non négligeable lors de la division des lymphocytes B et qui affecte particulièrement — mais pas exclusivement — les régions hypervariables des deux chaînes H et L. Les clones exprimant des anticorps résultant d'une ou plusieurs mutations somatiques peuvent être sélectionnés positivement par l'antigène, en fonction d'une meilleure affinité. Certains de ces clones pourraient constituer les cellules à mémoire, bien « adaptées » à la reconnaissance d'un épitope particulier et donc capables de se mobiliser très rapidement et efficacement lors d'une réponse secondaire.

En conclusion de ces lignes consacrées à

l'origine de  
le système  
lisé dans l'e  
mais que le  
elles-mêmes

ÉLÉMENT  
DU RÉAR  
ET DE L'E  
GÈNES D

### Exclusion

La théorie  
taire, propos  
exprime un  
Traduit en  
qu'un lymph  
de régions Y  
d'un site d  
cellules défi  
même antico  
maturation d  
changer par  
 $V_H-D_H$  sur  
commutation  
IgM-IgG tel  
tique sur la  
conditions, la  
changé. Seul  
dantes des

Figure 6-11 Réar  
nements de réarran  
à la synthèse de c  
tionnelles dans un  
IgM ou IgG. On  
régions variables  
d'une classe à l'au  
en accord avec le  
théorie clonale.

ette association n'est peut-être aisément qu'à sus on arrive =  $1,8 \times 10^7$  l'on se sou- de clones B e seul jeu des associations même valeur, a totalité de la dans la lignée

l'origine de la diversité on serait tenté de dire que le système immunitaire est non seulement spécialisé dans l'expression d'un répertoire considérable mais que les sources mêmes de la diversité sont elles-mêmes très... diverses.

**ÉLÉMENTS DE RÉGULATION DU RÉARRANGEMENT ET DE L'EXPRESSION DES GÈNES D'IMMUNOGLOBULINES**

**Exclusion allélique et théorie clonale**

La théorie clonale, pivot du système immunitaire, propose que chaque clone de lymphocytes B exprime un anticorps de spécificité déterminée. Traduit en langage moléculaire, cela signifie qu'un lymphocyte B exprime un ensemble unique de régions  $V_H-V_L$  participant à la construction d'un site de combinaison précis. Toutes les cellules définissant ce clone vont synthétiser le même anticorps, à la nuance près que, lors de la maturation de la réponse immune, l'isotype pourra changer par commutation d'un même ensemble  $V_H-D-J_H$  sur un gène  $C_H$  d'une autre classe. La commutation la plus classique est le passage IgM-IgG tel qu'il est représenté de façon synthétique sur la figure 6-11. On voit que, dans ces conditions, la spécificité de l'anticorps n'a pas changé. Seules les fonctions effectrices, dépendantes des isotypes H, seront modifiées. La

commutation ne transgresse donc pas les propositions de la théorie clonale qui ne concerne que la spécificité de reconnaissance.

On peut dès lors se demander pourquoi un lymphocyte B qui est une cellule diploïde classique ne produit pas plusieurs immunoglobulines comme on serait en droit de l'attendre si les deux chromosomes de chaque système de translocation H, kappa ou lambda, réarrangeaient leurs gènes (V-D-J et V-J). On sait depuis les travaux sur l'allotypie que tout se passe comme si le lymphocyte B n'exprimait qu'un seul des deux allèles potentiels présents à chaque locus H, kappa ou lambda. Ce phénomène est connu sous le nom d'exclusion allélique ou d'haploïdie fonctionnelle. Les données récentes de la biologie moléculaire permettent de comprendre en termes simples les bases génétiques de ce phénomène.

**Le réarrangement des gènes Ig est programmé**

On a pu montrer à l'aide de lignées B malignes chez l'homme, et de lignées B transformées à un stade précis de différenciation par le virus d'Abelson chez la souris que les divers réarrangements géniques conduisant à la formation d'un gène Ig fonctionnel suivaient une séquence très précise, ainsi qu'il est résumé sur la figure 6-12. On part d'une situation précoce de différenciation B (cellule pré-pré-B) pour laquelle les 3 ensembles de gènes H,  $\kappa$  et  $\lambda$  sont dans leur configuration germinale. C'est au cours de la

ngements et la au répertoire réalité l'estit amplifiée de est-à-dire au usieurs causes a diversité : » qui résulte jonction des  $D_H-J_H$  et  $V_L$  chaque point de que le réarran- le 2° ou le 3° e qui entraîne aminés diffé-

essentiellement qui se traduit s le génome, l'action d'une se ou TdT. Le peut atteindre

matiques, qui égligeable lors et qui affecte ivement - les chaînes H et L. résultant d'une peuvent être gène, en fonc- certains de ces s cellules à reconnaissance apables de se cacement lors

consacrées à

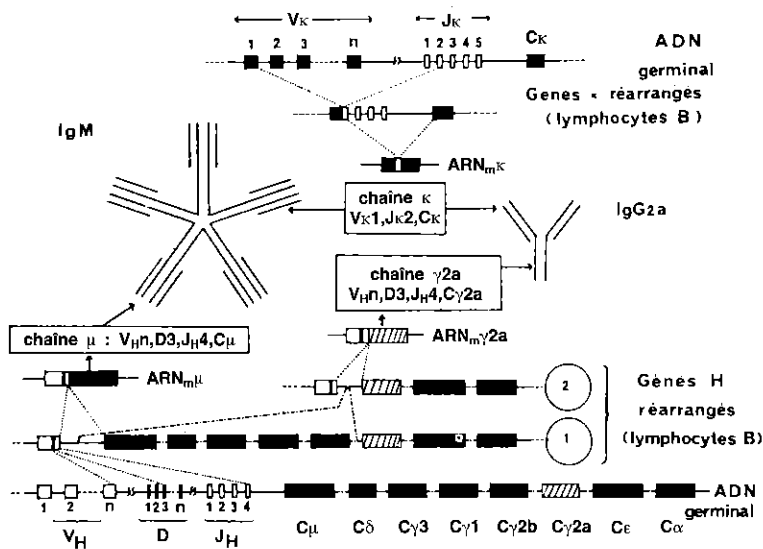


Figure 6-11 Récapitulation des événements de réarrangements conduisant à la synthèse de chaînes H et L fonctionnelles dans une immunoglobuline IgM ou IgG. On remarquera que les régions variables qui « commutent » d'une classe à l'autre sont conservées, en accord avec les prévisions de la théorie clonale.

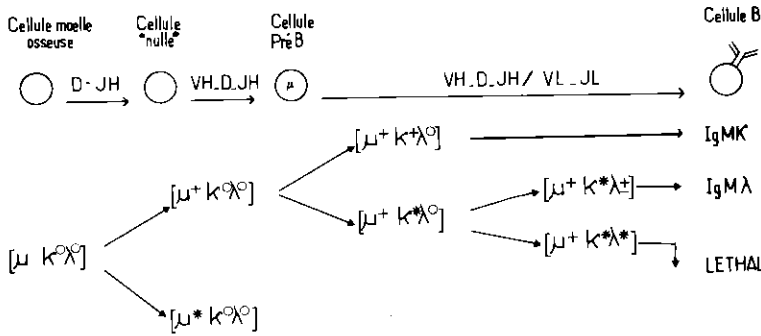


Figure 6-12 Expression phénotypique des réarrangements géniques au cours de l'ontogénèse de la lignée lymphocytaire B. Les gènes dans leur configuration germinale sont indiqués par l'exposant 0. L'astérisque indique un gène réarrangé de manière incorrecte et donc non fonctionnel. Les réarrangements fonctionnels sont notés +.

différenciation de la lignée B et dans cette lignée seulement que les gènes Ig vont entamer les divers processus de réarrangement, selon un ordre immuable. Le premier réarrangement affecte les gènes des chaînes lourdes, selon la séquence D-J puis V-D-J. Si cet ensemble est fonctionnel, il exprime une chaîne V-D-J-C intracytoplasmique, puis membranaire, vraisemblablement en association avec une chaîne légère en cours de caractérisation. Si l'ensemble est non fonctionnel (phase de lecture comportant un codon stop), le 2<sup>e</sup> allèle entreprend le même processus. Si le réarrangement est non fonctionnel, le lymphocyte B est éliminé. S'il est fonctionnel, l'expression de la chaîne μ membranaire exerce 2 types de contrôles :

- il bloque tout réarrangement ultérieur du locus H (ce qui ne s'applique évidemment que dans le cas où le premier réarrangement est fonctionnel);
- il émet un signal — de nature encore inconnue — qui déclenche le même processus pour les chaînes kappa. Si le premier réarrangement V-J est correct, la cellule synthétise une chaîne kappa qui va s'associer à la chaîne μ précédemment fonctionnelle. L'ensemble μ-kappa exprimé à la membrane signe l'identité d'un lymphocyte B fonctionnel qui peut être stimulé par un antigène. Si le premier allèle aboutit à un produit non fonctionnel, le second entreprend le réarrangement V-J. S'il est fonctionnel, la séquence des événements est identique à celle qui vient d'être décrite. Dans le cas contraire, c'est le système lambda qui entreprend ses étapes de réarrangements avec les mêmes possibilités (réarrangement fonctionnel ou non). Si le 2<sup>e</sup> réarrangement est non fonctionnel, le lymphocyte B est éliminé. Tous ces événements sont programmés,

selon un ordre μ>κ>λ qui paraît immuable au moins chez la souris. Dans tous les cas de figure, un seul gène est fonctionnel pour chaque système génique. Le contrôle portant sur la régulation d'un allèle illustre l'exclusion allélique. Le contrôle négatif exercé sur le réarrangement dès lors qu'un gène kappa est fonctionnel, constitue l'exclusion isotypique. Tous ces phénomènes s'inscrivent donc en droite ligne dans les propositions de la théorie clonale dont ils sont à vrai dire, la démonstration moléculaire directe.

### Éléments de régulation transcriptionnelle

Comme tous les gènes fonctionnels, les gènes d'immunoglobulines comportent un certain nombre de signaux de régulation qui en contrôlent la transcription (Fig. 6-13). Ces signaux sont organisés de façon similaire sur les gènes H et sur les gènes L. La transcription implique l'existence d'une région promotrice comportant outre les sites classiques de type « TATA » et « CAP » qui permettent la reconnaissance par les enzymes intervenant dans la transcription de l'ADN en ARNm, mais aussi un oligonucléotide cd ou dc situé en 5' du gène, et qui est fortement homologue d'un segment présent dans une région activatrice ou « enhancer », située entre les régions VDJ (ou V-J) et les régions constantes. Cet oligonucléotide joue un rôle déterminant dans l'amplification de la transcription et n'est actif à niveau élevé qu'après le réarrangement génique. Il conditionne en outre la spécificité tissulaire d'expression des réarrangements dans les lymphocytes B. En l'absence de réarrangement on observe des transcriptions tronquées et le plus souvent à faible niveau, soit de gènes V, soit de gènes C, soit de

Figure 6-13 contrôlant l'ex-rangés H et k les réarrange- seulement les VDJ-Cμ ou ment les sig- trouvent soit variables (ré- contrôlent l'ription) soit C, constitua ou activatrice transcription.

gènes D-3- fond » son fonctionna On voit ment simp un systèm les mécan connus.

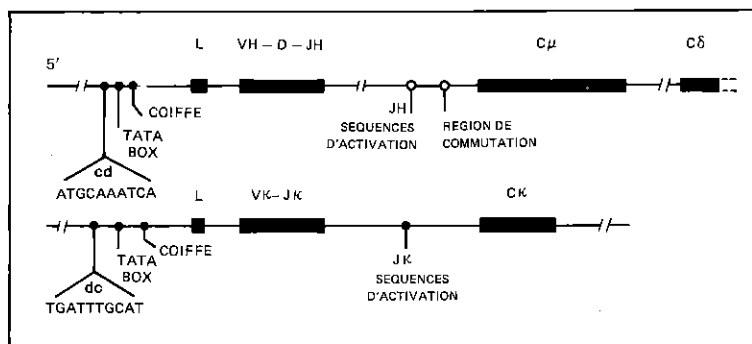
### SUPER DES IM

### LES TR MULTI

Nous chapitre et T, éta impliqua léliques — le — le — le compati Nous famille, Il est n tenant d tuent l'



**Figure 6-13** Segments régulateurs contrôlant l'expression des gènes réarrangés H et kappa. Dans les deux cas, les réarrangements rapprochent non seulement les exons (ensembles L-VDJ-C $\mu$  ou L-VJ $\kappa$ -C $\kappa$ ), mais également les signaux régulateurs qui se trouvent soit en 5' des segments variables (régions promotrices qui contrôlent l'initiation de la transcription) soit entre les segments V et C, constituant la région « enhancer » ou activatrice, qui règle le niveau de la transcription.



gènes D-J-C. Ces transcriptions de « bruit de fond » sont bloquées après que les réarrangements fonctionnels ont pris place.

On voit donc que derrière l'anatomie relativement simple de l'organisation des gènes se profile un système programmé hautement élaboré, dont les mécanismes ne sont encore que partiellement connus.

immunitaire présentent des analogies architecturales frappantes.

### RÉCEPTEURS DES LYMPHOCYTES T

Les récepteurs des lymphocytes T (TcR) spécifiques de la reconnaissance antigénique dans un contexte de présentation par des molécules du CMH (voir Fig. 6-1) sont des molécules bicaténaïres, dont la première description ne remonte qu'à 1983. Chez la souris et chez l'homme, les travaux ont progressé de façon foudroyante. On distingue deux types de récepteurs : le premier, largement majoritaire, est composé d'une chaîne  $\alpha$  et d'une chaîne  $\beta$ . L'organisation des gènes codant pour le récepteur est très semblable à celle décrite pour les immunoglobulines. Ainsi chaque chaîne du TcR résulte du réarrangement d'un certain nombre de gènes (V-D-J ou V-J) qui constituent la région variable, la région constante étant codée par un gène C distinct. L'ensemble dimérique reste toujours ancré dans la membrane plasmique du lymphocyte T. Le second récepteur est construit sur le même principe comportant une chaîne  $\gamma$  et une chaîne  $\delta$ . Les ressemblances avec les immunoglobulines se traduisent également au niveau de l'organisation de ces molécules en domaines, qui ont sensiblement la taille des domaines Ig. Les chaînes des TcR comportent en effet un domaine constant et un domaine variable, chaque récepteur apparaissant donc comme une molécule à 4 domaines, comportant en outre des extrémités COOH hydrophobes qui en permettent l'insertion membranaire.

Cette ressemblance architecturale générale, qui se double de la conservation de certaines caracté-

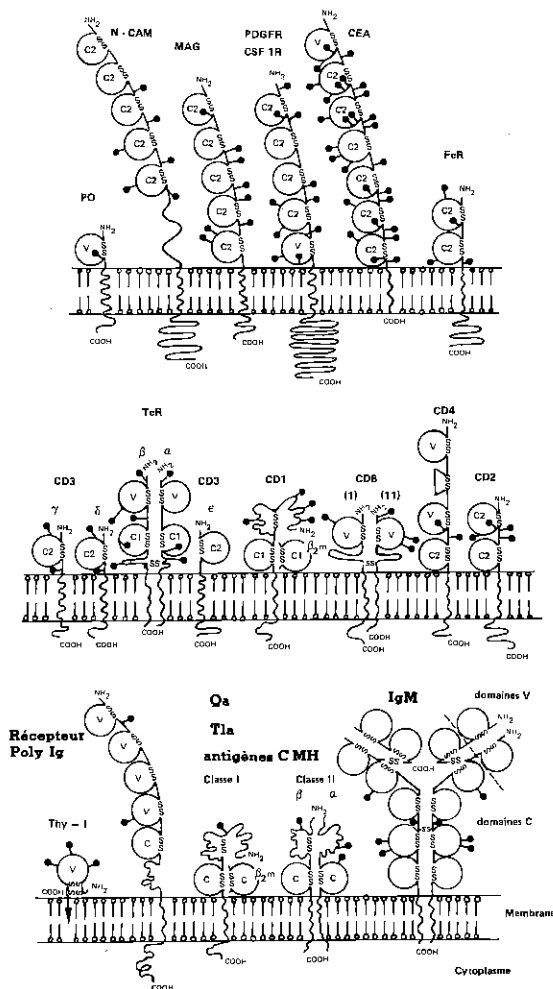
## SUPERFAMILLE DES IMMUNOGLOBULINES

### LES TROIS GRANDS SYSTÈMES MULTIGÉNIQUES

Nous avons souligné dans l'introduction de ce chapitre que les 2 systèmes de reconnaissance, B et T, étaient organisés de façon très différente, et impliquaient 3 systèmes multigéniques et multialléliques complexes :

- les immunoglobulines;
- les récepteurs T;
- les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité.

Nous venons d'étudier en détail la première famille, les autres seront décrites ultérieurement. Il est néanmoins intéressant d'observer dès maintenant que ces trois systèmes géniques qui constituent l'ossature des aspects spécifiques du système



**Figure 6-14** La superfamille des immunoglobulines : quelques exemples de molécules qui sont organisées suivant le schéma général des domaines d'immunoglobulines, sont donnés sur cette figure, qui comporte aussi bien des molécules du système immunitaire (deux séries inférieures) que d'autres protéines qui y sont étrangères, telles N-CAM (molécule d'adhésion de cellules nerveuses) ou MAG (protéine associée à la myéline).

ristiques communes aux Ig (ponts disulfures, homologie de séquence, existence de régions hypervariables...) a conduit à regrouper ces molécules de reconnaissance dans ce qu'on a appelé la superfamille des Ig, donnant ainsi une unité fonctionnelle à l'ensemble du système (Fig. 6-14).

### MOLÉCULES DU COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ

Ce système, relativement oligogénique mais largement multiallélique d'abord reconnu responsable de la tolérance ou du rejet des greffes allogéniques, exerce une fonction essentielle dans la réponse immune par le biais de la présentation de l'antigène aux lymphocytes T. L'étude du CMH étant détaillée au chapitre 7, nous nous bornerons à indiquer que, là encore, les molécules bicaténaires sont organisées en domaines et qu'il s'agit de protéines membranaires. On distingue deux grands types de molécules au sein du CMH : les *molécules de classe I* (H-2DL chez la souris, HLA-A, B, C chez l'homme) qui sont constituées d'une chaîne lourde composée de 3 domaines et d'une chaîne légère ou  $\beta_2$ -microglobuline. La chaîne lourde possède une portion transmembranaire qui assure l'ancrage dans la cellule. A noter que l'expression des molécules de classe I est pratiquement ubiquiste, par opposition aux molécules de classe II qui sont exprimées essentiellement sur des cellules du système immunitaire. Les *molécules de classe II* (Ia chez la souris, HLA-D chez l'homme) sont constituées de 2 chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  comportant chacune 2 domaines et respectant ici encore l'organisation générale décrite pour les immunoglobulines (voir Fig. 6-14).

### MÉTABOLISME DES IMMUNOGLOBULINES

#### ONTOGÈNESE DES IMMUNOGLOBULINES

L'apparition des immunoglobulines, chez le jeune, puis l'augmentation progressive de leurs concentrations varient selon les espèces. Le phénomène survient soit avant, soit après la naissance. Il y a tout d'abord un passage d'immunoglobulines de la mère à l'enfant qui peut s'effectuer durant la vie fœtale par l'intermédiaire du sac vitellin ou du placenta, ou après la naissance par le colostrum ou par le lait. Cette transmission sera plus ou moins importante en fonction de la teneur en Ig de ces sécrétions et de la perméabilité de l'épithélium intestinal. En outre, il y a une

**Tableau 6-11**  
au jeune, en f

Espèces
Cheval, porc
Bovin, mouton
Chien
Rat, souris
Lapin, cobaye
Homme, singe

synthèse as  
né, qui s  
vitesse pro  
donne la li  
mode de tr  
mère à l'  
naissance d  
réduits (ho  
naissance d  
(cheval, p  
l'intestin c  
l'estomac,  
phénomène  
Peu de t  
possède un  
vent supér  
ment limit  
disparaître  
synthèse d

**Tableau 6-12**

Espèce
Cheval, porc
Mouton, bo
Chien
Rat
Souris
Lapin, cobra
Homme, si

\* Durée a  
\*\* Voie d

E MAJEUR

ogénique mais connu respon- et des greffes essentielle dans la présentation. L'étude de 7, nous nous les molécules maines et qu'il On distingue sein du CMH : chez la souris, ont constituées 3 domaines et globuline. La transmembr- ellule. A noter e classe I est position aux primées essen- tème immuni- chez la souris, onstituées de ne 2 domaines ation générale es (voir Fig.

NES

ines, chez le ssive de leurs èces. Le phé- après la nais- ge d'immuno- i peut s'effec-édiaire du sac naissance par nmission sera on de la teneur perméabilité de il y a une

**Tableau 6-II** Transmission des immunoglobulines de la mère au jeune, en fonction des espèces.

Espèces	Type de placentation	Transmission d'immuno-globulines maternelles	
		Pré-natale	Post-natale
Cheval, porc	Épithélio-chorial	—	+++
Bovin, mouton	Syndesmo-chorial ou épithélio-chorial	—	+++
Chien	Endothélio-chorial	+	++
Rat, souris	Hémo-chorial	+	++
Lapin, cobaye	Hémo-chorial	+++	—
Homme, singes	Hémo-chorial	+++	—

synthèse assurée par le fœtus ou par le nouveau-né, qui se développe progressivement à une vitesse propre à chaque espèce. Le tableau 6-II donne la liste de quelques espèces animales et le mode de transmission des immunoglobulines de la mère à l'enfant : le passage a lieu avant la naissance dans les espèces à feuillet placentaires réduits (homme, primate, rongeur...) et après la naissance dans les espèces à placenta très structuré (cheval, porc...). La période de perméabilité de l'intestin correspond à une absence d'acidité dans l'estomac, mais il n'est pas certain que les deux phénomènes soient liés (Tableau 6-III).

Peu de temps après la naissance, le nouveau-né possède un taux sérique d'immunoglobulines souvent supérieur à celui de l'adulte, mais pratiquement limité aux IgG. Ces immunoglobulines vont disparaître à la vitesse de leur catabolisme. La synthèse des immunoglobulines du nouveau-né va

alors commencer, d'abord les IgM souvent avant la naissance, ensuite toutes les autres, plus ou moins rapidement.

### CONCENTRATIONS SÉRIQUES DES IMMUNOGLOBULINES DANS LES DIFFÉRENTES ESPÈCES ANIMALES

Les taux sériques moyens en immunoglobulines seront donnés dans les différents chapitres consacrés à l'immunologie des différentes espèces. Ils sont essentiellement variables en fonction de l'environnement bactérien, viral et parasitaire de l'animal considéré. Aucune valeur moyenne précise ne peut être donnée. Il vaut mieux considérer les valeurs extrêmes. Le cas des nouveau-nés est particulier : la prise du colostrum est déterminante dans certaines espèces, comme le cheval.

### CATABOLISME DES IMMUNOGLOBULINES

Le catabolisme des immunoglobulines semble être lié aux isotypes auxquels elles appartiennent ainsi qu'à la taille de l'espèce considérée.

### Variations de catabolisme en fonction des isotypes

Les immunoglobulines semblent se répartir en trois catégories selon leur catabolisme :

— les IgM et les IgA monomériques à demi-vie moyenne. Les valeurs de leur demi-vie sont

**Tableau 6-III** Voies de transmission d'immunoglobulines maternelles au jeune dans les diverses espèces.

Espèces	Voie de transmission	Isotypes
Cheval, porc	Colostrum-intestin (1 jour) *	IgG
Mouton, bovin	Colostrum-intestin (1 jour)	IgG (IgM, IgA)
Chien	Placenta ** + colostrum-intestin (1 à 3 jours)	IgG
Rat	Sac vitellin ** + colostrum-intestin (20 jours)	IgG
Souris	Sac vitellin ** + colostrum-intestin (15-17 jours)	IgG
Lapin, cobaye, oiseaux	Sac vitellin	IgM et IgG
Homme, singes	Placenta	IgG

\* Durée approximative de la perméabilité intestinale à l'absorption des immunoglobulines maternelles.

\*\* Voie d'importance mineure.

souvent considérées comme normales. Leur catabolisme semble indépendant de leur taux sérique;

— les IgD et les IgE à demi-vie très brève. Leur catabolisme augmenterait avec la diminution de leur taux sérique;

— les IgG forment le dernier groupe. Leur catabolisme augmente avec leur taux sérique, toutes sous-classes confondues, bien que le catabolisme de chaque sous-classe soit, en général, différent de celui des autres. Le phénomène est toujours inexplicable dans son ensemble, mais on sait qu'il dépend de la partie Fc des molécules. On suppose que cette partie Fc pourrait s'accrocher sur des récepteurs qui « protégeraient » ces molécules de la dégradation. Le nombre limité de récepteurs expliquerait que ceux-ci puissent être débordés en cas d'augmentation du taux sérique des immunoglobulines et de ce fait, laisser les IgG en proie au rythme dit « normal » de catabolisme. Il est également possible que le catabolisme varie selon les chaînes hydrocarbonées qui sont attachées au domaine CH<sub>2</sub> des IgG et qui influenceraient leur solubilité.

### Variations de catabolisme en fonction de la taille de l'espèce

Le catabolisme varie avec la taille de l'espèce animale. Le tableau 6-IV regroupe quelques valeurs de catabolisme et montre qu'il existe une certaine relation entre taille et vitesse de catabolisme : plus l'espèce est petite, plus le catabolisme des immunoglobulines est rapide, et vice versa.

Tableau 6-IV Catabolisme de quelques immunoglobulines d'espèces animales (en jours).

	IgM	IgD	IgG	IgE	IgA
Souris	0,5	—	2,5/5,4	0,5	1,3
Rat	1,4/2,6	—	2,5/4,0	0,5	1,1
Porc	3-5	—	10-15	—	2-5
Homme	5,1	2,8	22,5	2,5	—*
Bovin	4,8	—	9,6-22	—	3,4

\* Variable en fonction du poids moléculaire.

### MÉTABOLISME DES IMMUNOGLOBULINES CHEZ LES SUJETS ÂGÉS

Chez les personnes âgées de plus de 70 ans, les taux sériques des IgG et des IgA sont supérieurs à ceux des jeunes adultes. Ce sont les IgG1 et IgG3 qui sont responsables de cette augmentation. Par contre, les taux sériques des IgD et surtout des IgM ont tendance à diminuer.

L'augmentation sérique des IgG a également été observée chez les souris âgées. Cette donnée ne semble pas être liée à la demi-vie des IgG qui a plutôt tendance à diminuer. Par contre, elle pourrait être la conséquence de réponses immunes humorales consécutives à une augmentation des stimulations antigéniques dues à des infections (paramètre favorable à la survie de l'individu), mais également à une augmentation des autoanticorps anti-idiotypes ou dirigés contre un grand nombre d'antigènes : acides nucléiques, thyroglobuline, immunoglobulines...

Une autre répercussion du vieillissement sur la synthèse des immunoglobulines est l'apparition de gammopathies monoclonales bénignes. Les paraprotéïnémies idiopathiques augmentent progressivement de 1 p. cent à l'âge de 50 ans, à 19 p. cent après 100 ans sans que ces anomalies puissent être considérées comme un signe de pronostic réellement mauvais. Ces mêmes gammopathies monoclonales bénignes ont été retrouvées chez les souris âgées et chez les souris thymectomisées, laissant supposer que ces proliférations sont au moins partiellement liées à un dérèglement du contrôle exercé par les lymphocytes T.

### PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES DES IMMUNOGLOBULINES

#### PROPRIÉTÉS LIÉES AUX CLASSES OU SOUS-CLASSES

Le tableau 6-V donne les propriétés physiologiques générales des immunoglobulines.

Tableau 6-V Caractéristiques biologiques majeures des immunoglobulines.

	IgM	IgD	IgG	IgE	IgA
Concentration sérique par millilitre	1-2 mg	1-10 µg	10-20 mg	0,01-10 µg	0,5-3 mg
Pourcentage de répartition intra/extravasculaire	75	75	50	50	50-60
Demi-vie	Courte	Très courte	Longue	Très courte	Moyenne
Activation du complément allogénique					
voie classique	++++	0	++	0	0
voie alterne	+	+	+	+	+
Activité lytique à l'aide du complément	++++	0	++	0	+
Inhibition de l'adhérence bactérienne	+	-	+	-	+++
Activité opsonisante	+	0	+++	0	0
Liaison à des récepteurs spécifiques sur certains types de cellules (parfois restreinte à une sous-population d'un type cellulaire)	Lymphocytes	Lymphocytes	Lymphocytes, macrophages et monocytes, neutrophiles, éosinophiles, (mastocytes et basophiles)	Mastocytes et basophiles, éosinophiles, lymphocytes, macrophages et monocytes	Lymphocytes, neutrophiles, éosinophiles, macrophages
Neutralisation virale	++	?	+++	?	+++
Activité réaginique	0	0	Possible	++++	0
Attachement à la protéine A	0 ou +	0	0 à +++	0	0
Transfert au jeune placentaire	0	0	++++	0	0
par le colostrum *	0	0	+	0	+++
par le lait	0	0	0	0	+

\* Chez les ruminants, c'est l'IgG1 qui est essentiellement transférée par le colostrum de la mère à l'enfant.

## Propriétés liées aux chaînes lourdes

### L'IgM

Les molécules d'immunoglobulines de cette classe sont très importantes étant donné que ce sont elles qui apparaissent les premières :

- au cours de la phylogénie (chez les poissons primitifs);
- au cours de l'ontogénèse des lymphocytes B;
- au cours de la réponse immune;
- en outre, l'IgM est la seule classe d'immunoglobulines qui apparaisse sur tous les lymphocytes B.

Son rôle, dans sa forme monomérique et membranaire, de récepteur pour les antigènes est primordial. A priori, ce sont ces récepteurs spécifiques qui activent les lymphocytes B, bien que leur rôle et celui des récepteurs de classe IgD ne soient toujours pas clairement définis.

Libre, sa nature pentamérique lui confère dix sites anticorps, que l'on observe effectivement en cas de liaison avec de petites molécules. Avec des antigènes de plus grande taille, on peut distinguer dans chaque molécule d'IgM, cinq sites à haute affinité et cinq sites à faible affinité, phénomène résultant d'encombrements stériques.

Les IgM, une fois sécrétées, n'ont que peu d'affinité pour les membranes cellulaires; seuls certains lymphocytes T semblent posséder des récepteurs les reconnaissant. Dès lors, elles ne s'accrochent pas aux macrophages, ne passent pas à travers la barrière placentaire ou la muqueuse digestive du nouveau-né.

Par contre, l'IgM fixe très efficacement le complément. Une seule molécule d'anticorps de classe IgM peut, à l'aide du complément, lyser une bactérie ou une cellule.

Enfin, l'IgM peut se fixer avec une faible affinité au composant sécrétoire et être sécrétée dans la lumière intestinale où son rôle n'a jamais été clairement établi.

### L'IgD

Le rôle de cette classe d'immunoglobulines reste encore mystérieux. On la trouve sur la grande majorité, mais probablement pas la totalité, des lymphocytes B au repos, où elle sert manifestement de récepteur spécifique à l'antigène correspondant. Dans sa forme sécrétée, elle peut être détectée en faible concentration dans le sérum. Elle peut s'attacher à des récepteurs spécifiques se trouvant sur certains lymphocytes

T. On spéculait toujours sur son rôle possible dans la régulation des réponses immunes. Aucun rôle physiologique n'a été trouvé pour les anticorps circulants de classe IgD.

### L'IgG

Cette classe d'immunoglobulines est la plus importante en quantité dans les organismes. Elle représente environ 80 p. cent des anticorps. Elle peut être subdivisée dans la plupart des espèces, en sous-classes qui ont des propriétés physicochimiques et biologiques différentes en fonction de leur partie Fc.

A cette classe d'immunoglobulines appartient la grande majorité des anticorps synthétisés au cours des réponses secondaires systémiques et qui sont donc des anticorps de haute affinité.

Les anticorps de classe IgG peuvent agir soit librement avec ou sans l'aide du complément qu'ils fixent plus ou moins bien suivant leurs sous-classes, soit attachés à la membrane de cellules très diverses.

**Libres**, les anticorps de classe IgG peuvent agglutiner, opsoniser, précipiter des antigènes ou neutraliser des bactéries ou des virus. Ils peuvent agir aussi, avec l'aide du complément qu'ils fixent, soit par la voie classique, soit par la voie alterne. Dans ce cas, ils peuvent lyser surtout des cellules eucaryotes, parfois des bactéries.

**Attachés**. Cette propriété d'attachement aux récepteurs membranaires cellulaires est liée aux parties Fc des molécules. Les leucocytes possédant ces récepteurs sont :

- les macrophages et les monocytes ayant un ou plusieurs récepteurs pour une ou plusieurs sous-classes d'IgG;
- les polynucléaires neutrophiles;
- les polynucléaires basophiles et les mastocytes dans certaines espèces : homme - IgG4 (?); souris - IgG1; rat - IgG2a...);
- certains lymphocytes T.

D'autres cellules en possèdent également, comme les cellules intestinales à la naissance ou les cellules placentaires qui laissent passer certaines IgG. Les immunoglobulines d'isotypes IgG ont donc une réactivité propre et une réactivité par coopération avec de très nombreuses cellules.

### L'IgE

Elle a été découverte à l'aide de ses propriétés réaginaires qui conduisent essentiellement à des

réactions type I.

La membrane des récepteurs IgE : mastocytaires, nucléaires, lymphocytaires distingués par leur moyenne, prête à l'immunité, tique.

### L'IgA

L'IgA joue un rôle de protection, elle prédomine dans les isotypes. Elle agit en fonction de son exemple, la protection

## Propriétés légères

Dans toutes les chaînes kappa et lambda, il y a une évidence, comme le rat ont une le porc et entre les herbivores, lambda. Les sont pas compatibles, logique(s) kappa-lambda pas connue

Figure 6-15  
lambda et kappa  
différents man  
coll.).

possible dans  
s. Aucun rôle  
les anticorps

s est la plus  
ranismes. Elle  
anticorps. Elle  
t des espèces,  
és physicochi-  
n fonction de

s appartient la  
tisés au cours  
es et qui sont  
té.

vent agir soit  
a complément  
suivant leurs  
membrane de

IgG peuvent  
s antigènes ou  
s. Ils peuvent  
lément qu'ils  
oit par la voie  
ser surtout des  
ctéries.

achement aux  
s est liée aux  
ocytes possé-

ocytes ayant un  
ou plusieurs

es;  
hiles et les  
es : homme -  
2a...);

at également,  
a naissance ou  
issent passer  
es d'isotypes  
opre et une  
ès nombreuses

ses propriétés  
llement à des

réactions d'hypersensibilité immédiate ou de type I.

La membrane de nombreuses cellules possède des récepteurs membranaires spécifiques pour les IgE : mastocytes/basophiles, macrophages, polynucléaires éosinophiles, plaquettes et certains lymphocytes B et T. Ces récepteurs peuvent être distingués en FcεRI à haute affinité et FcεRII à moyenne ou basse affinité (voir chapitre 29). On prête à l'IgE, un rôle régulateur des réponses immunes, mais actuellement, il reste hypothétique.

**L'IgA**

L'IgA joue un rôle très particulier dans la protection des muqueuses au niveau desquelles elle prédomine nettement en quantité sur les autres isotypes. Toutefois, cette règle doit être modulée en fonction des espèces; chez les ruminants, par exemple, l'IgG1 joue aussi un rôle important dans la protection des muqueuses.

**Propriétés liées aux chaînes légères**

Dans toutes les espèces animales étudiées, des chaînes kappa et lambda ont été mises en évidence, mais dans des proportions très variables comme le montre la figure 6-15. Le souris et le rat ont une très forte majorité de chaînes kappa, le porc et certains singes ont un juste équilibre entre les chaînes kappa et lambda et les grands herbivores, une nette prédominance des chaînes lambda. Les bases génétiques de cette diversité ne sont pas connues. La ou les implication(s) physiologique(s) liée(s) à ces différences de pourcentage kappa-lambda entre les espèces n'est ou ne sont pas connue(s).

**CAS PARTICULIER DE LA FIXATION DU COMPLÉMENT**

Les interactions entre certains constituants du complément et les molécules d'immunoglobulines illustrent bien l'intérêt de l'organisation en domaines et la spécialisation fonctionnelle que l'hypothèse initiale d'Edelman avait proposée. L'activation de la voie classique implique la fixation du constituant C1q sur les immunoglobulines. Cette fixation est possible après interaction de l'antigène avec l'anticorps. Elle est limitée aux IgG et aux IgM. De manière plus précise, le C1q se fixe sur le domaine C<sub>H</sub><sup>2</sup> des IgG1, IgG2, et IgG3 (mais non aux IgG4) humaines, ou sur le domaine C<sub>H</sub><sup>4</sup> des IgM. La transconformation induite par l'interaction antigène-anticorps conduit à un démasquage du site de fixation « du complément », vraisemblablement de façon mécanique, impliquant une flexibilité des axes Fab/Fc autour de la région charnière des IgG. Cette transconformation peut aussi être obtenue après agrégation non spécifique des immunoglobulines. Dans le cas des IgG4, la fixation de C1q peut être obtenue sur le fragment Fc isolé, ce qui confirme le rôle de la région charnière qui est de permettre l'accessibilité d'un site particulier.

On notera enfin que les constituants C4b et C3b activés se fixent de façon covalente sur le C<sub>H</sub><sup>1</sup> (donc sur le fragment Fab) des IgG.

**CAS PARTICULIER DE LA FIXATION AUX RÉCEPTEURS CELLULAIRES**

Les interactions « récepteurs cellulaires-immunoglobulines » sont très nombreuses. Elles ont fait l'objet d'études plus ou moins avancées suivant les espèces. Leur rôle est, dans certains cas, bien

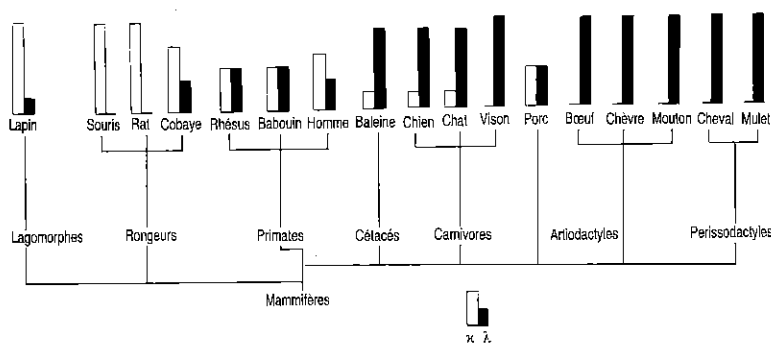


Figure 6-15 Répartition des chaînes lambda et kappa dans les sérums des différents mammifères (d'après Hood et coll.).

**Tableau 6-VI** Les récepteurs Fc trouvés sur les divers types de leucocytes. Ces récepteurs ne se retrouvent pas toujours sur toutes les cellules d'un même type. De même, leur affinité pour les sous-classes d'immunoglobulines n'est pas toujours identique.

Types cellulaires	Récepteurs pour les isotypes
Macrophages	IgG, IgA, IgE
Polynucléaires neutrophiles	IgG, IgA
Polynucléaires basophiles et mastocytes	IgG, IgE
Polynucléaires éosinophiles	IgG, IgA, IgE
Plaquettes	IgG, IgE
Lymphocytes T	IgM, IgG, IgA, IgE, IgD
Lymphocytes B	IgG, IgA, IgE

connu et dans d'autres, assez mal compris. La grande majorité des leucocytes sont pourvus de récepteurs cellulaires pour les immunoglobulines (FcR) (Tableau 6-VI). Ces récepteurs semblent, en général, s'exprimer à la surface des cellules sous l'influence de la classe ou de la sous-classe

d'immunoglobuline elle-même. L'affinité des récepteurs pour les immunoglobulines est très variable : parfois très élevée comme celle du récepteur Fc epsilon des mastocytes pour l'IgE ( $6 \times 10^9$  chez le rat) ou relativement faible, par exemple, dans le cas de l'IgG2 humaine, pour les lymphocytes T (environ  $10^5$ ). Le tableau 6-VII donne une idée de la complexité de ces interactions qui varient pour une même cellule avec les récepteurs et les sous-classes d'immunoglobulines. Les rôles de ces récepteurs sont complexes : dans le cas des récepteurs à IgE des mastocytes, ils déclenchent la dégranulation de ces cellules (voir chapitre 29) :

— à la surface des macrophages, ils participent activement à l'adhérence (anticorps opsonisants) aux proies à ingérer;

— à la surface des lymphocytes, ils ont un rôle immunomodulateur, parfois suppresseur pour la sous-classe d'immunoglobuline correspondante (FcR $\gamma$ ), parfois activateur (FcR $\delta$ ) pour certaines réponses immunes humorales.

Beaucoup reste à découvrir au sujet de ces récepteurs dont le rôle demeure encore assez mystérieux dans de nombreux cas.

**Tableau 6-VII** Interaction des sous-classes d'IgG de rat avec les récepteurs solubilisés de leucémie basophile de rat (Kepron et coll., 1988).

Récepteur	Avidité pour l'IgE de rat	Avidité pour les sous-classes d'IgG par rapport à l'IgE *
Fc epsilon RI	Elevée	IgE > IgG2a > IgG1 > IgG2b
Fc epsilon RII	Faible	IgE > IgG2b > IgG1 > IgG2a

\* La quatrième sous-classe d'IgG, l'IgG2c, s'attache également aux deux récepteurs, mais son classement par comparaison aux autres sous-classes est difficile.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALT FW. Exclusive immunoglobulin genes. *Nature*, 1984, 312 : 502-503.
- HONJO T. Immunoglobulin genes. *Ann Rev Immunol*, 1983, 1 : 499-528.
- HOOD L, GRANT JA, SOX HC. On the structure of normal light chains from mammals and birds : Evolutionary and genetic implications. *In* : J. Sterzl, I. Rihaeds, eds. *Developmental aspects of antibody formation and structure*. Academia Publishing House of the Czechoslovak Academy of Science, Prague, vol. 1, 1970, pp. 283.
- KEPRON MR, BAZIN H, FROESE A. The interaction of IgG subclasses with solubilized Fc receptors of rat basophilic leukemia cells. *Mol Immunol*, 1988, 25 : 599-609.
- NAGEL JE, PROUST JJ. Age-related changes in humoral immunity. Complement and polymorphonuclear leukocyte function. *In* : *Review of Biological Research in Aging*. Vol. 3, 1987, pp. 147-159.
- TONEGAWA S. Somatic generation of antibody diversity. *Nature*, 1983, 302 : 573-575.
- URBAIN J. Is the immune system a functional idiotypic network ? *Ann Inst Pasteur/Immunol*, 1986, 137 C : 57-100.
- WILLIAMS AF, BARCLAY AN. The immunoglobulin superfamily. Domains for cell surface recognition. *Ann Rev Immunol*, 1988, 6 : 381-405.

J. Colom

Le pre  
tique, app  
tocompat  
en 1936 [7  
de la so  
agglutina  
souris et n  
a été app  
l'histocom  
tumeur m  
présence d  
contrôlait  
auquel app  
compatibil  
1958, J. E  
les leuco  
leucoagglu  
polytransf  
HLA-A2,  
CMH hu  
Leucocyte  
Depuis  
que toute



J. Colombani

## ANTIGÈNES D'HISTOCOMPATIBILITÉ

Le premier antigène du système immunogénétique, appelé aujourd'hui complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), a été décrit par P. Gorer en 1936 [7] comme un antigène de groupe sanguin de la souris. Un sérum de lapin immunisé agglutinait les érythrocytes de deux lignées de souris et non d'une troisième. L'antigène en cause a été appelé antigène II. Il jouait un rôle dans l'histocompatibilité; en effet la croissance d'une tumeur mammaire transplantée dépendait de la présence chez le receveur de deux gènes dont l'un contrôlait l'antigène II. Ultérieurement le système auquel appartenait l'antigène II fut nommé Histocompatibility-2 (H-2) par P. Gorer et G. Snell. En 1958, J. Dausset décrivit un antigène présent sur les leucocytes humains par la technique de leucoagglutination à l'aide de sérums de sujets polytransfusés. Cet antigène MAC, aujourd'hui HLA-A2, était le premier antigène connu du CMH humain, le système HLA (Human Leucocyte Antigen) [4].

Depuis ces premières découvertes il est apparu que toutes les espèces de vertébrés étudiées

possèdent un CMH comparable à celui de l'homme et de la souris. Une même organisation génétique a été observée chez les mammifères, les oiseaux et les amphibiens. Elle est probable chez les reptiles et les poissons. Les données concernant d'autres groupes d'animaux sont trop incomplètes pour qu'il soit permis de conclure. La description qui va suivre ne concernera donc que les espèces les plus étudiées et les plus évoluées. Il est cependant certain que les gènes, produits et fonctions du CMH, sont remarquablement conservés au cours de l'évolution. HLA et H-2 serviront de modèles de description.

Le nom, complexe majeur d'histocompatibilité a été donné parce que la découverte expérimentale du système H-2 a été faite lors de l'étude du rejet de greffes tumorales expérimentales. Ensuite la majorité des études sur le CMH a été faite en situation d'histocompatibilité. Aujourd'hui une importante application médicale des connaissances sur le CMH concerne les greffes d'organes.

Le qualificatif *majeur* est justifié par le fait qu'en situation d'histo-incompatibilité H-2 ou

HLA le rejet de greffe est rapide et donne lieu à la production d'anticorps. À l'inverse, en situation d'identité au CMH, de nombreux loci mineurs d'histocompatibilité induisent un rejet de greffe plus lent et sans production d'anticorps.

Le système est *complexe* car il comporte plusieurs gènes étroitement liés sur un court segment chromosomique. On appelle haplotype l'ensemble des allèles associés sur ce segment. Un individu hétérozygote est porteur de deux haplotypes différents.

On sait actuellement que la fonction principale du CMH est d'intervenir dans la réponse immune. D'autres dénominations seraient donc plus appropriées que CMH, par exemple complexe régulateur de la réponse immune, ou système présentateur des antigènes aux cellules T. Il semble cependant difficile de changer le nom du CMH. Deux définitions du CMH s'opposent. La première propose de prendre pour référence le segment chromosomique porteur des gènes appropriés. Elle a l'avantage de la simplicité. Elle pose cependant des problèmes : quelles sont les limites du segment chromosomique ? De plus, des gènes « étrangers » voisinent avec les gènes typiques du CMH : gènes de la 21-hydroxylase, de la neuraminidase. D'autres gènes (Ii, bêta-2-microglobuline) bien que localisés ailleurs sont fonctionnellement associés au CMH.

La seconde définition est fonctionnelle : les gènes du CMH sont ceux qui codent pour des produits dont la fonction est de fournir aux lymphocytes T un contexte pour la reconnaissance des antigènes étrangers. Cette définition pose d'autres problèmes : elle exclut du CMH les gènes du complément qui sont localisés dans le complexe de toutes les espèces étudiées. S'agit-il vraiment d'une association sans signification biologique ? Elle ne tient pas compte de la possibilité que les produits du CMH aient d'autres fonctions actuellement moins bien étudiées : par exemple, reconnaissance entre cellules. Il semble donc raisonnable de retenir pour l'instant les deux définitions.

## ORGANISATION GÉNÉTIQUE DU CMH [6, 8-10]

Le segment chromosomique du CMH représente 1 à 3 centi-Morgans (1 cM = environ 1 000 kilobases, kb), soit environ 1 : 3 000 du génome

total ( $3 \times 10^6$  kb). Un gène de classe I ou II occupe de 3 à 10 kb. Les cartes chromosomiques des figures 7-1 et 7-2 indiquent les gènes identifiés par leurs produits et les gènes identifiés par la génétique moléculaire. Le nombre de gènes peut varier selon l'haplotype.

Les gènes et produits du CMH sont regroupés en classes. Les gènes de classe I codent pour une glycoprotéine (chaîne lourde) transmembranaire associée à la bêta-2-microglobuline (bêta-2-m). Les exons du gène correspondent aux domaines de la chaîne lourde, ainsi qu'à ses parties transmembranaires et intracytoplasmiques. Les gènes de classe I-like ne se distinguent des précédents que par un polymorphisme plus restreint. Ils codent chez la souris pour les molécules Qa et Tla qui sont moins polymorphiques et moins ubiquitaires que les produits de classe I. Le gène de la bêta-2-m est situé sur le chromosome 2 de la souris et le chromosome 15 humain.

Les gènes de classe II codent pour les deux chaînes alpha et bêta, transmembranaires, constitutives d'une molécule de classe II. Les exons des gènes correspondent aux domaines des chaînes. Une troisième chaîne Ii (invariante) parfois appelée gamma est probablement utile à l'expression du dimère alpha-bêta à la membrane. Le gène Ii est situé sur le 5<sup>e</sup> chromosome humain et le 6<sup>e</sup> chromosome murin. Les gènes de classe III codent pour les molécules du système du complément C2, Bf (facteur B de la voie alterne), et C4. C2 et Bf sont deux variants dupliqués d'un gène ancestral, C4 est associé au gène de la 21-hydroxylase (cytochrome surrénal P-450 responsable de la 21-hydroxylation des corticostéroïdes). Le couple C4, 21-OH a été dupliqué, d'où l'existence de 4 gènes : C4A, 21-OH, C4B, 21-OH, étroitement liés. C4B correspond au gène initialement décrit sous le nom SIp chez la souris. Les produits des gènes C4A et C4B peuvent avoir une activité hémolytique différente : C4B étant moins actif que C4A. Chacun des deux gènes peut comporter des allèles nuls. Le gène C4 code pour une seule chaîne polypeptidique, la pro-C4 qui est ensuite clivée en 3 chaînes constitutives de la molécule C4.

Outre le gène 21-OH, d'autres gènes étrangers sont inclus dans le CMH, ou lui sont liés. Ainsi Glo-1 (glyoxalase-1) est un marqueur utile en raison de sa situation. Le « Facteur nécrosant des tumeurs » (TNF) a une relation fonctionnelle avec le CMH puisqu'il augmente l'expression des molécules de classe I. D'autres gènes codant

**Figure 7-1** L'... exprimés, en l... gène GLO-1 (3 500 kb. Les distances mesurées par l... des flèches po... 700 kb (DRB polymorphisme molécules de c... activés. Les g... DQB1, ..., DRB1, DRB3 mixte secondai... associées à la s... DNA (antérieu... gènes de classe (21-OH) est vo... ajoute pour ch... glycoprotéique... presque toutes... la bêta-2-micro... pour TNF alpha... et classe III. L...

pour diverse... l'homme ou... ces associati...

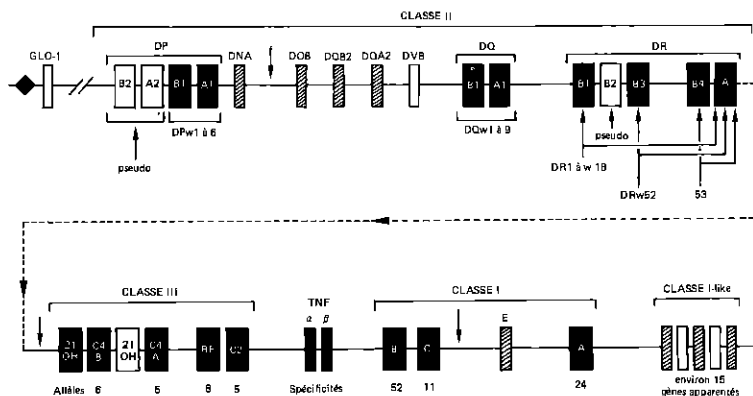
## PRODUIT

Nous décri... classes I et... cellules. La... classe I est c... une chaîne d'... de 3 domaine... 93 acides am...

classe I ou II  
romosomiques  
gènes identi-  
identifiés par la  
de gènes peut  
  
sont regroupés  
endent pour une  
ismembranaire  
ne (bêta2-m).  
x domaines de  
cies transmem-  
Les gènes de  
précédents que  
nt. Ils codent  
Qa et T1a qui  
s ubiquitaires  
de la bêta2-m  
la souris et le

pour les deux  
naires, consti-  
Les exons des  
s des chaînes.  
ante) parfois  
tile à l'expres-  
brane. Le gène  
umain et le 6<sup>e</sup>  
de classe III  
ne du complé-  
lterne), et C4.  
qués d'un gène  
ne de la 21-  
P-450 respon-  
rticostéroïdes).  
upliqué, d'où  
21-OH, C4B,  
spond au gène  
chez la souris.  
peuvent avoir  
e : C4B étant  
eux gènes peut  
C4 code pour  
pro-C4 qui est  
titutives de la

gènes étrangers  
ont liés. Ainsi  
queur utile en  
écrosant des  
fonctionnelle  
l'expression  
s gènes codant



**Figure 7-1** Le système HLA 1988. Les gènes situés sur le chromosome 6 sont représentés par des rectangles (en noir les gènes exprimés, en blanc les pseudogènes, en hachuré les gènes dont l'expression est incertaine). A partir du centromère on trouve le gène GLO-1 (enzyme érythrocytaire glyoxalase) puis 6 groupes de gènes rassemblés sous des accolades, occupant un segment de 3 500 kb.

Les distances en cM entre les principaux gènes sont : HLA-A/B = 0,8; B/DRB1 = 0,8; DRB1/DPB1 = 0,6. Ces distances mesurées par les fréquences de recombinaison sont probablement en rapport avec des points chauds du chromosome marqués par des flèches pointant vers le bas. Elles correspondent respectivement à des distances de 1 100 kb (A/B), 1 300 kb (B/DRB1) et 700 kb (DRB1/DPB1). Les molécules de classe II sont composées de deux chaînes glycoprotéiques alpha et bêta. Le polymorphisme est porté principalement par les chaînes bêta. Cependant la chaîne DQ alpha est elle aussi polymorphe. Les molécules de classe II sont présentes sur la membrane des lymphocytes B, des monocytes et macrophages, et des lymphocytes T activés. Les gènes de classe II sont désignés par des lettres et éventuellement des chiffres : DRA, DRB1, DRB2, ..., DQA1, DQB1, ..., DPA2, DPB2. Les gènes A et B de classe II codent respectivement pour les chaînes alpha et bêta; ainsi les gènes DRB1, DRB3 et DRB4 codent pour les chaînes DR bêta I, III et IV. Six allèles DP sont reconnus par la réaction lymphocytaire mixte secondaire. Neuf spécificités DQ et 18 spécificités DR sont reconnues sérologiquement. Deux spécificités DRw52 et 53 sont associées à la série DR, mais probablement portées par des molécules distinctes. Des gènes DQB2 et DQA2 (antérieurement DX), DNA (antérieurement DZ), DO et DY ont été identifiés par la génétique moléculaire, mais leurs produits ne sont pas connus. Les gènes de classe III codent pour des molécules du complément présentes dans le sérum. Le gène dupliqué de la 21-hydroxylase (21-OH) est voisin des gènes dupliqués C4A et C4B. Le nombre d'allèles communs est indiqué pour les gènes de classe III. Il s'y ajoute pour chaque locus des allèles rares. Les gènes de classe I codent pour des molécules composées d'une chaîne lourde glycoprotéique associée à la bêta-2-microglobuline, codée par le chromosome 15. Ces molécules sont présentes à la membrane de presque toutes les cellules. Les gènes de classe I-like correspondent aux gènes Qa-T1a de la souris. Leurs produits sont associés à la bêta-2-microglobuline. Le gène de la molécule CD1 (45 kd + bêta2m) est localisé sur le chromosome 1. Deux gènes codant pour TNF alpha (Facteur nécrosant des tumeurs) et TNF bêta (lymphotoxine) sont localisés dans le CMH, entre les régions classe I et classe III. Le TNF provoque une augmentation d'expression des molécules de classe I.

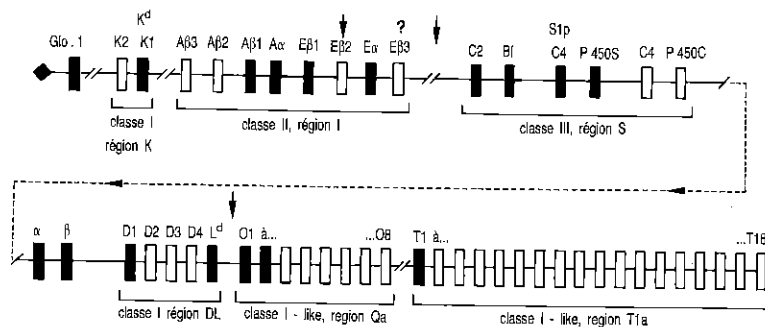
pour diverses enzymes sont associés au CMH de l'homme ou de la souris. Il est vraisemblable que ces associations sont fortuites.

## PRODUITS DU CMH [4, 7]

Nous décrivons essentiellement les molécules de classes I et II exprimées sur la membrane des cellules. La structure primaire des molécules de classe I est connue depuis plusieurs années; c'est une chaîne d'environ 348 acides aminés composée de 3 domaines extramembranaires de chacun 90 à 93 acides aminés, d'une partie transmembranaire

d'environ 23 acides aminés et d'une partie intracytoplasmique carboxy-terminale d'environ 41 acides aminés. L'extrémité amino-terminale est extracellulaire. Deux des trois domaines extracellulaires alpha 2 et 3 juxtamembranaires sont individualisés par un pont disulfure. Le domaine alpha-1 est porteur sur l'asparagine 86 d'une chaîne hydrocarbonée composée de mannose, fucose, galactose, N-acétyl-glucosamine et acide sialique (environ 3 300 daltons). Les chaînes lourdes HLA n'ont que cette chaîne latérale sucrée, les chaînes lourdes H-2 peuvent en avoir une (asparagine 176) ou deux (asparagine 256) supplémentaires. Ces chaînes ne contribuent pas à la spécificité allotypique des molécules.

La masse moléculaire moyenne d'une chaîne



**Figure 7-2** Le complexe H-2. L'organisation représentée est celle de l'haplotype H-2<sup>d</sup> de la souris BALB/c. Des différences concernant le nombre de gènes identifiés peuvent être observées pour d'autres haplotypes. Les gènes situés sur le chromosome 17 sont représentés par des rectangles. Les rectangles noirs indiquent les gènes dont les produits sont couramment détectés par les méthodes immunologiques classiques; certains autres produits peuvent être éventuellement exprimés, cependant la majorité des autres gènes (surtout Q et T) sont soit des pseudogènes, soit faiblement exprimés.

A partir du centromère on trouve le gène Glo-1 puis 6 groupes de gènes rassemblés par des accolades occupant un segment de plus de 1 400 kb. Une différence entre H-2 et HLA est la présence des gènes K de classe I centromériques par rapport aux gènes de classe II. Cette organisation est aussi observée chez le rat. Par contre l'organisation la plus commune chez les autres mammifères (centromère, classe II, classe III, classe I) correspond au modèle HLA.

Les distances en cM entre les principaux gènes sont : Glo-1/K = 1; K/E alpha = 0,1; E alpha/D = 0,2; D/Qa-T1a = 1,5. Ces distances mesurées par les fréquences de recombinaison sont en rapport avec les points chauds du chromosome marqués par des flèches pointant vers le bas. Trois molécules de classe I : K, D, L sont généralement exprimées. La molécule L est moins polymorphique, les molécules K et D, porteuses d'une spécificité privée, caractéristique de l'haplotype et de plusieurs spécificités publiques communes à plusieurs haplotypes et/ou à plusieurs molécules. Deux molécules de classe II sont généralement exprimées : A (A alpha + A bêta-1; équivalent de DQ-humain) et E (E alpha + E bêta-1; équivalent de DR humain). Chez certaines lignées de souris la molécule E n'est pas exprimée, le gène E alpha n'étant pas fonctionnel. Les chaînes A alpha, A bêta-1, E bêta-1 sont polymorphiques, E alpha ne l'est que peu ou pas. Chaque molécule est porteuse d'une spécificité privée et de plusieurs spécificités publiques. Le nombre d'allèles à chaque locus de classes I et II est probablement de 50 à 100.

Les gènes de classe III sont les mêmes chez la souris et chez l'homme. Les gènes C4 ont été originellement décrits sous le nom de protéine Ss dont les variants allotypiques sont nommés S1p. Le cytochrome P-450 est l'enzyme 21-hydroxylase. L'orientation des gènes de classe III n'est peut-être pas définitive.

Les produits de classe I-like ont une distribution plus restreinte que les molécules classiques. Les molécules Qa sont exprimées sur les lymphocytes T et B en faible quantité, les molécules T1a, sur les thymocytes et certaines cellules leucémiques. Le polymorphisme de ces loci est limité : 5 ou 6 allèles pour chaque système. Le nombre de loci actifs est inconnu, mais probablement très inférieur au nombre de gènes détectés. Deux loci Qa et un locus T1a actifs ont été arbitrairement indiqués dans la figure.

Certains gènes « étrangers » présents dans le complexe H-2 ne sont pas indiqués sur la figure; neuraminidase (Neu-1), C4 binding protein (C4-bp).

TNF : Facteur nécrosant des tumeurs,

lourde est de 44 kd (38 à 48); les variations étant dues à des variations du nombre d'acides aminés et du nombre de chaînes sucrées. La bêta2-m (99 acides aminés, masse moléculaire 11,5 kd, un pont disulfure, pas de sucre) est associée de façon non covalente à la chaîne lourde.

La structure tridimensionnelle de la molécule HLA-A2 est actuellement connue [1, 2]. Elle peut servir de modèle aux molécules de classe I (Fig. 7-3 a). La molécule est composée d'un corps formé du domaine alpha-3 associé à la bêta2-m. Ces deux domaines ont une structure de chaîne plissée bêta, ressemblant fortement à deux domaines d'immunoglobuline. Le corps supporte une tête formée des deux domaines alpha-1 et 2

étroitement associés et symétriques. Chaque domaine forme avec 4 replis bêta une plate-forme qui supporte deux hélices alpha. Cette structure constitue un sillon dont les berges sont les hélices alpha et le fond les replis bêta. Elle correspond au site de liaison peptidique présenté par la molécule HLA.

Il semble que cette structure puisse également servir de modèle aux molécules de classe II [3]. Celles-ci sont formées de l'association de deux chaînes alpha et bêta. La chaîne alpha (230 acides aminés, 31-34 kd) comporte deux domaines extracellulaires : alpha-1-amino-terminal (84 acides aminés) et alpha-2 juxtamembranaire (94 acides aminés), un pont disulfure, une zone

**Figure 7-3** moléculés de (TcR).

a) Modèle cristallographique supérieure m du peptide p des acides ar sables du po Certains acid pourraient être d'autres poi pourraient réa constituant les sont indiquée

b) Modèle p analogie avec d'interaction a localisée dan reconnaît à la CMH. La mol en réagissant CMH (adhésio la molécule C c) Cependant reconnaître di une interaction démontrée.

d) Modèle d molécule du C lysozyme d'eu la molécule I- l'interaction av le TcR. Une s résidus réagiss selon lequel la se liant à la m e) Lors de la r également possé Dans ce cas le

transmembra intracytoplasi aminés). Cha (3,2 kd). La aminés, 26- extracellulaire aminés, un p (3,2 kd), bê aminés, un p branaria (22 a plasmique car

Les deux covalentes fo dont la struct ment comparat (voir Fig. 7-3 bêta-2 faits d buline consti

**Figure 7-3** Modèles possibles d'interaction entre les molécules du CMH, l'antigène, et le récepteur de la cellule T (TcR).

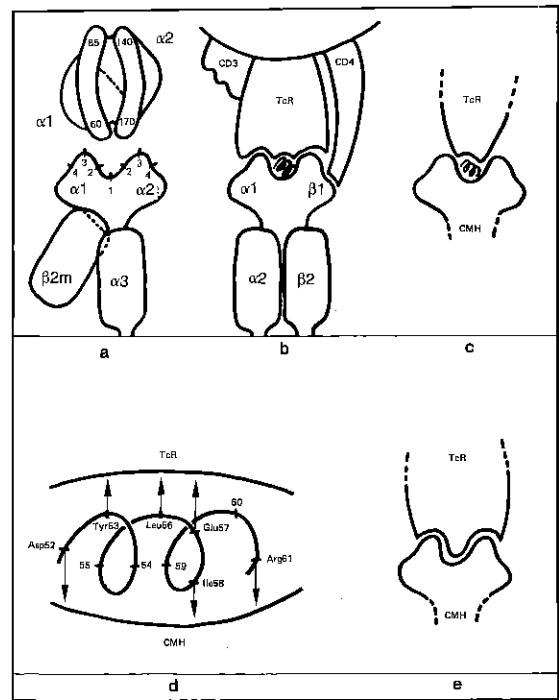
**a)** Modèle de la molécule HLA-A2 d'après les données cristallographiques [1, 2]. En haut vue de face, en haut vue supérieure montrant le sillon correspondant au site de liaison du peptide présenté par la molécule HLA. Dans la séquence des acides aminés, la majorité des positions variables responsables du polymorphisme sont situées au niveau du sillon. Certains acides aminés pointant vers l'intérieur du sillon (1,2) pourraient être impliqués dans la reconnaissance du peptide; d'autres pointant vers le haut ou vers l'extérieur (3,4) pourraient réagir avec le TcR. Les positions des acides aminés constituant les hélices alpha 1 (60 à 85) et alpha 2 (140 à 170) sont indiquées.

**b)** Modèle possible d'une molécule de classe II proposé par analogie avec la structure de HLA-A2 [3]. Un modèle d'interaction avec l'antigène (peptide représenté par une spirale localisée dans le sillon) est également proposé. Le TcR reconnaît à la fois le peptide et les parties avoisinantes du CMH. La molécule CD4 contribue à la formation du complexe en réagissant avec une séquence conservée de la molécule du CMH (adhésiotope). Une interaction du même type a lieu entre la molécule CD8 et une molécule de classe I du CMH.

**c)** Cependant le TcR pourrait ne réagir qu'avec le peptide sans reconnaître directement la molécule du CMH. Actuellement une interaction entre TcR et CMH n'est pas formellement démontrée.

**d)** Modèle d'interaction entre l'antigène peptidique, la molécule du CMH et le TcR. Le peptide immunodominant du lysozyme d'œuf (HEL 52-61) est reconnu en association avec la molécule I-A<sup>b</sup>. Sur les 10 résidus 3 sont importants pour l'interaction avec le CMH, et 3 autres pour l'interaction avec le TcR. Une structure en hélice alpha rend le mieux compte de ces interactions en rassemblant de chaque côté du peptide les résidus réagissant avec chacune des deux molécules. Cette observation n'est pas conforme au modèle de l'hélice amphipathique, selon lequel la plupart des peptides immunodominants auraient une face hydrophile réagissant avec le TcR et une face hydrophobe se liant à la molécule du CMH. Le peptide a deux sites de liaison, l'un avec le CMH (agrétope) l'autre avec le TcR (épitope).

**e)** Lors de la reconnaissance allogénique le TcR pourrait reconnaître directement la partie variable de la molécule du CMH. Il est également possible que cette reconnaissance se fasse alors que le site de liaison du CMH est occupé par un peptide (comme en b). Dans ce cas le peptide pourrait provenir d'une protéine autologue et/ou du CMH lui-même.



transmembranaire (22 acides aminés), une partie intracytoplasmique carboxy-terminale (16 acides aminés). Chaque domaine porte une chaîne sucrée (3,2 kd). La chaîne bêta (environ 238 acides aminés, 26-29 kd) comporte deux domaines extracellulaires : bêta-1 amino-terminal (94 acides aminés, un pont disulfure et une chaîne sucrée de 3,2 kd), bêta-2 juxtamembranaire (94 acides aminés, un pont disulfure), une partie transmembranaire (22 acides aminés), une partie intracytoplasmique carboxy-terminale (16 acides aminés).

Les deux chaînes associées de façon non covalentes forment une molécule à 4 domaines dont la structure tridimensionnelle est probablement comparable à celle de la molécule de classe I (voir Fig. 7-3 b). Les deux domaines alpha-2 et bêta-2 faits de replis bêta de type immunoglobuline constituent le corps de la molécule qui

supporte une tête formée de deux domaines alpha-1 et bêta-1 étroitement associés. Chaque domaine constitue avec 4 replis bêta la plate-forme supportant les deux hélices alpha. L'ensemble forme le sillon présentateur du peptide antigène.

Une chaîne invariante Ii (31 kd) s'associe éventuellement à l'hétérodimère alpha-bêta classe II au cours de la biosynthèse de ces chaînes. Le rôle de Ii pourrait être de contribuer au transport du dimère alpha-bêta vers la surface cellulaire, où la majorité des dimères existent non associés à Ii. Cependant Ii n'est pas indispensable à l'expression du dimère alpha-bêta à la membrane, de sorte que sa fonction précise n'a pas encore été déterminée.

La distribution tissulaire des produits de classe I et de classe II suggère des fonctions distinctes.

Les premiers sont ubiquitaires, les seconds ne sont habituellement présents que sur les cellules intervenant dans la réponse immune. La densité des molécules de classe I sur la membrane cellulaire est très variable. Les cellules les plus riches sont les lymphocytes (lymphocytes B, 260 000 sites par cellule; lymphocytes T, 100 000 sites; lignée lymphoïde B en culture,  $10^6$  sites). D'autres tissus, muscles, fibroblastes, cellules du système nerveux, sont pauvres en antigènes de classe I. Leur présence sur les spermatozoïdes est controversée. Les globules rouges humains en sont pratiquement dépourvus sauf pour certaines spécificités faiblement représentées. Par contre les érythroblastes et réticulocytes portent les antigènes de classe I. Les plaquettes sanguines en sont riches, et sont couramment utilisées pour absorber électivement les anticorps anti-classe I des immun-sérums contenant également des anticorps anti-classe II. Il est possible que les plaquettes soient porteuses d'une forme absorbée des antigènes de classe I. Au cours du développement embryonnaire les molécules de classe I ne sont exprimées qu'à un stade assez avancé de différenciation (milieu de la gestation chez la souris).

Les produits de classe II sont exprimés sur les lymphocytes B (80 000 sites par cellule), les macrophages et cellules apparentées : monocytes, cellules de Langerhans de la peau, cellules de Küpfer du foie, cellules dendritiques. Les lymphocytes T humains activés expriment les molécules de classe II. Ce phénomène n'est pas observé chez la souris. Certaines cellules ont une expression dissociée des produits de classe II. Ainsi 10 p. cent des monocytes humains sont DR<sup>+</sup>, DQ<sup>+</sup> et 90 p. cent sont DR<sup>+</sup>, DQ<sup>-</sup>. Des dissociations du même genre sont observées sur les cellules myéloïdes au cours de leur différenciation et sur certaines cellules épithéliales. Les molécules de classe II sont exprimées sur les cellules endothéliales vasculaires.

L'interféron gamma augmente l'expression des molécules de classe I et de classe II dans les cellules qui les expriment déjà. Il peut induire l'expression de molécules de classe II normalement non exprimées, dans certains tissus. Cette induction n'est pas possible dans tous les tissus. Certaines substances (prostaglandine E2, corticostéroïdes) diminuent l'expression des molécules de classe II. Les TNF (Facteur nécrosant des tumeurs) provoquent une augmentation d'expression des molécules de classe I.

Les molécules du CMH, protéines constitutives

de la membrane cellulaire, peuvent être mobilisées par l'action d'anticorps spécifiques. Lorsqu'une cellule vivante est mise au contact d'un anticorps reconnaissant certaines molécules du CMH à sa surface, les molécules distribuées régulièrement sont rassemblées en petits agrégats (patching) probablement parce que les anticorps multivalents forment des ponts entre ces molécules. Si l'incubation de la cellule est faite à 37 °C les agrégats se mobilisent et se rassemblent à un pôle de la cellule (capping). Enfin les molécules ainsi rassemblées sont internalisées dans le cytoplasme de la cellule (endocytose).

Il a été décrit une internalisation spontanée et un recyclage des molécules du CMH. Ce phénomène est observé pour les molécules de classe I dans les lymphocytes T au repos ou activés, et pour les molécules de classe II dans les lymphocytes T activés et dans les lymphocytes B. Ce phénomène pourrait être en rapport avec la fonction de présentation de l'antigène par les molécules du CMH.

Après leur biosynthèse par les polysomes, les molécules de classe I mûres sont transportées en 60 à 80 minutes à la surface de la cellule. La chaîne lourde est partiellement glycosylée, puis s'associe à la bêta2-m; enfin, elle est complètement glycosylée avant d'être insérée dans la membrane cellulaire. Les chaînes de classe II sont transitoirement associées à la chaîne invariante (Ii) au cours de leur assemblage. Il semble que la glycosylation complète des chaînes alpha et bêta ne soit possible qu'après la formation du dimère.

La dégradation et l'élimination (shedding) des molécules de la membrane cellulaire sont des processus normaux et constants. Les molécules du CMH ont une demi-vie de 7 à 10 heures. Les molécules relâchées dans le milieu contribuent à la présence de molécules solubles dans le plasma. Toutefois, des molécules sécrétées existent également. Une telle molécule de classe I est sécrétée par le foie chez la souris. Elle est codée par le gène Q10. Ces molécules ne peuvent être ancrées dans la membrane cellulaire faute d'une région transmembranaire fonctionnelle à la suite soit d'une délétion de la partie correspondante du gène, soit à la suite d'un épissage particulier. On ne connaît pas actuellement la fonction de ces molécules. Elles ne sont que peu ou pas polymorphiques.

Cependant le polymorphisme est une des caractéristiques majeures des produits classiques du CMH. Une molécule est dite polymorphe lorsqu'elle présente une variabilité de structure, à

l'intérieur de  
fréquence gé  
phisme est  
fréquence in  
dépourvus d'i  
Le nombre d  
100, correspo  
0,1 à 0,01. C  
polymorphis  
quence trop  
allèles de f  
augmenter le  
phisme au lo  
population.  
conséquence  
zygotes dans

La variabi  
séquence de  
des différen

Tableau 7-1  
molécules : ell  
la molécule.  
probablement  
Lymphocytair  
(Electrophorès  
polymorphism

Mo

Réponse immune  
allogénique, xénogénique  
Soi + X

Structure

être mobili-  
spécifiques.  
e au contact  
es molécules  
es distribuées  
petits agrégats  
les anticorps  
s entre ces  
mole est faite à  
e rassemblent  
). Enfin les  
internalisées  
endocytose).  
spontanée et  
MH. Ce phé-  
les de classe I  
ou activés, et  
ans les lym-  
nocytes B. Ce  
port avec la  
gène par les

olysomes, les  
portées en 60  
mole. La chaîne  
puis s'associe  
ement glyco-  
la membrane  
ont transitoire-  
e (li) au cours  
glycosylation  
e soit possible

shedding) des  
aire sont des  
molécules du  
0 heures. Les  
contribuent à  
ns le plasma.  
ées existent  
classe I est  
Elle est codée  
peuvent être  
e faute d'une  
lle à la suite  
spondante du  
articulier. On  
action de ces  
pas polymor-

me des carac-  
classiques du  
polymorphe  
e structure, à

l'intérieur de l'espèce, d'un individu à l'autre. La fréquence génique limite pour parler de polymorphisme est de 0,01. Les allèles ayant une fréquence inférieure sont des variants rares dépourvus d'importance biologique pour l'espèce. Le nombre d'allèles à chaque locus est de 10 à 100, correspondant à des fréquences géniques de 0,1 à 0,01. Cet ordre de grandeur correspond à un polymorphisme équilibré. Des allèles de fréquence trop faible risquent d'être perdus, des allèles de fréquence élevée risquent de voir augmenter leur fréquence jusqu'à 1; le polymorphisme au locus considéré est alors éteint dans la population. Un tel nombre d'allèles a pour conséquence une fréquence élevée d'hétérozygotes dans la population.

La variabilité correspond à des différences de séquence des acides aminés. Il est possible que des différences de glycosylation existent, mais

elles ne sont pas impliquées dans les différences allotypiques. Les variations sont rassemblées au niveau des domaines amino-terminaux (alpha-1 et 2 de classe I, bêta-1, et éventuellement alpha-1, de classe II) principalement dans les hélices alpha. Inversement, les domaines juxtamembranaires sont très conservés. Les variations structurales de la partie la plus externe de la molécule jouent donc un rôle de reconnaissance de l'antigène qui est présenté au récepteur de la cellule T (TcR) (voir Fig. 7-3). Les différences entre allèles portent en moyenne sur 10 acides aminés par domaine externe, variable (soit environ 10 p. cent). Les différences interlocus de même classe sont du même ordre. Les différences entre molécules homologues H-2 et HLA sont de 20 à 25 p. cent indiquant un degré élevé de conservation au cours de l'évolution.

Les différences de structure primaire ont pour

**Tableau 7-1** Moyens d'étude du polymorphisme du CMH. L'analyse par déterminant (par exemple sérologique) compare deux molécules : elle permet de conclure si elles ont en commun un déterminant (structure limitée). Elle ne renseigne pas sur le reste de la molécule. L'analyse globale indique que deux molécules (par exemple 2D-PAGE) ou deux cellules (MLRI) sont très probablement identiques, ou certainement différentes, sans préciser l'importance de la différence. MLRI et II (Réaction Lymphocytaire Mixte primaire ou secondaire). PLT (Primed Lymphocyte Typing). CTL (Cytotoxic T Lymphocyte). 2D-PAGE (Electrophorèse en gel de polyacrylamide en deux dimensions). RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) : analyse du polymorphisme de taille des fragments de DNA d'un gène, obtenus après digestion par des endonucléases.

Moyen	Technologie	Analyse
Réponse immunitaire allogénique, xénogénique Soi + X	Humorale { Allo-sérums Anticorps monoclonaux allo-, xénogéniques }	Déterminant
	Cellulaire T { Allogène { MLR I (prolifération) (HTC) MLR II (PLT) (prolif.) CTL (cytotox. T lymph.) } Soi + X { Prolifération CTL }	} Poly-, mono-clonale } Déterminant
Structure	Structure tridimensionnelle Conformation surface	Information complète
	Biochimie Gène exon- intron	RFLP Séquence

conséquence des différences de structure secondaire et tertiaire reconnues par les anticorps anti-CMH et le TcR. Grâce aux données structurales récentes il devient possible de localiser sur la molécule des déterminants allotypiques. L'interaction entre chaînes est aussi vraisemblablement importante, particulièrement pour les dimères alpha-bêta de classe II. Outre l'association des produits homologues (DR alpha - DR bêta, par exemple) la complémentation en cis (DR alpha - DQ bêta, E alpha - A bêta) et en trans (DQ alpha d'un haplotype - DQ bêta de l'autre haplotype) augmente l'étendue du polymorphisme.

Les méthodes d'étude du polymorphisme sont indiquées dans le tableau 7-1. On peut distinguer les méthodes immunologiques et les méthodes structurales. Les méthodes immunologiques les plus employées utilisent la capacité d'immunsérums de reconnaître les déterminants allotypiques. Les anticorps monoclonaux (allogéniques anti-H-2, le plus souvent xénogéniques anti-HLA) en raison de leur monospécificité représentent un important progrès. Les méthodes cellulaires reposent sur la capacité des cellules T à reconnaître les molécules du CMH (surtout de classe II) allogéniques. La réaction mixte lymphocytaire (MLR) est objectivée par la prolifération de cellules T-répondantes reconnaissant les molécules de classe II sur la cellule stimulante allogénique. La MLR primaire (MLRI) est négative lorsqu'il n'y a pas de différence entre les allèles de classe II du répondeur et du stimulateur. L'utilisation de cellules stimulantes homozygotes de référence (HTC : homozygous typing cells) permet l'évaluation globale des déterminants de classe II du répondeur (typage HLA-Dw). La MLR I bidirectionnelle négative entre deux individus permet d'affirmer une étroite similarité voire l'identité de leurs molécules de classe II. La MLR II (secondaire) permet de générer des cellules proliférantes spécifiques de déterminants allogéniques. Le typage HLA-DP est ainsi fait à l'aide de cellules PLT (primed lymphocyte typing cells) spécifiques des différents allèles. Au cours de la réponse allogénique *in vitro*, comme *in vivo*, des lymphocytes T cytotoxiques (CTL) sont capables de reconnaître des déterminants allogéniques portés surtout par les molécules de classe I mais aussi de classe II. Ces CTL (surtout sous forme de clones) peuvent servir de réactifs de typage. Lors de la réponse immune à un antigène étranger (X) les lymphocytes T reconnaissent un fragment (peptide) de X présenté par les molécules du

CMH autologue (voir plus loin). Cette reconnaissance du CMH soi + X conduit à la génération de clones prolifératifs ou cytotoxiques spécifiques à la fois d'un allèle du CMH et du peptide X. De tels clones peuvent être utilisés comme réactifs de typage doués d'une spécificité très précise.

L'information complète sur la molécule et son polymorphisme sera fournie par la connaissance de sa structure tridimensionnelle et de sa conformation de surface (Fig. 7-4). Les données cristallographiques sur la molécule HLA-A2 ont déjà fourni d'importantes informations. Dès maintenant de nombreuses séquences (du produit et/ou du gène) sont connues. D'autres méthodes d'analyse structurale (électrophorèse en 2 dimensions, cartes peptidiques, analyse des fragments de restriction du gène : RFLP) permettent des comparaisons entre molécules.

Les méthodes immunologiques sont plus indirectes que les méthodes structurales. Elles offrent l'avantage d'analyser des différences de surface probablement plus significatives biologiquement. Il est vraisemblable que les clones T anti-CMH soi + X « regardent » les régions fonctionnellement importantes de la molécule.

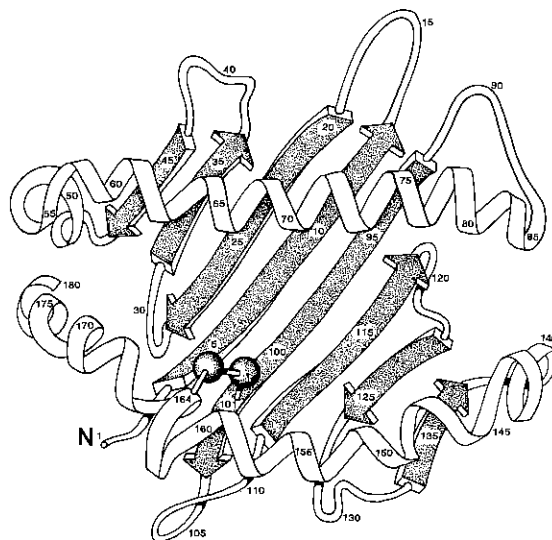


Figure 7-4 Représentation schématique de la structure de la partie supérieure (domaines alpha-1 et alpha-2) de la molécule HLA-A2, d'après Bjorkman et coll. [1]. Cette partie supérieure de la molécule, vue d'en haut, présente le peptide au récepteur de la cellule T et entre en contact avec lui. L'extrémité N terminale du domaine alpha-1 est indiquée; les replis bêta sont représentés par des flèches connectées par des boucles; les hélices alpha sont les deux spirales; le pont disulfure est indiqué par deux petites sphères. Les chiffres correspondent à la séquence des acides aminés : domaine alpha-1 de 1 à 90, domaine alpha-2 de 91 à 182.

La génétique classique de la sélection. L'ensemble des gènes multiplie l'augmentation de l'exemple 3 codées par l'expression à la présence d'antigènes sur les cellules non réciproques. Elle consiste en un gène inconnu, dirigé vers un gène d'un gène vers un gène conduit à des proches, analogues. Elle est une série allélique binaire. HLA-Aw6 entre HLA

La polymorphisme immune à CMH. Ce conduit micro-organisme capable d'être efficace. L'avantage de breuses vécues par désavantages phénotypiques une infection.

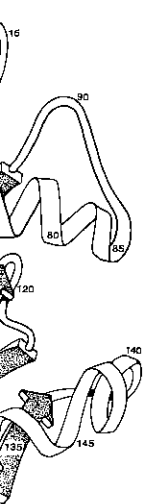
Cette contradiction (rat, hamster) le CMH exemples utiles il n'y a pas l'espèce.

## FONCTION

Le CMH nomènes a été étudié



ette reconnais-  
génération de  
spécifiques à  
eptide X. De  
ne réactifs de  
précise.  
molécule et son  
connaissance  
de sa confor-  
nnées cristal-  
A2 ont déjà  
Dès mainte-  
produit et/ou  
es méthodes  
en 2 dimen-  
s fragments  
rmettent des  
ont plus indi-  
Elles offrent  
es de surface  
ologiquement.  
T anti-CMH  
fonctionnelle-



a structure de la  
) de la molécule

en haut, présente  
en contact avec  
a-1 est indiquée;  
s connectées par  
spiraux; le pont  
es. Les chiffres  
minimés : domaine  
à 182.

La génération du polymorphisme est faite classiquement par duplication, mutation et sélection. La duplication est visible au niveau de tous les gènes de classes I, II, III et I-like. La multiplication des gènes homologues par duplication augmente le polymorphisme puisque par exemple 3 molécules de classe I différentes sont codées par un haplotype. L'hétérozygotie et l'expression codominante des produits conduisent à la présence de 6 molécules de classe I différentes sur chaque cellule. La conversion génique non réciproque est considérée comme un mécanisme important générateur de polymorphisme. Elle consiste en un transfert, selon un mécanisme inconnu, d'un segment d'ADN d'un gène donneur vers un gène receveur homologue (par exemple d'un gène Q vers un gène K, ou d'un gène E bêta vers un gène A bêta). La conversion génique conduit à la ressemblance entre gènes liés, proches, appartenant à la même famille multigénique. Elle est génératrice de diversité dans une série allélique. Un autre mécanisme est la recombinaison réciproque intra-allélique. Ainsi l'allèle HLA-Aw69 est le produit d'une recombinaison entre HLA-A2 et A28.

La pression de sélection qui maintient le polymorphisme est due aux différences de réponse immunitaire associées aux variations alléliques du CMH. Ces différences de réponse immunitaire conduisent à des différences dans la résistance aux micro-organismes pathogènes. Dans un environnement donné, l'espèce multiplie les présentoirs capables de conduire à une réponse immunitaire efficace. Il faut noter que le polymorphisme est avantageux pour l'espèce confrontée aux nombreuses variétés, et à la variabilité, des organismes pathogènes. Le polymorphisme peut être désavantageux pour l'individu, qui, avec son phénotype CMH, peut être incapable de résister à une infection donnée.

Cette conception du polymorphisme semble contredite par les cas rares de certaines espèces (rat, hamster) ou de certains isolats chez lesquels le CMH n'est que très peu polymorphe. Ces exemples indiquent que si le polymorphisme est utile il n'est pas indispensable à la survie de l'espèce.

## FONCTIONS DU CMH [4, 7, 11]

Le CMH a été découvert en raison des phénomènes d'histo-incompatibilité qu'il provoque. Il a été étudié et décrit grâce à la réponse allogé-

nique qu'il induit. Son rôle biologique en dehors de l'histocompatibilité a été découvert à la suite de la description du phénomène de restriction, et du contrôle génétique de la réponse immunitaire liée au CMH.

Les molécules du CMH fournissent le contexte dans lequel le récepteur des lymphocytes T (TcR) reconnaît un antigène étranger X (virus, produit d'origine bactérienne, protéine). Elles font ainsi partie d'un complexe trimoléculaire : TcR, X, CMH (voir Fig. 7-3 b). L'existence de ce complexe est démontrée par le phénomène de Zinkernagel et Doherty, décrit sous le nom de restriction par le CMH de la spécificité des lymphocytes T cytotoxiques (Tc) antiviraux. Les lymphocytes Tc immuns capables de tuer une cible infectée par un virus sont spécifiques à la fois de l'antigène viral, et de certaines molécules du CMH. La spécificité antivirale des Tc est restreinte (limitée) aux cibles porteuses des molécules appropriées du CMH. L'expérience initiale de Zinkernagel et Doherty (1974) montre que des souris H-2<sup>k</sup> infectées par le virus de la chorioméningite lymphocytaire développent une réponse immunitaire antivirale. Une semaine après l'infection, les splénocytes de ces animaux sont capables de lyser des cibles H-2<sup>k</sup> infectées par le virus, mais non des cibles H-2<sup>x</sup> infectées, pas plus que des cibles H-2<sup>k</sup> non infectées, ou infectées par un autre virus. Les Tc sont spécifiques du CMH soi (H-2<sup>k</sup>) + X (virus). C'est le phénomène de corecognition. Dans le cas des Tc c'est une molécule de classe I qui est le plus souvent reconnue, en association avec le virus.

Le contrôle génétique de la réponse immunitaire liée au CMH (gènes Ir) relève également du phénomène de corecognition. Lors de la réponse à un antigène protéique soluble, une réponse cellulaire T (T auxiliaire, Ta) est nécessaire au développement de la réponse humorale. Les lymphocytes Ta reconnaissent l'antigène X dans le contexte des molécules de classe II du CMH soi. Le statut génétique d'un individu : répondeur ou non-répondeur à l'antigène X, dépend d'abord de l'association CMH soi + X (sélection du déterminant), ensuite du répertoire des Ta, capable ou non de reconnaître cette association.

L'association CMH + X, d'abord postulée est maintenant démontrée expérimentalement. Des constantes et des vitesses d'association et de dissociation ont été mesurées, le site d'association a été identifié dans la structure tridimensionnelle de la molécule : c'est le sillon limité par les

**Tableau 7-II** Les molécules du CMH se comportent comme des récepteurs de faible affinité pour l'antigène. Comparaison des sites de liaison du CMH, des immunoglobulines (Ig), du récepteur des cellules T (TcR).

	CMH	Ig	TcR
Taille (nm)	2,5×1×1 (profondeur)	2×1×1	
Nombre de sites par molécule	1	2,4 ou 10	1 ?
Affinité Kd	10 <sup>-5</sup> à 10 <sup>-6</sup> M/l	10 <sup>-8</sup> à 10 <sup>-11</sup> M/l	
Vitesse d'association	Lente (environ 48 h)	Rapide	
Vitesse de dissociation	Lente (>48 h)	Lente	
Génération de diversité	Polymorphisme élevé à plusieurs loci	Polymorphisme élevé à plusieurs loci	Polymorphisme élevé à plusieurs loci
Réarrangement	Non	Oui	Oui
Etendue de la diversité	Allotypique	Idiotypique	Idiotypique Clonotypique
Dans l'espèce	100 allèles à 1 locus 1 000 allèles à 10 loci		
Chez un individu	20 allèles à 10 loci	>10 <sup>6</sup>	>10 <sup>6</sup>
Spécificité	Vague : 1 site pour environ 100 000 ligands	Précise : 1 site pour environ 1 ligand	Précise : 1 site pour environ 1 ligand
Isotypie	Environ 3 molécules classe I 3 molécules classe II	IgG, M, A, E, D	Ti α-β Ti γ-δ

hélices alpha amino-terminales. Les molécules du CMH se comportent comme des récepteurs de faible affinité pour l'antigène (Tableau 7-II, Fig. 7-3). Ce n'est pas l'antigène natif qui est présenté par la molécule du CMH, mais un fragment peptidique de dégradation de la molécule entière par les enzymes lysosomiales de la cellule présentatrice de l'antigène. La liaison CMH-peptide est spécifique (tous les peptides ne se lient pas à toutes les molécules CMH possibles), cependant cette spécificité n'est pas du même ordre que celle de la liaison antigène-anticorps ou TcR-X. Dans ces deux cas le nombre des déterminants antigéniques possibles (10<sup>6</sup> à 10<sup>9</sup>) est du même ordre de grandeur que le nombre de sites de liaisons différents des immunoglobulines et des TcR. Ceci est dû au fait que la diversité des sites est générée par réarrangements des gènes correspondants. Il n'en est pas de même pour les molécules du CMH : il n'y a pas de réarrangement des gènes, et les cellules d'un individu expriment au plus quelques dizaines de molécules différentes. Cependant le nombre de peptides possibles est vraisemblablement de l'ordre de 10<sup>6</sup> à 10<sup>9</sup>. Donc la spécificité de la liaison CMH

peptide est vague, alors que celle de la liaison TcR peptide est précise (voir Tableau 7-II). Les modèles d'interaction peptide-CMH et peptide-TcR suggèrent que le peptide est pris en sandwich entre les deux sites de reconnaissance et que les deux types de liaison dépendent des résidus en présence (voir Fig. 7-3).

La capacité du site de liaison d'un allèle donné du CMH de reconnaître un peptide X (sélection du déterminant) est la première condition, nécessaire mais non suffisante, pour que l'organisme porteur de cet allèle soit répondeur à X. La deuxième condition est la présence dans le répertoire des cellules T du site de reconnaissance (TcR) approprié. Il semble que le répertoire T d'un individu soit influencé par son CMH probablement lors de l'établissement d'une tolérance au CMH soi, ou aux peptides autologues présentés par le CMH soi (CMH soi + peptide soi). Cette tolérance génère des « trous » dans le répertoire. Lorsque CMH soi (ou CMH soi + peptide soi) ressemble à CMH soi + X, X n'est pas reconnu faute du récepteur approprié dans le répertoire.

Des faits expérimentaux démontrent la nécessité des deux conditions pour le développement d'une

réponse associative appropriée par un donneur, et des indicateurs conditionnels règle peut s'appliquer à un « trou ».

Le modèle TcR est basé sur une base à cependant reconnaît polymorphe Fig. 7-3 n'y a pas de TcR-CMH est difficile à telle interaction allogénique un peptide de liaison de ou est-il

La formation du CMH famille 12]. Une apparence un ancêtre peuvent Cette famille immunoglobuline classe II molécule gènes du qués du nécessaire

L'implémentation situation technique. Ce doit naturellement d'organes du CMH celle des liaisons de reconnaissance pliquée.

Comparaison des

TcR

1 ?

phisme élevé  
ieurs loci

Oui

typique  
otypique>10<sup>6</sup>e : 1 site  
environ  
ligandi α-β  
i γ-δ

de la liaison  
au 7-II). Les  
I et peptide-  
s en sandwich  
ce et que les  
es résidus en

allèle donné  
(sélection du  
on, nécessaire  
nisme porteur  
La deuxième  
épertoire des  
sance (TcR)  
toire T d'un  
MH probable-  
tolérance au  
ues présentés  
de soi). Cette  
le répertoire.  
peptide soi)  
t pas reconnu  
le répertoire.  
nt la nécessité  
ement d'une

réponse immune : 1) sélection du déterminant : association CMH + X et 2) existence du TcR approprié. La première condition est démontrée par une association préférentielle d'un peptide donné aux allèles du CMH des individus répondeurs, et la non-association aux allèles du CMH des individus non-répondeurs. La deuxième condition est démontrée par les exceptions à la règle précédente : dans certains cas un peptide peut s'associer à un allèle du CMH non-répondeur. La non-réponse est alors expliquée par un « trou » dans le répertoire T.

Le modèle actuel de l'interaction CMH-peptide-TcR est globalement satisfaisant et peut servir de base à des modèles plus détaillés. Il conduit cependant à poser plusieurs questions. Le TcR reconnaît-il le peptide et les parties voisines polymorphiques de la molécule du CMH (voir Fig. 7-3 b) ou le peptide seul (voir Fig. 7-3 c) ? Il n'y a pas de preuve formelle de l'interaction TcR-CMH, toutefois la double spécificité du TcR est difficilement explicable en l'absence d'une telle interaction. Au cours de la reconnaissance allogénique le TcR reconnaît-il la molécule CMH allogénique « vide » (voir Fig. 7-3) ou associée à un peptide ? Et dans ce cas lequel ? Le site de liaison de la molécule CMH peut-il être « vide » ou est-il constamment occupé par un peptide ?

La fonction de reconnaissance de la molécule du CMH est confirmée par son appartenance à la famille supergénique des immunoglobulines [5, 12]. Une telle famille est composée de gènes apparentés par leurs séquences, ce qui implique un ancêtre commun. Les produits de ces gènes peuvent ou non avoir des fonctions similaires. Cette famille rassemble entre autres, outre les immunoglobulines, les gènes de classe I et de classe II du CMH, de la bêta2-m, les gènes des molécules CD1, CD2, CD3, CD4 et CD8, et les gènes du TcR. Toutes ces molécules sont impliquées dans des phénomènes de reconnaissance nécessaires à la réponse immune (voir chapitre 6).

L'implication des produits du CMH dans l'histocompatibilité n'est mise en évidence que dans la situation de greffe expérimentale ou thérapeutique. Cette fonction non physiologique du CMH doit naturellement être prise en compte lors des transplantations thérapeutiques de tissus ou d'organes. Elle souligne la participation majeure du CMH dans la réponse immune en général et celle des lymphocytes T en particulier. La spécialisation du répertoire des lymphocytes T dans la reconnaissance des produits du CMH reste inexplicée.

## SYSTÈMES MINEURS D'HISTOCOMPATIBILITÉ [7]

De nombreux antigènes non contrôlés par le CMH peuvent induire le rejet des allogreffes. Leur existence est démontrée chez la souris par le rejet des greffes entre donneur et receveur porteurs du même complexe H-2, mais génétiquement différents par ailleurs. Toutefois le rejet est généralement plus lent que celui d'une greffe incompatible H-2. Chez l'homme le même phénomène est observé pour les greffes faites entre germains HLA-identiques. Ces antigènes sont regroupés sous le nom d'antigènes mineurs d'histocompatibilité. Le qualificatif mineur est expliqué par le fait que le rejet de greffe induit par ces incompatibilités non CMH est généralement lent et ne s'accompagne pas de production d'anticorps. Chez la souris, 40 loci mineurs sont identifiés. Ils constituent certainement un groupe très hétérogène dont le seul point commun est d'induire le rejet des greffes de peau. Ceci suggère que les produits de ces loci pourraient être exprimés sur la membrane cellulaire. Les fonctions de ces molécules sont inconnues. Il s'agit probablement d'enzymes, de protéines impliquées dans les transports transmembranaires, de récepteurs, de molécules impliquées dans le métabolisme de la cellule.

Un exemple classique est l'antigène mâle H-Y, responsable du rejet d'une greffe de peau mâle par une femelle de la même lignée (génétiquement identique). Cet antigène mineur est reconnu dans le contexte du CMH, c'est-à-dire que le phénomène de reconnaissance en association décrit plus haut pour les virus et les antigènes protéiques est observé pour un antigène de membrane non-CMH. Il est vraisemblable qu'il en est de même pour la majorité ou la totalité des antigènes mineurs.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BJORKMAN PJ, SAPER MA, SAMRAOUI B, BENNETT WS, STROMINGER JL, WILEY DC. Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature*, 1987, 329 : 506-512.
2. BJORKMAN PJ, SAPER MA, SAMRAOUI B, BENNETT WS, STROMINGER JL, WILEY DC. The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class I histocompatibility antigens. *Nature*, 1987, 329 : 512-518.

3. BROWN JH, JARDEZKY T, SAPER MA, SAMRAOUI B, BJORKMAN PJ, WILEY DC. A hypothetical model of the foreign antigen binding site of class II histocompatibility molecules. *Nature*, 1988, 332 : 845-850.
4. DAUSSET J, PLA M. HLA, complexe majeur d'histocompatibilité de l'homme. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 1985.
5. HOOD L, KRONENBERG M, HUNKAPILLER T. T cell antigen receptors and the immunoglobulin supergene family. *Cell*, 1985, 40 : 225-229.
6. HOOD L, STEINMETZ M, MALISSEN B. Genes of the major histocompatibility complex of the mouse. *Ann Rev Immunol*, 1983, 1 : 529-568.
7. KLEIN J. Natural history of the major histocompatibility complex. John Wiley and Sons, New York, 1986.
8. KLEIN J, FIGUEROA F, NAGY ZA. Genetics of the major histocompatibility complex : the final act. *Ann Rev Immunol*, 1983, 1 : 119-142.
9. MOLLER G. Molecular genetics of class I and II MHC antigens. *Immunological Reviews*, 1985, 84-85.
10. MOLLER G. Molecular genetics of class III MHC antigens. *Immunological Reviews*, 1985, 87.
11. MOLLER G. Antigenic requirements for activation of MHC restricted responses. *Immunological Reviews*, 1987, 98.
12. WILLIAMS AF. A year in the life of the immunoglobulin superfamily. *Immunol Today*, 1987, 28 : 298-303.

## SÉLEC

J. Urba

Il est  
sélection  
passionn  
nologie

On sa  
système  
peut s'a  
souris es  
seulemen  
sents dat  
vis de  
d'ornitho  
ou vis-à-

tisée en  
Les m  
de produ

# RÉGULATION DE LA RÉPONSE IMMUNE

## SÉLECTION CLONALE

J. Urbain

Il est difficile d'évoquer la théorie de la sélection clonale sans faire allusion aux débats passionnés qui ont marqué les débuts de l'immunologie moderne.

On sait depuis longtemps que le répertoire du système immunitaire est très diversifié et qu'il peut s'adapter à l'imprévisible : un lapin ou une souris est capable de synthétiser des anticorps non seulement contre des virus et des bactéries présents dans sa niche écologique, mais aussi vis-à-vis de l'albumine de crocodile, de l'insuline d'ornithorynque, d'une carboxylase d'épinard... ou vis-à-vis d'une substance nouvellement synthétisée en laboratoire et absente dans la nature.

Les mécanismes qui expliquent cette capacité de produire des protéines complémentaires (anti-

corps) aux antigènes ont été l'objet de nombreuses théories.

## THÉORIES EN PRÉSENCE

### Théories instructives

Dans le cadre des théories instructives, l'anticorps était perçu comme un fouet mobile, une structure protéique malléable capable d'adopter au contact du moule (antigène), une structure complémentaire. La structure « instruite » était stabilisée après la séparation avec l'antigène et conservait en quelque sorte le souvenir de son contact.

Cette théorie devait s'effondrer lorsqu'il fut démontré que les anticorps, tout comme les autres protéines, possèdent une structure tridimensionnelle dépendant de leur structure primaire. Ainsi, un anticorps de spécificité anti-X, dénaturé et ensuite renaturé en l'absence totale de l'anti-

gène X, réacquiert sa spécificité originelle (anti-X) même s'il est renaturé en présence d'un antigène Y.

Ces théories instructives furent un des derniers bastions du lamarckisme en biologie. Elles étaient cependant incapables de résoudre le mystère de la capacité, pour un organisme donné, de distinguer le soi du non-soi. Dans des conditions normales, il n'y a pas de synthèse d'anticorps « auto-agressifs » et on comprend mal pourquoi l'hémoglobine d'autruche peut instruire des anticorps de souris alors que l'hémoglobine de souris en est incapable chez la souris elle-même !

### Théories sélectives

En 1955, Jerne proposa une première forme de théorie sélective : l'antigène venu du dehors ne peut rien façonner (instruire) mais peut seulement sélectionner et amplifier des structures préexistantes. Telle est, en fait, l'idée principale de la sélection clonale. Dans une première version, Jerne imagina que l'antigène entrant dans un organisme y trouve des anticorps préexistants, s'y combine et provoque l'autocatalyse de la synthèse de ces anticorps. En fait, il reprit plus ou moins la théorie d'Ehrlich, émise en 1900, qui proposait que la combinaison d'un antigène avec un « récepteur » préformé de cellule B l'activait et la poussait à synthétiser et à sécréter ce récepteur en grande quantité. Ce fut Burnet, en 1958, qui formula la théorie moderne de la sélection clonale. Il postula que les anticorps préexistants de Jerne se trouvaient en fait ancrés dans la membrane cellulaire : chaque lymphocyte mûr mais non encore activé exhibe des récepteurs à l'extérieur de sa surface, propre à lui-même et agissant, comme ceux d'Ehrlich, en tant que récepteurs d'activation de cette cellule capable de donner naissance à un clone de cellules toutes identiques entre elles. Ainsi le répertoire immunitaire d'un individu apte à synthétiser « n » anticorps différents possède au moins « n » clones de *lymphocytes prédéterminés* à la synthèse d'un anticorps, avant toute intrusion d'antigènes.

Supposons que le clone « a » soit spécifique d'un déterminant antigénique du virus de la grippe, le clone « i » spécifique de l'albumine de crocodile et le clone « n » spécifique du virus de la mosaïque du tabac. Si le virus de la grippe est introduit, ce dernier se combinera aux récepteurs du clone « a » mais pas aux récepteurs des clones « i » et « n » ; il suffit alors d'imaginer que le

contact de l'Ag induit la prolifération et la différenciation du clone « a ».

### PREUVES EXPÉRIMENTALES DE LA VALIDITÉ DE LA THÉORIE DE LA SÉLECTION CLONALE

#### Une cellule sécrète un seul type d'anticorps

Nous allons maintenant brièvement exposer les faits principaux qui permettent d'affirmer que l'hypothèse de la sélection clonale est démontrée expérimentalement.

Nous considérerons en premier lieu les cellules productrices d'anticorps (plasmocytes), que nous pouvons mettre en évidence par des techniques d'immunofluorescence. Ainsi, une cellule productrice d'anticorps anti-virus de la mosaïque du tabac (VMT) peut être mise en évidence par incubations successives des cellules fixées (perméabilisées) avec le virus, et avec des anticorps anti-VMT conjugués à un fluorochrome.

Dès lors, une souris immunisée avec deux virus X et Y peut nous aider à répondre à la question suivante : des anticorps anti-X et anti-Y sont-ils produits par la même cellule ou par des cellules différentes ?

Il suffira de prélever la rate de la souris doublement immunisée, d'en faire une suspension et de soumettre les plasmocytes à une incubation avec les deux virus, suivie d'une incubation avec des anticorps anti-X et anti-Y, l'un conjugué à un fluorochrome vert, l'autre à un fluorochrome rouge. Un plasmocyte sécrétant à la fois l'anticorps anti-X et l'anticorps anti-Y apparaîtra orange (mélange de vert et de rouge) au microscope à fluorescence tandis qu'un plasmocyte, *monospécifique* comme le prévoit la *sélection clonale* sera soit vert, soit rouge.

En fait, l'expérience montre que toutes les cellules productrices sont soit vertes, soit rouges, jamais oranges. Ceci implique que les plasmocytes synthétisent des anticorps anti-X ou anti-Y et jamais les deux.

#### Haploïdie fonctionnelle

Un solide argument en faveur de la sélection clonale provient de l'observation de l'exclusion allélique ou haploïdie fonctionnelle. Un lym-

phocyte chaînes lymphocytaires concernent fonction

La si apparaît d'exclus gènes c deux cl rangées pas imm naisons pitre 6).

Les l'haploï connus, ment dé réarrang

#### Cellule

Les r concerné de la lig précurse monospé

Pour disposer Une des du trieur exemple incuber cyanine les lymphocytaires

Il peu lymphocytaires capables d'anticorps

Les l immort démontré que deux nant la

#### CONC

L'ens tout sou

phocyte diploïde se comporte du point de vue des chaînes d'immunoglobulines et des récepteurs des lymphocytes T, comme s'il était fonctionnellement haploïde : un seul chromosome de la paire concernée donne naissance à un réarrangement fonctionnel.

La signification profonde de ce phénomène apparaît aujourd'hui clairement : si le mécanisme d'exclusion allélique n'existait pas, il y aurait des gènes correspondant à deux chaînes lourdes et deux chaînes légères non identiques et réarrangées. En conséquence, le lymphocyte ne serait pas immunosécifique et synthétiserait des combinaisons de ses différentes chaînes (voir chapitre 6).

Les mécanismes permettant de comprendre l'haploïdie fonctionnelle ne sont pas totalement connus, mais il semble qu'un premier réarrangement déclenche des signaux empêchant les autres réarrangements.

### Cellules précurseurs

Les résultats expérimentaux décrits ci-dessus concernent les plasmocytes ou cellules terminales de la lignée de différenciation B. Qu'en est-il des précurseurs ? Peut-on affirmer qu'ils sont aussi monospécifiques ?

Pour répondre à ces questions, nous devons disposer de méthodes permettant de les isoler. Une des techniques utilisées repose sur l'existence du trieur de cellules fluorescentes. On peut, par exemple, prendre la rate d'une souris naïve, incubier les lymphocytes vivants avec de l'hémocyanine fluorescente et le trieur permet de séparer les lymphocytes à récepteurs spécifiques de l'hémocyanine, des autres.

Il peut être démontré aisément que seuls les lymphocytes ayant capté l'hémocyanine sont capables de se transformer en cellules productrices d'anticorps anti-hémocyanine.

Les lymphocytes précurseurs peuvent être immortalisés par différentes techniques et il a été démontré par analyse directe de l'ADN qu'il n'y a que deux réarrangements fonctionnels : un concernant la chaîne H, l'autre la chaîne L.

### CONCLUSION

L'ensemble de ces travaux établit au-delà de tout soupçon la validité des concepts de la

sélection clonale. L'antigène n'apporte aucune information, n'instruit rien; il sélectionne et amplifie ce qu'il trouve de complémentaire à lui dans un vaste répertoire préimmun, ce qui permet aux organismes de s'adapter à l'imprévisible.

## CONTRÔLE GÉNÉTIQUE DE LA RÉPONSE IMMUNE

O. Leo

On sait depuis longtemps que des facteurs génétiques exercent une influence sur la réponse immune. Déjà au XIX<sup>e</sup> siècle, le caractère héréditaire de la sensibilité aux infections à *Corynebacterium diphtheriae* avait été observé, laissant supposer que la résistance ou la sensibilité à la maladie qui en résulte étaient liées à des facteurs génétiques. De même, les animaux de certaines espèces répondent beaucoup mieux que d'autres au même antigène. Par exemple, les lapins répondent généralement très bien aux antigènes protéiques solubles, alors que les souris répondent faiblement. La première expérience qui ait démontré de manière concluante un contrôle génétique sur une réponse immune fut réalisée par l'équipe de Benacerraf [1]. Au cours d'expériences conduites pour étudier l'immunogénicité de polymères simples d'acides aminés, ces auteurs ont remarqué que certains sujets d'une population de cobayes étaient incapables de répondre à cette stimulation antigénique. Les analyses génétiques montrèrent que cette déficience était transmissible héréditairement et, donc, que la réponse à ces antigènes était sous contrôle génétique. Par la suite, l'utilisation de lignées syngéniques de cobayes permit de définir de manière rigoureuse l'existence d'un gène ou d'un groupe de gènes liés qui contrôlent la réponse immune et qui ont été désignés gènes Ir, pour « Immune response genes ». Les analyses génétiques montrèrent ultérieurement que les gènes Ir étaient liés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

Ces dernières années, d'énormes progrès ont été réalisés dans l'étude du contrôle génétique de la réponse immune et il serait trop long d'en faire l'historique. Nous nous contenterons d'en citer les étapes essentielles et de fournir dans ce chapitre les données les plus récentes.

## MÉCANISMES DE CONTRÔLE PAR LES GÈNES *Ir*

### Le contrôle génétique de la réponse immune concerne principalement les lymphocytes T

Bien que la plupart des auteurs aient étudié la synthèse d'anticorps spécifiques d'un antigène, c'est la reconnaissance de l'antigène par les cellules T qui constitue la cible principale du contrôle génétique par les gènes *Ir*. En effet, des animaux non répondeurs à un antigène X peuvent synthétiser des anticorps anti-X si on couple X à une protéine porteuse Y, suggérant que c'est la réponse T anti-X qui est déficiente, et non la réponse B. En accord avec ces résultats, on peut montrer que les animaux non répondeurs à X possèdent un nombre normal de cellules B anti-X.

### Identification des produits des gènes *Ir*

Les analyses génétiques fines, réalisées grâce à l'utilisation de lignées de souris congéniques, ont permis de localiser la plupart des gènes *Ir* dans le CMH et plus particulièrement dans la région codant pour les marqueurs de classe II (protéines Ia chez la souris). Ces gènes codent pour des protéines dont l'expression est pratiquement limitée aux cellules du système immunitaire (lymphocytes, macrophages, cellules dendritiques, etc.), contrairement aux marqueurs de classe I du CMH qui sont exprimés par la grande majorité des cellules somatiques. Plusieurs études ont montré que les cellules T et B n'interagissent de manière optimale que si elles proviennent d'animaux exprimant les mêmes protéines de classe II du CMH (phénomène de restriction du CMH). Il en est de même pour les interactions entre les cellules T et les macrophages. Bien que l'intervention des produits des gènes *Ir* dans les interactions cellulaires ait été reconnue depuis longtemps, c'est grâce aux progrès récents de la génétique moléculaire que la fonction de ces protéines dans la reconnaissance de l'antigène par les cellules T a pu être élucidée.

### Restriction du CMH

Contrairement aux cellules B, les cellules T sont incapables de reconnaître un antigène soluble. Les lymphocytes T ne reconnaissent

l'antigène que s'il est présenté par une autre cellule, en association avec des protéines du CMH. Dans le cas des cellules T auxiliaires, ce sont les protéines de classe II du CMH qui doivent présenter l'antigène. On retrouve ici les mêmes protéines Ia, produits des gènes *Ir*, qui jouent un rôle important dans les interactions cellulaires. Ces dernières années, l'identification des gènes codant pour les récepteurs immunologiques des cellules T et la détermination de la structure tridimensionnelle des protéines du CMH ont permis de mieux comprendre le phénomène de restriction du CMH (voir chapitres 6 et 7). D'après ce modèle, c'est l'établissement d'un complexe réunissant à la fois le récepteur des cellules T, l'antigène et la protéine de classe II du CMH qui permet l'activation de cellules T auxiliaires et l'initiation d'une réponse immune.

On peut donc imaginer que l'incapacité à répondre à un antigène particulier résulte de l'impossibilité de réaliser ce complexe, et ce, pour plusieurs raisons différentes.

### Description des différents mécanismes impliqués

#### *L'antigène X ne s'associe pas à la protéine du CMH*

Récemment, chez la souris, des protéines Ia ainsi que les peptides immunogéniques pour une cellule T ont pu être isolés sous forme soluble. L'utilisation de peptides marqués par des radioisotopes a permis de mettre en évidence une fixation spécifique de ces derniers sur certaines molécules du Ia [2]. On a pu ainsi établir que la capacité d'un individu exprimant un certain Ia à répondre à un antigène était presque strictement tributaire de la possibilité de liaison du même antigène à cet Ia particulier (Tableau 8-I).

**Tableau 8-I** Liaison entre la capacité de fixation d'un antigène à une molécule I-A particulière et la réponse immune.

Antigène	Phénotype/ fixation <i>Ia<sup>d</sup></i>	Phénotype/ fixation <i>Ia<sup>k</sup></i>
Ovalbumine	R/+++	NR/-
Cytochrome c de pigeon	NR/-	R/+++

+++ : fixation de l'antigène sur le I-A correspondant.

- : pas de fixation.

R : répondeur.

NR : non répondeur.

L'ind  
antigèn  
s'expli  
l'antigè  
Cette d  
exempl  
obtient  
aussi b  
l'ovalbu

Absen  
l'indiv  
spécifi

Au c  
clones  
spécifiq  
inactivé  
tions, p  
l'associ  
détermin  
souris) g  
similitud  
exprima  
de répo  
récemm  
[4]. La  
GT (glu  
gènes Ia  
l'allèle I  
que les  
génétiqu  
réponde  
gènes di  
l'autre  
d'après  
I-A<sup>d</sup> gén  
créé par  
Il a été  
reconnai  
sent aus  
exprimar  
(GT), et  
autoréact  
dans le r  
tion de  
tolérance

Inducti

La ré  
lysozyme  
troisième  
immune  
montré



une autre protéines du CMH ont nomène de s 6 et 7). ement d'un cepteur des classe II du les T auxi- nmune. ncapacité à résulte de et ce, pour

protéines Ia es pour une me soluble. des radio- idence une ur certaines tablir que la certain Ia à strictement du même a 8-I).

fixation d'un onse immune.

Phénotype/  
fixation  
Ia<sup>k</sup>

NR-  
R/+++

espondant.

L'incapacité d'un individu à répondre à un antigène particulier peut donc, dans certains cas, s'expliquer par l'absence de liaison entre l'antigène et un Ia déterminé (voir Tableau 8-I). Cette déficience est récessive et si l'on croise par exemple des souris Ia<sup>d</sup> avec des souris Ia<sup>k</sup>, on obtient des hybrides F1 qui peuvent répondre aussi bien au cytochrome c de pigeon qu'à l'ovalbumine.

#### *Absence dans le répertoire de l'individu de cellules T spécifiques de l'antigène*

Au cours du développement embryonnaire, les clones lymphocytaires exprimant des récepteurs spécifiques pour des constituants du soi sont inactivés et ne peuvent plus, sauf rares exceptions, prendre part à une réponse immune. Si l'association d'un antigène avec une protéine déterminée de classe II du CMH (Ia chez la souris) génère un motif antigénique présentant des similitudes avec un constituant du soi, l'individu exprimant cet Ia particulier devrait être incapable de répondre à cet antigène. Cette hypothèse a récemment trouvé sa confirmation expérimentale [4]. La réponse immune au polymère synthétique GT (glutamine-tyrosine) est sous le contrôle de gènes Ia. La plupart des lignées qui expriment l'allèle I-A<sup>d</sup> ne répondent pas à cet antigène, alors que les lignées I-A<sup>s</sup> le peuvent. Les analyses génétiques ont montré que le phénotype non répondeur est en fait lié à la présence de deux gènes distincts, l'un codé dans le CMH (I-A<sup>d</sup>) et l'autre (Im<sup>st</sup>) non lié à ce locus. Il apparaît d'après ces études que l'association de GT avec I-A<sup>d</sup> génère un motif antigénique similaire à celui créé par le produit du gène cellulaire Im<sup>st</sup> et I-A<sup>d</sup>. Il a été possible de montrer que les cellules qui reconnaissent GT en association avec I-A<sup>d</sup> réagissent aussi avec la surface cellulaire de cellules exprimant le gène Im<sup>st</sup> en absence d'antigène (GT), et se comportent donc comme des cellules autoréactives. Des « trous » apparaissent donc dans le répertoire. Ils sont le résultat de l'élimination de cellules autoréactives par le jeu de la tolérance naturelle.

#### *Induction de cellules T suppressives*

La réponse immune des souris I-A<sup>b</sup> au lysozyme de poulet a permis de découvrir un troisième mécanisme de contrôle de la réponse immune par les gènes Ia [3]. Il a en effet été montré dans ce système que les cellules T

auxiliaires (CD4<sup>+</sup>) isolées d'individus non répondeurs étaient capables de répondre in vitro au lysozyme. Si des cellules isolées des mêmes individus sont ajoutées à ces cultures, elles provoquent une suppression qui empêche toute réponse envers l'antigène. Des études ultérieures ont montré que la molécule de lysozyme présentait deux régions distinctes, l'une capable de stimuler des cellules T auxiliaires (peptide III), l'autre des cellules T suppressives (région N-C). L'injection de lysozyme « amputé » de la région N-C est d'ailleurs parfaitement capable d'induire une réponse immune chez des animaux non répondeurs. Dans cet exemple, la non-réponse contre un antigène s'explique donc par la stimulation, uniquement chez les individus de phénotype I-A<sup>b</sup>, de cellules suppressives qui empêchent spécifiquement la prolifération et l'action de cellules T auxiliaires indispensables à l'activation des cellules B.

#### *LES AUTRES GÈNES QUI INTERVIENNENT DANS LE CONTRÔLE DE LA RÉPONSE IMMUNE*

D'autres gènes capables d'influencer la réponse immune, non liés au locus du CMH, ont également été décrits. Par exemple, l'absence de gènes de structure codant pour les récepteurs T ou B peut expliquer certains phénotypes non répondeurs. D'autres études ont permis d'identifier des gènes indépendants du CMH conférant la sensibilité à certaines infections. Toutefois, leur mode d'action n'a pas encore été entièrement élucidé.

#### *CONCLUSION*

En conclusion, dans la plupart des cas étudiés, les gènes responsables d'un phénotype non répondeur sont localisés dans le CMH. Ce mécanisme de contrôle génétique d'une réponse immune a été décrit actuellement pour plusieurs antigènes et dans plusieurs espèces, comme la souris, le rat, certains singes et probablement l'homme. Le phénomène a été mis en évidence grâce à l'utilisation d'antigènes de structure simple ou d'antigènes protéiques de petite taille présentant un faible nombre d'épitopes. Il serait en effet très improbable pour un individu donné d'être non répondeur vis-à-vis de tous les déterminants d'un

antigène complexe comme un virus ou une bactérie. Toutefois, l'étude du contrôle génétique de la réponse immune est un élément qui intervient dans le développement de nouveaux vaccins obtenus par recombinaison génétique, approche qui se base sur l'identification et l'utilisation d'un nombre réduit de déterminants antigéniques.

## RÉSEAU IDIOTYPIQUE

J. Urbain

### IDIOTYPIE

Ainsi qu'il a été rappelé ailleurs (voir notamment la sélection clonale), le système immunitaire est caractérisé par l'extraordinaire diversité de son répertoire.

Les problèmes posés par cette diversité deviennent encore plus aigus si l'on considère le phénomène de l'idiotypie, découvert par J. Oudin, H. Kunkel et A. Kelus. Cette découverte repose sur le dualisme d'une immunoglobuline. Non seulement une immunoglobuline peut être un anticorps mais peut également constituer un antigène, c'est-à-dire induire des anticorps (ou anti-anticorps) qui à leur tour peuvent induire d'autres anticorps (ou anti-anti-anticorps)...

Dans les expériences classiques de Oudin, des bactéries du genre *Salmonella* sont inoculées à un lapin. Ce dernier répond par la synthèse d'anticorps spécifiques, anti-*Salmonella* (aussi appelés anticorps de première génération ou Ab1). Ces anticorps Ab1, injectés à d'autres lapins vont susciter l'apparition d'anticorps dont le site actif reconnaît celui des anticorps Ab1. Ces anticorps de 2<sup>e</sup> génération ou Ab2 reconnaissent les anticorps Ab1 (anti-*Salmonella*) du premier lapin (celui qui a fourni l'Ab1 immunogène), mais pas les anticorps anti-*Salmonella* d'autres lapins, ni les anticorps antipneumocoques du lapin qui a synthétisé l'Ab1 de départ.

Ainsi les anticorps Ab2 sont-ils spécifiques non seulement des anticorps anti-*Salmonella*, mais aussi de ceux de l'individu qui a formé les Ab1 (encore appelés idiotypes du grec *idios* : propre, particulier). Chaque individu utilise, en réponse à un antigène donné, un répertoire qui lui est propre, particulier, et d'une manière générale les

enfants synthétisent des idiotypes différents de ceux des parents. On peut donc imaginer une cascade infinie Ab1, Ab2, Ab3, Ab4, ... Abn, d'anticorps.

La règle énoncée ci-dessus souffre des exceptions et, dans certains cas, des individus génétiquement très semblables (par exemple des individus d'une lignée consanguine de souris) synthétisent des Ab1 quasi identiques : on parle ici d'idiotypes récurrents ou dominants dans un groupe d'individus.

### RÉSEAU IDIOTYPIQUE

A ce stade, se pose une question cruciale, celle de la tolérance vis-à-vis du soi. On sait que le système immunitaire est capable de faire la distinction entre le soi et le non-soi. Le soi somatique (tout le soi sauf les immunoglobulines et les récepteurs de lymphocytes T), correspond à environ  $10^6$  épitopes. La présence de ces épitopes doit entraîner la délétion et/ou l'inactivation d'une partie importante du répertoire immunologique (10-20 p. cent ?).

Qu'en est-il du soi immunologique (idiotopes = épitopes associés aux zones hypervariables des anticorps et récepteurs T) ? On estime qu'une souris est potentiellement capable de synthétiser  $10^8$  à  $10^9$  récepteurs immunologiques. La diversité est telle qu'il semble impossible d'imaginer qu'il n'y ait pas coexistence au sein du répertoire d'un individu, de récepteurs complémentaires (Ab1 et Ab2). En d'autres termes, le répertoire étant complet, le système immunologique ne peut éviter de se reconnaître lui-même.

Dès lors si l'on applique les mêmes règles qu'au soi somatique, on aboutit au paradoxe de l'ensemble vide : au fur et à mesure que le système immunologique se crée, il se paralyse par la tolérance naturelle. Il est important de noter que la notion de coexistence d'éléments complémentaires (Ab1 et Ab2 anti-Ab1), déduite initialement d'une nécessité statistique a reçu de nombreuses confirmations expérimentales. Ainsi, l'injection d'un activateur polyclonal permet d'activer simultanément des clones sécréteurs d'Ab1 et des clones sécréteurs d'Ab2. Il est aussi possible d'induire des anticorps anti-idiotypiques dans le même animal qui a précédemment synthétisé des Ab1 en réponse à un antigène.

Il apparaît donc que le soi somatique et le soi immunologique doivent être traités différemment

et que l'immunité vis-à-vis de soi-même (formel (taires) de fonctionnel de rôle régulateur immunitaire)

Par exemple, que l'apoptose étant corrélée à l'immunité immune et l'implication

D'autres reconnaissances, en particulier, permet d'« une capables l'antigène

### APPROCHE

De nombreux concepts retombés

Examinons l'idiotype des anticorps anti-anticorps tout, en synthèse la syntonie (Ab3) constitué propriété autre sous-composé idiotypique liant pas sous-groupe des spécificités lie à l'antigène que peuvent anti-bactériens jamais reconnaître anticorps interne »

Cette nouvelle approche utile lors disponible

et que le système immunitaire naît non tolérant vis-à-vis de ses propres idiotypes. Ainsi, le réseau formel (coexistence de récepteurs complémentaires) conduit à l'hypothèse d'un réseau fonctionnel dans lequel les idiotypes peuvent jouer un rôle régulateur dans le fonctionnement du système immunitaire.

Par exemple, l'intrusion d'un antigène provoque l'apparition d'idiotypes Ab1; ces derniers étant considérés comme étrangers par le système immunitaire induisent une deuxième réponse immune (auto-Ab2) capable de réguler l'intensité et l'importance de la première réponse immune.

D'autre part, l'existence de phénomènes d'auto-reconnaissance à l'intérieur du système immunitaire, en l'absence totale d'antigènes étrangers, permet d'imaginer que ce système est doué d'« une vie intérieure » [activation et suppression capables d'influencer les répertoires accessibles à l'antigène (par exemple, le choix d'un idiotype)].

### APPROCHE EXPÉRIMENTALE

De nombreuses expériences peuvent illustrer les concepts essentiels du réseau et montrer que des retombées médicales pourraient surgir.

Examinons une cascade idiotypique : un idiotype de départ (Ab1), par exemple un anticorps anti-virus, est utilisé pour induire des anticorps anti-idiotypiques (Ab2) qui sont, à leur tour, employés comme immunogènes. Ils induisent la synthèse d'anticorps de troisième génération (Ab3). Parmi ces Ab3, il y a un sous-groupe constitué d'anticorps anti-Ab2 n'ayant aucune propriété commune avec les Ab1 de départ. Un autre sous-groupe beaucoup plus abondant est composé de molécules partageant des spécificités idiotypiques avec les anticorps Ab1 mais ne se liant pas à l'antigène (parallèle set). Un troisième sous-groupe d'anticorps partage non seulement des spécificités idiotypiques avec l'Ab1, mais se lie à l'antigène. Ainsi des anticorps anti-idiotypiques peuvent induire des anticorps anti-virus, anti-bactériens... chez des animaux qui n'ont jamais rencontré ni le virus, ni la bactérie. De tels anticorps anti-idiotypiques sont appelés « image interne » de l'antigène.

Cette propriété peut être utilisée pour créer un nouveau type de vaccins, les vaccins idiotypiques, utiles lorsque l'antigène n'est pas facilement disponible.

Dans des conditions appropriées, des anticorps anti-idiotypiques pourraient être utilisés lors de manipulations spécifiques d'une réponse immune dans un sens prédéterminé : dans un cadre expérimental, on peut susciter « de novo » l'induction d'une réponse immune qui était inexistante, ou amplifier une réponse faible. On peut également supprimer d'une manière spécifique une réponse immune indésirable.

De nombreuses expériences suggèrent que des phénomènes de cascades idiotypiques sont déclenchés dans un même individu. Par exemple, l'injection d'un idiotype étranger (Ab1), peut susciter l'apparition d'anticorps de même spécificité. De tels résultats ne sont explicables que si l'idiotype étranger a activé des clones lymphocytaires, possédant comme récepteurs immunologiques, des images internes de l'antigène (Ab2), qui à leur tour activent des clones complémentaires, sécréteurs d'anticorps spécifiques de l'antigène.

D'autres expériences suggèrent que les lymphocytes T qui subissent un double processus de sélection dans le thymus (apprentissage de la restriction H2 et tolérance naturelle), sont soumis à une sélection idiotypique.

Il semble donc que les « jeux idiotypiques » fassent partie de la vie du système immunitaire, ce qui est précisément l'hypothèse-clé du réseau.

L'énorme diversité du répertoire crée la connectivité et l'apparition d'images internes : le système immunitaire utilise cette diversité pour sa propre régulation.

### INTERACTIONS NEURO- ENDOCRINO-IMMUNITAIRES

V. Geenen, J.-J. Legros, P. Franchimont

A côté de ses mécanismes intrinsèques de contrôle, le système immunitaire est également placé sous l'influence modulatrice du système neuro-endocrinien (Fig. 8-1). La richesse et la complexité des interactions existant entre les deux principaux systèmes de communications intercellulaires des êtres vivants sont apparues à la lumière d'un vaste courant de recherches récentes. Le texte qui suit essaie de présenter un relevé objectif de l'étendue de ces interactions, depuis le niveau systémique jusqu'au niveau moléculaire.

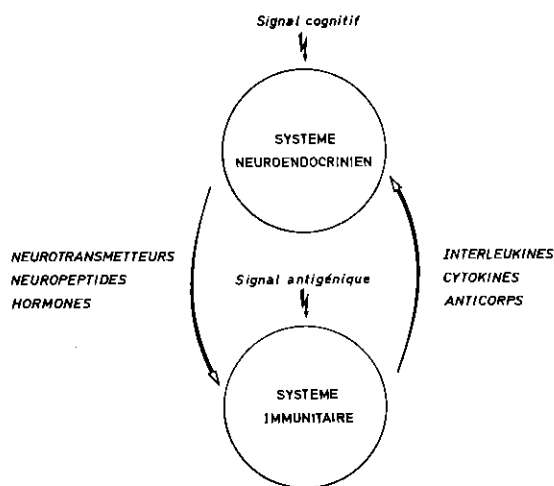


Figure 8-1 Schéma général des interactions neuroendocrino-immunitaires.

Certaines relations avec la pathologie seront également esquissées mais il importe d'être prudent : ce domaine de recherches est neuf et fertile, mais beaucoup d'études sont encore nécessaires pour valider certains concepts et établir l'intervention effective de ces interactions dans la pathogénie de certaines affections.

### CONTRÔLE NEURO-ENDOCRINIEN DE LA RÉPONSE IMMUNE

Le contrôle intégratif exercé par les centres nerveux supérieurs sur les défenses immunes est suggéré par de nombreuses observations qui vont de l'immunodépression relative des états de « stress » aux essais de conditionnement de la réponse immune et aux variations de l'immunité humorale ou cellulaire induites par des lésions neuroanatomiques, corticales ou hypothalamiques. Les voies par lesquelles le système nerveux peut exercer ce contrôle sur le système immunitaire sont l'axe hypothalamo-hypophysaire, le système nerveux autonome et le système neuro-endocrinien diffus.

#### L'axe hypothalamo-hypophysaire

L'hypothalamus contrôle directement la sécrétion des hormones trophiques antéhypophysaires,

que celles-ci agissent par elles-mêmes sur les tissus-cibles (comme l'hormone de croissance ou la prolactine) ou par l'intermédiaire de la glande-cible (cortex surrénalien, thyroïde et gonades). Par le lobe postérieur de l'hypophyse, les neurones hypothalamiques libèrent directement dans le courant sanguin leurs produits de sécrétion comme la vasopressine et l'ocytocine. L'activité hypothalamique est elle-même sous l'influence d'influx neurovégétatifs, de stimuli externes et de rythmes circadiens endogènes; l'axe hypothalamo-hypophysaire constitue donc un relais essentiel des stimuli cognitifs vers le milieu intérieur. Il n'est pas possible de décrire ici en détail les différentes composantes de cet axe et leurs multiples connexions avec le système immunitaire. A titre d'exemple, l'inhibition exercée par l'axe corticotrope sur les fonctions immunes est connue depuis longtemps, et l'action inhibitrice des glucocorticoïdes à différents niveaux de la chaîne d'activation lymphocytaire est à la base de leur usage dans des schémas thérapeutiques à visée immunosuppressive non spécifique. De même, les stéroïdes gonadiques et, en particulier, la balance œstroprogestative sont des facteurs importants susceptibles d'intervenir dans la pathogénie des maladies auto-immunes et dans la variation de la réactivité immune observée à certaines périodes de la vie, comme la grossesse et le post-partum.

#### Innervation autonome des organes lymphoïdes

Des études neuroanatomiques minutieuses ont montré que l'ensemble des organes lymphoïdes (thymus, rate, ganglions et plaques de Peyer) sont innervés par des fibres para- et orthosympathiques. Ces fibres se terminent soit au contact de cellules parenchymateuses comme celles de l'épithélium thymique, soit directement au contact de cellules lymphocytaires. Au cours de l'ontogenèse thymique, l'innervation de l'ébauche embryonnaire par des rameaux du nerf vague précède le déploiement des cellules épithéliales en zones médullaire et corticale externe, ainsi que la migration des premiers précurseurs thymocytaires. Plus tard, l'ébauche thymique reçoit aussi une innervation orthosympathique à partir du ganglion stellaire et de la chaîne ganglionnaire thoracique. Chez la souris « nude », le rudiment thymique semble interrompre sa différenciation à un stade qui coïncide avec le début de l'innervation

autonom  
« nude  
celui d  
Les  
autonom  
il est  
seuleme  
sulaire,  
la sécré  
différen  
choline  
identifié  
lympho  
giques  
l'AMP  
la lymph  
notam  
l'interle

#### Système

Le co  
1938 pa  
grand n  
rables p  
répartie  
riques,  
respirato  
cellules  
crine. D  
réactual  
certaine  
et qui  
Precurs  
découve  
neurone  
endocrin  
sous le  
diffus »  
au sein  
se carac  
marque  
neurona  
granine  
sécrétio  
sidique  
de ce s  
neurale,  
L'intéré  
diffus e  
suscepti  
micro-e  
ainsi né  
générale

mes sur les  
croissance ou  
de la glande-  
et gonades).  
physe, les  
directement  
de sécrétion  
e. L'activité  
s l'influence  
externes et de  
ypothalamo-  
lais essentiel  
intérieur. Il  
en détail les  
xe et leurs  
me immuni-  
exercée par  
immunes est  
on inhibitrice  
veaux de la  
à la base de  
apeutiques à  
écifique. De  
n particulier,  
des facteurs  
dans la patho-  
et dans la  
observée à  
la grossesse

nutieuses ont  
lymphoïdes  
e Peyer) sont  
thosymphathi-  
u contact de  
celles de  
ent au contact  
rs de l'onto-  
le l'ébauche  
nerf vague  
pithéliales en  
, ainsi que la  
ymocytaires.  
oit aussi une  
r du ganglion  
e thoracique.  
ent thymique  
n à un stade  
l'innervation

autonome et, à l'âge adulte, le thymus de la souris « nude » semble moins richement innervé que celui d'autres souches.

Les fonctions précises de l'innervation autonome sont encore largement inconnues, mais il est vraisemblable qu'elles interviennent non seulement sur le contrôle du flux sanguin intratis-sulaire, la circulation des cellules lymphocytaires, la sécrétion de facteurs locaux, mais aussi sur la différenciation des lymphocytes. Des récepteurs cholinergiques et adrénergiques (de type  $\beta$ ) ont été identifiés à la surface de thymocytes et de lymphocytes T activés. Les agonistes pharmacologiques de type  $\beta$ -adrénergiques exercent, via l'AMP cyclique intracellulaire, une inhibition sur la lymphogénèse et l'activation lymphocytaire, notamment l'expression du récepteur à l'interleukine 2.

### Système neuro-endocrinien diffus

Le concept de ce système a été introduit en 1938 par Feyrter qui avait décrit la présence d'un grand nombre de cellules « claires », non colorables par les méthodes histologiques classiques, réparties dans la plupart des organes périphériques, la peau, le tube digestif et le tractus respiratoire. Cet auteur avait déjà attribué à ces cellules un rôle régulateur local, de type paracrine. Dans les années soixante, le concept a été réactualisé par Pearse qui mit en évidence certaines propriétés biochimiques de ces cellules et qui qualifia ce système d'APUD (Amine Precursor Uptake and Decarboxylation). La découverte récente de peptides identiques dans des neurones et dans différentes cellules à fonction endocrine aboutit à l'unification de ces systèmes sous le vocable de « système neuro-endocrinien diffus ». Outre l'identification de neuropeptides au sein de ses composantes cellulaires, ce système se caractérise aussi par la présence de certains marqueurs comme la  $\gamma$ -énolase ou énolase neuronale (enzyme glycolytique), la chromogranine (protéine associée aux granules de sécrétion), ou encore l'A2B5 (complexe gangliosidique membranaire). L'origine embryologique de ce système, attribuée par Pearse à la crête neurale, est encore très discutée à l'heure actuelle. L'intérêt majeur du système neuro-endocrinien diffus est que sa disposition anatomique le rend susceptible d'intervenir dans la constitution de micro-environnements tissulaires et d'exercer ainsi non seulement un contrôle sur la fonction générale d'un organe, mais aussi un rôle immuno-

modulateur local. Les exemples qui suivent tenteront d'illustrer l'importance du système neuro-endocrinien diffus et de ses médiateurs peptidiques sur les processus locaux d'immunorégulation.

### Substance P

Ce peptide de onze acides aminés appartient à la classe des tachykinines et provient du clivage enzymatique d'un précurseur de haut poids moléculaire, la protachykinine A. La substance P avait été identifiée dès 1931 dans des extraits de cerveau et d'intestin de cheval comme un facteur pouvant induire une baisse de la tension artérielle et une stimulation des contractions intestinales. La substance P est largement distribuée dans le système nerveux central et périphérique, les ganglions spinaux et les fibres nerveuses autonomes du tube digestif. Au niveau des ganglions spinaux, la biosynthèse de la substance P est suivie d'un transport axonal bidirectionnel, vers la moelle épinière d'une part (conduction orthodromique), et vers les tissus périphériques d'autre part (conduction antidromique). La conduction orthodromique de la substance P est impliquée dans la transmission centrale des influx douloureux, tandis que la libération périphérique de substance P pourrait moduler les phénomènes inflammatoires induits par une agression locale.

Des études récentes ont démontré les propriétés immunostimulantes de la substance P sur la prolifération des cellules T, la dégranulation des mastocytes, ainsi que la production d'interleukine 1 (IL-1) et du facteur nécrosant des tumeurs (TNF) par les macrophages. Des récepteurs stéréospécifiques de la substance P sont exprimés à la surface de cellules T auxiliaires et cytotoxiques. La possibilité d'une libération antidromique de tachykinines par les fibres nerveuses sensibles, l'induction de lésions arthritiques expérimentales par l'injection intra-articulaire de substance P, et la découverte de concentrations élevées de tachykinines dans le liquide synovial d'articulations enflammées, suggèrent fortement l'intervention de ces peptides dans la pathogénie de certaines affections rhumatismales. Des antagonistes spécifiques de la substance P pourraient dès lors présenter un intérêt thérapeutique.

### Ocytocine. Vasopressine. Neurophysines

L'ocytocine et la vasopressine sont des peptides de neuf acides aminés, synthétisés par les neurones des noyaux hypothalamiques supraop-

tique et paraventriculaire sous la forme de précurseurs de haut poids moléculaire et sous le contrôle de deux gènes distincts. Au cours du transport axonal vers la neurohypophyse, les précurseurs sont scindés par clivage enzymatique et donnent naissance aux deux nonapeptides d'une part, et aux protéines de 10 000 daltons qui leur sont associées, les neurophysines I et II, d'autre part. Les peptides neurohypophysaires sont également synthétisés dans les gonades et les glandes surrénales.

L'ocytocine et la vasopressine sont aussi détectées dans le thymus de différentes espèces. Dans l'espèce humaine, la synthèse locale de ces peptides est confirmée par l'identification des ARN messagers dans des extraits de thymus. L'immunocytochimie révèle que cette synthèse se produit au niveau des cellules épithéliales de la médullaire et de la zone sous-capsulaire thymiques, chez l'homme comme chez la souris. Une population particulière de l'épithélium sous-capsulaire, les cellules nourrices « nurses », se caractérise par l'expression de plusieurs marqueurs neuro-endocriniens (A2B5,  $\gamma\gamma$ -énolase et présence de neuropeptides dans le cytoplasme). Il semble donc que, dès les premiers stades de la différenciation des cellules T, un dialogue étroit s'installe entre les systèmes neuro-endocrinien et immunitaire, au niveau de micro-environnements spécialisés comme les complexes lympho-épithéliaux des cellules nourrices. L'ocytocine et la vasopressine thymiques pourraient constituer des facteurs importants de ce dialogue et intervenir comme signaux d'activation précoce au début de la différenciation des lymphocytes T. Un premier argument en faveur de cette hypothèse est l'expression de récepteurs pour ces peptides par une lignée lymphocytaire de phénotype immature, dérivée d'un lymphome thymique de souris. Par ailleurs, la vasopressine et l'ocytocine possèdent certaines propriétés immunomodulatrices comme la capacité de remplacer l'interleukine 2 pour stimuler la production d'interféron gamma dans un modèle expérimental de cytotoxicité.

### Opiacés

Trois types de précurseurs existent pour les peptides opioïdes : la proenképhaline A, précurseur de la met- et de la leu-enképhaline; la proenképhaline B, précurseur de la dynorphine et d'autres peptides capables de reconnaître les récepteurs morphiniques; enfin, la proopiomélanocortine, précurseur de la  $\beta$ -endorphine et de la

corticotrophine (ACTH). A cette hétérogénéité des signaux peptidiques correspond une hétérogénéité des récepteurs qui se répartissent en trois classes principales  $\mu$ ,  $\kappa$  et  $\delta$ . Depuis 1979, la présence de récepteurs morphiniques est décrite à la surface de lymphocytes en relation avec des actions immunomodulatrices comme la stimulation de la production d'interleukine 2 et de l'expression de son récepteur, l'augmentation de l'activité NK, et l'induction de certains marqueurs phénotypiques. Ces propriétés ont surtout été décrites pour la met-enképhaline. Les effets des endorphines semblent moins univoques et dépendent étroitement de la dose utilisée.

### Neurotensine

Ce peptide de treize acides aminés est présent dans différents sites du système nerveux central, dans la moelle épinière et dans le tube digestif, au niveau de l'épithélium intestinal et de terminaisons nerveuses. La neurotensine stimule la dégranulation des mastocytes, la production d'interleukine 1 par les macrophages alvéolaires et elle active le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles.

### Peptide intestinal vasoactif (VIP)

Ce peptide de vingt-huit acides aminés a d'abord été identifié comme une substance vasodilatatrice contenue dans le parenchyme pulmonaire, puis a été isolé et séquencé à partir d'extraits intestinaux. Le VIP est aussi présent dans le système nerveux central et au niveau des terminaisons autonomes, souvent cholinergiques. Des récepteurs au VIP ont été caractérisés au niveau de cellules mononucléées périphériques humaines, de lymphocytes T humains et au niveau de la lignée lymphoblastique Molt-4b. La fixation du VIP à son récepteur induit une activation de l'adénylate-cyclase lymphocytaire, une diminution de la prolifération des cellules T stimulées par la phytohémagglutinine ou la concanavaline, ainsi qu'une inhibition de la migration des cellules hors des structures lymphoïdes.

### Somatostatine

Il existe encore peu de données sur un rôle immunomodulateur éventuel de la somatostatine, mais elle semble également capable d'activer l'adénylate-cyclase lymphocytaire et d'exercer ainsi une inhibition de la prolifération et de certaines fonctions lymphocytaires plus différenciées.

### Facteurs

Depuis pour l'in... décrite à... d'activati... facteur d... T, agissa... comme l... lymphoc... laire. D... cellules... du transp... oxydatio... phorylati... de ce q... étroitem... de type... vent de... laires. ... utilisées... lors, un... pourrait... l'insulin... facteurs... IGF-II). ... facteurs... membra... la phyt... message... identifié... que les... l'hormo... inductio...

Les fa...  $\beta$ ) sont... mation... cellules... un pept... par diff... lier au... croissan... dimère... logie q... synthét... et par... stimule... cellules... et des... Plusieu... les pro... que sa... Ces pré... dose d...

### Facteurs de croissance tissulaire

Depuis longtemps, l'expression de récepteurs pour l'insuline et l'hormone de croissance est décrite à la surface de lymphocytes en cours d'activation. Il semble que l'insuline constitue un facteur de croissance « mineur » pour les cellules T, agissant de concert avec d'autres molécules, comme la transferrine, pour activer le passage des lymphocytes en phases G<sub>1b</sub> et S du cycle cellulaire. Des effets directs de l'insuline sur les cellules T ont été observés, comme la stimulation du transport transmembranaire du glucose et son oxydation intracellulaire, de même que la phosphorylation de son propre récepteur. L'expression de ce dernier par les cellules T activées est étroitement liée à une augmentation des molécules de type glycosyl-phosphatidyl-inositols qui servent de précurseurs pour des messagers intracellulaires. Toutefois, les concentrations d'insuline utilisées sont souvent supra-physiologiques et, dès lors, une partie des effets biologiques observés pourrait être tributaire d'une réaction croisée de l'insuline au niveau des récepteurs pour les facteurs de croissance « insulin-like » (IGF-I et IGF-II). Des récepteurs spécifiques pour ces facteurs ont été identifiés récemment sur la membrane de lymphocytes T humains activés par la phytohématagglutinine. Par ailleurs, les ARN messagers de l'IGF-I et de l'IGF-II ont été identifiés dans le thymus foetal, ce qui suggère que les actions thymotrophiques décrites pour l'hormone de croissance sont relayées par une induction de la synthèse locale de ces facteurs.

Les facteurs de transformation  $\alpha$  et  $\beta$  (TGF $\alpha$  et TGF $\beta$ ) sont des peptides capables d'induire la transformation réversible du phénotype de différentes cellules de mammifères en culture. Le TGF $\alpha$  est un peptide de cinquante acides aminés, synthétisé par différentes lignées cellulaires et capable de se lier au même récepteur que celui du facteur de croissance épidermique. Le TGF $\beta$  est un homodimère de 25 000 daltons, présentant une homologie de structure avec l'inhibine et qui est synthétisé dans le rein, le placenta, les plaquettes et par les cellules T activées. Le TGF $\beta$  peut stimuler ou inhiber la croissance de certaines cellules en fonction des conditions expérimentales et des autres facteurs de croissance en présence. Plusieurs études très récentes ont mis en évidence les propriétés immunodépressives du TGF $\beta$  ainsi que sa capacité de désactiver les macrophages. Ces propriétés sont toutefois étroitement liées à la dose de TGF $\beta$  employée.

### RÉTROCONTRÔLE IMMUNO-NEURO-ENDOCRINIEN

#### Actions neuro-endocrines des cytokines

L'interleukine 1 (IL-1) est capable d'activer l'axe hypothalamo-hypophysio-surrénalien par une action probablement double, au niveau de l'hypothalamus (ou de l'éminence médiane) sur la sécrétion du facteur de libération de l'ACTH (CRF), et au niveau de l'antéhypophyse, sur la sécrétion d'ACTH par les cellules corticotropes. L'IL-1 stimule aussi la sécrétion de thyrotrophine, d'hormone de croissance et d'hormone lutéinisante, mais elle inhibe celle de prolactine. L'interleukine 2 ne modifie pas les sécrétions antéhypophysaires de manière significative.

La question d'un éventuel passage de la barrière hémato-encéphalique par les facteurs immunitaires n'est pas encore résolue, mais l'IL-1 et d'autres cytokines pourraient traverser cette barrière par un système de récepteurs spécifiques localisés à la surface des cellules endothéliales, analogues à ceux qui ont été décrits pour l'insuline, la transferrine, l'albumine et les IGFs. Par ailleurs, les cellules de la microglie — qui représentent une forme de spécialisation des macrophages dans le système nerveux central — et les cellules astrocytaires sont susceptibles de se comporter comme des présentateurs de fragments antigéniques et de synthétiser des molécules de type interleukine, notamment au voisinage de l'éminence médiane. Enfin, des récepteurs de l'IL-1 sont exprimés par plusieurs structures nerveuses centrales et, en particulier, dans plusieurs zones hypothalamiques.

L'activation hypothalamo-corticotrope induite par l'IL-1 et l'activation surrénalienne qui en résulte constituent certainement un moyen de contrôle physiologique efficace de la réponse immune, empêchant tout développement excessif de celle-ci. Un hypofonctionnement de cette boucle de rétrocontrôle a été démontré dans un modèle expérimental de maladie auto-immune, la thyroïdite spontanée du poulet obèse, et pourrait expliquer en partie l'hyperréactivité immune observée dans ce type d'affection.

#### Hormones peptidiques synthétisées par les cellules immunitaires

Certaines études ont mis en évidence la capacité pour des cellules immunitaires, dans des condi-

tions précises de stimulation, de produire des facteurs neuro-endocriniens. La synthèse par les lymphocytes de peptides dérivés de la proopiomélanocortine (ACTH,  $\beta$ -endorphine) a été particulièrement étudiée. L'ACTH lymphocytaire a été caractérisée tant du point de vue de ses propriétés physicochimiques (chromatographie, HPLC) que biologiques (stimulation de la fonction corticosurrénalienne). Le gène de la proopiomélanocortine est transcrit par les cellules lymphocytaires infectées par le virus de Newcastle, mais aussi au repos par les macrophages spléniques. Le contrôle de la production d'ACTH par les lymphocytes présente certaines similitudes avec le contrôle antéhypophysaire : le CRF augmente le pourcentage de lymphocytes marqués en immunofluorescence par un antisérum anti-ACTH, une action qui est activée en synergie avec la vasopressine; la dexaméthasone inhibe complètement la production lymphocytaire d'ACTH, au repos ou en condition de stimulation.

D'autres productions potentielles d'hormones par des éléments immunitaires ont été caractérisées à des degrés divers comme celles d'hormone de croissance (leucocytes de rat), de prolactine (lymphocytes de rat, lignée lymphomateuse NB2), de thyrotrophine (lymphocytes humains et murins stimulés par l'entérotoxine staphylococcique A, lignée leucémique à cellules T humaines Molt-4b), et de gonadotrophine chorionique humaine (cultures mixtes de lymphocytes humains). Comme les récepteurs correspondant à la plupart de ces hormones sont également exprimés par des lymphocytes, ces messagers peptidiques peuvent aussi jouer un rôle de type paracrine/autocrine au sein du système immunitaire.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'homéostasie du milieu interne des êtres vivants supérieurs dépend de l'équilibre et de l'étroite coordination entre les deux grands systèmes de communications intercellulaires, les systèmes neuroendocrinien et immunitaire. Au cours de l'évolution, un certain nombre de peptides biologiquement actifs ont été sélectionnés comme vecteurs de ces communications. Certains d'entre eux, ou leurs ancêtres, existaient déjà et sont encore retrouvés au sein d'organismes primi-

tifs uni- ou paucicellulaires. Parallèlement à la complexité des organismes, il s'est développé une complexité des formes de communications entre leurs composantes cellulaires : autocrine, paracrine, endocrine, neurocrine. Mais, plutôt que de procéder uniquement par une diversification des signaux eux-mêmes, l'évolution semble avoir manifesté une certaine économie en multipliant leurs potentialités fonctionnelles. Ainsi, la vasopressine et l'ocytocine, ou encore les peptides dérivés de la proopiomélanocortine, peuvent fonctionner comme « hormones » au niveau de l'hypophyse, comme « neurotransmetteurs » dans le système nerveux, et comme « facteurs paracrines/autocrines » dans certains organes périphériques. De plus, un même précurseur peut être scindé en différents peptides, dont certains peuvent avoir des fonctions opposées. Ce dernier mécanisme permet évidemment d'accroître le pouvoir informatif du génome puisqu'un seul gène représente une unité de codage pour différents signaux. Parallèlement, au niveau des molécules impliquées dans la reconnaissance de signaux (récepteurs), l'évolution a également procédé par une diversification des structures de reconnaissance à partir de quelques « superfamilles » qui ont peut-être dérivé elles-mêmes d'un modèle ancestral d'adhésion cellulaire.

Les travaux à venir dans ce domaine fascinant des interactions neuro-endocrino-immunitaires devront s'attacher à définir : 1) les micro-environnements cellulaires servant de cadre à ces interactions; 2) la nature moléculaire des signaux et de leurs récepteurs mis en jeu au sein de ces micro-environnements, ainsi que leur cinétique d'intervention; 3) les systèmes de décodage de ce « langage » universel intercellulaire. Enfin, la description des perturbations de l'un ou l'autre de ces niveaux devrait permettre une approche physiopathologique et des conceptions thérapeutiques nouvelles pour de nombreuses affections.

## BIBLIOGRAPHIE

### *Contrôle génétique de la réponse immune*

1. BENACERRAF B. Immune response genes. *Scand J Immunol*, 1974, 3 : 381-386.
2. MOLLER G. Antigenic requirements for activation of MHC restricted responses. *Immunol Rev*, 1987, 98 : 5-187.
3. SERCARZ EE, YOWELL RL, TURKIN D et al. Different



lement à la  
 développé une  
 ations entre  
 crine, para-  
 tût que de  
 fication des  
 mble avoir  
 multipliant  
 si, la vaso-  
 les peptides  
 euvent fonc-  
 niveau de  
 teurs » dans  
 ctors para-  
 nes périphé-  
 ur peut être  
 ertains peu-  
 Ce dernier  
 accroître le  
 un seul gène  
 r différents  
 s molécules  
 de signaux  
 procédé par  
 reconnais-  
 milles » qui  
 un modèle

ne fascinant  
 mmunitaires  
 cro-environ-  
 ces interac-  
 gnaux et de  
 ein de ces  
 ur cinétique  
 odage de ce  
 Enfin, la  
 ou l'autre de  
 e approche  
 s thérapeuti-  
 affections.

mes. Scand J  
 yation of MHC  
 98 : 5-187.  
 t al. Different

functional specificities repertoires for suppressor and helper T cells. *Immunol Rev*, 1978, 39 : 108-136.

4. VIDOVIC D, MATZINGER P. Unresponsiveness to a foreign antigen can be caused by self tolerance. *Nature*, 1988, 336 : 222-225.

*Réseau idiotypique*

JERNE NK. Towards a network theory of the immune system. *Ann Immunol*, 1974, 125 C : 373-389.

KOHLER H, CAZENAVE PA, URBAIN J. Idiotype in Biology and Medicine. Acad Press, 1984.

*Interactions neuro-endocrino-immunitaires*

COTMAN CW, BRINTON R, GALABURDA A et al. The Neuro-Immuno-Endocrine Connection, Raven Press, New York, 1987.

GEENEN V, ROBERT F, DEFRENE MP et al. Neuroendocrinology of the thymus. *Horm Res*, 1989, 31 : 81-84.

GUILLEMIN R, COHN M, MELNECHUK T. Neural Modulation of Immunity, Raven Press, New York, 1985.

KORDON C, DEGOS L. Communication cellulaire et pathologie, INSERM, J Libbey, 1988.

MOLLER G. Neuroimmunology. *Immunol Rev*, 1987, 100 : 5-378.

H. Bazin

## RÉPONSE HUMORALE

Les propriétés requises pour qu'une molécule soit immunogénique sont décrites au chapitre 3. Plusieurs facteurs ou paramètres directement ou indirectement liés aux antigènes administrés semblent intervenir de manière significative dans le déclenchement des réponses immunes : dose, système haptène-molécule porteuse, voie d'administration, adjuvant, thymo-dépendance ou thymo-indépendance, etc.

De très nombreux antigènes ont été utilisés expérimentalement pour étudier les réponses humorales, par exemple, les globules rouges de mouton, l'ovalbumine, les gammaglobulines bovines et bien d'autres, la grande majorité d'entre eux étant thymo-dépendants. Ils ont permis d'obtenir des informations importantes et d'accomplir de grands progrès dans la compréhension de nombreux phénomènes. Des antigènes thymo-indépendants, comme les polysaccharides, ont également été étudiés, mais dans une moindre mesure.

### PRÉSENTATION DES ANTIGÈNES AUX LYMPHOCYTES

#### *DEVENIR IMMÉDIAT DES ANTIGÈNES DANS L'ORGANISME*

Les premières études consistèrent à suivre l'antigène inoculé dans un organisme, soit en le choisissant en fonction d'une propriété biologique particulière permettant de le repérer (toxine, enzyme, etc.), soit en le marquant avec une substance décelable (marqueur radioactif, enzymatique, fluorescent, etc.). Toutes ces méthodes présentaient et présentent encore des limitations importantes, rendant difficile l'interprétation de leurs résultats : sensibilité réduite dans certains cas, stabilité médiocre du marquage avec réutilisation possible du marqueur par d'autres cellules dans d'autres cas.

Les antigènes sont administrés soit naturellement par voie orale ou respiratoire, soit artificiellement par voie sous-cutanée, intraveineuse ou intradermique. Inoculé, l'antigène est souvent et rapidement capturé par diverses cellules, dans le tissu même où il a été injecté. S'il déborde les capacités de rétention locale, il suivra le système lymphatique qui le conduira au ganglion lymphatique drainant où il sera retenu. Parfois, il pourra dépasser les capacités de rétention de ce ganglion et il atteindra les ganglions suivants, puis éventuellement la circulation sanguine générale d'où il sera réparti dans la rate, le foie, les poumons et les reins. Si l'antigène est inoculé par voie intraveineuse, il sera rapidement distribué dans la totalité de l'organisme et atteindra directement le foie, les reins, les poumons, la moelle osseuse, la rate et les ganglions. La stimulation antigénique par voie muqueuse sera étudiée au chapitre 20.

En général, les antigènes particuliers sont éliminés par phagocytose en quelques heures. Par contre, les antigènes solubles subissent une période d'équilibre entre les compartiments extra- et intravasculaire, puis une période de dégradation physiologique lente suivie d'une dernière période d'élimination rapide liée à l'apparition d'anticorps spécifiques et à la formation de complexes immuns. Ce phénomène d'élimination rapide peut survenir immédiatement après l'entrée de l'antigène dans la mesure où des anticorps spécifiques sont préexistants. Dans tous les cas, la proportion d'antigènes qui se localisent dans les tissus lymphoïdes est restreinte et leur quantité, très faible. Il est évident que la plupart des préparations antigéniques présentent des propriétés intermédiaires entre ces cas extrêmes.

## CELLULES IMPLIQUÉES DANS LES RÉPONSES HUMORALES

Le rôle des lymphocytes et de certaines cellules dites accessoires dans les réponses immunes humorales est tout à fait établi : d'une part, seules des préparations de lymphocytes peuvent restaurer la capacité de synthèse d'anticorps d'un animal irradié [4]; d'autre part, l'induction d'une réponse immune primaire *in vitro* par des cellules spléniques de souris contre des globules rouges de mouton nécessite des lymphocytes et des cellules dites « adhérentes » (macrophages) qui, séparément, sont incapables de donner une réponse [6].

### Cellules accessoires, présentatrices de l'antigène

La lignée des cellules phagocytaires mononucléées qui forme la majorité des cellules accessoires, présentatrices de l'antigène (ou CPA) est d'origine hématopoïétique. Elle est hautement polymorphe et, sans l'aide de marqueurs, il est difficile de repérer tous ses membres dans l'organisme. Les plus importantes CPA sont les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques et les cellules de Langerhans qui deviennent les cellules interdigitées du paracortex des ganglions lymphatiques (Tableau 9-1). Les lymphocytes B peuvent aussi présenter les antigènes aux cellules T ainsi que, peut-être, toutes les cellules portant à leur surface des antigènes de classe II du CMH.

Tableau 9-1 Quelques propriétés biologiques de cellules présentatrices de l'antigène.

		Monocytes/ macrophages	Cellules de Langerhans	Cellules dendritiques
<i>Marqueurs de membranes</i>	Récepteurs Fc	+	+	-
	Récepteurs C3	+	+	-
	Antigènes de classe II du CMH	+	+	+
<i>Marqueurs enzymatiques</i>	Estérase	+	+	-
	Peroxydase	+	-	-
<i>Propriétés biologiques</i>	Phagocytose	+	-	-
	Pinocytose	+	+	+
	Présentation des antigènes	+	+	+

## Lymphocytes et phé

Les h  
n'acquiè  
sont co  
chapitre  
un hapt  
était déj  
de la n  
riences  
l'haptè  
molécul  
auxiliair  
CD4. D  
antigène  
optimale  
lymphoc  
stimulati  
phocytes  
obtenir  
soit prim  
réticulier  
lymphoc  
molécul  
une CP  
auxiliair

Figure 9-  
porteur ».  
avec un c  
trophényl  
dinitrophé  
bumine) e  
daire prod  
d'anticorp  
autre sour  
immunisé  
OVA-DN  
haptène,  
porteur de  
corps an  
(n° 3), to  
sensibilis  
porteur de  
réponse i  
inoculatio  
avec la m

ANS  
ES

certaines cellules  
ponses immunes  
une part, seules  
peuvent restaurer  
rps d'un animal  
on d'une réponse  
cellules spléni-  
s rouges de  
s et des cellules  
ges) qui, sépa-  
ner une réponse

ytaires mononu-  
s cellules acces-  
ne (ou CPA) est  
est hautement  
marqueurs, il est  
pres dans l'orga-  
CPA sont les  
ules dendritiques  
i deviennent les  
ex des ganglions  
lymphocytes B  
nes aux cellules  
cellules portant à  
asse II du CMH.

### Lymphocytes T auxiliaires et phénomène « haptène-porteur »

Les haptènes sont de petites molécules qui n'acquièrent une immunogénicité que lorsqu'elles sont couplées à une molécule porteuse (voir chapitre 3). La réponse immune secondaire contre un haptène, est beaucoup plus élevée lorsqu'il était déjà couplé à la même protéine porteuse lors de la réaction primaire (Fig. 9-1). Des expériences complémentaires ont démontré que l'haptène est reconnu par des lymphocytes B et la molécule porteuse par des lymphocytes T appelés auxiliaires, porteurs du marqueur de membrane CD4. Dans le cas d'une réponse secondaire à un antigène thymodépendant, la réponse immune optimale découle d'une stimulation spécifique de lymphocytes B mémoires par l'haptène et d'une stimulation par la molécule porteuse, de lymphocytes T auxiliaires, également mémoires. Pour obtenir une réponse immune maximale, qu'elle soit primaire ou secondaire, l'haptène doit pouvoir réticuler les immunoglobulines de membrane des lymphocytes B vierges ou mémoires tandis que la molécule porteuse, après dégradation partielle par une CPA, doit stimuler des lymphocytes T auxiliaires vierges ou mémoires.

Ce phénomène montre la dualité cellulaire nécessaire aux réponses immunes contre les antigènes thymo-dépendants.

### Lymphocytes B

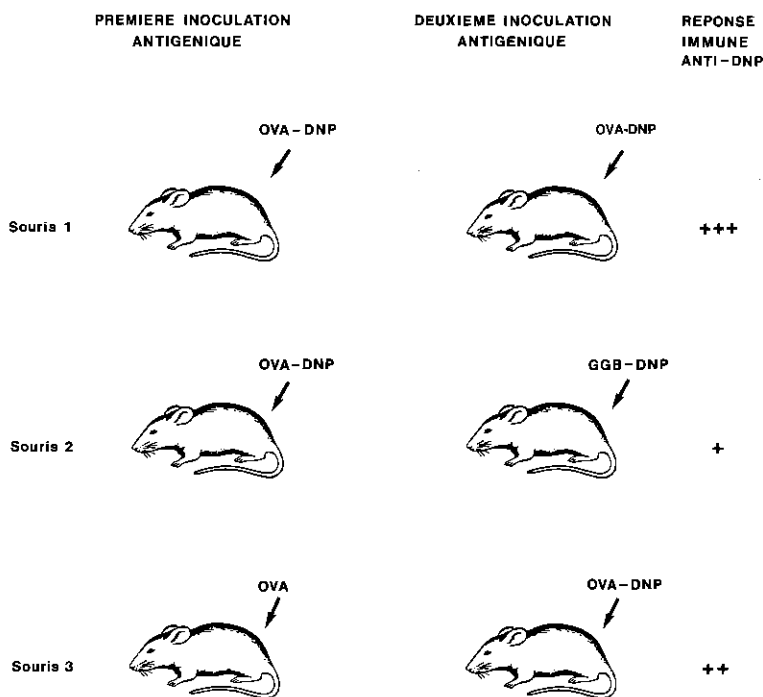
Ces cellules ayant été étudiées au chapitre 4, seules les données relatives au phénomène d'activation des lymphocytes B seront spécialement développées ici.

#### Ontogenèse des lymphocytes B

Les cellules-souches de l'hématogenèse apparaissent dans le sac vitellin puis migrent dans le foie durant la vie fœtale (Fig. 9-2). Elles sont communes à toutes les cellules hématopoïétiques, se divisent et donnent, en particulier, les cellules-souches communes aux lymphocytes T et B. Les lymphocytes B de mammifères se différencient sans l'aide d'un organe particulier équivalent à la bourse de Fabricius des oiseaux. Les premiers stades du développement des lymphocytes B sont identifiables par les marqueurs CD19 et CD20 chez l'homme. Ces marqueurs se retrouvent tout au long de la maturation de la lignée B jusqu'au stade de plasmocytes où ils sont perdus. Dans

Cellules dendritiques
-
-
+
-
-
+
+

**Figure 9-1** Le phénomène « haptène-porteur ». Une souris (n° 1) immunisée avec un complexe d'ovalbumine dinitrophénylée (haptène : groupement dinitrophényl-molécule porteuse : ovalbumine) en réaction primaire et secondaire produit une quantité importante d'anticorps anti-DNP. Par contre, une autre souris (n° 2) de la même souche, immunisée d'abord avec le complexe OVA-DNP et ensuite, avec le même haptène, mais couplé à une molécule porteuse différente donnera peu d'anticorps anti-DNP. Enfin, une souris (n° 3), toujours de la même souche, sensibilisée contre une molécule porteuse (OVA) produira une bonne réponse immune contre le DNP si, en inoculation secondaire, elle le reçoit avec la même molécule porteuse.



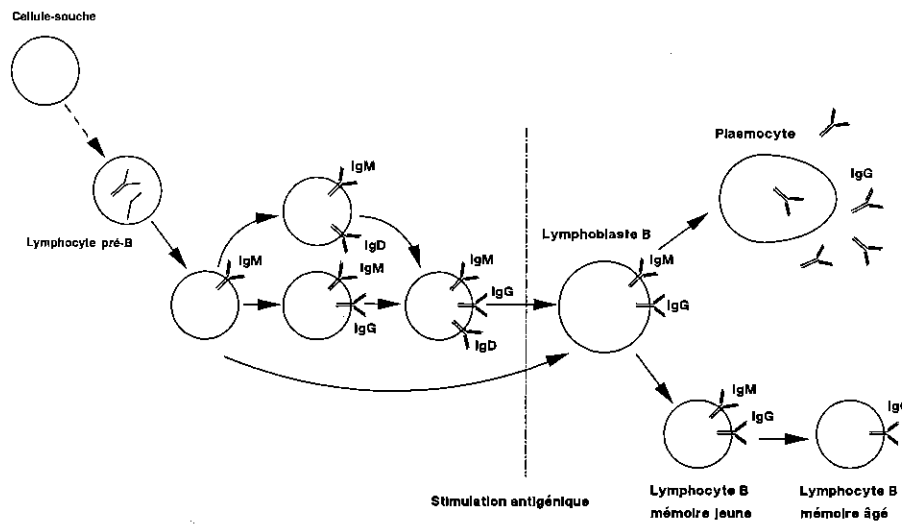


Figure 9-2 Schéma de l'ontogénèse des lymphocytes B. Pour simplifier la figure, seule la synthèse d'IgG a été considérée. La même figure pourrait être donnée pour les isotypes IgA et IgE. L'ontogénèse des plasmocytes à IgM et IgD est mal connue. Dans tous les cas, l'ordre d'apparition des molécules d'Ig de membrane d'isotypes IgD et IgG ou IgA ou IgE est inconnu.

toutes les espèces animales, le premier stade identifiable de la lignée B est celui des cellules pré-B qui synthétisent des chaînes mu d'immunoglobulines aisément repérables dans leur cytoplasme. Le réarrangement ultérieur des gènes de chaînes légères conduit à la synthèse de chaînes kappa ou lambda permettant ainsi à la cellule d'exprimer à sa surface, des molécules d'IgM monomériques dont les chaînes lourdes possèdent une partie polypeptidique supplémentaire qui leur donne la possibilité de s'accrocher dans la membrane. Il est probable que la majorité des lymphocytes B synthétisent également des molécules d'IgD de membrane, mais les pourcentages respectifs des lymphocytes B  $\mu+$ ,  $\delta+$  et  $\mu+$ ,  $\delta-$  ne sont pas connus. Le moment exact auquel les autres molécules d'Ig d'isotypes différents apparaissent sur la membrane reste inconnu.

L'apparition, puis la présence sur la membrane de nombreux lymphocytes, de récepteurs pour la partie Fc d'immunoglobulines rendent difficile la distinction entre les immunoglobulines de membranes d'origines intrinsèque et extrinsèque.

Le lymphocyte B mûr et quiet apparaît dans le sang périphérique, les follicules de la rate, des ganglions lymphatiques et des tissus lymphoïdes associés aux muqueuses, avant ou au moment de la naissance, suivant les espèces.

### Les populations de lymphocytes B

Chez l'adulte, il existe une population majoritaire de lymphocytes B circulants. La plupart de ces lymphocytes portent des Ig de membrane d'isotypes IgM et IgD. Il existe également une population minoritaire de lymphocytes IgM positive et IgD négative de membrane qui est non circulante et qui se trouve dans la zone marginale de la rate [1]. Peu développée dans certaines espèces animales comme la souris, où la zone marginale est souvent décrite comme une zone de passage de cellules et d'antigènes et de séjour pour des cellules dites « non spécifiques » [2], cette zone est importante dans d'autres espèces animales comme le rat. Les rôles respectifs de ces deux sous-populations sont mal connus. Cependant, divers arguments portent fortement à considérer les lymphocytes B de la zone marginale comme étant ceux des réponses immunes contre les antigènes thymo-indépendants.

Chez la souris, on peut distinguer les lymphocytes B en fonction de la présence ou de l'absence du marqueur Ly5. Les deux sous-populations Ly5 positive ou négative sont capables de répondre aux antigènes thymo-indépendants de type 1 (lipopolysaccharides, *Brucella*

abortus, ...  
souris CB  
au chromo  
ces cellul  
Ly5 posi  
antigènes  
Ficolli, po

Les lym  
surface de  
et les Ig  
(récepteur  
CMH de

Lymphoc

Le prob  
l'antigène  
résolu. Ces  
première r  
dant à leu  
différencie  
en G0. La  
classe IgD  
détectée, l  
perte des  
même de l'  
On a aussi  
et de l'iso  
cellule B  
IgA pour  
IgA. Enfin  
le complém  
le déclench  
secondaires

Plasmocy

Les lym  
lymphoblas  
phologie c  
abondant, a  
endoplasmic  
développen  
synthétiser  
d'anticorps  
rythme de  
même temp  
d'anticorps  
leur anticor  
mocytes est

*abortus*,...) et thymo-dépendants. Par contre, les souris CBA/N présentent un défaut génétique lié au chromosome X, affectant la différenciation de ces cellules B. Elles n'ont pas de population B Ly5 positive et ne peuvent pas répondre aux antigènes thymo-indépendants de type 2 (Levane, Ficoll, polyvinyl pyrrolidone...).

Les lymphocytes B possèdent également à leur surface des récepteurs Fc spécifiques pour les IgG et les IgE, le composant C3 du complément (récepteurs CR1 et CR2) et des molécules du CMH de classes I et II.

### *Lymphocytes B mémoires*

Le problème de la nature des récepteurs pour l'antigène des lymphocytes B mémoires n'est pas résolu. Ces cellules ont dû être activées lors d'une première rencontre avec des épitopes correspondant à leur propre site anticorps. Au lieu de se différencier en plasmocytes, elles sont retournées en G0. La présence de récepteurs de membrane de classe IgD sur les lymphocytes B mémoires a été détectée, bien qu'il semble y avoir plutôt une perte des récepteurs de classe IgD au moment même de l'activation primaire des lymphocytes B. On a aussi signalé la présence de récepteurs IgM et de l'isotype dans la fabrication duquel, la cellule B s'est spécialisée, par exemple IgM et IgA pour un lymphocyte mémoire de la classe IgA. Enfin, il est possible que les récepteurs pour le complément (CR1 et CR2) jouent un rôle dans le déclenchement de certaines réponses immunes secondaires.

### **Plasmocytes**

Les lymphocytes B activés se transforment en lymphoblastes B puis en plasmocytes. Leur morphologie change. Ils acquièrent un cytoplasme abondant, avec un noyau excentré. Leur réticulum endoplasmique et leur appareil de Golgi se développent considérablement. Ils se mettent à synthétiser de grandes quantités de molécules d'anticorps, toutes identiques, qu'ils excrètent au rythme de plusieurs milliers par seconde. En même temps, ils perdent leur capacité de synthèse d'anticorps de membrane et, assez rapidement, leur anticorps de surface. La demi-vie des plasmocytes est brève, 2 à 3 jours chez la souris [9].

## PRÉSENTATION DE L'ANTIGÈNE CONDUISANT À LA RÉPONSE IMMUNE SPÉCIFIQUE

### **Présentation des antigènes aux lymphocytes T auxiliaires**

Le schéma actuel le plus communément admis de la présentation antigénique aux lymphocytes T dits auxiliaires (ayant le marqueur CD4) par les cellules spécialisées (cellules présentatrices d'antigènes ou CPA) comprend :

- une phase d'internalisation de l'antigène par la CPA;
- une phase de dégradation partielle de l'antigène;
- une phase de présentation simultanée de l'épitope antigénique et d'une molécule du CMH de classe II au lymphocyte T avec, en même temps, la transmission d'un second signal sous forme d'interleukine 1, fabriquée par la même cellule.

Plusieurs types cellulaires peuvent présenter les antigènes aux lymphocytes T : les plus importants sont les lymphocytes B, les cellules dendritiques dérivant de la lignée myéloïde qui sont non phagocytaires et présentes en faible nombre dans les organes lymphoïdes, les cellules interdigitées et enfin, les macrophages qui sont phagocytaires et qui se retrouvent en nombre élevé un peu partout dans l'organisme.

Toutes ces cellules ne semblent pas avoir des rôles strictement identiques.

Les lymphocytes B possèdent, à leur surface, un grand nombre de molécules de classe II du CMH ainsi que des anticorps spécifiques d'un épitope déterminé (voir chapitre 6). Cette particularité leur permet de capter les antigènes solubles ou particuliers de manière plus efficace que les macrophages ou les cellules dendritiques. L'activation des lymphocytes B semble accroître leur faculté de présenter les antigènes aux lymphocytes T, phénomène qui est lié soit à la synthèse d'IL-1 par les seuls lymphocytes B activés, soit à une activité supérieure de dégradation des antigènes en épitopes T. La présentation antigénique par les lymphocytes B semble être spécialement adaptée aux faibles doses d'antigènes.

Les cellules dendritiques seraient les plus aptes à promouvoir les réponses immunes primaires dans des conditions normales de stimulation antigénique, en activant des lymphocytes T qui,

sous leur influence, sécrèteraient de l'IL-2. De très nombreux lymphocytes T acquerraient alors eux-mêmes des récepteurs pour l'IL-2, s'activeraient à leur tour et deviendraient sensibles à la présentation antigénique par toutes les CPA.

Les cellules interdigitées dérivent des cellules de Langerhans situées dans l'épiderme. Elles transportent les antigènes trouvés au niveau de la peau jusque dans la zone paracorticale des ganglions lymphatiques, où elles les présentent aux lymphocytes.

Les macrophages ont longtemps été considérés comme les seules CPA. Ils peuvent certainement jouer le rôle de ce type cellulaire de manière très active et efficace.

L'attachement de l'antigène sur les cellules dendritiques ou les macrophages, s'effectue par des interactions peu connues et sur des structures cellulaires mal déterminées. Certaines cellules, comme les macrophages, peuvent capter l'antigène à partir de récepteurs Fc et/ou C3, lorsqu'il est agrégé à des anticorps ayant éventuellement fixé le complément.

Un délai est nécessaire entre l'internalisation de l'antigène et sa transformation, le rendant susceptible d'être reconnu par une cellule T, à la surface d'une CPA. Ce délai correspond à un processus de transformation de l'antigène qui, à l'intérieur de la cellule, est dégradé partiellement, puis soit exposé à la surface de la cellule, soit rejeté activement de celle-ci lui permettant d'être « récupéré » par d'autres CPA qui pourront l'exposer à leur propre surface.

Dans tous les cas, les antigènes transformés (soit partiellement dégradés et déroulés dans le cas d'antigènes protéiques, soit seulement déroulés dans le cas de petits polypeptides) seront associés à des molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

En conclusion, toute cellule exprimant des antigènes de classe II du CMH semble capable de présenter des antigènes aux cellules T auxiliaires ou, tout au moins, à celles possédant un récepteur pouvant se combiner avec suffisamment d'affinité à l'ensemble « antigène transformé - molécule de classe II du CMH ».

### Présentation des antigènes aux lymphocytes B

Les lymphocytes B possèdent un nombre important de récepteurs à leur surface. Les plus caractéristiques sont constitués par les immuno-

globulines de membrane que ces cellules synthétisent dès qu'ils atteignent le stade de lymphocytes B immatures. La partie variable de ces immunoglobulines restera pratiquement la même durant la maturation du lymphocyte B et de ses descendants (voir chapitre 6). Chaque lymphocyte B possède un grand nombre de molécules d'Ig de membrane qui sont dans un premier temps, exclusivement de classe IgM et, ultérieurement, de classe IgM et souvent IgD et peut-être d'autres classes. Tous possèdent également des récepteurs pour les Ig (récepteurs Fc), en particulier les IgE, pour le complément (récepteurs CR1 et CR2) et pour un certain nombre de cytokines (lymphokines et autres). Ces récepteurs sont souvent induits par leurs propres ligands et s'accroissent en grand nombre lors de l'activation cellulaire.

Le signal spécifique d'activation des lymphocytes B est donné par la réticulation de plusieurs molécules d'Ig de membrane. Les sites anticorps identiques reconnaissent un seul épitope, présenté plusieurs fois par une même molécule antigénique et/ou par une même CPA. Le problème de la nature des récepteurs (IgM, IgD ou autres isotypes) qui sont capables de transmettre le signal d'activation au lymphocyte B, est encore mal connu. Il a été proposé que les récepteurs IgM, apparaissant les premiers, soient les inducteurs de la tolérance et les IgD, ceux de l'activation. Ce schéma, très séduisant, est encore sujet à discussion.

Le premier stade de l'activation d'un lymphocyte B, c'est-à-dire le passage de G0 à G1 (Fig. 9-3), est soit induit par l'antigène intact (thymo-indépendant ou thymo-dépendant), soit peut-être, partiellement dégradé et présenté par une CPA (antigène TD). Le deuxième stade correspond à l'initiation de la synthèse de l'ADN du lymphocyte B qui normalement va se diviser. Le dernier stade est celui de la différenciation en plasmocyte.

### Stimulation par les antigènes thymo-indépendants (TI)

Il semble que le rôle des cellules accessoires dans le cas des antigènes thymo-indépendants soit d'importance limitée. Les lipopolysaccharides, le Ficoll et les flagellines polymérisées sont capables d'induire in vitro des réponses immunes avec des préparations de lymphocytes dépourvues de macrophages. Cependant, il est certain que les cellules accessoires, par leur production de lymphokines (par exemple, d'IL-1), peuvent avoir un

rôle non  
toute rép  
TI [8].

*Stimula  
thymo-*

Il est  
B sont  
thymo-d  
tion pu  
facteurs  
T active  
possibili  
du stade  
même,  
hauteme  
de la ré  
tion mé  
antigène  
corps d  
cependa  
nisme pe  
T auxili  
ment co

*Nature  
des lyr*

Le pr  
IgD ou  
spéculati  
suggère

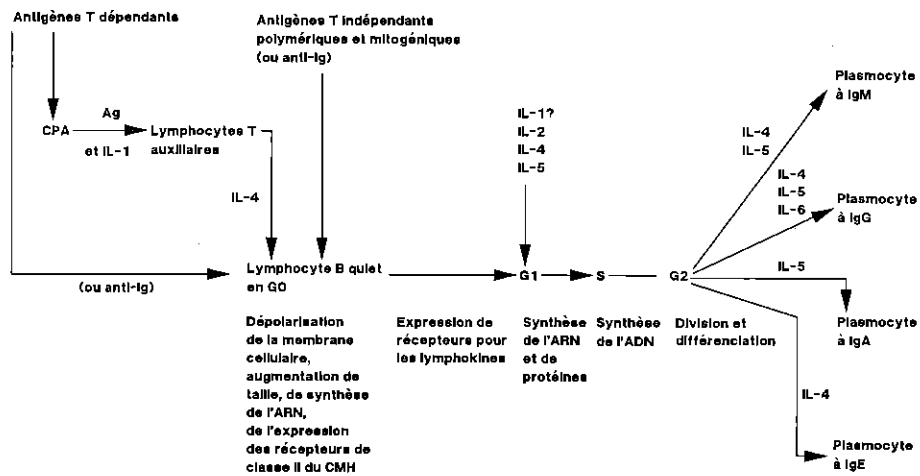


Figure 9-3 Schéma d'activation des lymphocytes B.

rôle non négligeable dans le développement de toute réponse immune, même contre les antigènes TI [8].

#### Stimulation par les antigènes thymo-dépendants (TD)

Il est généralement admis que les lymphocytes B sont activés directement par les antigènes thymo-dépendants et ne continuent leur prolifération puis leur différenciation qu'à l'aide de facteurs relargués par les CPA et les lymphocytes T activés. Ce modèle est compatible avec la possibilité d'induire le passage de lymphocytes B du stade G0 en G1 par des anticorps anti-IgM. De même, les expériences d'inoculation d'antigènes hautement radioactifs conduisent à la suppression de la réponse immune contre l'antigène en question montrant ainsi un attachement direct des antigènes sur les lymphocytes B ayant les anticorps de membrane correspondants. Il n'est cependant pas certain que ce soit le seul mécanisme possible, les interactions CPA, lymphocyte T auxiliaire et lymphocyte B n'étant pas totalement connues.

#### Nature des récepteurs pour l'antigène des lymphocytes B

Le problème de la nature des récepteurs IgM, IgD ou d'autres isotypes est également matière à spéculations. Un certain nombre d'expériences suggère que les récepteurs IgM joueraient un rôle

dans toutes les réponses immunes TD et TI tandis que les récepteurs IgD, dans les réponses TD et seulement certaines réponses TI. Plus précisément, les antigènes TI peuvent être divisés en deux catégories, les antigènes TI-1 et TI-2, les réponses immunes anti-antigènes TI-1 pouvant être obtenues bien avant celles anti-antigènes TI-2 au cours de l'ontogenèse. Ce fait a été rapproché de l'apparition tardive des récepteurs de classe IgD qui sont synthétisés bien après les récepteurs IgM et pourraient être indispensables à l'activation par les antigènes TI-2.

#### Présentation des antigènes aux lymphocytes mémoires

La mémoire immunologique semble être portée, dans le cas des antigènes TD, par les lymphocytes T et B; dans le cas des antigènes TI, par les seuls lymphocytes B, bien que le phénomène de mémoire immunologique pour ce type d'antigène ne soit pas démontré de façon certaine.

La stimulation des lymphocytes B par un antigène ou un mitogène conduit à une perte des immunoglobulines membranaires d'isotypes IgD et probablement IgM. Les lymphocytes B mémoires possèderaient surtout des Ig membranaires de l'isotype dans lequel ils ont commutés (des IgG ou des IgA ou des IgE), parfois des IgM ou peut-être, rarement, des IgD de surface. Ces deux dernières pourraient être seulement des



reliquats d'Ig de membrane synthétisées à des étapes de différenciation antérieure.

Les données publiées sont assez contradictoires et cela, d'autant plus que les lymphocytes B portent des récepteurs pour les Ig et le complément qui pourraient également intervenir dans la mémoire immunologique... et aussi introduire des confusions entre Ig de membrane intrinsèques et extrinsèques.

## RÉPONSES IMMUNES PRIMAIRE ET SECONDAIRE

A la suite d'un premier contact antigénique, un organisme élabore une réponse immune primaire. Quand la mémoire est établie, tout contact ultérieur, avec le même antigène, produit une réponse secondaire.

### MÉTHODES D'ÉTUDE

Deux possibilités majeures s'offrent à l'étude des réponses humorales, soit le titrage des anticorps sériques, soit la numération des cellules synthétisant des anticorps (CSA).

#### Titrage des anticorps

De très nombreuses méthodes ont été employées, parmi lesquelles la précipitation en milieu liquide ou en gel, l'agglutination et l'hémolyse. Toutes ces méthodes ont été plus ou moins adaptées à l'analyse simultanée des isotopes, parfois en les séparant préalablement (en fonction de leur poids moléculaire, par exemple), souvent en utilisant leur sensibilité différente au 2-mercaptoéthanol qui détruit les anticorps 19S (IgM) en ne laissant que les autres (7S, en principe IgG). Dans le cas particulier des anticorps de classe IgE (ou IgG ayant des propriétés homocytotropiques pour les mastocytes), la réaction d'anaphylaxie cutanée passive a été très utilisée.

Actuellement, les méthodes les plus utilisées sont dérivées de l'ELISA et font appel à des anticorps monoclonaux monospécifiques de classes ou de sous-classes d'Ig.

## Énumération des cellules produisant des anticorps (CSA)

Pendant de nombreuses années, les globules rouges de mouton ont été très souvent employés comme antigènes. Ils permettaient, d'une part de titrer les anticorps sériques par hémolyse ou hémagglutination et d'autre part, d'énumérer les CSA par la technique des plaques de Jerne ou par celle des rosettes. D'autres méthodes plus performantes sont venues s'ajouter à celles-ci.

### Technique des plaques de Jerne

On immunise un animal (souris ou rat, par exemple) à l'aide de globules rouges de mouton, puis on lui prélève des lymphocytes (en général de la rate ou de ganglions lymphatiques). On les mélange avec des globules rouges de mouton dans un milieu gélifié permettant leur observation. Les anticorps spécifiques, synthétisés par une fraction des cellules, diffusent et vont s'attacher aux antigènes des érythrocytes qui les entourent. L'addition de complément conduit à la lyse de ces globules rouges, donnant de petites plages translucides de lyse autour de certaines cellules, sur un fond rougeâtre continu produit par les globules rouges de mouton non lysés.

Seules, les cellules synthétisant des anticorps d'isotype IgM donnent des plages de lyse, appelées plaques directes. Pour obtenir une hémolyse à l'aide d'anticorps d'isotype IgG, il faut ajouter au système, des anticorps (en général de lapin) anti-IgG de l'espèce étudiée (souris, rat, etc.). Ces plaques sont dites indirectes.

Une variante de cette technique consiste à immuniser l'animal étudié avec un antigène quelconque. Le système de détection sera composé de l'antigène en question couplé à des globules rouges de mouton (GRM).

### Autres méthodes d'énumération des CSA

La technique des rosettes a été très utilisée. Elle consiste à détecter les CSA anti-GRM en les mélangeant, en milieu liquide, à des GRM qui s'attacheront à leur membrane. Comme dans le cas des plaques de Jerne, il est possible de coupler un antigène quelconque à la surface des GRM pour détecter des CSA contre cet antigène.

Une technique plus moderne et très intéressante est celle de l'ELISA-spot [5] qui consiste à enduire un fond de boîte de culture — en plastique — avec un antigène, puis à placer

au-des  
étudier  
synthé  
fixent  
révélé  
buline  
(perox  
lavage  
synthé  
l'antig  
taches  
métho  
précise  
synthé  
priés.

Figure  
immune  
part des  
corps da  
anticorps  
tion d'u  
mouton  
BALB/c  
circulant  
pas chiff  
de latenc  
phase de  
10, le pl  
phase de  
jour 23 d  
entre le  
cellules  
ceux-ci.

1ère l

Titre en anticorps (log)

au-dessus de celui-ci la population cellulaire à étudier, dans un milieu gélosé. Les anticorps synthétisés par certaines cellules diffusent et se fixent à l'antigène adhérent au plastique. Ils seront révélés à l'aide d'un antiserum anti-immunoglobuline marqué avec un enzyme adéquat (peroxydase, phosphatase alcaline...). Après un lavage et une révélation appropriée, les cellules synthétisant des anticorps spécifiques contre l'antigène étudié peuvent être assimilées aux taches lisibles sur le fond de la boîte. Cette méthode a l'avantage de donner des indications précises sur l'isotype des anticorps spécifiques synthétisés quand on possède les réactifs appropriés.

RÉPONSES IMMUNES  
PRIMAIRES ET SECONDAIRES

Réponses immunes primaires

Un organisme vierge de tout contact avec un antigène donné présentera lors de l'administration de celui-ci :

- une phase de latence de plusieurs jours pendant laquelle aucun anticorps n'apparaît;
- une phase de croissance où la concentration sérique des anticorps spécifiques augmente de façon logarithmique;
- une phase dite de plateau où, comme son

Figure 9-4 Schéma d'une réponse immunitaire montrant l'évolution, d'une part des cellules synthétisant des anticorps dans la rate et d'autre part, des anticorps circulants, après une injection d'un antigène (globule rouge de mouton) à un organisme (souris BALB/c). Au niveau des anticorps circulants (dont la concentration n'est pas chiffrée sur le graphique), la phase de latence dure du jour 0 au jour 3, la phase de croissance du jour 3 au jour 10, le plateau du jour 10 au jour 13, la phase de décroissance du jour 13 au jour 23 ou suivants. Notez le décalage entre les présences respectives des cellules synthétisant les anticorps et ceux-ci.

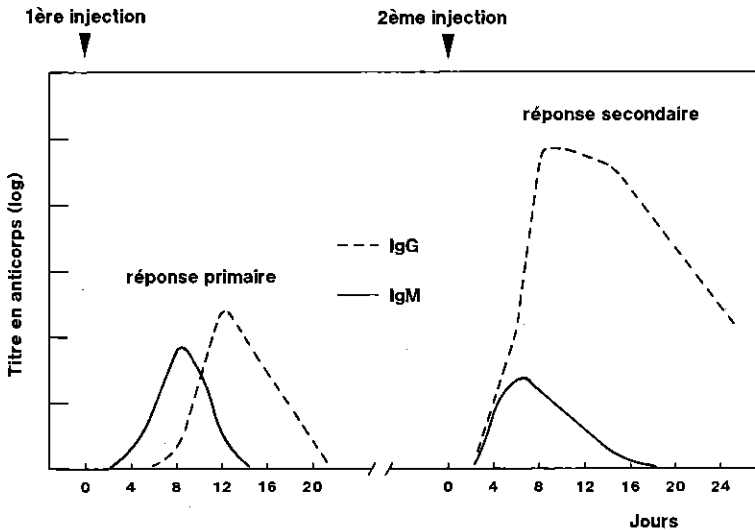
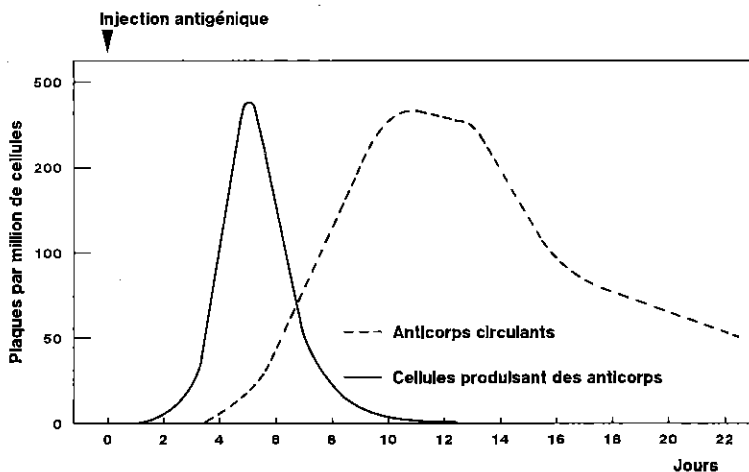


Figure 9-5 Schéma de réponses immunes humorales d'un lapin à un antigène thymo-dépendant comme les globules rouges de mouton ou l'ovalbumine.

nom l'indique, les anticorps sériques restent en quantité à peu près constante;

— une phase de décroissance où la concentration sérique en anticorps décroît plus ou moins rapidement en fonction de leur catabolisme propre (Fig. 9-4 et 9-5).

La durée de la réponse immune est variable. Elle semble essentiellement liée à la persistance de molécules d'antigène dans les ganglions lymphatiques drainant le site d'inoculation du dit antigène. Les antigènes thymo-indépendants résistant souvent aux phénomènes de dégradation et, dans une moindre mesure, les antigènes thymo-dépendants, peuvent subsister pendant des périodes plus ou moins longues dans les cellules dendritiques folliculaires [3].

### Réponses immunes secondaires

Dans le cas de réponses immunes secondaires, on observe par rapport aux réponses primaires :

- une période de latence plus courte;
- une phase de plateau et une période de décroissance plus longues;
- une proportion nettement plus grande en anticorps de classe IgG qu'IgM;
- un titre maximum en anticorps de classe IgG, nettement plus élevé;
- une affinité plus élevée des anticorps.

Ces données concernent les réponses immunes les plus courantes, de classes IgM-IgG. Il n'en est pas forcément de même pour les anticorps d'isotypes IgA ou IgE. Dans ce dernier cas, des réponses extrêmement longues peuvent être obtenues chez certains patients ou chez les sujets de certaines souches animales. Ces réponses peuvent être dues à des anomalies des mécanismes régulateurs, en particulier des lymphocytes T suppresseurs.

### Anticorps naturels

Tous les organismes supérieurs ont des taux d'immunoglobulines sériques plus ou moins élevés, qui correspondent à des anticorps circulants. Certains de ces anticorps sont dirigés contre des antigènes d'organismes pathogènes, d'autres contre des antigènes inconnus. Ils sont souvent appelés « anticorps naturels ». Leur origine est toujours sujette à discussion.

L'élevage d'animaux axéniques à l'aide d'une nourriture dépourvue, ou tout au moins très appauvrie, en antigènes (c'est-à-dire constituée

d'hydrolysats de protéines) a montré qu'il n'y avait pas d'agammaglobulinémie chez ces animaux, mais seulement une hypogammaglobulinémie plus ou moins marquée. Ce résultat tendrait à prouver que la grande majorité sinon la totalité des anticorps naturels sont le fruit de stimulations par des antigènes présents dans l'environnement, c'est-à-dire essentiellement de la flore microbienne entourant tout être vivant et de l'alimentation. Ainsi, la présence constante d'anticorps sériques chez tous les sujets ne possédant pas sur leurs globules rouges les antigènes A et/ou B du système ABO s'explique par l'existence d'antigènes plus ou moins similaires dans certaines bactéries de la flore digestive.

## ÉVOLUTION DES ANTICORPS SYNTHÉTISÉS AU COURS DES RÉPONSES IMMUNES

### QUANT À LEURS ISOTYPES

Lors de la réponse primaire, les anticorps de classe IgM sont synthétisés les premiers, puis apparaît une production d'anticorps d'autres isotypes, essentiellement IgG. Dans le cas de réponses secondaires, la synthèse d'IgM est souvent limitée et fugace; celle des IgG est d'apparition plus rapide et de synthèse plus importante et plus longue. La répartition des anticorps parmi les différentes sous-classes d'IgG semble, au moins partiellement, liée à la thymo-dépendance de l'antigène. Chez les rongeurs de laboratoire, les antigènes thymo-dépendants donnent essentiellement des réponses en IgG1-IgG2a, les thymo-indépendants plutôt des réponses IgG3 chez la souris ou IgG2b-IgG2c chez le rat. Ainsi, les antigènes polysaccharidiques donnent surtout des anticorps IgM et IgG3 (souris), IgG2b et IgG2c (rat) ou IgG2 (homme). La voie d'administration peut également avoir une influence: muqueuse par exemple, elle conduira à une réponse à prédominance IgA. La dose d'antigène peut également jouer un rôle important: faible, elle favorisera les réponses d'isotype IgE, probablement en évitant l'activation des lymphocytes T suppresseurs.

Au cours de la réponse immune, des variations apparaissent également au niveau de chaque clone

de lym  
part au  
phénom  
mutatio  
partie d  
variable  
au nive  
augmen  
effectiv  
diminut  
de stim  
donc sa  
lympho  
haute af

Cette  
durant  
oublier  
repos  
primaire  
La d  
anticorps  
rait être  
de lym  
la diffé  
un isoty

EN FO

Chez  
taux sér  
ceux de  
IgG3 q  
l'augme  
sériques  
diminue

Des t  
été obse  
semble  
plutôt  
pourrait  
humoral  
tions ar  
également  
idiotype  
d'autoar  
buline,

Un a  
synthèse  
gamma

u'il n'y avait  
es animaux,  
ulinémie plus  
ait à prouver  
totalité des  
mulations par  
vironnement,  
flore micro-  
de l'alimen-  
e d'anticorps  
édant pas sur  
A et/ou B du  
l'existence  
ilaires dans  
stive.

ORPS  
S  
ES

anticorps de  
premiers, puis  
orps d'autres  
ns le cas de  
IgM est sou-  
est d'appari-  
importante et  
orps parmi les  
ble, au moins  
épendance de  
laboratoire, les  
nt essentielle-  
a, les thymo-  
IgG3 chez la  
rat. Ainsi, les  
nt surtout des  
G2b et IgG2c  
administration  
ce : muqueuse  
ne réponse à  
antigène peut  
: faible, elle  
gE, probable-  
lymphocytes T

des variations  
e chaque clone

de lymphocyte B synthétisant un anticorps, d'une part au niveau de la partie variable avec le phénomène de maturation correspondant à des mutations (voir chapitre 6) et d'autre part, dans la partie constante qui est liée à la même partie variable. Le résultat des changements intervenant au niveau de la partie variable se traduit par une augmentation de l'affinité des anticorps qui est effectivement observée au cours de la réponse. La diminution de la quantité d'antigène susceptible de stimuler la poursuite de la réponse favorise donc sa liaison de plus en plus exclusive aux lymphocytes B porteurs des anticorps de la plus haute affinité et par là même, leur développement.

Cette augmentation de l'affinité des anticorps durant la réponse secondaire ne doit pas faire oublier l'activation possible de clones jusque-là au repos et donc, la possibilité d'une réponse primaire concomitante à la secondaire.

La commutation des parties constantes des anticorps, au cours des réponses immunes, pourrait être, au moins en partie, due à des populations de lymphocytes T spécialisés dans l'induction de la différenciation des lymphocytes B activés vers un isotype donné, par exemple les IgA.

### EN FONCTION DE L'ÂGE

Chez les personnes âgées de plus de 70 ans, les taux sériques des IgG et des IgA sont supérieurs à ceux des adultes plus jeunes. Ce sont les IgG1 et IgG3 qui sont les principaux responsables de l'augmentation des IgG. Par contre, les taux sériques des IgD et surtout des IgM ont tendance à diminuer.

Des taux sériques élevés en IgG ont également été observés chez les souris âgées. Cette donnée ne semble pas être liée à la demi-vie des IgG qui a plutôt tendance à diminuer. Par contre, elle pourrait être la conséquence de réponses immunes humorales liées à un accroissement des stimulations antigéniques dû à des infections, mais également à l'augmentation d'anticorps anti-idiotypes et aussi contre un grand nombre d'autoantigènes : acides nucléiques, thyroglobuline, immunoglobulines, etc.

Un autre aspect du vieillissement sur la synthèse des immunoglobulines est l'apparition de gammopathies monoclonales bénignes. Dans

l'espèce humaine, les paraprotéinémies idiopathiques augmentent progressivement de 1 p. cent à l'âge de 50 ans à 19 p. cent après 100 ans, sans que ces anomalies puissent être considérées comme un signe défavorable. Ces mêmes gammopathies monoclonales bénignes ont été retrouvées chez les souris âgées et chez les souris thymectomisées, laissant supposer que ces proliférations sont au moins partiellement liées à une dégradation du contrôle exercé par les lymphocytes T [7].

### BIBLIOGRAPHIE

#### Références générales

- AUSTYV J. M. Lymphoid dendritic cells. *Immunology* 1987, 62 : 161-170.  
BACH J. F. Immunologie. Flammarion Médecine Sciences, Paris, 1986, 1 048 pages.  
CHESNUT R. W., GREY H. M. Antigen presentation by B cells and its significance in T-B interactions. *Adv Immunol* 1986, 39 : 51-94.  
MALE D., CHAMPION B., COOKE A. *Advanced Immunology*, Gower Medical Publishing, London, 1987.

#### Références

1. BAZIN H., GRAY D., PLATTEAU et al. Distinct delta+ and delta- B lymphocyte lineages in the rat. *Ann NY Acad Sci*, 1982, 399 : 157-174.
2. DE SOUSA M. Lymphocyte circulation experimental and clinical aspects. *J. Wiley and Sons*, Chichester, 1981, 259 pages.
3. DONALSON S. L., KOSCO M. H., SZAKAL A. K. et al. Localization of antibody-forming cells in draining lymphoid organs during long term maintenance of the antibody response. *J Leukocyte Biol*, 1986, 40 : 147-174.
4. GOWANS J. L. The fate of parental strain small lymphocytes in F1 hybrid rats. *Ann NY Acad Sci*, 1962, 99 : 432-446.
5. HOLT P. G., SEDGWICK J. D., STEWART G. A. et al. ELISA plaque assay for the detection of antibody-secreting cells : observations on the nature of the solid phase and on variations in plaque diameter. *J Immunol Meth*, 1984, 74 : 1-7.
6. MOSIER D. E., COPPLESON L. W. A three-cell interaction required for the induction of the primary immune response in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1968, 61 : 542-547.
7. NAGEL J. E., PROUST J. J. Age-related changes in humoral immunity. Complement, and polymorphonuclear leukocyte function. *In* : Review of Biological Research in Aging. Vol. 3, 1987 : 147-159.
8. PIKE B. L., ALDERSON M. R., NOSSAL G. J. V. T independent activation of single B cells : an orderly analysis of overlapping stages in the activation pathway. *Immunol Rev*, 1987, 99 : 119-152.
9. WEISS L. Plasma cells. *In* : G Osler and L Weiss. The Cells and Tissues of the Immune System-Structure, Functions, Interactions, Foundations of Immunology Series. Prentice-Hall, Inc., USA, 1972 : 151-162.

J.-F. Bach

## RÉPONSE CELLULAIRE

Les défenses immunitaires anti-infectieuses ou antitumorales, auxquelles on peut associer le rejet des greffes, font intervenir à des degrés divers les anticorps et les cellules T et dans certains cas encore mal évalués d'autres cellules (cellules K et NK). On regroupe sous le terme général d'immunité à médiation cellulaire les réactions immunitaires exercées par l'action locale, au site même de la réaction, de cellules mononucléées quelle qu'en soit l'origine. C'est ainsi que relèvent de ce mécanisme, l'immunité antivirale, certains aspects de la défense antibactérienne, le rejet des greffes de peau et d'organes, celui du greffon contre l'hôte, les réactions d'hypersensibilité retardée et dans certains cas précis la défense antitumorale. Plutôt que d'entrer dans le détail de la description de ces différentes interventions du système immunitaire qui sont évoquées dans d'autres chapitres, nous discuterons ici des principaux mécanismes cellulaires à la base de ces réactions : la production de lymphokines; les cellules T cytotoxiques; les cellules K; les cellules NK.

### PRODUCTION DES LYMPHOKINES

Mises en présence de l'antigène contre lequel elles sont sensibilisées, les cellules T sont activées et produisent des médiateurs non spécifiques de l'antigène, les lymphokines. Cette activation peut également être obtenue par l'addition d'un mitogène tel que la phytohémagglutinine ou la concanavaleine A. On parle alors d'activation polyclonale.

Les cellules T ne sont pas les seules à produire des lymphokines. Les cellules B peuvent aussi le faire dans certaines circonstances, mais il semble bien que dans les conditions physiologiques, ce soit surtout les cellules T et plus particulièrement les cellules CD4<sup>+</sup> qui interviennent. Les cellules productrices de lymphokines ont été clonées ce qui a grandement aidé à la caractérisation chimique de ces dernières.

La nature chimique et les propriétés des différentes lymphokines sont traitées ailleurs. Nous rappellerons ici, cependant, la diversité d'action des lymphokines en mentionnant leurs principaux domaines d'activité :

— certaines interviennent dans la coopération cellulaire qui prend place entre lymphocytes T et B ou entre les différentes populations de cellules T. On parle alors d'interleukines. L'interleukine 2 agit surtout sur les cellules T mais se lie aussi aux cellules B. Les interleukines 4 et 6 agissent sur les cellules B dont elles représentent des facteurs de croissance ou de différenciation;

— d'autres lymphokines activent des cellules non lymphoïdes : macrophages (MAF, MIF), éosinophiles (IL-5), ostéoclastes (OAF), cellules hématopoïétiques (IL-3, GM-CSF)...

Le mode d'action des lymphokines n'est pas déterminé avec précision. On sait néanmoins qu'elles se fixent sur des récepteurs de membrane dont le mieux connu est le récepteur de l'IL-2 qui possède deux chaînes et deux sites d'affinité.

## CELLULES T CYTOTOXIQUES

Certains des lymphocytes T capables de se sensibiliser contre des alloantigènes ou des cellules infectées par un virus, acquièrent la capacité de devenir cytotoxiques et de lyser des cellules porteuses des antigènes à l'origine de la sensibilisation. Cette cytotoxicité est spécifique de l'antigène ayant donné lieu à la sensibilisation et ne se manifeste pas vis-à-vis des cibles porteuses d'antigènes différents. Elle est assurée par une sous-population de cellules T bien définies, les lymphocytes T cytotoxiques « CTL » (pour « cytotoxic T lymphocytes »), habituellement de phénotype CD8<sup>+</sup> dont la différenciation en cellules effectrices nécessite l'intervention de cellules T auxiliaires CD4, productrices d'interleukine 2.

### CIRCONSTANCES D'APPARITION ET ANTIGÈNES RECONNUS

#### Réaction allogénique

Des cellules lymphoïdes provenant d'animaux immunisés par une injection de cellules allogéniques sont capables de détruire des cellules-cibles

exprimant les alloantigènes à l'origine de la sensibilisation. La réaction de cytotoxicité peut être évaluée de façon quantitative en marquant les cellules-cibles au <sup>51</sup>Cr (chromate de sodium). L'activité lytique des CTL est mesurée par la libération de <sup>51</sup>Cr dans le surnageant. Le chrome se fixe sur la membrane et dans le cytoplasme de la cellule-cible et change de valence quand il est libéré après la cytolysse de sorte qu'il ne peut plus être réincorporé par d'autres cellules-cibles.

Des CTL apparaissent dans les ganglions périphériques des animaux porteurs d'allogreffe au moment du rejet, avant même que ne soient détectés dans le sérum les anticorps dirigés contre les antigènes d'histocompatibilité. Des CTL apparaissent également dans la rate et la cavité péritonéale après injection de cellules allogéniques dissociées. Dans les deux cas, les animaux sensibilisés par une première exposition aux alloantigènes produisent des CTL de façon plus précoce et plus intense à l'occasion d'une seconde exposition, preuve de l'existence d'une mémoire immunologique des CTL.

Des CTL peuvent aussi être produits *in vitro* au cours d'une culture lymphocytaire mixte de deux populations de lymphocytes allogéniques. Afin d'obtenir une réaction unilatérale, on inactive l'une des deux populations par irradiation ou par traitement par la mitomycine C. Après 4 à 5 jours de culture, on voit apparaître en premier lieu des cellules transformées d'aspect blastique, caractéristiques de la phase proliférative de la culture mixte. Vingt-quatre à 48 heures plus tard apparaissent les CTL capables de détruire spécifiquement les cellules-cibles marquées au <sup>51</sup>Cr de même origine génétique que les lymphocytes stimulants. C'est la réaction de lymphocytotoxicité à médiation cellulaire (CML pour « cell mediated lympholysis »). La cible marquée au <sup>51</sup>Cr est en général une cellule tumorale [par exemple chez la souris le mastocytome P-815 (H-2<sup>d</sup>)].

Lorsque les cellules T répondeuses proviennent d'un animal déjà sensibilisé contre les alloantigènes qui servent à la restimulation *in vitro*, la réaction prend parfois les caractéristiques d'une réponse de type secondaire, c'est-à-dire qu'elle est plus forte et plus précoce qu'une réponse primaire.

#### Réactions antivirales

Les virus peuvent aussi provoquer l'apparition de CTL. Le phénomène de cytotoxicité est très

voisin de  
alloantig  
réactions  
à la néces  
cellule in  
liser le C  
le CTL  
cytotoxic  
cellule st  
Zinkerna  
au virus é  
la souris,  
ou allogé  
naissance  
antigènes  
l'antigène  
s'appliqu  
antigènes  
de CTL  
antigènes  
couplés à  
nombreus  
restriction  
cellules T  
présenté  
l'antigène  
folliculai  
ciation av  
Notons n  
restriction  
de classe  
resse les  
auxiliaire

### MÉCAN

L'actio  
elle ne n  
(une fois  
différenci  
facteur h

Le con  
nécessaire  
le CTL et  
semi-perm  
cubée av  
n'est pas

L'utilis  
l'action  
étapes : la  
conjugué)  
et la cyt

origine de la cytotoxicité peut marquer les cellules (de sodium), assurée par la présence de chrome. Le cytoplasme de la cellule est visible quand il est marqué. On ne peut plus distinguer les cellules-cibles.

Les lymphocytes péri-allogreffés au contact de cellules ne soient dirigés contre les cellules CTL apparaissent et la cavité des cellules allogéniques des animaux en position aux cellules de façon plus marquée qu'une seconde culture. Une mémoire

est obtenue in vitro au contact de deux cultures. Afin de rendre inactive la culture ou par irradiation pendant 4 à 5 jours au premier lieu de culture, caractéristique de la culture est observé plus tard apparaissent une spécificité au  $^{51}\text{Cr}$  de lymphocytes lymphocytotoxiques pour « cellule marquée au contact tumoral » [par le système P-815

qui proviennent des alloantigènes in vitro, la spécificité d'une culture qu'elle est une réponse

est observée par l'apparition d'une cytotoxicité est très

voisin de celui qui vient d'être décrit pour les alloantigènes. Une particularité essentielle de ces réactions cytotoxiques antivirales tient cependant à la nécessité d'une compatibilité au CMH entre la cellule infectée qui a initialement servi à sensibiliser le CTL, et la cellule-cible infectée à laquelle le CTL est confronté au cours de la phase de cytotoxicité. Cette exigence de syngénicité entre cellule stimulante et cellule-cible, découverte par Zinkernagel et Doherty en 1975 dans la réponse au virus de la chorioméningite lymphocytaire chez la souris, a reçu le nom de restriction syngénique ou allogénique. Ce phénomène de double reconnaissance de l'antigène nominal X et des antigènes de classe I de la cellule qui présente l'antigène (complexe soi + X) est général et s'applique à tous les virus ainsi qu'aux autres antigènes non-CMH donnant lieu à la production de CTL (antigènes tumoraux, antigènes mâles, antigènes mineurs d'histocompatibilité, haptènes couplés à des cellules). Il a été retrouvé dans de nombreuses espèces, y compris l'homme. La restriction s'applique de la même façon aux cellules T auxiliaires qui reconnaissent l'antigène présenté par des cellules dites « présentatrices de l'antigène » (macrophages, cellules dendritiques folliculaires, cellules de Langerhans...), en association avec les produits du CMH de ces cellules. Notons néanmoins que dans le cas des CTL, la restriction intéresse essentiellement les antigènes de classe I, alors que nous verrons qu'elle intéresse les antigènes de classe II pour les cellules T auxiliaires.

### MÉCANISMES DE LA CYTOLYSE

L'action cytolitique des CTL est autonome : elle ne nécessite l'appoint d'aucune autre cellule (une fois que les CTL se sont complètement différenciés à partir des P-CTL), ni d'aucun facteur humoral (anticorps ou complément).

Le contact direct entre le CTL et sa cible est nécessaire : aucune cytotoxicité n'est observée si le CTL et la cible sont séparés par une membrane semi-perméable. Une cellule non apparentée co-incubée avec la cellule-cible spécifique du CTL n'est pas détruite.

L'utilisation d'inhibiteurs a permis de disséquer l'action lytique des CTL et de distinguer trois étapes : la liaison du CTL à la cible (formation du conjugué), la lésion létale (préparation à la lyse) et la cytolyse à proprement parler.

La lésion létale est précédée d'une courte période préparatoire où le niveau de l'AMP cyclique pourrait jouer un rôle déterminant. Les mécanismes responsables de la lésion létale restent énigmatiques. Le rôle de communications intercytoplasmiques est suggéré par la mise en évidence dans des CTL de granules azurophiles doués du même pouvoir cytotoxique que les granules observés dans les cellules NK. Ces granules cytoplasmiques sont retrouvés dans les CTL en microscopie électronique, concentrés au contact de la cible lorsque le conjugué CTL - cellule-cible est formé. Les granules contiennent des enzymes lysosomiaux et surtout des substances cytolitiques, telles que le facteur nécrosant des tumeurs  $\beta$  (TNF $\beta$ ), d'action relativement lente, et d'autres facteurs d'action plus rapide, les cytolysines (perforine).

### CELLULES K

Les cibles cellulaires les plus variées, recouvertes par de faibles concentrations d'anticorps IgG, deviennent sensibles à l'effet cytotoxique de certaines cellules mononucléées, les cellules K (de l'anglais Killer). C'est la cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC pour « antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity »).

### ORIGINE

Il n'existe pas une catégorie unique mais plusieurs types de cellules cytotoxiques capables d'exercer une activité ADCC. Ces cellules ont en commun de posséder à leur surface des récepteurs de haute affinité pour le fragment Fc (FcR) des IgG, sans pour autant que toute cellule FcR<sup>+</sup> soit capable d'exercer une activité ADCC. Les cellules les mieux connues pour leur activité ADCC sont les polynucléaires, les macrophages, les plaquettes, les cellules de foie fœtal et surtout des cellules mononucléées, présentes dans les organes lymphoïdes, dépourvues des marqueurs et des propriétés des cellules B et T et auxquelles est habituellement réservé le terme de cellule K. La nature et les mécanismes d'action de ces cellules K ne sont pas fondamentalement différents de ceux des autres cellules capables d'ADCC.

## PHÉNOTYPE

La définition des cellules K est essentiellement négative. Les cellules K ne portent pas d'Ig de membrane et sont dépourvues des marqueurs des cellules T (en particulier les récepteurs des rosettes E et les antigènes de différenciation reconnus par les anticorps monoclonaux). Ce phénotype de cellules nulles les rapproche des effecteurs NK. En fait, il n'existe pas de marqueurs spécifiques permettant de distinguer de façon fiable cellules K et NK. Des expériences fonctionnelles de compétition montrent que certaines cellules nulles ont simultanément une activité K et NK alors que d'autres sont soit K, soit NK.

## CELLULES NK

Certaines cellules mononucléées présentent une activité cytolytique, apparemment non spécifique de l'antigène, dirigée contre certaines cellules-cibles, en général des lignées de cellules tumorales, indépendamment de toute sensibilisation préalable et de toute restriction au complexe majeur d'histocompatibilité. Les cellules en question sont appelées tueuses naturelles par analogie aux anticorps naturels produits sans immunisation intentionnelle (NK pour « natural killer »).

## ORIGINE

La lignée cellulaire à laquelle appartiennent les cellules NK reste l'objet de débats. Les cellules NK pourraient soit représenter une nouvelle famille de cellules lymphoïdes, dérivées de la moelle osseuse, soit un stade particulier de différenciation cellulaire propre à une ou plusieurs lignées hématopoïétiques. On les retrouve dans les organes lymphoïdes (à l'exception du thymus) et dans le sang. Tant chez la souris que chez l'homme, les cellules NK expriment des antigènes de différenciation propres aux cellules lymphoïdes. Plusieurs arguments suggèrent leur rattachement possible à la lignée T : présence de certains marqueurs de cellules T (antigène Thy-1, en faible densité, chez la souris; fixation de certains anticorps monoclonaux anti-T et forma-

tion de rosettes E chez l'homme; sensibilité à l'interleukine 2). La présence d'un niveau élevé d'activité NK chez les souris nude ainsi que sa modulation par les hormones thymiques suggèrent que les cellules NK pourraient représenter des cellules T à une phase immature de leur différenciation thymique.

## PHÉNOTYPE

Les cellules NK se distinguent des monocytes par l'absence de fixation des anticorps Mo 2 et Leu M1, des cellules B par l'absence d'Ig de surface et de récepteurs pour le complément et des cellules T mûres, par l'absence de certains antigènes (Lyt 2 chez la souris, CD3, CD4 et CD6 chez l'homme). Elles se rapprochent, néanmoins des cellules T par la présence sur une fraction importante d'entre elles des antigènes Lyt 1 et Thy-1 chez la souris, CD8, CD11, Leu 5 et CD10 chez l'homme et des cellules phagocytaires par leur réactivité avec l'anticorps OKM1 ainsi qu'avec des anticorps dirigés contre les récepteurs Fc.

Certains grands lymphocytes granuleux de 16 à 20  $\mu\text{m}$  assureraient l'essentiel de l'activité NK observée dans le sang circulant chez l'homme. Ces cellules porteuses de granules cytoplasmiques azurophiles, qui représenteraient des lysosomes ou des filaments d'actine, possèdent un noyau réniforme. Elles peuvent être purifiées par centrifugation sur Ficoll dans les couches les plus légères. Elles forment, pour environ la moitié d'entre elles, des rosettes E et sont reconnues par divers anticorps monoclonaux spécifiques des cellules T, par les anticorps OKM1 (spécifiques des monocytes) et Leu 7 mais pas par l'OKT3. Elles sont également porteuses de récepteurs Fc et sont douées d'activité cytotoxique ADCC. Ces lymphocytes, dont il semble exister plusieurs sous-populations, sont retrouvés à un taux élevé dans le sang (7 p. cent) mais aussi, quoique avec un plus faible pourcentage, dans la rate (4 p. cent), les ganglions (1 p. cent) et les épithéliums muqueux. On ne les trouve pas dans le thymus.

## RÉGULATION DE L'ACTIVITÉ NK

Les interférons, de toutes origines, augmentent très nettement l'activité NK, dans toutes les espèces testées. L'IL-2 stimule aussi l'activité NK



sensibilité à  
niveau élevé  
ainsi que sa  
ues suggèrent  
présenter des  
leur différen-

es monocytes  
corps Mo 2 et  
ence d'Ig de  
olément et des  
de certains  
CD3, CD4 et  
ochent, néan-  
ence sur une  
des antigènes  
CD11, Leu 5  
ules phagocy-  
icorps OKM1  
és contre les

uleux de 16 à  
l'activité NK  
chez l'homme.  
cytoplasmiques  
lysosomes ou  
n noyau réni-  
par centrifuga-  
plus légères.  
moitié d'entre  
ues par divers  
les cellules T,  
cifiques des  
l'OKT3. Elles  
urs Fc et sont  
CC. Ces lym-  
lusieurs sous-  
x élevé dans le  
e avec un plus  
p. cent), les  
ms muqueux.  
mus.

## É NK

es, augmentent  
ns toutes les  
i l'activité NK

et peut même faire apparaître une activité cyto-  
toxique de type NK dans des CTL authentiques.  
De telles cellules, ayant perdu leur stricte spécifi-  
cité de CTL, sont baptisées « Lymphokine Acti-  
vated Killer » (LAK). Par ailleurs, les cellules  
NK seraient sensibles à l'action de mécanismes  
suppresseurs faisant intervenir les cellules T. Le  
niveau d'activité NK est contrôlé par des facteurs

génétiques, dont certains sont associés au CMH.  
C'est ainsi que le phénotype H-2<sup>k</sup> va de pair avec  
une bonne activité NK alors que les souris H-2<sup>a</sup>  
ou H-2<sup>s</sup> répondent faiblement. Par ailleurs, on  
connait une mutation chez la souris, le mutant  
beige dont l'équivalent humain est la maladie de  
Chediak-Higashi, qui se manifeste par une perte  
totale d'activité NK.

B. Charley, J. Content, P.-P. Pastoret

## CYTOKINES

Les cytokines constituent un groupe de médiateurs polypeptidiques, transmettant des signaux de cellule à cellule. De concert avec d'autres substances, elles sont le support du langage moléculaire de l'inflammation et de l'immunité et participent à la réalisation d'un réseau appelé *réseau des cytokines*.

Les fonctions de ce réseau ne sont pas encore connues en détail mais il joue probablement un rôle dans la coordination et l'exécution des réactions de défense vis-à-vis d'infections, de traumatismes ou d'agressions diverses. Comme des hormones, les cytokines peuvent agir à distance lorsqu'elles sont sécrétées en quantité suffisante dans le torrent circulatoire mais, le plus souvent, elles agissent vraisemblablement dans un micro-environnement de manière paracrine ou éventuellement autocrine.

La biologie moléculaire a permis d'explorer la structure de la plupart des cytokines connues. Cette approche moléculaire a également permis de comprendre les relations structure/fonction de

plusieurs d'entre elles. Le modèle le plus avancé est probablement celui de l'IL-2 dont le récepteur est également caractérisé et séquencé. Les nombreuses études portant sur l'expression des gènes de cytokine ont clarifié les conditions d'induction et d'action de ces molécules particulières qui, non seulement, exercent des activités très diversifiées, coopèrent entre elles par de multiples synergies, mais également s'influencent l'une l'autre au niveau de leur expression au sein de ce très complexe « réseau des cytokines » dont l'analyse vient à peine de commencer. La synthèse des cytokines est donc régulée et leur action s'exerce sur les cellules-cibles par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique dont l'expression est souvent contrôlée.

Après une rapide présentation des principales cytokines, de leurs activités, de leur origine cellulaire, la seconde partie de ce chapitre présentera une revue plus détaillée de l'état actuel de nos connaissances sur les cytokines des animaux domestiques : essentiellement les interleukines 1 et 2 et les interférons.

## DÉFINITIONS

Le terme *cytokine* correspond à une appellation générale : ce sont des polypeptides jouant le rôle de messagers intercellulaires impliqués dans le contrôle de l'homéostasie et spécialement, par l'entremise d'un réseau, dans la coordination de diverses réactions de défense faisant intervenir l'immunité, l'inflammation et l'hématopoïèse [17, 18].

Selon leur origine cellulaire on distingue parfois les cytokines en :

- monokines, produites par les monocytes et les macrophages;
- lymphokines, sécrétées par des lymphocytes activés [12-13].

Cette appellation implique également leur participation à la régulation de l'activité des cellules immunocompétentes. Cependant, puisque les mêmes substances sont souvent produites non seulement par les lymphocytes activés, mais aussi par des cellules aussi diverses que les kératinocytes, les fibroblastes, les macrophages, les cellules endothéliales, etc, le terme cytokine s'est avéré beaucoup plus commode parce que plus général.

Quand on veut insister sur leur rôle de communication entre leucocytes, on utilise souvent, pour un certain nombre de cytokines, le terme d'interleukine, suivi d'un numéro (IL-n) [21]. Comme, dans un premier temps, les cytokines avaient été désignées par leurs fonctions biologiques connues (qui sont parfois très nombreuses pour une molécule donnée [26]), la nomenclature IL-n a permis de nombreuses simplifications. Le cas de l'IL-6 est exemplaire à cet égard, puisque avant cette dénomination la même molécule était connue sous neuf appellations différentes (BCDF, BSF-2, BSFp-2, BCGF, HPGF, HSF, IFN- $\beta$ 2, protéine 26 kd,... et HP-1 chez la souris).

Pour l'instant la nomenclature des interleukines comporte neuf représentants, l'IL-1 étant repré-

sentée par deux espèces moléculaires distinctes ayant une activité biologique identique. Enfin, certaines substances comme les interférons, les facteurs nécrosants des tumeurs (Tumor Necrosis Factors, TNF), les facteurs stimulateurs de colonies (Colony Stimulating Factors, CSF) ont gardé leur appellation originelle basée sur l'activité ayant conduit à leur découverte.

## RÉSEAU DES CYTOKINES

Depuis l'utilisation des techniques de l'ingénierie génétique, beaucoup de gènes de cytokines ont été isolés, leurs séquences ont pu être déterminées et plusieurs d'entre elles peuvent être couramment obtenues sous forme pure.

La plupart des cytokines exercent des activités biologiques multiples sur de nombreuses cellules-cibles et souvent il y a entraide entre différentes molécules pour l'induction d'une activité donnée [19]. Enfin, l'expression des cytokines est très strictement régulée et les schémas complexes d'induction de ces substances sont souvent le reflet d'interactions en cascade *in vivo*, au sein d'un réseau.

Le réseau des cytokines est donc caractérisé par l'existence de cascades d'inductions aboutissant à l'émission de substances se comportant comme des hormones pléiotropes souvent redondantes pour certaines activités et synergiques, dans d'autres cas. C'est tout particulièrement au cours de l'initiation et de la régulation de la réponse immune que ces interactions entre cytokines jouent un rôle prépondérant : ainsi, les cellules présentant l'antigène vont-elles synthétiser l'IL-1 qui va agir sur les lymphocytes T auxiliaires, les induisant à produire l'IFN- $\gamma$ , l'IL-2 et l'IL-4. L'IFN- $\gamma$  sera capable d'activer les macrophages en une boucle d'amplification, alors que les autres

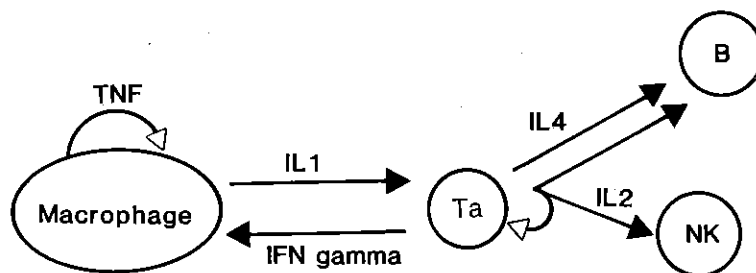


Figure 11-1 Exemple de l'ébauche d'un réseau des cytokines. TNF : Facteur nécrosant des tumeurs; Ta : Lymphocyte T auxiliaire (CD4<sup>+</sup>); B : Lymphocyte B; NK : Cellule tueuse naturelle.

interleu  
différen  
laire :

L'étu  
ment p  
d'entre  
ressant  
cytokin

## RÉPE

## INTER

## Interle

## Défin

les mo  
géniqu  
utilise  
thymod  
immatu

## Clas

IL-1 $\alpha$   
similai  
distinct

## Car

formes  
diffère  
d'un p  
isoélec  
ment  
précurs  
pas de  
ne pré  
niveau  
homol  
région  
dans l  
moléc

## Bas

été cl  
humain  
deux g  
Le gèn  
du br

## La s

établie

interleukines provoqueront la prolifération et/ou la différenciation d'autres sous-populations cellulaires : lymphocytes T, B, cellules NK (Fig. 11-1).

L'étude moléculaire de ces régulations a fortement progressé depuis quelques années et permet d'entrevoir des applications thérapeutiques intéressantes par l'étude des anomalies du réseau des cytokines [27].

## RÉPERTOIRE DES CYTOKINES

### INTERLEUKINES [25]

#### Interleukine 1

**Définition.** C'est un facteur soluble produit par les monocytes activés et ayant une activité mitogénique pour les lymphocytes T (classiquement on utilise pour le dosage de l'IL-1 des préparations thymocytaires de souris, riches en lymphocytes T immatures).

**Classification.** Deux sous-types sont connus IL-1 $\alpha$  et IL-1 $\beta$ ; ils ont une activité biologique similaire, mais correspondent à des gènes distincts.

**Caractéristiques biochimiques.** Les deux formes d'IL-1 connues chez l'homme et chez différents animaux correspondent à des protéines d'un poids moléculaire de 17 kd et de point isoélectrique 5 (IL-1 $\alpha$ ) et 7 (IL-1 $\beta$ ). Contrairement à la majorité des protéines sécrétées, les précurseurs d'IL-1 (PM de 32 kd) ne contiennent pas de séquence hydrophobe. L'IL-1 $\alpha$  et l'IL-1 $\beta$  ne présentent que 25 p. cent d'homologie au niveau de leurs séquences en acides aminés, cette homologie étant surtout localisée au niveau de la région C-terminale qui pourrait être importante dans la constitution du centre actif de ces deux molécules.

**Bases génétiques.** Les ADNc d'IL-1 $\alpha$  et  $\beta$  ont été clonés et séquencés à partir de cellules humaines et de plusieurs espèces animales. Les deux gènes d'IL-1 humaine comportent 7 exons. Le gène de l'IL-1 $\beta$  humaine est localisé au niveau du bras long du chromosome 2.

**La structure tridimensionnelle** a été récemment établie pour l'IL-1 $\beta$  humaine [23].

**Cellules productrices.** La source principale est constituée par les monocytes activés par différents micro-organismes, par les LPS, par d'autres activateurs, par d'autres cellules (cellules T activées), par d'autres cytokines (M-CSF, l'IFN- $\gamma$ , le TNF, etc.).

**Activités biologiques.** L'interleukine 1 est actuellement considérée comme une hormone extrêmement pléiotrope dont les activités appartiennent à deux catégories et affectent la différenciation, la croissance et l'activité de très nombreux types cellulaires dans l'organisme.

Au sein du système immunitaire, l'IL-1 agit comme second signal (le premier étant la stimulation antigénique), nécessaire pour l'activation du circuit IL-2 par les cellules T activées (production d'IL-2 et expression de ses récepteurs). Ceci permet le développement de populations de cellules T répondant à un antigène déterminé. L'IL-1 potentialise l'action d'autres cytokines telles que l'IL-4, l'IL-6, ... et stimule directement la synthèse de l'IL-2, de l'IL-3, de l'IL-4, de l'IL-6, de l'IFN- $\gamma$  (via l'IL-2) et de l'IFN- $\beta$ , notamment. D'une façon plus globale, l'IL-1 peut contribuer à la différenciation des lymphocytes B et à leur production d'immunoglobulines.

Au cours de la réponse inflammatoire, l'IL-1 (qui peut être produite par des cellules endommagées) agit comme un coordinateur à des niveaux très variés. Elle stimule la croissance des cellules fibroblastiques ou, par exemple, la production de multiples protéines de phase aiguë par les hépatocytes (en conjonction avec l'IL-6), la résorption osseuse, la dégradation du cartilage, la production de collagénase par les chondrocytes et la synthèse d'autres protéases. L'IL-1 est aussi pyrogène à la suite de la libération de prostaglandines E<sub>2</sub>. Elle agit également au niveau du système nerveux, entraînant de la somnolence et de l'anorexie. Elle contrôle, par ailleurs, de multiples modifications neuro-endocriniennes et métaboliques. Enfin, elle influence la distribution et l'activité des polynucléaires neutrophiles sanguins.

**Récepteur.** L'ADNc correspondant à un récepteur spécifique à haute affinité a été cloné et séquencé récemment. Son domaine extracellulaire s'apparente structurellement à la famille des Ig et à d'autres récepteurs (R-PGDF, R-IL-6).

**Synonymes :** Hémopoïétine 1, Lymphocyte Activating Factor (LAF), Endogen Pyrogen (EP), Leukocyte Endogenous Mediator (LEM), Mononuclear Cell Factor (MCF), 22 kd protein factor.

## Interleukine 2

**Définition et classification.** L'interleukine 2 est une lymphokine produite par les cellules T auxiliaires activées et dont le rôle principal est celui de facteur de croissance pour les cellules T, assurant de ce fait l'expansion clonale de ces cellules au cours de la réponse immune. Il n'existe pas de sous-type connu.

**Caractéristiques biochimiques.** L'IL-2 est une glycoprotéine sécrétée de 15,5 kd comportant 133 acides aminés pour la forme humaine. L'IL-2 murine présente avec cette dernière une homologie de 63 p. cent.

**La structure tridimensionnelle** n'est pas encore connue, mais on présume qu'une hélice  $\alpha$  se trouvant dans la région carboxyterminale joue un rôle essentiel dans l'activité biologique de la molécule.

**Bases génétiques.** Le gène humain comporte 4 exons et a été localisé au niveau du bras long du chromosome 4. Certaines des séquences régulatrices responsables de l'activation transcriptionnelle du gène de l'IL-2 ont été localisées dans une région d'environ 200 nucléotides précédant le premier exon. Cette séquence présentant les caractéristiques d'un amplificateur inductible est vraisemblablement un point d'aboutissement de signaux intracellulaires apparaissant dans le lymphocyte T stimulé à la fois par la reconnaissance antigénique (l'antigène étant présenté par une cellule présentatrice appelée « CPA », dans un complexe d'histocompatibilité de classe II) et par l'IL-1 produite par la cellule CPA. Un contrôle supplémentaire assurant la spécificité de la réponse est exercé par l'induction simultanée de récepteurs à IL-2 de haute affinité, qui ne sont pas exprimés par les cellules T au repos.

**Cellules productrices.** Il s'agit principalement des cellules T, CD4 positives activées, mais aussi de certaines lignées cellulaires tumorales dérivées de cellules T.

**Activités biologiques.** L'IL-2 contrôle la synthèse de l'IFN- $\gamma$  par les cellules T (ou NK). Elle stimule la production de cellules cytotoxiques (cellules T, NK ou monocytes) et augmente leur activité. Certaines de ces activités se font en synergie avec l'IL-6 et l'IFN- $\gamma$ . L'IL-2 peut également stimuler, de concert avec l'IFN- $\gamma$ , la sécrétion d'immunoglobulines par des cellules B préalablement activées. Au laboratoire, l'IL-2 est utilisée pour maintenir en culture des clones de

cellules T (auxiliaires, suppressives ou cytotoxiques). En clinique, on a tenté de tirer parti de l'effet antitumoral de cette molécule (résultant probablement et principalement de la stimulation de cellules cytotoxiques) et d'un effet immunoadjuvant.

**Récepteur.** Il présente la particularité de comporter deux sous-unités dont l'association produit un complexe de haute affinité pour l'IL-2. L'ADNc correspondant à la sous-unité p55 (ou antigène Tac) est séquencé. Il code pour une protéine mûre de 272 acides aminés, très fortement glycosylée (pour atteindre un PM de 55 kd). Le gène correspondant comporte 8 exons et se trouve, chez l'homme, sur le bras court (p14-15) du chromosome 10.

La régulation de son expression se fait probablement par des mécanismes semblables à ceux impliqués dans le contrôle de l'expression de l'IL-2. Outre son expression par les cellules T, le récepteur p55 peut être induit au niveau des thymocytes (médullaire et cortex), de cellules de la lignée monocytes-macrophages, et des lymphocytes B.

**Synonymes :** T-Cell Growth Factor (TCGF), T-cell Maturation/Stimulation Factor (TMF/TSF), Killer Helper Factor (KHF), T-cell Replacing Factor (TRF).

## Interleukine 3 (multi-CSF)

**Définition et classification.** Ce facteur qui est produit par les lymphocytes T activés stimule la croissance et la différenciation de toutes les lignées hématopoïétiques (lignées myéloïdes, érythroïdes, macrophages et mastocytes).

**Caractéristiques biochimiques.** La protéine humaine mûre, de 14,6 kd, comporte 133 acides aminés. Sa séquence présente 28 p. cent d'homologie avec celle de l'IL-3 murine.

**Bases génétiques.** Le gène correspondant à l'IL-3 humaine, contient 4 introns. Il est situé dans la région q23-31 du bras long du chromosome 5.

**Cellules productrices.** Les cellules produisant l'IL-3 sont des cellules T stimulées par un antigène ou un mitogène. Certaines cellules tumorales telles que les cellules leucémiques myélomonocytaires murines WEHI-3B et certains hybridomes T peuvent la produire constitutivement.

**Activ**  
l'IL-3  
système  
ques d  
peuvent  
ou infla  
un rôle  
l'activi  
Il faut  
tante sy  
peuvent  
tances.  
phoïdes  
cepend  
autocri  
formes

**Réce**  
affinité  
réponda

**Syn**  
stimulat  
stimulat  
cell-stim  
(PSH).

## Interle

**Défin**  
produit  
dont l'  
promou  
n'existe

**Struc**  
protéine  
129 acid  
p. cent

**Bases**  
l'IL-4 m  
correspo  
chromos  
une séq  
premier  
région c

**Cellul**  
classes d  
producti  
lation a  
l'IL-2, l  
les cellu  
l'IL-5.

**Activités biologiques.** Le rôle principal de l'IL-3 semble être de servir de relais entre le système immunitaire et les cellules hématopoïétiques dont la production ou le recrutement local peuvent être nécessaires dans la réponse immune ou inflammatoire. Il ne semble pas que l'IL-3 joue un rôle dans le développement ou le maintien de l'activité normale des cellules hématopoïétiques. Il faut signaler ici l'existence d'une très importante synergie d'action entre l'IL-3 et l'IL-6 qui peuvent être produites dans les mêmes circonstances. L'effet de l'IL-3 sur les cellules lymphoïdes B et T est encore discuté. Il semble cependant que chez la souris, la production autocrine d'IL-3 soit à l'origine de certaines formes de leucémies.

**Récepteur.** Un récepteur spécifique de haute affinité a été caractérisé à la surface de cellules répondant à l'IL-3.

**Synonymes :** Burst-promoting activator, CFU's stimulating activator, histamine-producing cell stimulating factor, mast-cell growth factor, P cell-stimulating factor, Pan Specific Hemopoietin (PSH).

#### Interleukine 4

**Définition et classification.** Il s'agit d'un facteur produit par certaines cellules CD4<sup>+</sup> activées et dont l'activité, initialement reconnue, est de promouvoir la croissance des lymphocytes B. Il n'existe pas de sous-type connu.

**Structure.** Chez l'homme, il s'agit d'une glycoprotéine de 20 kd comportant dans sa forme mûre 129 acides aminés et dont la séquence présente 40 p. cent d'homologie avec celle de l'IL-4 murine.

**Bases génétiques.** Le gène correspondant à l'IL-4 murine comporte 4 exons. Le gène humain correspondant à l'IL-4 est localisé au niveau du chromosome 5. La régulation de ce gène implique une séquence de 200 paires de bases en amont du premier exon, présentant une homologie avec la région correspondante de l'IL-2.

**Cellules productrices.** On distingue deux classes de cellules T auxiliaires se partageant la production de diverses lymphokines. Après stimulation antigénique les cellules Ta1 produisent l'IL-2, l'IL-3, le GM-CSF et l'IFN- $\gamma$ , alors que les cellules Ta2, produisent l'IL-3, l'IL-4 et l'IL-5.

**Activités biologiques.** L'IL-4 agit sur les lymphocytes B en tant que cofacteur de stimulation de croissance; chez la souris elle stimule également la synthèse de certaines immunoglobulines (IgG1 et IgE) alors que la production d'autres isotypes (IgG2a, IgG2b, IgM et IgA) est inhibée, enfin elle stimule l'expression des antigènes d'histocompatibilité de classe II sur les cellules B au repos.

L'IL-4 est un facteur de croissance pour les cellules T mûres et immatures. Elle augmente également l'activité des cellules T cytotoxiques. Elle exerce enfin, en coopération éventuelle avec l'IL-3, un effet mitogénique sur les mastocytes.

**Un récepteur** de haute affinité a été caractérisé à la surface de cellules répondant à l'IL-4.

**Synonymes :** BCGF-1, BSF-1, BCDF $\epsilon$ , BCDF $\gamma$ .

#### Interleukine 5

**Définition.** Au départ, il s'agissait d'un facteur produit par les cellules T et stimulant la croissance de cellules leucémiques de la lignée BCL1 ou de cellules B murines stimulées simultanément par le sulfate de dextran.

**Structure.** Les facteurs murin et humain sont des glycoprotéines de 112 et 114 acides aminés respectivement, correspondant à un PM de 14 kd.

**Bases génétiques.** Les ADNc correspondant à l'IL-5 murine et humaine ont été clonés, séquencés et exprimés.

**Cellules productrices.** Les cellules T sont la source de l'IL-5. On la produit à partir de lignées T (thymomes et hybridomes).

**Activités biologiques.** L'IL-5 augmente la sécrétion d'IgM et d'IgA par les cellules B activées et stimule la production d'IgE (par l'entremise de l'IL-4). Ce facteur ne limite cependant pas son action aux cellules B; il induit également la différenciation des éosinophiles et la formation de cellules T cytotoxiques, en présence d'IL-2.

**Récepteur.** Un récepteur spécifique de haute affinité a été caractérisé à la surface de cellules répondant à l'IL-5.

**Synonymes :** T-cell Replacing Factor (TRF), Eosinophil Differentiation Factor (EDF), B-Cell Growth Factor II (BCGF-II).

## Interleukine 6

**Définition.** Il s'agit au départ d'un facteur de différenciation terminale des lymphocytes B, produit par les macrophages ou par certaines lignées de cellules T.

**Caractéristiques de la protéine.** La protéine humaine mûre comporte 184 acides aminés. Elle présente une faible homologie avec le G-CSF et une homologie de 42 p. cent avec l'IL-6 murine.

**Bases génétiques.** Le gène comporte 5 exons et pour l'IL-6 humaine, il est localisé au niveau de la région distale du bras court du chromosome 7.

**Cellules productrices.** De nombreux types cellulaires peuvent produire l'IL-6 soit de manière constitutive, soit après induction par l'IL-1 $\alpha$ , l'IL-1 $\beta$ , le TNF- $\beta$ , la cycloheximide, le PDGF, le sérum bovin, l'EGF, les LPS, les esters de phorbol (PMA), les dérivés du diacylglycérol, les ARN bicaténaires [Poly (IC)], certains inhibiteurs (tunicamycine, actinomycine D).

De nombreux types cellulaires peuvent produire de l'IL-6, comme les fibroblastes, les macrophages, les lymphocytes T ou B (lignées de cellules T-HIV-1), les hépatocytes, les cellules spléniques et rénales, les cellules gliales, certaines cellules hypophysaires (cellules folliculo-stellées), les cellules du derme, les cellules endométriales, certaines cellules tumorales : myxome cardiaque, cancer du col utérin, carcinome vésical, glioblastomes, astrocytomes.

**Activités biologiques.** L'interleukine 6 exerce une activité sur les lymphocytes B en induisant la production d'immunoglobulines et en agissant comme facteur de croissance pour certaines lignées d'hybridomes et les plasmocytomes.

Au niveau des lymphocytes T, elle induit l'expression des récepteurs de l'IL-2 et la différenciation des lymphocytes T cytotoxiques. En synergie ou non avec l'IL-1 elle agit également sur la croissance de ces cellules [29].

Elle participe au contrôle de l'hématopoïèse par une activité de type GM-CSF; elle peut d'ailleurs agir en synergie avec l'IL-3. Elle active la différenciation de certaines lignées de leucémies myéloïdes.

Elle stimule l'expression des protéines de la réaction inflammatoire (Acute Phase Proteins) par les hépatocytes en synergie avec l'IL-1 et les glucocorticoïdes.

Enfin elle intervient sur les cellules du système nerveux puisqu'elle favorise la différenciation des

cellules PC12 en neurones, qu'elle est pyrogène chez le lapin et qu'elle stimule l'axe hypothalamo-hypophysaire.

**Récepteur.** Un récepteur spécifique de haute affinité existe à la surface de nombreux types cellulaires. Le nombre de sites est en général peu élevé : de 300 à 2 000 par cellule. L'ADNc du récepteur de l'IL-6 a été cloné, séquencé et exprimé dans des cellules hétérologues. Comme celui de l'IL-1 et du PDGF, il présente un domaine extracellulaire dont la structure permet de le classer dans la « superfamille » des immunoglobulines.

**Synonymes :** pour l'IL-6 humaine : B-cell Stimulating Factor (BSF-2), interferon- $\beta_2$ , Hepatocyte Stimulating Factor (HSF), 26 kd protein, Hybridoma-Plasmacytoma Growth Factor (HPGF, HGF), B-Cell Differentiation Factor (BCDF), B-cell Stimulating Factor p2 (BSFp2), DIF, CSF-309 et pour l'IL-6 murine : IL-HP1, PCTGF (Plasmacytoma Growth Factor), LHGF, MGI-2.

## Interleukine 7

**Définition.** Il s'agit d'un facteur, dérivé de cellules stromales de la moelle osseuse, capable de stimuler la prolifération des cellules pré-B.

**Caractéristiques biochimiques.** L'IL-7 humaine est une glycoprotéine de 17,4 kd dont la séquence en acides aminés présente 60 p. cent d'homologie avec celle de l'IL-7 murine.

**Classification.** Un seul gène connu mais donnant lieu, tant chez la souris que chez l'homme, à plusieurs transcrits distincts par épissage alternatif.

**Cellules productrices.** L'IL-7 est produite par les cellules stromales de la moelle osseuse et certaines lignées tumorales mais aussi, chez la souris et chez l'homme, par les cellules spléniques, thymiques, rénales et hépatiques.

**Activités biologiques.** L'IL-7 agit également sur les cellules T : elle est mitogène pour les thymocytes ou comitogène en présence de conca-valine A, pour les cellules T périphériques.

## Neuroleukine

Substance intéressante, encore peu connue, la neuroleukine permet d'envisager (au même titre

que l'interac  
des cy

La  
acides  
certain  
saliva  
par le  
Du po  
joue d  
et l'IL  
des ce  
très f  
isomé  
[7].

FACT  
DES  
[TUN  
(TNF

Déf  
monol  
par un  
hémo

Stru  
une g  
mûre)  
homol  
murin  
171 ac  
mûre  
présen  
séque

Clas  
deux  
anima  
indépe  
rents  
cation  
foncti  
se fixe  
haute

Bas  
TNF-  
lisés,  
6 ent

que l'IL-1 et l'IL-6, par exemple) de nouvelles interactions entre le système nerveux et le réseau des cytokines.

La protéine murine mûre, comportant 558 acides aminés, est un facteur de croissance pour certains neurones. Elle est produite par les glandes salivaires, le muscle strié, le cerveau, mais aussi par les lymphocytes T stimulés par les lectines. Du point de vue immunologique, la neuroleukine joue certainement un rôle, de concert avec l'IL-4 et l'IL-5, dans l'activation et l'expansion clonale des cellules B. Curieusement, elle présente une très forte homologie avec la phosphohexose isomérase, une enzyme importante de la glycolyse [7].

### FACTEURS NÉCROSANTS DES TUMEURS [TUMOR NECROSIS FACTORS (TNF ET LYMPHOTOXINE)] [20]

**Définition.** Le TNF a été découvert en tant que monokine produite par des macrophages stimulés par une endotoxine et responsable de la nécrose hémorragique de tumeurs chez la souris.

**Structure** [15]. Le TNF- $\alpha$  humain correspond à une glycoprotéine de 157 acides aminés (protéine mûre) d'un PM de 17 kd et présentant une homologie de 80 p. cent avec son équivalent murin. Le TNF- $\beta$  humain est une glycoprotéine de 171 acides aminés, correspondant pour la protéine mûre à un PM de 25 kd. Les TNF- $\alpha$  et  $\beta$  présentent entre eux 28 p. cent d'homologie de séquence en acides aminés.

**Classification.** La famille des TNF comprend deux sous-types  $\alpha$  et  $\beta$  dans plusieurs espèces animales. Ces deux sous-types ont été découverts indépendamment et décrits sous des noms différents mais correspondent probablement à la duplication d'un gène ancestral. Du point de vue fonctionnel ils exercent une activité semblable et se fixent au même type de récepteurs de surface à haute affinité.

**Bases génétiques.** Les gènes des TNF- $\alpha$  et TNF- $\beta$  possèdent chacun 3 introns et sont localisés, en tandem, sur le bras court du chromosome 6 entre HLA-DR et HLA-B du CMH.

**Cellules productrices.** Le TNF- $\alpha$  est surtout synthétisé par les macrophages stimulés par le LPS. Il peut en outre être produit par les cellules NK.

Le TNF- $\beta$ , au contraire, est produit par les lymphocytes T, auxiliaires ou cytotoxiques, activés par des mitogènes ou par stimulation antigénique.

**Activités biologiques.** Il s'agit de cytokines extrêmement pléiotropiques qui jouent des rôles essentiels dans la réponse inflammatoire et dans l'immunité cellulaire notamment. La variété de leurs actions est telle qu'il est impossible de les détailler. C'est ainsi qu'au niveau inflammatoire et général, elles participent à la fièvre, jouent un rôle dans la somnolence, dans l'expression de protéines de phase aiguë au niveau des hépatocytes, dans certains changements métaboliques (dont la réduction de la lipoprotéine lipase conduisant à la cachexie), dans l'hypotension, dans l'augmentation de la résorption osseuse, dans la production de prostaglandine E2 et de collagénase au niveau articulaire, dans la stimulation des cellules endothéliales et l'augmentation de la coagulabilité sanguine.

Du point de vue immunologique et au niveau local, elles exercent une activité cytotoxique, notamment envers certaines cellules tumorales et elles induisent la production d'autres cytokines (comme l'IL-1, l'IL-6, le GM-CSF et l'IFN- $\beta$ ). Elles peuvent également montrer d'importantes synergies d'action avec d'autres cytokines, comme l'IFN- $\gamma$ .

Enfin elles activent les lymphocytes T et B et présentent une activité antivirale directe ou indirecte par l'entremise de la production d'IFN.

Beaucoup de ces activités sont partagées avec l'IL-1 ou potentialisées par la coexistence de ces deux cytokines. Cette circonstance doit se présenter fréquemment in vivo puisque l'IL-1 et le TNF apparaissent dans les mêmes conditions et induisent leur production mutuelle.

**Un récepteur** spécifique, de haute affinité, également reconnu par les TNF- $\alpha$  et  $\beta$  est distribué de façon ubiquiste sur différentes cellules de tissus variés.

**La structure tridimensionnelle** du TNF a été décrite; elle ne présente aucune analogie avec celle de l'IL-1 $\beta$ . Le TNF se structure sous forme de trimères dont l'organisation spatiale ressemble à celle de certaines protéines capsidiques virales.



**Synonymes :** a) TNF ou TNF- $\alpha$  ou cachectine; b) lymphotoxine ou TNF- $\beta$ .

### CSF (FACTEURS STIMULATEURS DE COLONIES)

Beaucoup de cytokines sont capables, parmi d'autres activités, de stimuler la croissance ou la différenciation d'une ou plusieurs lignées hématopoïétiques. C'est évidemment le cas de l'IL-3, mais aussi celui de l'IL-1, de l'IL-6 et de l'IL-7. Ces 3 dernières sont considérées ici comme des CSF, au même titre que l'IL-3 qui n'a été dissociée que pour une raison discutable de nomenclature.

### GM-CSF (facteur stimulateur de colonies de granulocytes et de macrophages)

**Définition.** Il s'agit d'une cytokine stimulant la prolifération des lignées progénitrices de macrophages et de granulocytes. Elle active également les polynucléaires mûrs.

**Structure.** Chez l'homme, il s'agit d'une chaîne de 127 acides aminés, avec laquelle la protéine murine correspondante présente 50 p. cent d'homologie.

**Bases génétiques.** Le gène correspondant comporte 3 introns et a été localisé sur la région q23-q31 du bras long du chromosome 5 chez l'homme.

**Cellules productrices.** Principalement produit par les macrophages (stimulés par le LPS, par adhésion, etc.), il peut également être produit par certaines lignées de cellules tumorales, par les cellules stromales de la moelle osseuse, par les lymphocytes T activés, les fibroblastes et les cellules endothéliales.

### G-CSF (facteur stimulateur de colonies de granulocytes)

**Définition.** Ce facteur stimule particulièrement la lignée progénitrice des granulocytes.

**Structure.** Il s'agit d'une chaîne de 177 acides aminés, ne présentant pas d'homologie avec le GM-CSF ou l'IL-3.

**Bases génétiques.** Le gène correspondant est localisé sur le bras long (q11.2-q21) du chromosome 17 chez l'homme.

### M-CSF ou CSF-1 (facteur stimulateur de colonies de macrophages)

**Définition.** Ce facteur stimule la prolifération des cellules de la lignée progénitrice des monocytes.

**Structure.** La protéine mûre contient 224 acides aminés. L'homologie avec la protéine murine est probablement élevée (de l'ordre de 78 p. cent sur une partie de la séquence).

**Bases génétiques.** Le gène correspondant comporte 10 exons chez l'homme et est localisé au niveau de la région q33.1 du bras long du chromosome 5.

**Cellules productrices.** Le M-CSF peut être produit par les fibroblastes, les cellules endothéliales ou les macrophages.

**Récepteur.** Le récepteur membranaire spécifique à haute affinité, correspond au proto-oncogène c-fms dont la localisation chromosomique est proche de celle de l'ensemble GM-CSF, IL-3 et de M-CSF au niveau des bandes q33-34 du chromosome 5 chez l'homme.

### INTERFÉRONS

**Définition** [4, 11]. Il s'agit de cytokines ayant un large spectre d'activités antivirales (voir chapitre 21). Cet effet résulte de l'interaction de ces polypeptides avec des récepteurs membranaires spécifiques entraînant l'expression d'un certain nombre de gènes cellulaires directement responsables de l'état antiviral. Cette définition est quelque peu arbitraire; en réalité de nombreux intermédiaires existent entre cytokines antivirales et interférons proprement dits. D'autres cytokines pléiotropes, telles que le TNF et l'IL-1, par exemple, présentent également une activité antivirale, en partie secondaire à l'induction d'interféron, mais correspondant partiellement à une activité intrinsèque [4].

L'interféron  $\gamma$  est une lymphokine douée d'activité antivirale mais dont les caractéristiques biologiques se rapprochent plus de celles des interleukines que de celles des interférons. L'intervention des interférons en tant qu'antiviraux est développée dans le chapitre 21.

**Caractéristiques biochimiques.** Il s'agit dans la plupart des cas de glycoprotéines (excepté pour la

majorité d'un P acides aminés pour l'IFN- $\alpha$  niveau aucune

**Base** différen forme corres niveau d'intro niveau l'homme type d (par e sous-ty sont ég dans le  $\alpha$ . Che des in présent différe l'ensem corres chrom et les d récepté ques s

Il n' l'homme introns moson

**Cell** vertébr cellule

Clas chies e sangui stimul produit l'aide poly(I

L'IF types antigè

**Act** les no leur a une a

majorité des IFN- $\alpha$  qui ne sont pas glycosylés) d'un PM de 15 à 20 kd correspondant à  $\pm 165$  acides aminés pour les IFN- $\alpha$  et  $\beta$ , 172 acides aminés pour les IFNs- $\alpha$ II et à  $\pm 145$  acides aminés pour l'IFN- $\gamma$ . Les IFN- $\beta$  présentent avec les IFN- $\alpha$  une homologie de l'ordre de 30 p. cent (au niveau des acides aminés). L'IFN- $\gamma$  ne présente aucune homologie avec les IFN- $\alpha$  et  $\beta$ .

**Bases génétiques et classification.** Chez les différents vertébrés, les IFN- $\alpha$  se présentent sous forme d'une famille de 15 à 20 sous-types correspondant à des séquences présentant un haut niveau d'homologie et dont les gènes, dépourvus d'introns, sont regroupés, chez l'homme, au niveau du chromosome 9 (pter-q12). Chez l'homme et chez la souris, il n'existe qu'un seul type d'IFN- $\beta$ . Chez certaines espèces animales (par exemple, les bovidés), il existe plusieurs sous-types d'IFN- $\beta$ . Les gènes correspondants sont également dépourvus d'introns et regroupés dans le voisinage de l'ensemble des gènes d'IFN- $\alpha$ . Chez l'homme et chez les bovidés, on a décrit des interférons  $\alpha$ II, aussi appelés IFN- $\omega$ , qui présentent des différences de séquence et des différences antigéniques importantes par rapport à l'ensemble des IFN- $\alpha$ I. Chez l'homme, les gènes correspondants sont également localisés sur le chromosome 9. Au même titre que les deux TNF et les deux IL-1, les IFN- $\alpha$  et  $\beta$  se fixent au même récepteur membranaire et ont des activités biologiques similaires *in vitro*.

Il n'existe qu'une seule espèce d'IFN- $\gamma$ . Chez l'homme, le gène correspondant contient trois introns et se trouve sur le bras court du chromosome 12.

**Cellules productrices.** Les IFN- $\alpha$  et  $\beta$  chez les vertébrés peuvent être produits par la majorité des cellules normales ou transformées.

Classiquement des préparations fortement enrichies en IFN- $\alpha$  sont produites par des leucocytes sanguins ou par des cellules lymphoblastoïdes, stimulées par des paramyxovirus. L'IFN- $\beta$  est produit en stimulant des cellules fibroblastiques à l'aide d'ARN bicaténares [typiquement, le poly(D).poly(C)].

L'IFN- $\gamma$  est quant à lui produit par différents types de lymphocytes T après activation par un antigène.

**Activités biologiques.** Il est difficile de résumer les nombreux travaux consacrés à ce sujet. Outre leur activité antivirale, les IFN- $\alpha$  et  $\beta$  présentent une activité cytostatique sur certaines lignées

cellulaires; ils stimulent l'activité des cellules NK et l'expression des antigènes d'histocompatibilité; ils peuvent augmenter l'activité des macrophages, moduler l'expression de nombreuses autres cytokines ainsi que les réponses immunes cellulaires et humorales.

L'IFN- $\gamma$ , outre des activités semblables aux précédentes, joue un rôle essentiel dans les réponses inflammatoires par son action extrêmement importante d'activateur des macrophages. Il peut éventuellement en résulter une induction de TNF et d'IL-1 et de toutes les cytokines activées par ces dernières substances. L'IFN- $\gamma$  potentialise également de nombreuses activités biologiques du TNF.

**Récepteurs.** Les IFN- $\alpha$  et  $\beta$  se fixent au même type de récepteur membranaire spécifique ubiquiste à haute affinité. L'IFN- $\gamma$  se fixe à un récepteur spécifique dont le gène a été cloné et localisé au niveau du chromosome 6 chez l'homme.

## CONCLUSION SUR LE RÉPERTOIRE DES CYTOKINES

Il existe de nombreux autres facteurs agissant particulièrement sur le système hématopoïétique (comme l'érythropoïétine).

Parmi les facteurs de croissance, il faut ajouter à la liste des interleukines et des CSF, une série de facteurs polypeptidiques dont beaucoup sont impliqués dans le processus de transformation maligne. Plusieurs d'entre eux, ou leurs récepteurs, sont en effet des proto-oncogènes. Leur implication dans le réseau des cytokines participant à la réponse immunitaire est loin d'être parfaitement établie. Néanmoins, il existe un continuum évident entre certains de ces facteurs et plusieurs cytokines précédemment décrites, par leur mode d'action et leurs conditions d'induction.

Font partie de cet ensemble non décrit : le Platelet-Derived Growth Factor (PDGF); l'Epidermal Growth Factor (EGF); le Bombesin/Gastrin Releasing Peptide (GRP); les Fibroblast Growth Factor (FGF); les Insulin-like Growth Factor (IGF-1 et IGF-2); le Transforming Growth Factor- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) et les Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ). Ces dernières correspondent en fait à une famille de cytokines dont certains membres exercent un effet immunorégulateur encore mal connu.

## PRINCIPALES CYTOKINES ANIMALES [16]

### INTERLEUKINE 1 (IL-1) [8]

C'est dans l'espèce porcine que nous disposons actuellement du plus grand nombre de renseignements publiés relatifs à l'IL-1, grâce aux travaux du groupe de J. Saklatvala, à Cambridge [24]. Deux espèces moléculaires distinctes d'IL-1 porcine ont été purifiées à partir de milieu conditionné produit par des leucocytes sanguins stimulés. Ces deux protéines ont un poids moléculaire de 21 kd, et des points isoélectriques distincts, de 5 et 8,3. Toutes deux exercent les mêmes effets biologiques *in vitro* : prolifération de thymocytes de souris, induction de la production de prostaglandines E par les fibroblastes de porc, effet pyrogène chez le lapin, résorption du cartilage. Le test de prolifération des thymocytes murins a également été utilisé pour caractériser la production d'IL-1 par les macrophages alvéolaires de porc stimulés par le muramyl-dipeptide (MDP) ou un lipopolysaccharide (LPS), par des leucocytes sanguins incubés 40 heures à 37 °C, ainsi que par des monocytes sanguins de porc traités *in vitro* par l'interféron gamma porcine). Des antisérums neutralisants, spécifiques des deux espèces moléculaires d'IL-1 porcine, ont été préparés et chacun s'avère strictement spécifique de la molécule contre laquelle il est dirigé. Ces antisérums ont permis de montrer une parenté antigénique entre les IL-1 humaine et porcine. Une étude portant sur les récepteurs de l'IL-1 montre que les deux protéines d'IL-1 porcine se fixent, avec une forte affinité, sur une même classe de récepteurs présents sur les fibroblastes humains et porcins ainsi que sur les ostéoblastes de souris (3 000 à 5 000 sites par cellule) [5].

Chez le bovin, une activité biologique IL-1, caractérisée par sa capacité à induire la prolifération de lymphocytes et de thymocytes bovins ou de thymocytes de souris, en présence de mitogènes « T », est présente dans les surnageants de cellules adhérentes ganglionnaires ou de macrophages alvéolaires et mammaires stimulés par le LPS ou le zymosan. Cette activité est associée à une protéine de masse moléculaire comprise entre 15 et 30 kd. De plus, l'IL-1 bovine est neutralisée par un antisérum spécifique de l'IL-1 de souris. Très récemment, l'IL-1 bovine a été produite par génie génétique ce qui

permet d'obtenir la molécule purifiée en quantité suffisante pour aborder l'étude de son efficacité *in vivo*.

### INTERLEUKINE 2 (IL-2) [1, 8]

L'importance du rôle joué par l'IL-2 au centre des mécanismes de régulation de la réponse immune explique que cette lymphokine ait été caractérisée dans de nombreuses espèces animales, telles que l'homme, certains ruminants, le porc, le chien et le poulet [1].

Dans la plupart des cas, l'IL-2 naturelle a été produite par culture de lymphocytes stimulés par des mitogènes tels que la Con A et la PHA.

En outre, l'incubation *in vitro* de lymphocytes provenant de sujets immuns, en présence de l'antigène correspondant, ou la mise en œuvre de cultures lymphocytaires mixtes ont également permis de produire des surnageants riches en IL-2. Chez les bovins comme chez le porc, l'irradiation des lymphocytes (rayons gamma) ou leur incubation préalable (24 heures à 37 °C) à l'addition de mitogènes, permettent d'accroître notablement les quantités d'IL-2 produites. Ces deux traitements ont probablement pour conséquence de limiter les effets inhibiteurs, sur la synthèse d'IL-2, de substances telles que les prostaglandines : en effet, l'addition d'indométacine aux cultures de lymphocytes entraîne également un accroissement du titre d'IL-2 obtenu.

Le titrage de l'IL-2 s'effectue par la mesure de l'incorporation de thymidine tritiée dans des cellules dont la prolifération dépend de l'apport d'IL-2 : ces cellules répondeuses à l'IL-2 sont soit des blastes homologues, soit des lignées de cellules murines IL-2 dépendantes, qui toutes ont la propriété essentielle de ne plus proliférer en présence de mitogènes. Les cellules blastiques sont obtenues par culture à court terme (2 à 4 jours) de lymphocytes activés sous l'effet de stimulations antigénique, mitogénique ou allogénique. Ces lymphoblastes ont été utilisés pour réaliser le titrage de l'IL-2 du chien, du poulet, du mouton et du porc. Chez les bovins, une lignée cellulaire T continue, dont la croissance dépend de l'IL-2 a été isolée à partir de cultures lymphocytaires mixtes en réponse secondaire : la lignée obtenue est entretenue par culture en présence d'IL-2 de primate. Elle ne prolifère pas en réponse aux mitogènes mais sa multiplication est sensible à un apport d'IL-2 homologue ou

humaine  
essentielle  
s'avère  
murines  
cas de  
d'une es  
cellules  
reprodu  
lignées  
nombre  
notamm  
l'IL-2  
Les  
que la  
ruminan  
de 15  
évident  
porcine  
Le c  
été sim  
connai  
déterm  
135 ac  
moléc  
5' un  
moléc  
avec l  
souris  
en lev  
recom  
néité.  
des m  
homo  
ainsi,  
l'IL-2  
cellul  
bovin  
que  
résult  
purifi  
porc  
ration  
rative  
La  
marq  
surfa  
class  
affin  
cellu  
beau  
Pa  
l'IL-  
des  
anal

humaine. La mise au point d'une telle lignée est essentielle pour toute espèce animale dont l'IL-2 s'avère inactive sur les lignées de cellules T murines IL-2-dépendantes : c'est en particulier le cas de l'IL-2 bovine. Par contre, lorsque l'IL-2 d'une espèce agit comme facteur de croissance de cellules T de souris, il est beaucoup plus aisé et reproductible de réaliser les titrages à l'aide des lignées murines établies et entretenues dans de nombreux laboratoires (lignées CTL-L2, notamment). C'est ainsi que l'IL-2 porcine et l'IL-2 canine sont titrées sur de telles lignées.

Les premières études biochimiques ont montré que la masse moléculaire de l'IL-2 était, chez les ruminants et le porc, le plus souvent située autour de 15 kd. Il n'a pas été possible de mettre en évidence une parenté antigénique entre les IL-2 porcine et humaine.

Le clonage du gène codant pour l'IL-2 bovine a été simultanément rapporté par deux équipes. La connaissance de la séquence du gène a permis de déterminer que la protéine mûre était composée de 135 acides aminés, ce qui correspond à une masse moléculaire prédite de 15,4 kd, et qu'il existait en 5' un peptide signal de 20 acides aminés. La molécule bovine présente 69 p. cent d'homologie avec l'IL-2 humaine et 50 p. cent avec l'IL-2 de souris. L'IL-2 bovine a été produite en bactéries, en levures et en cellules eucaryotes et la protéine recombinante a été purifiée jusqu'à l'homogénéité. La comparaison des activités biologiques des molécules recombinantes montre que l'IL-2 homologue est plus active que l'IL-2 hétérologue : ainsi, l'IL-2 humaine est 78 fois plus efficace que l'IL-2 bovine pour induire la prolifération de cellules T humaines; réciproquement, la molécule bovine est 3 fois plus active sur cellules bovines que la molécule humaine. Le même type de résultat est obtenu avec des préparations non purifiées d'IL-2 porcine : bien que les blastes de porc soient sensibles à l'IL-2 humaine, les préparations homologues induisent une réponse proliférative nettement supérieure.

La préparation d'IL-2 bovine recombinante marquée à l'iode a permis de caractériser, à la surface des cellules blastiques bovines, deux classes de récepteurs : des récepteurs de forte affinité, présents en faible densité (1 400 sites par cellule) et des récepteurs de faible affinité, beaucoup plus nombreux (15 000 par cellule) [1].

Parmi les nombreuses activités biologiques de l'IL-2, c'est son aptitude à induire la prolifération des lymphoblastes qui a été principalement analysée chez les animaux domestiques : l'utilisa-

tion d'IL-2 homologue ou hétérologue (IL-2 humaine recombinante) permet en effet de préparer des clones de lymphocytes T cytotoxiques chez les bovins. De plus, l'IL-2 exerce un effet activateur in vitro sur les fonctions cytotoxiques des cellules NK : cet effet a été démontré chez le porc, avec de l'IL-2 porcine ou de l'IL-2 humaine. Ces effets immunomodulateurs de l'IL-2 ont été également analysés très récemment in vivo en utilisant d'abord de l'IL-2 humaine recombinante : l'administration parentérale, pendant 5 jours consécutifs, de  $10^3$  à  $10^5$  U/kg d'IL-2 chez le porc, entraîne une stimulation des activités cytotoxiques de type NK et joue un rôle adjuvant au cours d'une vaccination contre l'hémophilose respiratoire. Dans ce cas, le taux d'anticorps sériques obtenu après vaccination est accru et les animaux résistent mieux à l'infection expérimentale. Dans l'espèce bovine, c'est la molécule recombinante homologue qui a été administrée pendant 5 jours, à raison de 2,5 U/kg et par jour, ce qui a entraîné une activation des fonctions NK. Associée à une vaccination contre le virus BHV-1, l'IL-2 provoque une augmentation du titre des anticorps neutralisants, et les bovins ainsi traités résistent mieux à l'infection virale. Il convient néanmoins de souligner qu'un tel traitement n'est pas dépourvu d'effets nocifs puisqu'il entraîne, chez le veau, des diarrhées et de l'hyperthermie.

#### INTERFÉRONS (IFN) ALPHA [2]

Les IFN alpha sont produits, aussi bien in vitro qu'in vivo, en réponse à divers virus ainsi qu'à des inducteurs chimiques. L'IFN alpha peut être produit, selon l'inducteur considéré, par des lymphocytes, des macrophages et même des polynucléaires. Le signal déclenchant la sécrétion d'IFN par les leucocytes est donné par le virus lui-même, par les cellules infectées par le virus ou simplement par une portion de glycoprotéine virale, comme dans le cas du coronavirus de la gastroentérite transmissible du porcelet [10, 22].

Les gènes codant pour les IFN alpha de plusieurs espèces animales domestiques ont été récemment clonés dans divers laboratoires, en utilisant comme sondes des gènes humains déjà clonés et, après détermination des séquences codantes, l'insertion de ces gènes dans des vecteurs d'expression a permis la production des protéines recombinantes correspondantes. Les gènes IFN alpha porcins ont été localisés sur le

chromosome 1. Les gènes IFN alpha du bovin, du porc, du cheval [14] et du chien sont regroupés en deux classes distinctes bien qu'homologues : les classes 1 et 2. Les protéines correspondantes ont respectivement 166 et 172 acides aminés et présentent avec les IFN humains des homologies de séquence variant de 65 à 75 p. cent. Ces parentés permettent de rendre compte des réactions antigéniques croisées observées entre IFN alpha de diverses espèces animales.

L'étude des effets des IFN alpha in vitro a bien entendu d'abord porté, chez les animaux domestiques, sur la mise en évidence de leur effet antiviral à l'égard de divers virus, dont le VSV (Vesicular Stomatitis Virus), sur cellules homologues ou hétérologues. Cet effet constitue la méthode de référence pour titrer l'IFN. Par ailleurs, de nombreux effets immunomodulateurs ont pu être démontrés, en particulier chez le bovin et le porc : activation des réactions de cytotoxicité, activation macrophagique (phagocytose, expression des récepteurs de membrane, activités enzymatiques), effets sur les polynucléaires (diminution de migration, phagocytose accrue). Les essais in vivo des IFN alpha animaux n'ont pu débuter que très récemment, grâce à l'obtention de molécules recombinantes purifiées. Ces essais avaient été précédés par d'autres, pratiqués en utilisant de l'interféron  $\alpha_2$  humain chez le bovin, car les interférons peuvent passer certaines barrières spécifiques [28].

Chez le porc, aucun résultat n'est à ce jour publié sur l'utilisation d'IFN recombinant; par contre, des essais d'induction d'IFN par le poly-I-polyC chez le porcelet nouveau-né ont mis en évidence l'activation in vivo des cellules NK et une atténuation des signes cliniques consécutifs à l'infection par le coronavirus de la gastroentérite transmissible.

### INTERFÉRON (IFN) BÊTA

L'IFN bêta a été peu caractérisé chez les animaux. Quelques études ont été effectuées sur la production d'IFN naturel par des cellules fibroépithéliales; les gènes codant pour l'IFN bêta bovin ont été clonés et à la différence de ce qui est décrit dans d'autres espèces, il existe au moins 3 gènes distincts. La protéine comprend 166 acides aminés.

### INTERFÉRON (IFN) GAMMA

L'IFN gamma naturel est produit par activation des lymphocytes T, en présence de cellules accessoires, soit par mise en culture de lymphocytes provenant d'animaux immuns et incubés avec l'antigène correspondant, soit par stimulation polyclonale par un mitogène « T », éventuellement avec un ester de phorbol.

A la différence des gènes IFN alpha et bêta, le gène IFN gamma comporte plusieurs introns; c'est donc à partir de banques d'ADN complémentaire préparées à partir d'ARN messagers de lymphocytes activés que le gène a pu être cloné, pour l'instant chez le bovin et le porc [6]. Il s'agit bien d'un gène unique, possédant 3 introns et codant pour une protéine de 143-145 acides aminés, pour l'espèce bovine. Les IFN gamma recombinants bovin et porcin ont été produits et purifiés; ces molécules présentent respectivement 63 et 61 p. cent d'homologie avec l'IFN gamma humain. En dépit de cette homologie, aucune parenté antigénique n'a pu être démontrée entre les IFN gamma recombinants humain et porcin; à l'inverse, il existe une réaction antigénique croisée entre les IFN gamma porcin et bovin, qui présentent entre eux 76 p. cent d'homologie de séquence [9].

L'analyse des effets in vitro des IFN gamma recombinants porcin et bovin a d'abord porté sur la démonstration de leur effet antiviral : celui-ci s'exerce à l'égard de différents virus infectant des cellules de la même espèce que l'IFN et semble moins efficace que l'effet protecteur observé avec l'IFN alpha. Par ailleurs, ces deux IFN ont des effets immunomodulateurs in vitro : activation macrophagique (récepteur, sécrétion d'IL-1, phagocytose), stimulation des cellules cytotoxiques, modulation des fonctions des polynucléaires. Les essais in vivo d'IFN gamma recombinant animal se limitent pour l'instant à l'espèce bovine : le groupe de Babiuk a montré que l'administration parentérale d'IFN gamma entraînait l'atténuation des signes cliniques consécutifs à l'infection expérimentale des bovins par le virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine (*Bovine herpesvirus 1*). De plus, ce traitement est suivi d'une stimulation des défenses immunes plus efficace et durable que celle observée après l'injection d'IFN alpha [2].

1. BAK  
exp  
198
2. BIE  
Bov  
nary
3. BIL  
anti  
fero  
Anti
4. BAL  
fact
5. BIR  
clas  
inter  
324
6. CER  
Clon  
gam
7. CHA  
fact  
hexo
8. CHA  
chez  
292-
9. CHA  
and  
gam

## CONCLUSION

L'étude des cytokines s'impose chez les animaux domestiques pour diverses raisons; tout d'abord la connaissance de leur système immunitaire implique que l'on en étudie les médiateurs et que l'on dispose des réactifs correspondants dans chaque espèce considérée. En outre, dès lors que ces molécules deviennent disponibles à l'état pur et en grande quantité, elles peuvent être testées in vivo et éventuellement se révéler intéressantes pour la modulation des défenses immunes.

## BIBLIOGRAPHIE

- BAKER PE. Bovine interleukin 2 : cloning, high level of expression and purification. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987, 17 : 193-209.
- BIELEFELDT OHMAN H, LAWMAN MJP, BABIUK LA. Bovine interferon : its biology and application in veterinary medicine. *Antiviral Res*, 1987, 7 : 187-210.
- BILLIAU A. Redefining interferon : the interferon-like antiviral effects of certain cytokines (interleukin 1, interferon- $\beta_2$ , interferon- $\gamma$ ) may be indirect or side effects. *Antiviral Res*, 1987, 8 : 55-70.
- BALKWILL FR. Interferons. *In* : Peptides regulatory factors, a new Lancet series, *Lancet*, 1989, i : 1060-1063.
- BIRD TA, SAKLATVALA J. Identification of a common class of high affinity receptors for both types of porcine interleukin-1 on connective tissue cells. *Nature*, 1986, 324 : 263-264.
- CERRETTI DP, MCKEREGHAN K, LARSEN A et al. Cloning, sequence and expression of bovine interferon gamma. *J Immunol*, 1986, 136 : 4561-4564.
- CHAPUT M, CLAES V, PORTETELLE D. The neutrophilic factor neuroleukin is 90% homologous with phosphohexose isomerase. *Nature*, 1988, 332 : 454-455.
- CHARLEY B. Les interleukines : état de nos connaissances chez le porc et les ruminants. *Ann Rech Vet*, 1987, 18 : 292-293.
- CHARLEY B, McCULLOUGH K, MARTINOD S. Antiviral and antigenic properties of recombinant porcine interferon gamma. *Vet Immunol Immunopathol*, 1988, 19 : 95-103.
- CHARLEY B, LAUDE H. Induction of alpha interferon by transmissible gastroenteritis coronavirus: role of transmembrane glycoprotein E1. *J Virol*, 1988, 62 : 8-11.
- DE MAEYER E, DE MAEYER-GUIGNARD J. Interferons and other regulatory cytokines. John Wiley & Sons, New York, 1988, 448 p.
- DINARELLO CA, MIER JM. Lymphokines. *New Engl J Med*, 1987, 317 : 15, 940.
- HAMBLIN AS. « Lymphokines : in focus ». IRL Press, Oxford, 1988.
- HIMMLER A, HAUPTMANN R, ADOLF GR et al. Molecular cloning and expression in *Escherichia coli* of equine type 1 interferons. *DNA*, 1986, 5 : 345-356.
- JONES EY, STUART DI, WALKER NPC. Structure of tumor necrosis factor. *Nature*, 1989, 338 : 225.
- LA BONNARDIÈRE C, CHARLEY B, LEFEVRE F. Interférons et lymphokines. *Biofutur*, 1988, 69 : 72-75.
- METCALF D. The molecular control of cell division, differentiation commitment and maturation in haemopoietic cells. *Nature*, 1989, 339 : 27-30.
- METCALF D. Haemopoietic growth factors. *In* : Peptides regulatory factors, a new Lancet series, *Lancet*, 1989, i : 825-827; 885-886.
- MICHELL RH. Post-receptor signalling pathways. *In* : Peptides regulatory factors, a new Lancet series, *Lancet*, 1989, i : 765-767.
- OLD LJ. Tumor necrosis factor. *Scient American*, 1988, 258 (n° 5) : 41-49.
- O'GARA A. Interleukins and the immune system. *In* : Peptides regulatory factors, a new Lancet series, *Lancet*, 1989, i : 943-946; 1003-1005.
- PIASECKI E. Properties of natural porcine interferons. *J Interferon Res*, 1988, 8 : 61-73.
- PRIESTLE JP, SCHAR HP, GRUTTER MG. Crystal structure of the cytokine interleukin 1 $\beta$ . *Embo J*, 1988, 7 : 339-343.
- SAKLATVALA J, SANSFIELD SJ, TOWNSEND Y. Pig interleukin 1. Purification of two immunologically different leukocyte proteins that cause cartilage resorption, lymphocyte activation, and fever. *J Exp Med*, 1985, 162 : 1208-1222.
- SMITH KA. Interleukine 1 : Inception, impact and implications. *Science*, 1988, 240 : 1169-1196.
- SPORN MB, ROBERTS AB. Peptide growth factors are multifunctional. *Nature*, 1988, 332 : 217-219.
- TANIGUCHI T. Regulation of cytokine gene expression. *Ann Rev Immunol*, 1988, 6 : 4394-4641.
- WERENNE J, VANDEN BROECKE C, SCHWERS A et al. Antiviral effect of bacterially produced human interferon (HU-IFN $\alpha_2$ ) against experimental vaccinia infection in calves. *J IFN Res*, 1988, 5 : 129-136.
- WONG GG, CLARK SC. Multiple actions of interleukin 6 within a cytokine network. *Immunol Today*, 1988, 9 : 5.

C. Demeur, J. Urbain, P.-P. Pastoret

## IMMUNOTOLÉRANCE

Une des principales caractéristiques du système immunitaire est la diversité de son répertoire. Cette diversité lui permet de répondre à une multitude de déterminants antigéniques différents et, par conséquent, d'être potentiellement capable d'élaborer une réponse immune envers les constituants de l'organisme qui l'abrite. Toutefois, dans des conditions normales, le système immunitaire peut discriminer le soi (les constituants propres à l'organisme) du non-soi (les constituants étrangers à l'organisme) et ainsi éviter de produire une réponse immune autodestructrice. Cette capacité de discrimination entre le soi et le non-soi est qualifiée de tolérance naturelle. En plus de cette tolérance naturelle, la nature fournit de nombreux exemples d'antigènes qui diffèrent du soi mais qui sont tolérés par l'organisme parce qu'ils lui ont été accidentellement présentés à un moment privilégié du développement du système immunitaire de l'animal, ou qu'ils ont été introduits par l'expérimentateur; on parle alors de tolérance induite.

Ces observations et ces expériences ont joué un rôle considérable dans l'étude de la tolérance, puisqu'elles en ont démontré l'existence et ont mis en évidence le fait que la tolérance à un constituant étranger ne pouvait s'établir facilement que pendant une période déterminée du développement du système immunitaire, généralement pendant la vie fœtale, et devait ensuite persister.

Les modalités de la tolérance induite ne diffèrent pas de celles de la tolérance naturelle et, dès lors, dans les deux cas, il faut distinguer deux étapes : celle de l'acquisition de la tolérance et celle de sa persistance. Les mécanismes qui régissent l'acquisition de la tolérance peuvent d'ailleurs différer de ceux présidant à son maintien et varier selon les deux grandes catégories de lymphocytes B et T.

Enfin, la période d'acquisition de la tolérance change selon les espèces considérées.

L'évolution du fœtus est généralement caractérisée par trois stades successifs. Le premier stade correspond à la mise en place préliminaire des

organes et des cellules du système immunitaire, période pendant laquelle aucune réaction de reconnaissance ne peut évidemment se dérouler.

Le deuxième stade correspond à la période d'acquisition de la tolérance et le troisième à celui de la maturité du système immunitaire qui va réagir envers des antigènes qu'il aurait tolérés s'ils lui avaient été présentés peu de temps auparavant.

Dans certaines des espèces animales étudiées, la tolérance est acquise avant la naissance; les individus viennent au monde pourvus d'un système immunitaire parvenu à maturité et capable de répondre aux sollicitations antigéniques du milieu. Dans d'autres, comme la souris, la période d'acquisition de la tolérance se poursuit au-delà de la naissance (voir chapitre 50).

L'ontogenèse du système immunitaire est décrite dans le chapitre 15 et les particularités relatives aux différentes espèces sont décrites dans la partie de l'ouvrage consacrée à l'immunologie comparée.

L'étude de la tolérance est particulièrement difficile et un grand nombre de mécanismes actuellement impliqués restent hypothétiques.

## TOLÉRANCE NATURELLE

La principale différence entre les deux mondes potentiellement antigéniques du soi et du non-soi réside dans le fait que le soi est présent dans l'organisme de manière continue depuis l'émergence du système immunitaire jusqu'à la mort de l'individu, alors qu'en dehors de certaines circonstances plus ou moins exceptionnelles (accidentelles), le non-soi n'est présenté à l'animal qu'après la naissance.

En outre, tous les antigènes possibles, dont le nombre est extrêmement élevé, ne vont pas nécessairement entrer en contact avec l'organisme. L'exemple des maladies infectieuses est des plus significatifs à cet égard. Enfin, les exceptions à la tolérance naturelle qui peuvent être à l'origine des maladies auto-immunes seront envisagées au chapitre 35.

## RÉPERTOIRES

On estime qu'une souris est capable de synthétiser de l'ordre d'un milliard d'immunoglobulines de spécificités différentes. Toutefois, ce *réper-*

*toire potentiel* est limité par le fait que l'animal contient un nombre fini de lymphocytes, qui détermine le *répertoire actuel*. De plus, une partie de ce dernier doit être réduite au silence par le biais de la tolérance naturelle; le reliquat est le *répertoire réel*, accessible aux antigènes.

## MÉCANISMES DE LA TOLÉRANCE NATURELLE

La tolérance naturelle, son acquisition et sa persistance vont être abordées en examinant d'abord le cas des lymphocytes B. Deux modèles explicatifs ont été proposés, le modèle temporel et celui à plusieurs signaux.

### Modèle temporel

Le modèle temporel se fonde sur l'hypothèse que les lymphocytes B passent par un stade précoce, pendant lequel toute rencontre avec l'antigène les inactive. Ce stade correspond à celui de l'acquisition de la tolérance. Les cellules B immatures qui ne sont pas exposées à un déterminant antigénique qu'elles peuvent reconnaître poursuivent leur maturation et vont rejoindre l'ensemble des autres lymphocytes B également en attente d'une future rencontre avec le déterminant antigénique qui leur correspond.

Par contre le destin des lymphocytes B immatures qui sont confrontés à un déterminant antigénique du soi et le reconnaissent est soit la *mort clonale*, c'est-à-dire la disparition physique du clone correspondant, soit l'*anergie clonale*, c'est-à-dire la persistance du clone cellulaire mais sous une forme inactivée et silencieuse.

A ce mécanisme d'apprentissage de la tolérance envers le soi se substitue ensuite un mécanisme de maintien de l'état tolérant qui aurait pour effet d'inhiber ultérieurement et de manière continue, les cellules-souches de la moelle osseuse qui possèdent la même spécificité que les clones tolérants.

### Modèle à plusieurs signaux

Ce modèle postule que tout lymphocyte B est activable ou paralysable, indépendamment de son stade de développement. En effet, pour se différencier en cellule productrice d'anticorps, le lymphocyte B doit, d'une part rencontrer le déterminant antigénique, d'autre part, recevoir

l'ordre de p  
part des lym  
de ce second  
répondre au  
elle est dès l  
signaux fait  
lymphocytes

## Synthèse d

En fait les  
ne s'excluen  
simplement d  
des stades d  
serait plus s  
lymphocyte  
modèle à pl  
similaire sera  
Nous allo  
quelques fait  
rément le ca  
lymphocytes

## TOLÉRANC DES LYMPH

Lorsqu'un  
l'antigène por  
lui est spécific  
brane se lie  
la cellule pui  
peuvent ensu  
cellulaire. Il  
d'acquisition  
développement  
incapables de  
cytées, après a

L'avenir de  
encore mal c  
survivent, ma  
réduit de réce  
Des travaux ré  
lymphocytes B  
éliminés; ils res  
un stade très pr  
semble pas y a  
massive des ce  
tolérants mais  
cieuse. Certain  
même être élin  
une très forte



que l'animal  
ocytes, qui  
s, une partie  
lence par le  
liquat est le  
ènes.

LE

sition et sa  
examinant  
deux modèles  
temporel et

l'hypothèse  
ar un stade  
contre avec  
correspond à  
Les cellules  
osées à un  
ivent recon-  
on et vont  
ocytes B  
ncontre avec  
correspond.  
ocytes B  
déterminant  
t est soit la  
on physique  
gie clonale,  
llulaire mais  
use.

la tolérance  
écanisme de  
t pour effet  
re continue,  
osseuse qui  
les clones

ocyte B est  
ment de son  
our se diffé-  
nticorps, le  
encontrer le  
art, recevoir

l'ordre de proliférer et de se différencier, de la part des lymphocytes T auxiliaires. En l'absence de ce second signal, la cellule B est incapable de répondre au stimulus auquel elle est confrontée et elle est dès lors paralysée. Le modèle à plusieurs signaux fait donc intervenir la collaboration des lymphocytes T.

### Synthèse des deux modèles

En fait les deux modèles décrits précédemment ne s'excluent pas mutuellement, ils pourraient simplement décrire des phénomènes intervenant à des stades différents; le lymphocyte immature serait plus sensible à la paralysie alors que le lymphocyte B mûr se comporterait selon le modèle à plusieurs signaux. Un comportement similaire serait observé pour les lymphocytes T.

Nous allons confronter ces hypothèses à quelques faits expérimentaux en examinant séparément le cas des lymphocytes B et celui des lymphocytes T.

### TOLÉRANCE NATURELLE DES LYMPHOCYTES B

Lorsqu'un lymphocyte B mûr rencontre l'antigène portant le déterminant antigénique qui lui est spécifique, ses immunoglobulines de membrane se lient à lui et se rassemblent à un pôle de la cellule puis sont endocytées; ces récepteurs peuvent ensuite être réexprimés à la surface cellulaire. Il n'en va pas de même en période d'acquisition de la tolérance: à ce stade du développement, les lymphocytes B sont en effet incapables de resynthétiser leurs récepteurs endocytés, après avoir été exposés à l'antigène.

L'avenir de ces lymphocytes tolérants est encore mal connu; soit ils meurent, soit ils survivent, mais en présentant un nombre très réduit de récepteurs spécifiques à leur surface. Des travaux récents suggèrent néanmoins que les lymphocytes B anti-soi ne sont pas physiquement éliminés; ils restent présents, mais sont inactivés à un stade très précoce de leur développement. Il ne semble pas y avoir en effet d'élimination clonale massive des cellules B anti-soi chez les animaux tolérants mais plutôt survie sous forme silencieuse. Certaines d'entre elles pourraient tout de même être éliminées du fait qu'elles présentent une très forte affinité pour l'antigène.

L'expérience suivante plaide en faveur de la survie des lymphocytes B tolérants [4]. Le gène codant pour le lysozyme de poulet est transféré dans des œufs de souris. Après leur naissance, les souris transgéniques considèrent le lysozyme de poulet comme un constituant du soi et continuent d'être incapables d'y répondre à l'âge adulte. On isole les cellules B tolérantes et on les transfère dans des souris normales en compagnie de lymphocytes T antilysozyme. Les cellules B tolérantes ne réagissent toujours pas face à l'antigène, bien que le partenaire T adéquat soit présent: leur silence ne peut donc être imputé aux cellules T.

Un deuxième groupe d'animaux transgéniques est construit: il reçoit cette fois les gènes d'un anticorps antilysozyme de très haute affinité. A l'âge adulte, ces souris produisent constitutivement des anticorps antilysozyme, sans jamais avoir rencontré celui-ci.

On croise les animaux des deux groupes transgéniques: en théorie, les souris transgéniques devraient être capables de synthétiser simultanément un constituant du soi d'origine étrangère (le lysozyme), et des anticorps antilysozyme devenus anti-soi. Pratiquement, ces « doubles transgéniques » sont incapables de synthétiser des anticorps antilysozyme et sont donc tolérants vis-à-vis du soi. Néanmoins, ils possèdent de grandes quantités de lymphocytes B portant des récepteurs antilysozyme, mais dont les immunoglobulines de surface sont caractéristiques d'un stade très immature de différenciation.

On peut clairement déduire de ce travail que les cellules B anti-soi n'ont pas été physiquement éliminées: elles sont bien présentes, mais ont été inactivées à un stade très précoce de leur développement. En conclusion, la tolérance naturelle des lymphocytes B ne semble pas pouvoir être expliquée de manière univoque. Il est très vraisemblable que la délétion et l'inactivation des clones tolérants interviennent de concert et que, de plus, les lymphocytes T suppresseurs jouent un rôle important dans le contrôle et le maintien de l'état de tolérance.

### TOLÉRANCE NATURELLE DES LYMPHOCYTES T

Au stade le plus précoce de leur développement, les lymphocytes T pénètrent dans la

région sous-corticale du thymus; ils acquièrent très rapidement à ce niveau leurs marqueurs de surface et de  $CD4^-CD8^-$  deviennent  $CD4^+CD8^+$  (cellules doubles positives). Ils portent également le récepteur TcR.

A partir de ce stade, une première étape de sélection prend place :

— soit la cellule T reste au stade  $CD4^+CD8^+$  et subit alors ce que l'on appelle le phénomène de « mort thymique »;

— soit elle échappe à cette mort thymique et devient  $CD4^+CD8^-$  ou  $CD4^-CD8^+$  (simple positive), comme le sont tous les lymphocytes adultes du sang circulant (voir chapitres 4 et 5).

Ce phénomène porte le nom de « sélection positive » et se déroule au niveau de l'épithélium thymique.

Au cours d'un second processus de sélection appelé processus de « sélection négative », les cellules T susceptibles de réagir avec les constituants du soi présentés par des cellules d'origine hématopoïétique seraient éliminées. Les mécanismes qui interviennent à ce stade dans la double sélection des lymphocytes T sont très mal connus et les résultats expérimentaux actuellement disponibles ne permettent pas de proposer un modèle cohérent.

L'expérience décrite ci-après démontre d'une manière remarquable l'existence paradoxale d'un double processus de sélection. Ce travail utilise toutes les ressources de la biologie moléculaire moderne et nous allons le décrire d'une manière simplifiée.

Des chercheurs ont isolé les gènes réarrangés d'un clone T cytotoxique ( $CD8^+CD4^-$ ) spécifique de l'antigène mâle HY dans le contexte d'un allèle d'histocompatibilité donné (b). Ces gènes sont introduits dans des zygotes femelles, porteurs d'allèles variés du complexe majeur d'histocompatibilité. Seules les souris femelles porteuses de l'allèle b permettent le développement de lymphocytes T  $CD4^-CD8^+$  spécifiques de l'antigène mâle; ce fait démontre de manière irréfutable l'existence de la sélection positive.

Afin d'analyser le processus de sélection négative, les mêmes gènes sont introduits dans des zygotes mâles, porteurs de l'antigène HY. Dans les souris issues de ces zygotes, aucune cellule thymique doublement positive ( $CD4^+CD8^+$ ) n'est détectable. Il semble donc qu'il y ait une délétion clonale de cellules autoréactives dans le thymus.

Toutefois le processus d'élimination physique des précurseurs immatures autoréactifs ne peut expliquer l'ensemble des résultats car dans la périphérie (rate, ganglions...) on observe la présence d'un grand nombre de lymphocytes T porteurs d'un récepteur anti-HY. Néanmoins ces lymphocytes sont incapables de lyser les cellules porteuses de l'antigène mâle HY en raison d'une réduction massive du nombre de molécules accessoires CD8, dont la présence est nécessaire à la fonction lytique.

D'autres expériences plaident aussi en faveur d'une anergie clonale plutôt qu'une délétion clonale [6] et l'on ne peut également exclure la possibilité d'une inhibition fonctionnelle par d'autres lymphocytes T.

### CONCLUSION SUR LES MÉCANISMES DE LA TOLÉRANCE NATURELLE

Il semble de plus en plus évident que le phénomène de tolérance naturelle ne puisse être expliqué uniquement par l'élimination physique (délétion clonale) des clones anti-soi qui rencontrent le déterminant antigénique qui leur est spécifique mais fasse également intervenir l'inactivation de ces clones (anergie clonale) contrairement à ce qui est observé (activation) lors d'une réponse immune face au non-soi. Il est d'ailleurs très probable que ces deux mécanismes interviennent de concert, et que les lymphocytes T suppresseurs jouent également un rôle dans la persistance de l'état tolérant.

### TOLÉRANCE INDUITE ACCIDENTELLE

L'immunotolérance peut aussi être accidentelle à l'égard de certains antigènes. Les cas les plus remarquables sont associés à la gémellité dizygotique et à certaines infections virales. Dans ces deux circonstances, le fœtus peut être exposé à des antigènes exogènes pendant la période d'acquisition de la tolérance.

Hunt  
freema  
nées av  
sont si  
atrophie  
écossai  
et mart  
au cou  
improp  
femelle  
fœtale  
jumeau  
qui pe  
d'horm

### Origin du fre

Cont  
la fréq  
plus él  
espèces  
choriov  
ont en  
le porc

Chez  
quence  
p. cent  
p. cent  
Lorsque  
simultan  
membra

Figure 12  
tique de  
fœtales et  
entre de  
(d'après L

## IMMUNOTOLÉRANCE CHEZ LES JUMENTAUX DIZYGOTIQUES

Hunter, en 1779, a décrit sous le terme de freemartin une anomalie congénitale de femelles nées avec au moins un jumeau mâle. Ces femelles sont stériles car leurs organes génitaux sont atrophiés. Le mot freemartin serait d'origine écossaise; le préfixe free signifiant vide ou stérile et martin se rapportant à la fête de la Saint Martin au cours de laquelle on sacrifiait les animaux impropres à la reproduction. La coexistence d'une femelle avec un jumeau mâle au cours de la vie fœtale est responsable de ce syndrome, car les jumeaux présentent des anastomoses vasculaires qui permettent l'échange de cellules et d'hormones en cours de gestation.

### Origine et répartition du freemartinisme

Contrairement à l'opinion courante et bien que la fréquence d'apparition du freemartinisme soit plus élevée chez le bovin, il existe dans d'autres espèces domestiques. Des cas d'anastomoses choriovasculaires avec freemartinisme subséquent ont en effet été décrits chez le mouton, la chèvre, le porc, le cheval et certains oiseaux [11].

Chez le bovin, la gémeauté est rare; sa fréquence serait de 0,82 à 3 p. cent dont 2 à 10 p. cent de jumeaux monozygotes et 42 à 46 p. cent de jumeaux dizygotes hétérosexués. Lorsque deux ou plusieurs fœtus se développent simultanément dans l'utérus de la vache, les membranes fœtales fusionnent dans 92 p. cent des

cas et des anastomoses vasculaires chorioniques se forment (Fig. 12-1). Si celles-ci s'établissent avant le 30<sup>e</sup> jour de gestation entre deux fœtus de sexe différent, le fœtus femelle se développe en freemartin. Par contre, en l'absence d'anastomoses ou s'il n'y a que des femelles dans la portée, leur développement sexuel est normal.

### Conséquences des anastomoses vasculaires

Le freemartinisme est la conséquence la plus dommageable et la plus spectaculaire des anastomoses entre jumeaux hétérosexués mais ce n'est pas la seule. Les jumeaux (hétérosexués ou non) échangent des cellules-souches sanguines, ce qui produit un chimérisme érythrocytaire (coexistence chez les deux jumeaux de leurs groupes sanguins respectifs) et leucocytaire (qui en cas de gémeauté hétérosexuée peut être démontré par la présence concomitante de lymphocytes portant les chromosomes XX et XY) [9].

Ce phénomène a été découvert en observant que, chez les bovins, la plupart des jumeaux dizygotes présentent, comme les monozygotes, le même groupe sanguin. Ils possèdent deux populations distinctes de précurseurs des érythrocytes qui peuvent persister toute la vie car elles sont toutes deux parfaitement tolérées.

En outre la greffe cutanée [1, 2] ne permet pas, dans cette espèce, de distinguer les jumeaux mono- et dizygotes car la grande majorité de ceux-ci tolèrent parfaitement un greffon provenant de l'autre jumeau, même de sexe différent. Cette tolérance n'est pas toujours parfaitement symétrique et il arrive que l'un des membres de la paire

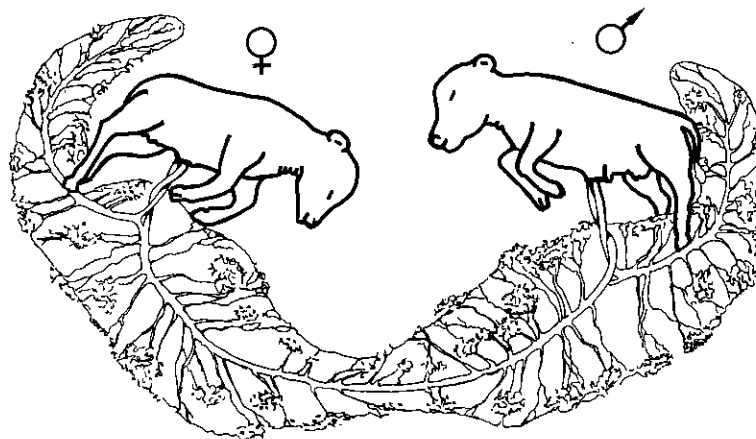


Figure 12-1 Représentation schématique de la fusion des membranes fœtales et des anastomoses vasculaires entre des fœtus bovins jumeaux (d'après Lillie, [5]).

région sous-corticale du thymus; ils acquièrent très rapidement à ce niveau leurs marqueurs de surface et de  $CD4^-CD8^-$  deviennent  $CD4^+CD8^+$  (cellules doubles positives). Ils portent également le récepteur TcR.

A partir de ce stade, une première étape de sélection prend place :

— soit la cellule T reste au stade  $CD4^+CD8^+$  et subit alors ce que l'on appelle le phénomène de « mort thymique »;

— soit elle échappe à cette mort thymique et devient  $CD4^+CD8^-$  ou  $CD4^-CD8^+$  (simple positive), comme le sont tous les lymphocytes adultes du sang circulant (voir chapitres 4 et 5).

Ce phénomène porte le nom de « sélection positive » et se déroule au niveau de l'épithélium thymique.

Au cours d'un second processus de sélection appelé processus de « sélection négative », les cellules T susceptibles de réagir avec les constituants du soi présentés par des cellules d'origine hématopoïétique seraient éliminées. Les mécanismes qui interviennent à ce stade dans la double sélection des lymphocytes T sont très mal connus et les résultats expérimentaux actuellement disponibles ne permettent pas de proposer un modèle cohérent.

L'expérience décrite ci-après démontre d'une manière remarquable l'existence paradoxale d'un double processus de sélection. Ce travail utilise toutes les ressources de la biologie moléculaire moderne et nous allons le décrire d'une manière simplifiée.

Des chercheurs ont isolé les gènes réarrangés d'un clone T cytotoxique ( $CD8^+CD4^-$ ) spécifique de l'antigène mâle HY dans le contexte d'un allèle d'histocompatibilité donné (b). Ces gènes sont introduits dans des zygotes femelles, porteurs d'allèles variés du complexe majeur d'histocompatibilité. Seules les souris femelles porteuses de l'allèle b permettent le développement de lymphocytes T  $CD4^-CD8^+$  spécifiques de l'antigène mâle; ce fait démontre de manière irréfutable l'existence de la sélection positive.

Afin d'analyser le processus de sélection négative, les mêmes gènes sont introduits dans des zygotes mâles, porteurs de l'antigène HY. Dans les souris issues de ces zygotes, aucune cellule thymique doublement positive ( $CD4^+CD8^+$ ) n'est détectable. Il semble donc qu'il y ait une délétion clonale de cellules autoréactives dans le thymus.

Toutefois le processus d'élimination physique des précurseurs immatures autoréactifs ne peut expliquer l'ensemble des résultats car dans la périphérie (rate, ganglions...) on observe la présence d'un grand nombre de lymphocytes T porteurs d'un récepteur anti-HY. Néanmoins ces lymphocytes sont incapables de lyser les cellules porteuses de l'antigène mâle HY en raison d'une réduction massive du nombre de molécules accessoires CD8, dont la présence est nécessaire à la fonction lytique.

D'autres expériences plaident aussi en faveur d'une anergie clonale plutôt qu'une délétion clonale [6] et l'on ne peut également exclure la possibilité d'une inhibition fonctionnelle par d'autres lymphocytes T.

### CONCLUSION SUR LES MÉCANISMES DE LA TOLÉRANCE NATURELLE

Il semble de plus en plus évident que le phénomène de tolérance naturelle ne puisse être expliqué uniquement par l'élimination physique (délétion clonale) des clones anti-soi qui rencontrent le déterminant antigénique qui leur est spécifique mais fasse également intervenir l'inactivation de ces clones (anergie clonale) contrairement à ce qui est observé (activation) lors d'une réponse immune face au non-soi. Il est d'ailleurs très probable que ces deux mécanismes interviennent de concert, et que les lymphocytes T suppresseurs jouent également un rôle dans la persistance de l'état tolérant.

### TOLÉRANCE INDUITE ACCIDENTELLE

L'immunotolérance peut aussi être accidentelle à l'égard de certains antigènes. Les cas les plus remarquables sont associés à la gemellité dizygotique et à certaines infections virales. Dans ces deux circonstances, le fœtus peut être exposé à des antigènes exogènes pendant la période d'acquisition de la tolérance.

Hun  
freema  
nées av  
sont s  
atrophie  
écossai  
et mart  
au cou  
improp  
femelle  
fœtale  
jumeau  
qui p  
d'horm

### Origine du fre

Cont  
la fréq  
plus élé  
espèces  
choriov  
ont en  
le porc

Chez  
quence  
p. cent  
p. cent  
Lorsqu  
simulta  
memb

Figure 1  
tique de  
fœtales e  
entre de  
(d'après

## IMMUNOTOLÉRANCE CHEZ LES JUMENTS DIZYGOTIQUES

Hunter, en 1779, a décrit sous le terme de freemartin une anomalie congénitale de femelles nées avec au moins un jumeau mâle. Ces femelles sont stériles car leurs organes génitaux sont atrophiés. Le mot freemartin serait d'origine écossaise; le préfixe free signifiant vide ou stérile et martin se rapportant à la fête de la Saint Martin au cours de laquelle on sacrifiait les animaux impropres à la reproduction. La coexistence d'une femelle avec un jumeau mâle au cours de la vie fœtale est responsable de ce syndrome, car les jumeaux présentent des anastomoses vasculaires qui permettent l'échange de cellules et d'hormones en cours de gestation.

### Origine et répartition du freemartinisme

Contrairement à l'opinion courante et bien que la fréquence d'apparition du freemartinisme soit plus élevée chez le bovin, il existe dans d'autres espèces domestiques. Des cas d'anastomoses choriovasculaires avec freemartinisme subséquent ont en effet été décrits chez le mouton, la chèvre, le porc, le cheval et certains oiseaux [11].

Chez le bovin, la gémeauté est rare; sa fréquence serait de 0,82 à 3 p. cent dont 2 à 10 p. cent de jumeaux monozygotes et 42 à 46 p. cent de jumeaux dizygotes hétérosexués. Lorsque deux ou plusieurs fœtus se développent simultanément dans l'utérus de la vache, les membranes fœtales fusionnent dans 92 p. cent des

cas et des anastomoses vasculaires chorioniques se forment (Fig. 12-1). Si celles-ci s'établissent avant le 30<sup>e</sup> jour de gestation entre deux fœtus de sexe différent, le fœtus femelle se développe en freemartin. Par contre, en l'absence d'anastomoses ou s'il n'y a que des femelles dans la portée, leur développement sexuel est normal.

### Conséquences des anastomoses vasculaires

Le freemartinisme est la conséquence la plus dommageable et la plus spectaculaire des anastomoses entre jumeaux hétérosexués mais ce n'est pas la seule. Les jumeaux (hétérosexués ou non) échangent des cellules-souches sanguines, ce qui produit un chimérisme érythrocytaire (coexistence chez les deux jumeaux de leurs groupes sanguins respectifs) et leucocytaire (qui en cas de gémeauté hétérosexuée peut être démontré par la présence concomitante de lymphocytes portant les chromosomes XX et XY) [9].

Ce phénomène a été découvert en observant que, chez les bovins, la plupart des jumeaux dizygotes présentent, comme les monozygotes, le même groupe sanguin. Ils possèdent deux populations distinctes de précurseurs des érythrocytes qui peuvent persister toute la vie car elles sont toutes deux parfaitement tolérées.

En outre la greffe cutanée [1, 2] ne permet pas, dans cette espèce, de distinguer les jumeaux mono- et dizygotes car la grande majorité de ceux-ci tolèrent parfaitement un greffon provenant de l'autre jumeau, même de sexe différent. Cette tolérance n'est pas toujours parfaitement symétrique et il arrive que l'un des membres de la paire

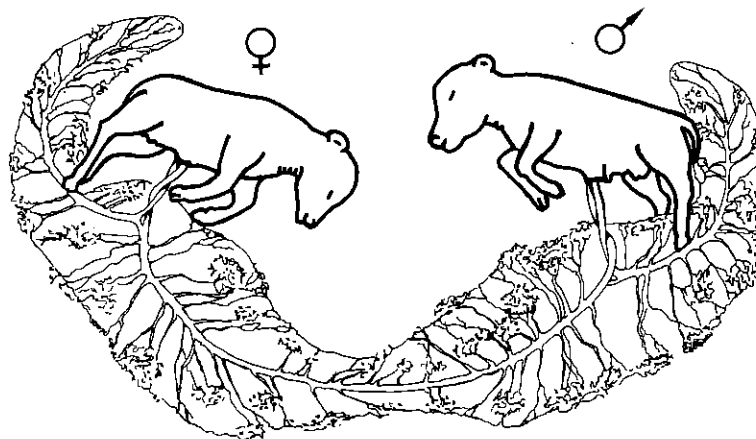


Figure 12-1 Représentation schématique de la fusion des membranes fœtales et des anastomoses vasculaires entre des fœtus bovins jumeaux (d'après Lillie, [5]).

rejette unilatéralement le greffon de l'autre. Ce type de chimérisme est également fréquemment observé chez le singe marmouset (genre *Calithrix*) (voir chapitre 47).

### IMMUNOTOLÉRANCE VIS-À-VIS DE CERTAINS VIRUS

Les animaux peuvent tolérer à vie certains virus qui se transmettent de manière épigénétique ou horizontale pendant la période du développement qui précède l'acquisition de l'immunocompétence [10]. Les infections virales qui conduisent à une tolérance spécifique sont nombreuses et, certaines comme la chorioméningite lymphocytaire de la souris, ont fait l'objet d'études très détaillées depuis les travaux de Traub en 1936. L'infection par le rétrovirus responsable de la leucose lymphoïde du poulet et celles par les pestivirus des artiodactyles [3, 7] en sont d'autres exemples. Parmi ces dernières figurent la maladie des muqueuses chez le bovin, la maladie des frontières chez le mouton (Border disease) et la peste porcine classique dans une moindre mesure. L'infection par le pestivirus de la maladie des muqueuses sera prise à titre d'exemple.

#### Infection du bovin par le virus de la maladie des muqueuses

Deux biotypes du virus de la maladie des muqueuses (BVD/MD) existent : les souches cytopathogènes et les souches non cytopathogènes. Les conséquences les plus sérieuses de l'infection surviennent lorsqu'une souche non cytopathogène infecte des animaux sensibles en début de gestation. L'infection peut être à l'origine de nombreux accidents allant de la mort fœtale suivie d'avortement jusqu'à la naissance de veaux cliniquement sains, mais dont certains peuvent être infectés de manière persistante par le virus BVD/MD. En fait, le résultat d'une infection intra-utérine dépend largement du degré de développement fœtal au moment de l'infection.

Si les fœtus sont infectés en fin de gestation (après 6 mois), l'infection ne produit que très rarement une maladie mais induit une réponse immune spécifique similaire à celle observée en cas d'infection post-natale, de sorte que les veaux naissent dépourvus de virus mais possèdent des anticorps neutralisants.

Par contre, si le fœtus est infecté entre le 42<sup>e</sup> et le 125<sup>e</sup> jour de la gestation, le veau naîtra

virémique persistant et dépourvu d'anticorps spécifiques puisque immunotolérant vis-à-vis du virus BVD/MD. L'infection de ces animaux immunotolérants et infectés persistants se caractérise par une virémie constante et une excrétion continue du virus dans le milieu extérieur. La souche hébergée est toujours non cytopathogène. Ces animaux sont capables de répondre aux autres stimulations antigéniques.

Par exemple, s'ils sont surinfectés par une souche de virus BVD/MD, cytopathogène ou non, qui diffère antigéniquement de celle qu'ils hébergent, ils formeront des anticorps contre les nouveaux épitopes.

En revanche, s'ils sont surinfectés par une souche cytopathogène antigéniquement identique, ils développent une maladie des muqueuses fatale, car ils sont dans l'incapacité de répondre à cette invasion virale.

### BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERSON D, BILLINGHAM RE, LAMPKIN GH et al. The use of skin grafting to distinguish between monozygotic and dizygotic twins in cattle. *Heredity*, 1951, 5 : 379-397.
2. BILLINGHAM RE, LAMPKIN GH, MEDAWAR PB et al. Tolerance to homografts, twin diagnosis, and the freemartin condition in cattle. *Heredity*, 1952, 6 : 201-212.
3. BROWNLIE J, CLARKE MC, HOWARD CJ et al. Pathogenesis and epidemiology of bovine virus diarrhoea virus infection of cattle. *Ann Rech Vét*, 1987, 18 : 157-166.
4. GOODNOW CC, CROSHIE J, ALDELSTEIN S et al. Altered immunoglobulin expression and functional silencing of self-reactive B lymphocytes in transgenic mice. *Nature*, 1988, 334 : 676-682.
5. LILLIE FR. The theory of the freemartin. *Science*, 1916, 43 : 1611-1613.
6. MUELLER DL. Do tolerant T cells exist? *Nature*, 1989, 339 : 513-514.
7. NETTLETON PF. Pathogenesis and epidemiology of border disease. *Ann Rech Vét*, 1987, 18 : 147-155.
8. NOSSAL GJV. Cellular mechanisms of immunological tolerance. *Ann Rev Immunology*, 1983, 1 : 33.
9. OWEN RD. Immunogenetic consequences of vascular anastomosis between bovine twins. *Science*, 1945, 102 : 400-401.
10. PASTORET PP, THIRY E, DUBUISSON J. Les porteurs de virus : analyse des états d'équilibre entre le virus et son hôte. *Ann Rech Vét*, 1987, 18 : 181-191.
11. ROMAGNANO A, TIEMANN M, NIAR A et al. Freemartinnisme chez les animaux domestiques. *Méd Vét Québec*, 1988, 18 : 79-84.
12. URBAIN JJZ, ANDRIS F, BRAIT M et al. Some aspects of idiotypic networks : self/non self discrimination, selection of available repertoires and broken mirrors. *Ann Inst Pasteur Immunol*, 1988, 139 : 609-618.
13. VON BOEHMER H, KISIELOW P, HIROYUKI K et al. The expression of CD4 and CD8 accessory molecules on mature T cells is not random but correlates with the specificity of the  $\alpha\beta$  receptor for antigen. *Immunological reviews*, 1989, 109 : 143-151.

G. Hauptmann

## COMPLÉMENT

Le complément a été découvert à la fin du siècle dernier lorsque plusieurs auteurs ont constaté que le sérum d'animaux convalescents d'une infection bactérienne était capable de lyser les bactéries responsables de l'infection grâce à deux substances :

— une substance thermostable, spécifique et immune, l'*anticorps* qui se fixe sur les bactéries et les sensibilise;

— une substance thermolabile, non spécifique, présente dans le sérum en dehors de toute immunisation, qui lyse les bactéries : cette substance complétant l'action des anticorps a été désignée par le terme *complément*. Elle a aussi été désignée par le terme *alexine* (du grec alexein = se défendre) puisqu'elle était supposée contribuer à la défense de l'organisme vis-à-vis des agents infectieux.

Au début du xx<sup>e</sup> siècle, J. Bordet a montré que l'action lytique du complément pouvait s'exercer aussi vis-à-vis des globules rouges et il a mis au point avec O. Gengou la réaction de fixation (déviation) du complément. A partir de cette date

le complément a surtout été considéré et utilisé comme un réactif de laboratoire qui a contribué à l'essor de la sérologie puis de l'immunologie. J. Bordet avait estimé que l'alexine n'est pas une substance unique mais un ensemble de constituants, hypothèse largement démontrée par la suite. Vers 1940 on ne connaissait que quatre composants : C1, C4, C2 et C3. Mais, au cours des 20 dernières années, les différents composants du complément ont été identifiés, isolés et étudiés du point de vue de leur structure, de leurs interactions et de leurs propriétés biologiques.

Actuellement le complément n'est plus seulement considéré comme un réactif de laboratoire mais aussi comme un ensemble de protéines jouant un rôle dans :

- la défense de l'organisme contre les agents infectieux : bactériens, viraux et parasitaires;
- la réaction inflammatoire;
- le métabolisme des complexes immuns;
- les interactions cellulaires;
- des processus immunopathologiques conduisant à des lésions des cellules ou des tissus.

Le complément fait partie du système immunitaire humoral mais il en existe des récepteurs sur les macrophages, les polynucléaires et les lymphocytes, jouant un rôle dans l'interaction de ces cellules, donc dans l'immunité de type cellulaire. Ceci est confirmé par l'existence d'une liaison génétique très étroite entre certains composants du complément et le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).

## COMPOSANTS DU COMPLÉMENT ET LEUR BIOSYNTHÈSE

Le complément est formé de plus d'une vingtaine de composants représentant environ 5 p. cent du total des protéines sériques. Ces composants s'activent en chaîne ce qui conduit à la formation, après clivage, de fragments capables de se fixer à la surface des membranes biologiques et de fragments de faible poids moléculaire non fixés mais possédant une activité biologique définie.

La liste des protéines du système du complément est donnée dans le tableau 13-I qui indique leur dénomination, leur masse moléculaire, leur concentration sérique moyenne, les fragments de clivage et les fonctions dans l'activation. Le système du complément comprend, en outre, des récepteurs cellulaires, principalement pour les fragments de clivage de C3 (Tableau 13-II).

Les composants de la voie classique et de la voie effectrice commune sont désignés numériquement de C1 à C9. Le composant C1 est formé de trois sous-unités C1q, C1r et C1s. Il existe deux variantes (isotypes) principales de C4, C4A et C4B. Les composants de la voie alterne et les protéines régulatrices sont désignés par une lettre capitale : P (Properdine), B (facteur B) etc. ou par une abréviation : C1-inh (inhibiteur de C1), C4bp (C4 binding-protein), MCP (membrane cofactor protein), DAF (decay accelerating factor), HRF (homologous restriction factor). Les récepteurs cellulaires sont désignés par le signe CR suivi d'un chiffre (CR1, CR2, CR3, CR4).

Plusieurs composants sont fragmentés lorsqu'ils sont activés : les fragments sont désignés par des lettres accolées au chiffre du composant initial. Par exemple, C3 est fragmenté en C3a et C3b, ce dernier fragment étant lui-même secondairement clivé en C3c et C3dg. Les fragments ayant la

propriété de se fixer sur une membrane cellulaire sont marqués d'une astérisque (par exemple C3b\*). Un composant ou fragment inactivé est marqué de la lettre i (iC3b ou iC2a par exemple). Pour désigner un composant activé on trace un trait au-dessus du symbole numérique : ainsi, C1 activé = C1̄ (C1-estérase). Les chaînes polypeptidiques de certains composants sont désignées par des lettres grecques, par exemple C3 $\alpha$ , C3 $\beta$ .

Dans la réaction d'immunohémolyse, l'érythrocyte est symbolisé par E, l'anticorps fixé sur la membrane et amorçant la fixation du complément par A. Les complexes cellulaires intermédiaires formés au cours de la réaction d'immunohémolyse sont désignés par les symboles EAC1, EAC14, EAC142, etc.

Les composants des voies d'activation de C3 et de la voie effectrice commune ont un poids moléculaire variant de 79 à 410 kd et sont formés d'une ou plusieurs chaînes polypeptidiques. Le composant le plus lourd, C1q, est une protéine très particulière, constituée de six sous-unités comprenant chacune une partie globulaire périphérique et une partie fibrillaire à trois chaînes polypeptidiques dont la séquence en acides aminés ressemble à celle du collagène. Par ses parties globulaires périphériques, C1q est capable de reconnaître un site de fixation spécifique du fragment Fc de certaines immunoglobulines : par exemple chez l'homme IgG (IgG1, IgG2, IgG3) et IgM. C1q ne se fixe pas sur les immunoglobulines IgG4, IgA et IgE : on dit que ces immunoglobulines ne « fixent pas le complément ». L'affinité de C1q pour les molécules d'immunoglobulines, normalement faible, est fortement accrue lorsque ces immunoglobulines sont liées à un antigène (sous forme de complexe immun) ce qui est à la base de la réaction de fixation du complément : elle est également très grande pour les IgG agrégées et les IgM. C1q a la propriété, *in vitro*, de précipiter les complexes immuns ou les IgG agrégées. Cette propriété est à la base de méthodes de détection de complexes immuns circulants.

C1r et C1s sont des sérine-protéases de structure homologue formant, en présence de Ca<sup>2+</sup>, un complexe tétramérique C1s-C1r-C1r-C1s associé à C1q (complexe C1). Lors de l'activation de C1, C1r et C1s sont clivés en fragments de 57 kd et 28 kd. Ces derniers contiennent un site actif caractéristique de sérine-protéase permettant le clivage de C2 et C4.

C3, C4, et C5 présentent une forte homologie de structure. C3 et C5 sont formés de deux



Tableau 13-1 Les protéines du système du complément.

Protéine	Masse moléculaire (daltons)	Concentration sérique moyenne (µg/ml)	Fragments de clivage	Fonction dans l'activation du complément
<b>C3 convertase de la voie classique</b>				
C1q	410 000	70		Reconnaissance des activateurs de la voie classique
C1r	85 000	35	C1r	C1r clive C1s dans la sous-unité C1r <sub>2</sub> S <sub>2</sub> du complexe C1 après la liaison de C1q à un activateur
C1s	85 000	70	C1s	C1s clive C4 et C2
C2	117 000	25	C2a : clivage de C2 par C1s C2b : clivage de C2 par C1s	Substrat de C1s C2a dans le complexe C4b,2a clive C3 C2a dans le complexe (C3b) <sub>n</sub> C4b,2a clive C5
C4	200 000	400	C4a : clivage de C4 par C1s C4b : clivage de C4 par C1s  C4c et C4d : clivage de C4b par I	Substrat de C1s  C4b se lie aux cibles de l'activation C4b lié forme avec C2a la C3 convertase classique C4b,2a
<b>C3 convertase de la voie alterne</b>				
C3	185 000	1 400	C3a : clivage de C3 par les C3 convertases C3b : clivage de C3 par les C3 convertases  C3bi : clivage de C3b par I C3c et C3dg : clivage de C3bi par I C3d et C3g : clivage de C3dg par des protéases tissulaires	Substrat des C3 convertases classique et alterne Anaphylatoxine  C3b se lie aux surfaces : C3b lié forme avec B la C3 convertase amplificatrice; contribue à la formation des C5 convertases classique et alterne; ligand du récepteur CR1 Ligand du récepteur CR3 C3dg est le ligand du récepteur CR2  C3d est un ligand de CR2
B	95 000	250	Ba : clivage de B par D Bb : clivage de B par D	Se lie au C3b pour former la C3-convertase amplificatrice Bb dans le complexe C3b,Bb clive C3 Bb dans le complexe (C3b) <sub>n</sub> ,Bb clive C5
D	25 000	2		Clive B dans le complexe C3b,B
<b>Régulation des C3 convertases</b>				
C1 inh	105 000	180	-	C1 inh inhibe l'activation de C1; dissocie le C1 activé; inhibe le clivage de C4 par C1s
C4 bp	1,2-1,5×10 <sup>6</sup>	250		C4 bp dissocie C4b,2a; sert de cofacteur au clivage de C4b par I
H	150 000	400	-	H dissocie C3b,Bb; prévient la formation de C3b,Bb et (C3b) <sub>n</sub> ,Bb; cofacteur du clivage de C3 par I
I	90 000	50	-	Endopeptidase; clive C4b en C4c et C4d; clive C3b lié en C3bi et C3bi en C3c et C3dg

Tableau 13-1 (suite).

Protéine	Masse moléculaire (daltons)	Concentration sérique moyenne (µg/ml)	Fragments de clivage	Fonction dans l'activation du complément
<b>Régulation des C3 convertases</b>				
MCP (gp 45-70)	58 000 + 68 000	(protéine membranaire)	—	Cofacteur de l'inactivation du C3b ou du C4b par le facteur I
P	220 000	25	—	Stabilise les complexes C3b,Bb et (C3b) <sub>n</sub> ,Bb
DAF	70 000	(protéine membranaire)	—	Favorise la dissociation des C3 convertases
<b>Voie effectrice commune C5b-9</b>				
C5	200 000	160	C5a : clivage de C5 par les C5 convertases C5b : clivage de C5 par les C5 convertases	Substrat des C5 convertases classique et alterne Anaphylatoxine C5b se lie à C6
C6	130 000	75	—	Se lie à C5; protéase ?
C7	120 000	65	—	Participe à l'élaboration du complexe C5b-8 qui peut s'insérer dans les membranes
C8	155 000	80	—	Se lie à C5b-7
C9	79 000	200	—	Plusieurs molécules de C9 se lient au complexe C5b-8
<b>Régulation de la voie effectrice commune</b>				
S protein (vitronectine)	88 000	50	—	En se liant à C5b-7 en phase soluble, la protéine S empêche l'insertion du complexe dans les membranes
HRF	65 000	(protéine membranaire)	—	Inhibe la formation des pores membranaires par les complexes d'attaque de la membrane et par la perforine des cellules cytotoxiques
<b>Régulation des anaphylatoxines</b>				
AI *	280 000 à 310 000	30-40	—	Inactive C3a, C4a, C5a

\* Inactivateur des anaphylatoxines ou carboxypeptidase N.

chaînes polypeptidiques reliées par des ponts disulfures mais leur concentration sérique est très différente. C3 est le composant du complément présent à la plus forte concentration dans le sérum et son taux est dix fois supérieur à celui de C5. C4 est formé de trois chaînes polypeptidiques reliées par des ponts disulfures. Cependant C4 est synthétisé sous forme d'une molécule à une seule chaîne (Pro-C4) secondairement clivée par des enzymes plasmatiques. Il existe deux isotopes de

C4, C4A et C4B, ayant une activité biologique un peu différente. C3 et C4 possèdent sur leur chaîne alpha (la plus lourde) une structure particulière sous forme d'un pont (ou lien) thioester. L'activation de C3 et C4 s'accompagne de l'ouverture du pont thioester en exposant un groupement carboxyle. Celui-ci permet la fixation covalente des fragments C3b et C4b aux surfaces cellulaires ou aux IgG des complexes antigènes-anticorps.

Les composants C6, C7, C8 et C9 sont

capables de  
la membra  
complexes  
chaîne pol  
La struct  
comprende  
identiques  
reliées par  
de façon  
chaînes pe

Tableau 13-II Récepteurs cellulaires du complément.

Type	PM (kd)	Ligand	Cellules	Rôle	
CR1	190-220 (340-400)	C3b C4b iC3b	Globules rouges de primates PN neutrophiles éosinophiles Monocytes/macrophages Cellules épithéliales du glomérule Lymphocytes T (CD4 <sup>+</sup> )	Adhérence immuno/opsonisation Régulation de la convertase amplificatrice à la surface cellulaire Transport des complexes immuns Activation lymphocytaire	
CR2	145	C3d iC3b	C3dg (C3b)	Lymphocytes B Cellules dendritiques folliculaires	Récepteurs pour le virus d'Epstein-Barr (EBV)
CR3	$\alpha$ 165 $\beta$ 95	iC3b	PN neutrophiles Monocytes/macrophages Cellules épithéliales du glomérule LGL (Large Granular Lymphocytes)	Adhésion cellulaire	
CR4 (p150,95)	$\alpha$ 150 $\beta$ 95	iC3b C3dg C3d	PN neutrophiles Monocytes/macrophages Cellules NK Cellules cytotoxiques Plaquettes	Adhésion cellulaire Adhérence/opsonisation Phagocytose des complexes immuns	
CIq-R	65	CIq	Granulocytes Monocytes Lymphocytes B	Fixation de complexes immuns contenant du CIq Favorise l'activité bactéricide des granulocytes vis-à-vis de bactéries revêtues de CIq	
C3a/C4a-R	60-70	C3a C4a	Mastocytes PN neutrophiles éosinophiles Monocytes	Libération des granules contenant les médiateurs de l'hyper-sensibilité anaphylactique	
H-R	50-100	H	Leucocytes Lymphocytes B Monocytes	Libération de facteur I endogène	
C5a-R	50	C5a	PN basophiles neutrophiles éosinophiles Mastocytes Monocytes/macrophages Plaquettes	Dégranulation des basophiles Anaphylaxie Stimulation de la synthèse d'interleukine I	
C3e-R	—	C3e	Leucocytes Monocytes	Démarginalisation des leucocytes	

capables de former des complexes d'« attaque de la membrane » ou MAC (« membrane attack complexes »). C6 et C7 sont formés d'une seule chaîne polypeptidique et sont génétiquement liés. La structure de C8 est très particulière en comprenant trois chaînes polypeptidiques non identiques : les chaînes alpha et gamma sont reliées par des ponts disulfures et sont associées de façon non covalente à la chaîne bêta. Ces chaînes permettent une reconnaissance spécifique

des composants C5 et C9 associés dans les complexes d'attaque de la membrane.

C9, d'un poids moléculaire voisin de 70 kd est une glycoprotéine monocaténaire, comportant deux parties, l'une hydrophile correspondant à un fragment de 34 kd (C9a) et une partie hydrophobe d'environ 37 kd. Il existe, par ailleurs, une forte homologie de structure entre C9 et la perforine (ou C9RP = C9 related protein), une protéine sécrétée par des cellules à capacité cytotoxique.

En ce qui concerne les protéines de la voie alterne, le facteur B (B) présente une forte homologie avec C2. C2 et B sont codés par des gènes étroitement liés au sein du complexe majeur d'histocompatibilité. Ils appartiennent à la famille des sérine-protéases. Chacun de ces composants est clivé en deux fragments de taille inégale : C2a (509 acides aminés), C2b (223 acides aminés) et Ba (234 acides aminés), Bb (505 acides aminés). Le site sérine-protéase est situé à la partie C-terminale des fragments C2a et Bb. C2a et Bb se lient aux fragments C4b et C3b pour former respectivement les C3-convertases de la voie classique et de la voie alterne.

Le facteur D circule dans le plasma à l'état de traces sous forme d'une sérine-protéase active capable de cliver spécifiquement le facteur B.

Les protéines régulatrices des C3-convertases et de la voie effectrice commune C5b-9 sont de plus en plus nombreuses à être connues. Elles comprennent des protéines plasmatiques (C1-inh, C4bp, H, I, P, S) et des protéines membranaires (MCP = membrane cofactor protein, DAF = decay accelerating factor et HRF = homologous restriction factor). Leur structure et leur concentration sont très variables. L'existence de protéines régulatrices intervenant à toutes les étapes de l'activation du complément aussi bien en phase liquide qu'à la surface cellulaire reflète l'importance d'un contrôle précis de la mise en jeu de ce système effecteur.

Il existe des récepteurs pour différentes fractions du complément. Les mieux connus sont ceux pour C3, C4 et leurs produits de clivage. Les fragments C3b, C4b, iC3b, C3dg, C3d se lient aux récepteurs CR1, CR2, CR3 et CR4 dont les principales caractéristiques et fonctions sont indiquées dans le tableau II.

Les récepteurs CR1 permettent les phénomènes d'adhérence immune et d'opsonisation (adhérence de particules chargées de C3b entraînant l'inclusion de celles-ci) et jouent un rôle important dans la régulation de la convertase amplificatrice à la surface des cellules, le transport des complexes immuns par les globules rouges et leur captation par les cellules du système des phagocytes mononucléés.

Les récepteurs CR2 sont présents sur les lymphocytes B où ils jouent le rôle de récepteurs pour le virus d'Epstein-Barr et sur les cellules dendritiques folliculaires.

Les récepteurs CR3 et CR4 interviennent essentiellement dans les phénomènes d'adhérence immune, d'adhésion cellulaire et de phagocytose

de complexes immuns ou de particules opsonisées par des fragments de C3.

Il existe plusieurs autres récepteurs, en particulier pour les anaphylatoxines C3a, C4a et C5a (Tableau 13-II).

Les composants plasmatiques du complément représentent environ 5 p. cent du total des protéines circulantes. Leur demi-vie est généralement courte : de quelques heures à 60 heures. Le taux de synthèse est élevé et dépasse le double de celui des IgG. La synthèse est principalement hépatique (hépatocytes) et a lieu également dans les macrophages pour certains composants.

## SUBSTANCES ACTIVANT LE COMPLÉMENT ET LES VOIES D'ACTIVATION

Les composants se trouvent à l'état natif dépourvus d'effet biologique et un stimulus est nécessaire pour déclencher un processus d'activation. Cette activation se déroule sous forme d'une réaction en chaîne ou en cascade dans laquelle chaque composant acquiert des propriétés enzymatiques qui lui permettront d'agir sur le composant suivant. Au cours de l'activation, la plupart des composants sont fragmentés : ce sont les fragments qui possèdent une activité biologique. La première fragmentation produit généralement un petit fragment pourvu d'activité biologique restant en phase liquide et un grand fragment capable de se fixer sur les membranes cellulaires. L'activité biologique est de courte durée et les fragments fixés ou non sont rapidement inactivés et souvent fragmentés secondairement.

### NATURE DES SUBSTANCES ACTIVANTES

**Voie classique :** ce sont principalement les complexes antigène-anticorps où l'anticorps est de classe IgM ou IgG (sous-classe IgG1, IgG2, IgG3 chez l'homme). Les immunoglobulines du même type à l'état agrégé sont aussi capables d'activer le complément par cette voie. D'autres substances peuvent activer la voie classique : certains virus, la plasmine ou la thrombine, la C-réactive protéine.

COMPLÉMENT  
Voie  
immu-  
celle-  
—  
ries à  
infect  
albica  
somu-  
—  
l'inul  
—  
toxine  
—  
d'asb  
—  
forten  
d'into  
—  
Ham-  
—  
partic  
classi

opsonisées

en particu-  
C4a et C5a

complément  
total des  
est générale-  
heures. Le  
e double de  
ncipalement  
ement dans  
osants.

LE  
IES

l'état natif  
stimulus est  
ssus d'acti-  
sous forme  
scade dans  
s propriétés  
agir sur le  
activation, la  
és : ce sont  
ivité biolo-  
duit généra-  
tivité biolo-  
un grand  
membranes  
de courte  
sont rapide-  
s secondai-

alement les  
corps est de  
IgG2, IgG3  
es du même  
d'activer le  
substances  
rtains virus,  
C-réactive

**Voie alterne :** de nombreuses substances non immunes (sans participation d'anticorps) activent cette voie. On peut citer :

- les surfaces cellulaires activatrices : bactéries à Gram positif ou à Gram négatif, les cellules infectées par un virus, des levures (*Candida albicans*), des parasites (trypanosomes, schistosomules);
- des polysaccharides tels que le zymozan ou l'inuline (polyfructose);
- des lipopolysaccharides bactériens (endotoxines bactériennes);
- des substances diverses telles que les fibres d'asbeste, le gluten;
- certains produits de contraste radiologique fortement iodés (produits responsables d'accidents d'intolérance = réactions anaphylactoïdes);
- l'acidification du sérum in vitro (test de Ham-Dacie);
- certains complexes immuns, comportant en particulier des IgA (qui n'activent pas la voie classique).

**Voie d'amplification :** elle est stimulée par le dépôt de C3b sur les surfaces cellulaires activatrices.

VOIES D'ACTIVATION

C3 est l'élément central du système du complément (Fig. 13-1). Ce composant est activé soit :

- par la voie classique qui fait intervenir les composants C1q, C1r, C1s, C4 et C2;
- par la voie alterne faisant intervenir C3, le facteur B, le facteur D, la properdine.

L'amplification de l'activation de C3 se greffe sur la voie alterne : C3 activé va favoriser la formation de nouveaux complexes agissant sur C3 : il s'agit d'un cycle d'activation auto-entretenu mais soumis à une régulation très complexe.

Au cours de l'activation des deux voies il y a formation de complexes enzymatiques actifs sur C3 appelés « C3-convertases » : la C3-convertase classique (C4b2a), la C3-convertase alterne

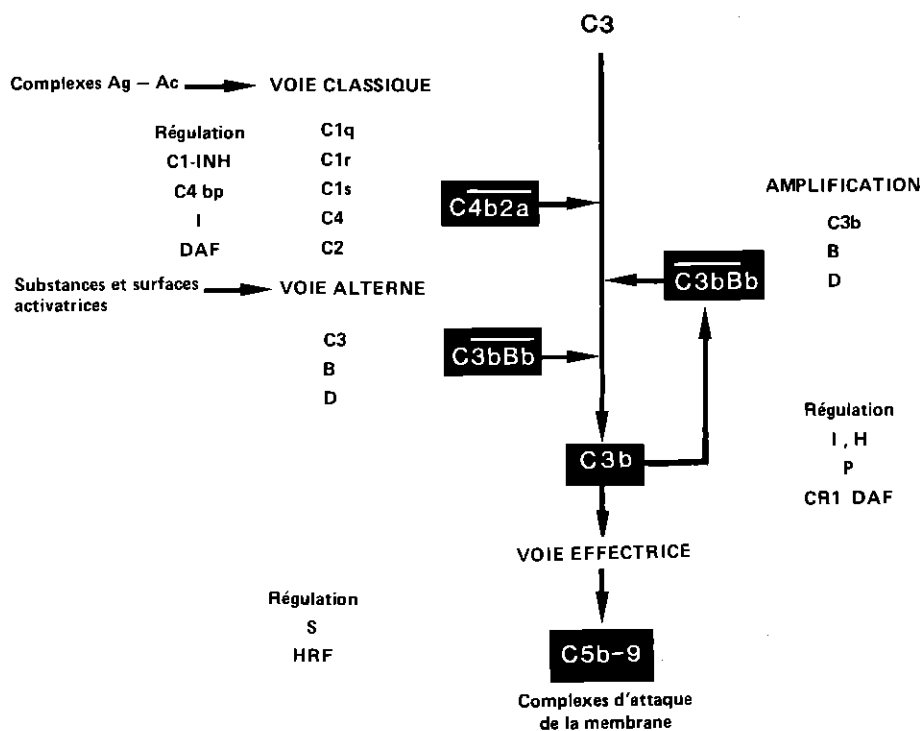


Figure 13-1 Voies d'activation du complément.

(C3bBb). Après activation de C3, se formeront des complexes agissant sur C5, les « C5-convertases » de formule  $C4b2a(C3b)_n$  ou  $(C3b)_nBb$ .

L'activation se poursuit au-delà de C3 par la voie effectrice ou séquence d'attaque de la membrane : elle fait intervenir les composants C5 à C9 qui s'assemblent en « complexes d'attaque de la membrane » (« MAC » = « membrane attack complex » des auteurs anglo-saxons).

### DÉROULEMENT DE L'ACTIVATION

La voie classique se déroule en cinq étapes :

- fixation du C1q par ses parties globulaires périphériques au niveau du fragment Fc des Ig engagées dans un complexe antigène-anticorps;
- activation du complexe C1 : deux molécules de C1r et de C1s s'unissent à une molécule de C1q pour former un complexe protéolytique (C1-estérase);
- activation de C4 et C2 : formation de la C3 convertase classique C4b2a;
- libération des fragments C2b (activité de type kinine), C4a (anaphylatoxine);
- clivage de C3 en C3a et C3b.

La voie alterne se déroule en trois étapes :

- de faibles quantités de C3b sont formées en permanence dans le plasma par protéolyse de C3 natif. Les molécules C3b se déposent sur les surfaces cellulaires;
- l'interaction avec les facteurs B et D aboutit à la formation de la C3-convertase « amplificatrice » C3bBb;
- le clivage accéléré en C3 permet la fixation de nouvelles molécules de C3b donnant lieu à la formation de la C5-convertase  $(C3b)_nBb$ .

La formation du complexe d'attaque de la membrane se déroule en trois étapes :

- l'activation de C3 par la voie classique ou par la voie alterne/amplificatrice aboutit à la formation d'une C5-convertase clivant C5 en C5a et C5b;

— C5b se fixe sur les membranes cellulaires et entraîne ensuite la fixation de C6, C7, C8 et la formation de complexes C5b-8;

— les complexes C5b-8 activent plusieurs molécules de C9 qui vont se polymériser sous forme de « complexes d'attaque de la membrane » capables de léser les membranes biologiques comme des emporte-pièce. Ces derniers sont responsables des propriétés cytolytiques du com-

plément (cytolysse, bactériolysse, cytotoxicité dépendante du complément...).

### RÉGULATION DE L'ACTIVATION DU COMPLÉMENT

L'activation du complément est soumise à une double régulation : intrinsèque, liée à la labilité de l'activité protéolytique de la C1-estérase, des C3- et C5-convertases, des complexes d'attaque de la membrane; extrinsèque sous l'effet des protéines régulatrices :

— au niveau de la voie classique, C1-inh inhibe le complexe C1 activé, C4bp + I interviennent dans le clivage secondaire de C4b;

— au niveau de la voie alterne : la properdine exerce un effet stabilisant sur la C3-convertase amplificatrice; la protéine H ajoutée aux récepteurs CR1 inhibe la formation de la convertase amplificatrice; I (ou C3b-INAH) clive le C3b en C3c et C3dg;

— au niveau de la séquence d'attaque de la membrane, la protéine S inhibe l'insertion des complexes d'attaque de la membrane.

En pathologie, une activation prolongée du complément peut induire la formation d'autoanticorps anti-C3-convertases. Le plus connu, le C3-Nef (C3 Nephritic Factor), est un autoanticorps anticonvertase alterne. Il induit un catabolisme accéléré de C3 et, par conséquent, un abaissement permanent du taux sérique de ce composant.

### RÔLE BIOLOGIQUE DU COMPLÉMENT

#### DÉFENSE ANTI-INFECTIEUSE

Le complément constitue une des premières défenses de l'organisme non immunisé vis-à-vis d'un agent infectieux, grâce aux possibilités d'activation directe, en particulier de la voie alterne, par des micro-organismes en l'absence d'anticorps (système de reconnaissance). Le complément participe à la réponse immune spécifique après induction de celle-ci, en particulier en tant qu'effecteur des immunoglobulines.

Le d  
défens  
proces  
Som  
(bacté  
des p  
infecti  
peut  
(immu  
cytoto

Les  
produi  
du con  
des co  
vont r  
surface  
On di

—  
antigè  
exemp

—  
mèmes  
peuver  
cléaire  
cytose  
très in  
infecti  
grande  
défaut

Le d  
de la

— l  
C3a, C  
10 000  
provoq  
libérati  
polynu  
la perr  
cléaire  
C5a a  
polynu

— l  
laire p  
de C2

— l  
anticor  
polynu

## Actions contre les agents infectieux

Le complément intervient ainsi au niveau de la défense contre les agents infectieux, grâce à deux processus.

Son *activité cytolitique* vis-à-vis des bactéries (bactériolyse, bactéricidie), des virus (virolyse), des parasites. En dehors de la défense anti-infectieuse, l'action cytolitique du complément peut s'exercer vis-à-vis des globules rouges (immunohémolyse) ou des lymphocytes (lymphocytotoxicité).

Les *réactions d'adhérence/opsonisation* se produisent à la suite de la fixation de composants du complément sur les membranes cellulaires ou des complexes immuns. Les composants fixés vont réagir avec les récepteurs présents sur les surfaces cellulaires et provoquer une adhérence. On distingue :

— l'*immunoadhérence* : des complexes antigène-anticorps-complément adhèrent par exemple aux hématies humaines et les agglutinent;

— l'*adhérence opsonique* ou *opsonisation* : ces mêmes complexes antigène-anticorps-complément peuvent adhérer aux macrophages et polynucléaires facilitant ainsi le phénomène de phagocytose. Les réactions d'adhérence jouent un rôle très important in vivo dans la défense anti-infectieuse. Les sujets déficients en C3 ont une grande sensibilité aux infections par suite du défaut de ces réactions.

## Intervention dans la réaction inflammatoire

Le complément intervient également au niveau de la réaction inflammatoire par :

— l'*action des anaphylatoxines* : les fragments C3a, C4a, C5a d'un poids moléculaire voisin de 10 000 sont des anaphylatoxines capables de provoquer la contraction des muscles lisses et la libération d'histamine à partir des mastocytes/polynucléaires basophiles, ainsi que d'augmenter la perméabilité vasculaire et d'attirer les polynucléaires neutrophiles (activité chimiotactique). C5a a, en outre, la propriété d'agréger les polynucléaires;

— l'*augmentation de la perméabilité vasculaire* par les anaphylatoxines et un petit fragment de C2 (C2-kinine);

— la *chimiotaxie* : les complexes antigène-anticorps n'acquièrent la propriété d'attirer les polynucléaires in vivo qu'en présence du com-

plément. Elle est due aux anaphylatoxines et aux composants C5, C6 et C7 fixés aux membranes ou complexes;

— l'*hyperleucocytose* induite par un petit fragment de C3, C3e.

## MÉTABOLISME DES COMPLEXES IMMUNS

C1q a la propriété de précipiter les complexes immuns in vitro. Cette propriété est à la base de réactions de détection des complexes immuns circulants.

La clairance des complexes immuns circulants et leur solubilité sont favorisées par le complément : la voie classique d'activation du complément intervient pour inhiber la formation des complexes immuns circulants de grande taille; la voie alterne intervient dans la solubilisation.

## RÔLE EN PATHOLOGIE

Dans les vascularites, l'activation du complément par les complexes immuns déposés dans les tissus participe aux lésions (réaction d'hypersensibilité de type III).

Dans les processus cytolitiques, l'activation du complément par des anticorps fixés sur un antigène cellulaire peut conduire à la lyse des cellules (hémolyse intravasculaire par exemple).

Une activation massive du complément (par exemple sous l'influence de produits de contraste radiographique) conduit à des réactions générales se produisant dès la première injection (réactions anaphylactoïdes).

## POLYMORPHISME DU COMPLÉMENT

Les composants du complément constituent des marqueurs génétiques pour lesquels deux types de variations ont été décrits :

— des déficits souvent responsables de maladies;

— des polymorphismes mis en évidence par des techniques électrophorétiques avec des systèmes variés de révélation.

La génétique du complément a connu un essor considérable depuis la découverte il y a une dizaine d'années de la liaison étroite entre certains composants et le complexe majeur d'histocompatibilité, en particulier le système HLA chez l'homme. Les recherches actuelles ont conduit à l'étude de la structure, de l'expression et de la localisation chromosomique des gènes codant pour la plupart des composants plasmatiques et cellulaires du complément.

Plusieurs groupes de liaison génétique sont actuellement bien connus chez l'homme :

— un groupe localisé sur le bras court du chromosome 1 comportant les gènes codant pour C1q, C8, H, C4-bp, DAF, CR1 et CR2. Ce groupe de gènes a été appelé « groupe de régulation de l'activation du complément humain » (« human regulator of complement activation gene cluster ») puisque plusieurs des composants codés par ces gènes font partie de protéines régulatrices;

— un groupe localisé sur le bras court du chromosome 6 au sein du complexe HLA comprenant les gènes dits de classe III : BF (facteur B), C2, C4A et C4B étroitement associés aux gènes codant pour la 21-hydroxylase (21-OHA et 21-OHB), une enzyme intervenant dans la synthèse de certaines hormones surrénaliennes. Ces gènes de classe III sont situés entre les gènes de classe I (HLA-A, B, C) et les gènes de classe II (région HLA-D);

— d'autres localisations chromosomiques sont connues : facteur I sur le chromosome 4, C5 sur le chromosome 9, C1-inh sur le chromosome 11, C1r et C1s sur le chromosome 12, C3 sur le chromosome 19. Enfin, le gène de la properdine est situé sur le chromosome X.

Le développement de l'exploration du complément en pathologie a permis la découverte de plus en plus fréquente de déficits du complément considérés comme très rares il y a quelques années encore. Actuellement on peut affirmer que les déficits en complément constituent les déficits en protéines sériques les plus fréquents chez l'homme. Le gène responsable du déficit en C2 a une fréquence d'environ 1 p. cent dans la population caucasioïde. Les gènes responsables du déficit en C4 ont des fréquences respectives de 10 à 20 p. cent pour C4A et de 10 à 25 p. cent pour C4B selon les populations. Dans la population caucasioïde, 8 p. cent des sujets expriment seulement deux gènes C4 (sur quatre) et 35 p. cent des sujets expriment seulement trois gènes C4 (sur quatre).

Les conséquences pathologiques des déficits en complément chez l'homme sont les suivantes :

— maladies auto-immunes en particulier syndromes lupiques pour les déficits des composants de la voie classique (C1q, C1r, C1s, C4, C2);

— infections récidivantes et graves pour les déficits en C3, P, I;

— infections à *Neisseria* (gonocoque, méningocoque) pour les déficits de C5 à C9;

— l'œdème angioneurotique héréditaire pour le déficit en C1-inh. La maladie s'exprime chez les hétérozygotes, ce qui implique une transmission selon le mode autosomique dominant.

Les sujets déficients en CR3 présentent également des infections à répétition avec des anomalies de la phagocytose. D'autre part, on sait que la sensibilité anormale des globules rouges à l'activation du complément dans l'hémoglobinurie paroxystique nocturne est liée à un déficit en DAF auquel s'ajoute secondairement un déficit en CR1.

Plusieurs composants présentent un polymorphisme génétique bien caractérisé : il s'agit de C2, C3, C4, C6 et du facteur B (BF). Les systèmes les plus connus peuvent être utilisés en médecine légale ou en génétique des populations (C3, C6, BF).

Dans la plupart des systèmes, on a mis en évidence plusieurs allèles de structure et des allèles dits « nuls » (désignés par le sigle « Q0 » = quantitativement zéro) responsables de déficits complets ou partiels. Certains allèles codent pour des variantes fonctionnellement inactives.

Les systèmes les plus étudiés ces dernières années ont été les systèmes BF, C2 et C4 en raison de la liaison étroite avec le système HLA. Les combinaisons des allèles aux loci C2, BF, C4A et C4B sont toujours transmises en bloc sous forme d'haplotypes du complément ou « complotypes ». Ces complotypes permettent de compléter les haplotypes HLA en définissant des « haplotypes HLA étendus » (« extended HLA haplotypes ») ou « supratypes HLA ». Le polymorphisme global des gènes du complément liés aux gènes HLA est très important. Plusieurs dizaines de complotypes ont été identifiés dont quatorze ont une fréquence supérieure à 1 p. cent. Les complotypes représentent donc des marqueurs supplémentaires et le plus souvent spécifiques des haplotypes HLA en déséquilibre de liaison. L'intérêt de la détermination de ces marqueurs devient ainsi très grand dans les études de populations, de maladies ainsi que dans les transplantations.

Les recherches actuelles en biologie moléculaire



déficits en  
suivantes :  
culier syn-  
composants  
C4, C2);  
s pour les

ue, ménin-  
C9;

aire pour le  
ne chez les  
ransmission

ent égale-  
des anoma-  
sait que la  
es à l'acti-  
oglobinurie  
cit en DAF  
cit en CR1.

n polymor-  
l s'agit de  
(BF). Les  
utilisés en  
populations

a mis en  
ure et des  
igle « Q0 »  
de déficits  
codent pour  
ives.

s dernières  
2 et C4 en  
tème HLA.

ci C2, BF,  
en bloc sous

ou « com-  
ent de com-

missant des  
nded HLA

. Le poly-  
olément liés

. Plusieurs  
ntifiés dont

à 1 p. cent.

s marqueurs  
cifiques des

de liaison.  
marqueurs

études de  
e dans les

ogie molécu-

laire permettront de mieux connaître les variations de structure et d'expression des différents constituants du complément, de mieux comprendre la signification de son polymorphisme et la pathogénie des troubles pathologiques liés aux déficits ou à certaines variantes génétiques.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

- ROSS GD (éditeur). Immunobiology of the Complement System. An introduction for Research and Clinical Medicine, 280 p., Academic Press, Orlando, Florida, 1986.
- ROTHER K, TILL GO (éditeurs). The Complement System, 535 p., Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 1988.
- WHALEY K (éditeur). Complement in Health and Disease, 326 p., MTP Press Limited, Lancaster, England, 1987.

### Références

1. MARCELLI A, HAUPTMANN G. Classe III (Complément). In : J Dausset, M Pla, « HLA — Complexe Majeur

d'Histocompatibilité », Flammarion Médecine Sciences (sous presse).

2. MAUFF G. Application of MHC-class III complement markers to population genetics. In : E Ohayon, A Cambon-Thomsen, « Génétique des Populations Humaines », Colloque INSERM 142, Editions INSERM, Paris, pp. 143-166, 1986.
3. MAUFF G. Genetic polymorphisms of complement components and other plasma proteins. In : WR Mayr, « Advances in Forensic Haemogenetics 2 », pp. 133-143, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1988.
4. MOLLNES TE, LACHMANN PJ. Regulation of complement. Scand J Immunol 1988, 27 : 127-142.
5. MÜLLER-EBERHARD HJ. Molecular organization and function of the complement system. Ann Rev Biochem 1988, 57 : 321-347.
6. PERLEMUTTER DH, COLTEN HR. Structure and expression of the complement genes. Pharmac Ther, 1987, 34 : 247-270.
7. REY-CAMPOS J, RUBINSTEIN P, RODRIGUEZ DE CORDOBA S. A physical map of the human regulator of complement activation gene cluster linking the complement genes CR1, CR2, DAF and C4bp. J Exp Med 1988, 167 : 664-669.
8. ROSS GD. Opsonization and membrane complement receptors. In : GD Ross, « Immunobiology of the Complement System. An introduction for research and clinical medicine », Academic Press, Orlando, Florida, pp. 87-114, 1986.

E.L. Cooper

## PHYLOGÉNIE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

L'homme et la plupart des animaux familiers appartiennent au phylum des chordés [1, 8, 12]. Leur système immunitaire est caractérisé, à un certain moment de leur existence, par : 1) la présence d'amas lymphoépithéliaux dans la région pharyngée en association avec les fentes branchiales; 2) la présence de tissu lymphomyéloïde associé au tube digestif; 3) la capacité de reconnaître les alloantigènes et de réagir contre eux.

Le phylum des chordés comporte trois subdivisions : les urochordés, les céphalochordés et les vertébrés. Les deux premiers sous-phylums concernent des invertébrés, tandis que les poissons, les amphibiens, les reptiles, les oiseaux et les mammifères constituent le sous-phylum des vertébrés. Tous les chordés sont capables de reconnaissance immune et manifestent une immunité à médiation cellulaire, mais seuls les vertébrés disposent d'une immunité humorale et synthétisent des anticorps [4].

### ASCIDIÉS

Les urochordés, premier sous-phylum des chordés constitué par les tuniciers, présentent un grand intérêt en immunologie car on admet généralement que les vertébrés en dérivent. Parmi les cellules sanguines des tuniciers, certaines ont un aspect amibien et exercent une fonction phagocytaire; elles jouent un rôle important dans les mécanismes d'excrétion et lors de la réponse immune. Dans deux espèces, de 5 à 8 types de cellules sanguines différentes ont été décrits en microscopie photonique. Au moins trois d'entre eux sont intéressants en immunologie comparée : ce sont les lymphocytes, les leucocytes et les cellules vacuolaires qui sont libres dans la circulation sanguine ou forment des amas dans les nodules lymphoïdes en association avec le tissu conjonctif. Dans la tunique, les nodules lym-

phoïdes se présentent en plaques immédiatement sous-jacentes à l'épithélium de revêtement interne. Ces différentes cellules se retrouvent également dans le tractus digestif et sont particulièrement nombreuses au niveau branchial. Elles possèdent des caractères lymphoïdes et sont capables d'incorporer de la thymidine tritiée.

Si le système immunitaire des chordés primitifs doit encore faire l'objet d'études détaillées, on sait déjà que, par certains caractères, il se rapproche de celui des invertébrés évolués et par d'autres, de celui des vertébrés. Ainsi, les tuniciers possèdent-ils le marqueur cellulaire de surface Thy-1 qui, comme membre de la superfamille des immunoglobulines, est caractéristique des vertébrés [10, 11].

## DE LA MOELLE OSSEUSE AUX LYMPHOCYTES T ET B

Le développement du système immunitaire des amphibiens, les plus primitifs des tétrapodes, se caractérise par l'apparition dans la moelle osseuse de cellules-souches qui vont se différencier en érythrocytes, granulocytes, thrombocytes (ou plaquettes des mammifères), monocytes, lymphocytes et plasmocytes. Leur maturation, bien connue chez les mammifères, est assez semblable chez tous les tétrapodes [3]. Les cellules-souches destinées à intervenir dans l'immunité cellulaire séjournent dans le thymus où elles acquièrent les propriétés des cellules T. Celles qui se différencieront en cellules B sécrétrices d'anticorps passent par les formations lymphoïdes équivalentes à la bourse de Fabricius des oiseaux [14]. Cette dichotomie du système immunitaire doit cependant être encore précisée chez les poissons, les amphibiens et les reptiles.

Les vertébrés comportent les agnathes (poissons dépourvus de mâchoires), les chondrichthyens (poissons cartilagineux), les ostéichthyens (poissons osseux), les amphibiens, les reptiles, les oiseaux et les mammifères.

### AGNATHES

Les cyclostomes (classe des agnathes ou poissons sans mâchoires) comportent les lamproies et les myxines; ils sont considérés comme les plus

primitifs des vertébrés vivants. Les lamproies possèdent des centres hématopoïétiques primitifs dans la paroi du tube digestif et dans les régions où, plus tard, apparaîtront la rate et le thymus; l'un d'eux est situé dans le pronéphros (rein antérieur). Les cellules offrent toutes les apparences des cellules lymphoïdes mais une analyse fine des marqueurs lymphocytaires de surface serait nécessaire pour en préciser les fonctions.

### CHONDRICHTYENS

Les poissons cartilagineux (élasmobranches et holocéphales) comprennent les raies, les requins et les chimères. Quoique primitifs, ils manifestent une vigoureuse réponse immune qui résulte d'une structure plus complexe de leur système immunitaire. Les raies possèdent un thymus réduit où l'on distingue un cortex et une médullaire, et une rate avec une pulpe blanche et rouge. Elles sont capables de rejeter les greffons allogéniques et d'élaborer des anticorps. Les requins ont des capacités immunes en rapport avec une grande différenciation lymphoïde : ce sont les premiers vertébrés qui possèdent des plasmocytes identiques à ceux des mammifères et des oiseaux. Les chimères (holocéphales) diffèrent des élasmobranches en ce qu'elles présentent certaines similitudes avec les ptyctodontides (qui appartiennent à une classe de poissons primitifs fossiles : les placodermes) : elles n'ont, notamment, pas de tissu lymphoïde dans leur système excréteur mais possèdent un thymus et des structures hématopoïétiques d'allure glandulaire dans la région crâniale.

### OSTÉICHTYENS

Au cours du paléozoïque, les poissons primitifs comportaient de nombreux genres de chondros-téens. Ces poissons, comme les esturgeons et les polyodons actuels devaient être capables de rejeter les allogreffons et d'élaborer des anticorps en réponses primaire et secondaire. Leur thymus, bien développé, montre des lobes et lobules, ainsi que des corps de Hassall primitifs; la rate comporte une pulpe rouge et une pulpe blanche; un organe précurseur de la moelle osseuse, situé au niveau de la base du cœur, assure la différenciation des lymphocytes et la maturation des plasmocytes. Chez le polyodon, les lymphocytes

sont ca  
d'antige  
product  
l'existe

Au m  
la succ  
superor  
tants ré  
possède  
structur  
espèces  
cepend  
rappelle  
plasmoc

Les  
du més  
d'espèc  
thymus  
subsidi  
présent  
ganglio  
sant ai  
synthès  
ment a  
cellule  
la rate  
morpho  
néphro  
le pro  
mamm

### AMPH

Le  
les ve  
tétrapo  
s'acco  
pulmo  
système  
dépou  
à des  
connu  
on ne  
d'anti

Le  
urodè  
muscl  
salam  
premi  
l'end  
ques,  
persis

lamproies  
s primitifs  
les régions  
le thymus;  
hros (rein  
les appa-  
ne analyse  
le surface  
fonctions.

branches et  
es requins  
manifestent  
ulte d'une  
e immuni-  
uit où l'on  
et une rate  
Elles sont  
éniques et  
s ont des  
ne grande  
s premiers  
tes identi-  
eaux. Les  
s élasmo-  
aines simi-  
artiennent  
ssiles : les  
t, pas de  
éteur mais  
matopoïé-  
n crâniale.

s primitifs  
chondros-  
ons et les  
de rejeter  
ticorps en  
r thymus,  
ules, ainsi  
; la rate  
e blanche;  
euse, situé  
a différen-  
ration des  
mphocytes

sont capables de répondre à une grande variété d'antigènes par une prolifération intense et la production de nombreux anticorps. On note aussi l'existence d'éosinophiles.

Au mésozoïque moyen, les holostéens prennent la succession des chondrostéens en tant que superordre dominant. Chez un de leurs représentants rélictuels, l'amia (*Amia calva*), le thymus possède un cortex et une médullaire, mais sa structure est moins complexe que celle des espèces précédemment décrites; ceci mérite cependant confirmation. La structure de la rate rappelle celle des chondrostéens; ils possèdent des plasmocytes typiques.

Les téléostéens, issus des holostéens au cours du mésozoïque, comportent le plus grand nombre d'espèces à l'heure actuelle. Ils possèdent un thymus, une rate et des amas lymphocytaires subsidiaires dans le pronéphros (rein antérieur) qui présentent une architecture analogue à celle des ganglions lymphatiques des mammifères, traduisant ainsi leur double fonction de filtration et de synthèse des anticorps, fonctions phylogénétiquement associées. Le pronéphros contient plus de cellules sécrétant des anticorps que n'en possède la rate, ce qui semble être une conséquence de sa morphologie lymphoréticulaire [13]. Le pronéphros des téléostéens pourrait en fait représenter le prototype du ganglion lymphatique des mammifères.

## AMPHIBIENS

Le plus important développement survenu chez les vertébrés fut probablement l'émergence des tétrapodes sur la terre ferme [9]. Ce changement s'accompagna du développement de la respiration pulmonaire et de modifications sensibles du système immunitaire. Les apodes, ou amphibiens dépourvus de pattes, ressemblent, à première vue, à des serpents. Leur capacité immune est mal connue : on sait qu'ils rejettent les greffons mais on ne dispose pas d'information sur leur synthèse d'anticorps.

Le thymus de l'axolotl (appartenant aux urodèles) est situé sous la peau, devant les muscles des arcs branchiaux. Chez certaines salamandres, comme *Ambystoma*, seules les cinq premières poches pharyngiennes dérivées de l'endoderme développent des bourgeons thymiques, mais les deux premiers dégénèrent et seules persistent trois paires de thymus. Des organes

épithéliaux de la tête font aussi partie du système lymphomyéloïde, ainsi que la rate, mais le rôle de la moelle osseuse dans la formation des leucocytes et des lymphocytes est controversé.

Les anoues (grenouilles et crapauds) occupent une position unique dans l'évolution par leurs analogies structurelles et fonctionnelles avec les poissons, les reptiles, les oiseaux et les mammifères. Les organes du système immunitaire des têtards ressemblent fort à ceux des poissons : ils possèdent un thymus, une rate et une glande lymphoïde analogue au pronéphros. Les précurseurs de l'ensemble des organes lymphoïdes des mammifères sont cependant présents chez les amphibiens anoues, car après la métamorphose ceux-ci posséderont un thymus, une rate, des organes lymphoïdes rappelant les ganglions lymphatiques et une moelle osseuse. Le fait que la splénectomie chez *Rana pipiens* adulte ne prolonge pas la survie des allogreffes suggère que la rate adulte ne contient pas de cellules T actives; par contre la synthèse des anticorps est inhibée indiquant que cet organe est un producteur important de cellules B. Les structures lymphomyéloïdes associées aux fentes branchiales des larves sont aussi des organes importants dans la séquestration des antigènes et la synthèse des anticorps; elles disparaissent toutefois à la métamorphose et sont remplacées par les corps jugulaires, propéricardiques et procoracoïdes situés dans la région ventrale du cou.

## REPTILES

Les reptiles sont les descendants d'anciens amphibiens mais ils en diffèrent par leur mode de développement. L'œuf, amniotique, est pondu sur terre et ni le jeune ni l'adulte ne sont strictement dépendants du milieu aquatique [6]. Les formes actuelles, issues des reptiles primitifs (cotylosaures), comprennent les tortues, les lézards, les serpents, les crocodiles et le sphénodon de Nouvelle-Zélande. Comme ils sont poïkilothermes, les reptiles ont fait l'objet de nombreuses études sur l'effet des saisons sur le système immunitaire. Certains amas lymphoïdes du tube digestif pourraient être des précurseurs de la bourse de Fabricius des oiseaux ou les équivalents reptiliens des amygdales et des plaques de Peyer associées au tube digestif des mammifères (GALT). Des infiltrations lymphocytaires diffuses et des nodules lymphoïdes ainsi que des plas-

mocytes se trouvent parfois aussi sous l'épithélium vésical : elles pourraient être les formes primitives des ganglions lymphatiques des mammifères.

Les geckos, et notamment *Gehyra variegata* sont des lézards intéressants; ils présentent dans les régions axillaires, du tissu lymphoïde étroitement associé aux systèmes lymphatique et circulatoire. Des cellules et des fibres réticulaires donnent à ce tissu une structure anatomique et fonctionnelle fondamentalement différente de celle existant chez les amphibiens qui eux possèdent des formations lymphomyéloïdes filtrant toutes les cellules sanguines. Par contre, l'organe ganglionnaire du gecko ne possède pas de centres germinatifs et est très semblable à ceux que l'on trouve chez des mammifères monotrèmes, comme les échidnés.

## OISEAUX

Les oiseaux offrent une grande ressemblance avec les reptiles, particulièrement par leur mode de développement à partir d'œufs amniotiques protégés par une coquille. Ils seraient issus des thécodontes, reptiles coureurs dont chaque dent était implantée dans un alvéole. Les reptiles vivants les plus proches de ces ancêtres communs sont les crocodiles et les alligators dont le système immunitaire est, par le nombre des organes lymphoïdes, assez semblable à celui des oiseaux néognathes.

Les oiseaux possèdent un thymus, une bourse de Fabricius, une rate, de la moelle osseuse, des plaques ubiquitaires d'amas lymphoïdes situées sous la peau et d'autres amas en association avec le tube digestif [2]. A l'inverse des mammifères, les ganglions lymphatiques des oiseaux offrent apparemment peu de résistance au flux lymphatique; ils sont allongés avec des branches afférentes et efférentes à chaque extrémité et ils contiennent des centres germinatifs [7]. Une structure lymphoïde, la glande de Harder, est située contre le globe oculaire; un fin conduit s'en détache et court le long de la paroi antérieure de l'orbite. Chez le poulet de 14 semaines, cette glande mesure environ  $1,5 \times 1,5 \times 1$  mm; elle augmente de taille avec l'âge et contient des lymphocytes, des plasmocytes et des centres germinatifs. Des cellules dont le réticulum endo-

plasmique est colorable par le vert de méthyle-pyronine y synthétisent des anticorps sous l'influence de la bourse de Fabricius. Le thymus est multilobulé et contient des thymocytes qui sont beaucoup plus petits que les lymphocytes de la bourse de Fabricius. Celle-ci est un organe lymphoïde qui joue un rôle essentiel dans le développement de l'immunité humorale pendant la première partie de la vie chez l'oiseau. Elle est composée de nombreux follicules lymphoïdes dont chacun comporte un cortex et une médullaire séparés par une fine couche de cellules épithéliales et une membrane basale.

La moelle osseuse des oiseaux a été moins bien étudiée que les autres organes lymphoïdes : elle est cependant le siège de l'hématopoïèse de même que la rate qui joue un rôle important dans la réponse immune. Dans la rate on trouve des cellules-souches, les hémocytoblastes, au niveau des centres germinatifs. D'un point de vue phylogénique, c'est chez les oiseaux qu'apparaissent les premiers centres germinatifs authentiques dans des zones bien délimitées de la pulpe blanche.

## MAMMIFÈRES

Les mammifères sont issus d'un groupe de reptiles, les thérapside, apparus à la fin du Permien. Leurs caractères les plus évidents sont la présence de poils ou de fourrure et l'allaitement des jeunes. Les mammifères se sont diversifiés en trois groupes principaux : les protothériens ou monotrèmes, les métathériens ou marsupiaux et les euthériens ou mammifères placentaires. Si, dans la classe des mammifères, le système lymphoïde est assez complexe, c'est chez les euthériens qu'on trouve la plus grande variété d'organes lymphoïdes [5]. Les amas lymphocytaires, diffus ou groupés en organes, sont étroitement associés aux surfaces épithéliales ou situés près des orifices.

Le système lymphoïde des mammifères comporte des formations oropharyngées (les amygdales) et satellites du tube digestif (les plaques de Peyer et l'appendice); même chez les monotrèmes, il ne semble pas y avoir de structure équivalente à la bourse de Fabricius des oiseaux. Quoiqu'ils pondent des œufs, les jeunes, dès leur éclosion, tètent comme les autres mammifères et possèdent le même système immunitaire.

## CONCLUSION

Ce chapitre présente quelques caractéristiques générales du système immunitaire des chordés, exclusivement examinées du point de vue phylogénique et taxonomique. Les informations recueillies

devraient être étendues par l'étude de nombreuses autres espèces animales dont chacune éclaire et enrichit les observations effectuées chez les autres. La connaissance de l'immunologie gagne beaucoup à une telle confrontation qui souligne, dans leur évolution, les constantes du système immunitaire.

*Remerciements : nous remercions vivement les Docteurs Georges Mees et Philippe Roch pour une lecture critique de la traduction du manuscrit.*

## BIBLIOGRAPHIE

1. CARROLL RL. Vertebrate paleontology and evolution. W.H. Freeman and Company, U.S.A., 1988.
2. COHEN N, SIGEL MM. The reticuloendothelial system, a comprehensive treatise. Vol. 3, Phylogeny and ontogeny. Plenum Press, 1982, 775 pages.
3. COOPER EL. Immunity mechanisms. In : B Lofts. Physiology of amphibia. New York, Academic Press, 1976 : 163-172.
4. COOPER EL. Comparative immunology. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs, New Jersey, 1976, 338 pages.
5. COOPER EL. General Immunology. Pergamon Press, 1982, 343 pages.
6. COOPER EL, KLEMPAU AE, ZAPATA AG. Reptilian immunity, In : C Gans, F Billett, P Maderson. Biology of the reptilia, Vol 14. John Wiley and Sons, Inc., New York, 1985 : 600-678.
7. GERSHWIN ME, COOPER EL. Animal models of comparative and developmental aspects of immunity and disease. Pergamon Press, New York, 1978, 396 pages.
8. GRASSÉ PP, DEVILLERS Ch. Zoologie II, Vertébrés. Masson, Paris, 1965, 952 pages.
9. MANNING MJ, TURNER J. Comparative immunology, Blackie, London, 1976, 184 pages.
10. MANSOUR MH, COOPER EL. Serological and partial characterization of a Thy-1 homolog in tunicates. Eur J Immunol, 1984, 14 : 1031-1039.
11. MANSOUR MH, DELANGE R, COOPER EL. Isolation, purification and amino acid composition of the tunicate hemocyte Thy-1 homolog. J Biol Chem, 1985, 260 : 2681-2686.
12. MARGULIS L, SCHWARTZ KV. Five Kingdoms, an illustrated guide to the phyla of life on earth. WH Freeman and Company, New York, 1988, 362 pages.
13. VAN MUISWINKEL WB. Immunology and immunization of fish. Dev Comp Immunol Suppl 2, Pergamon Press, 1982, 255 pages.
14. WRIGHT RK, COOPER EL. Phylogeny of thymus and bone marrow-bursa cells. Elsevier North Holland, Amsterdam, 1976, 325 pages.

C. Corbel

## ONTOGENÈSE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Les organes lymphoïdes primaires sont les sites majeurs de la lymphopoïèse. Les lymphocytes s'y différencient à partir des cellules précurseurs hématopoïétiques (CPH), y prolifèrent et mûrissent en cellules effectrices.

L'étude de l'ontogenèse des cellules responsables des fonctions immunes, humorale et cellulaire, a été réalisée en détail chez les Oiseaux, car ceux-ci possèdent deux organes séparés pour le développement des lymphocytes T et B, le thymus et la bourse de Fabricius. La fonction de ces organes primaires a été caractérisée par les résultats d'expériences d'ablation néonatale.

Chez la souris, les fonctions immunes telles que le rejet d'allogreffes, les réactions d'hypersensibilité retardée et les réactions du greffon contre l'hôte étant quasiment abrogées après thymectomie, les lymphocytes dépendant du thymus furent appelés lymphocytes T. Chez le poulet, la production d'anticorps étant extrêmement réduite après bursectomie, les lymphocytes dépendant de la bourse furent appelés lymphocytes B [1, 3]. Un autre intérêt

du modèle aviaire est l'accessibilité de l'embryon permettant des manipulations « in ovo » pendant tout le développement.

L'étude du développement du système immunitaire a pu être menée chez les Oiseaux grâce à un marquage cellulaire stable basé sur des différences structurales entre le noyau en interphase des cellules de deux espèces, la caille et le poulet, permettant d'identifier les cellules d'organes chimères caille-poulet [5].

Pour ces raisons, ce chapitre sera essentiellement consacré à l'ontogenèse des organes primaires des Oiseaux.

### THYMUS

#### ORIGINE EMBRYONNAIRE DES COMPOSANTS THYMIQUES

Chez tous les vertébrés, le thymus est un organe épithélio-mésenchymateux dérivé du

pharynx. L'épithélium thymique des Oiseaux est formé par un rudiment endodermique issu des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> poches branchiales. Chez la souris, l'ébauche épithéliale se développe à partir de l'endoderme de la 3<sup>e</sup> poche branchiale. Lors de leur différenciation, les cellules épithéliales acquièrent de longs prolongements mais restent associées entre elles par des desmosomes pour former un réseau dans lequel se développent les lymphocytes. Les cellules mésenchymateuses qui entourent l'endoderme proviennent de la crête neurale rhombencéphalique. Ces cellules d'origine ectodermique donnent naissance aux tissus conjonctifs périvasculaires et interlobulaires du thymus différencié.

Pendant un siècle, l'origine embryonnaire des lymphocytes a fait l'objet d'une controverse. Selon certains auteurs, les lymphocytes provenaient de la transformation des cellules épithéliales; pour d'autres, des cellules mésenchymateuses. En 1965, Moore et Owen proposèrent que les lymphocytes aient une origine extrinsèque. Leurs expériences consistèrent à associer des couples d'embryons de poulet âgés de 4 à 5 jours par leur circulation sanguine vitelline. Dans ce cas, l'analyse chromosomique révéla un chimérisme important dans le thymus.

En revanche, peu de chimérisme thymique fut observé lorsque les anastomoses vasculaires allantoïdiennes étaient effectuées entre des embryons

plus âgés (entre 6 et 11 jours). L'analyse des caryotypes réalisés entre 14 et 20 jours d'incubation, lorsque les lymphocytes en division sont majoritaires au sein de la population thymique, montra qu'il s'agissait d'un chimérisme lymphocytaire. Moore et Owen proposèrent donc que les CPH véhiculées par la circulation sanguine envahissent le thymus entre le 4<sup>e</sup> et le 5<sup>e</sup> jour d'incubation. Des observations similaires ont été faites pour la bourse de Fabricius, la rate et la moelle osseuse, et ce concept a été généralisé [8]. La théorie « hématogène » du développement des organes hématopoïétiques fonctionnant chez l'adulte fut ensuite confirmée par Le Douarin et Jotereau [6]. Le marqueur nucléaire de la caille permet d'étudier l'histogenèse thymique grâce à la construction de thymus embryonnaires chimères de caille et de poulet. Ce marqueur nucléaire a l'avantage de fournir des informations sur toutes les cellules interphasiques d'un organe donné au moment de l'observation. Par ailleurs, la structure cellulaire, révélée par une coloration spécifique de l'ADN permet de distinguer non seulement les cellules de caille de celles de poulet mais aussi les lymphocytes des autres types cellulaires [5].

Le moment précis de la colonisation du rudiment épithélio-mésenchymateux thymique par des CPH fut donc déterminé par des greffes d'une ébauche thymique prélevée chez l'embryon de

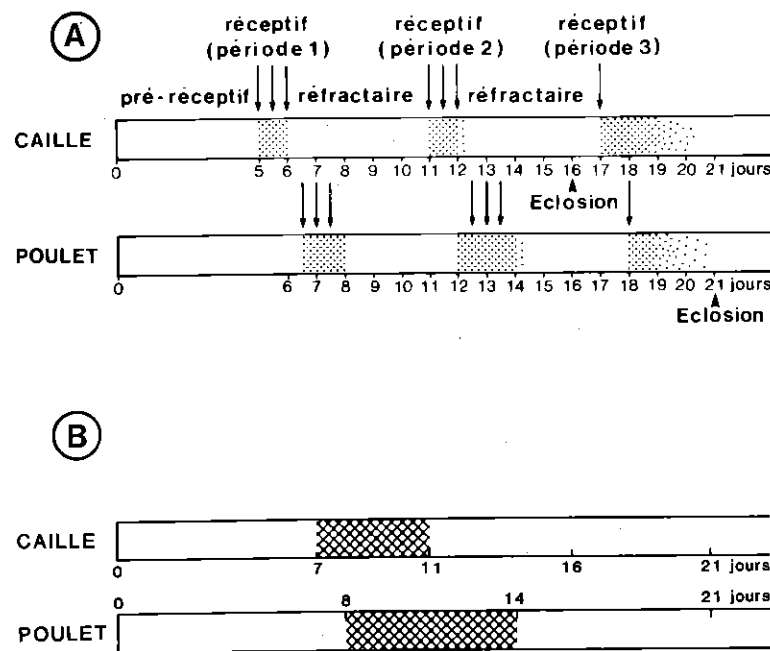


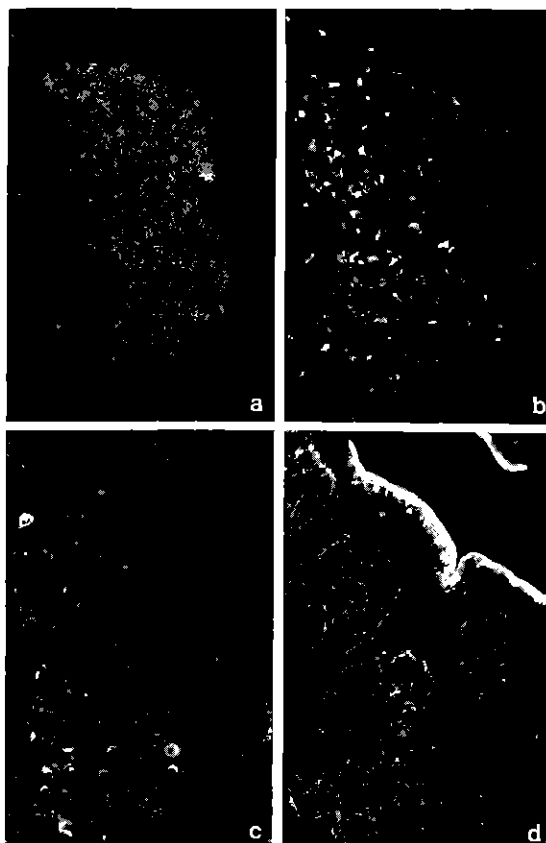
Figure 15-1 Chronologie de la colonisation du thymus (A) et de la bourse de Fabricius (B) embryonnaires par les cellules-souches hématopoïétiques, établie dans le modèle expérimental caille-poulet.

Figure  
chim  
épith  
d'inc  
en in  
a, b)  
poule  
thym  
résea  
de c  
c, d)  
cytes  
cellu



analyse des  
ours d'incu-  
vision sont  
thymique,  
ne lympho-  
onc que les  
guine enva-  
le 5<sup>e</sup> jour  
ires ont été  
a rate et la  
néralisé [8].  
pement des  
nant chez  
Douarin et  
de la caille  
e grâce à la  
es chimères  
nucléaire a  
s sur toutes  
e donné au  
la structure  
écifique de  
ulement les  
ais aussi les  
ires [5].  
on du rudi-  
que par des  
effes d'une  
embryon de

caille et greffée chez le poulet et vice-versa. Par exemple, lorsque l'ébauche thymique de caille prélevée au 4<sup>e</sup> jour de l'incubation est greffée dans la somatopleure d'un embryon de poulet de 3 jours, les lymphocytes qui s'y développent sont exclusivement du type de l'hôte (poulet) alors que les cellules épithéliales sont du type du greffon (caille). La population lymphocytaire est mixte dans le cas d'une greffe de rudiment thymique prélevé au cours du 6<sup>e</sup> jour de l'incubation; elle est uniquement du type du donneur de greffe (caille) lorsque l'ébauche est prélevée après le 6<sup>e</sup> jour.



**Figure 15-2** Coupe de thymus et bourse de Fabricius chimériques obtenus par des greffes in situ d'ébauches épithélio-mésenchymateuses d'embryon de caille de 4,5 jours d'incubation dans un embryon de poulet de 5 jours. Marquage en immunofluorescence.

**a, b)** Thymus chimérique. Les lymphocytes T corticaux de poulet, révélés avec un anticorps monoclonal spécifique des lymphocytes aviaires : T10A6<sup>+</sup> (a), se développent dans un réseau de cellules épithéliales de caille exprimant les antigènes de classe II du CMH : TAC1 (b);  $\times 170$ .

**c, d)** Bourse de Fabricius chimérique de 5 jours. Les lymphocytes B de poulet : IgM<sup>+</sup> (c) se développent dans une trame de cellules épithéliales de caille : MB1<sup>+</sup> (d);  $\times 225$ .

Ces expériences ont montré que l'invasion du thymus par les CPH extrinsèques commence à 5 et 6,5 jours respectivement chez l'embryon de caille et celui de poulet. Ce processus est rapide. Il dure 24 h chez la caille et 36 h chez le poulet. Par ailleurs, la colonisation du thymus est un processus cyclique. Elle se produit en trois vagues successives séparées par des périodes réfractaires au cours desquelles l'entrée des CPH est inexistante (Fig. 15-1 a).

Chez la souris, la colonisation du thymus a lieu entre 10,5 et 13 jours de gestation. Une deuxième vague d'invasion thymique par les CPH a été mise en évidence.

Une autre catégorie de cellules hématopoïétiques, les macrophages et les cellules dendritiques, cellules dites « accessoires », qui expriment les antigènes de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) se différencient dans le thymus. Chez les Oiseaux, on sait que la première vague de CPH produit non seulement les lymphocytes, mais aussi les précurseurs de ce type de cellules. La distinction entre les cellules extrinsèques exprimant les antigènes de classe II du CMH ainsi que leur distribution ont été bien étudiées chez les Mammifères et chez les Oiseaux. Chez ces derniers, la construction de chimères thymiques caille-poulet identiques à celles décrites précédemment, combinée avec l'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre des antigènes de classe II spécifiques de caille ou de poulet ont montré que les cellules dendritiques sont localisées dans la médulla thymique et sont d'origine extrinsèque. Les cellules épithéliales, qui expriment les antigènes de classe II se trouvent dans le cortex (Fig. 15-2 a, b) [9].

### RÉPERTOIRE DES CELLULES T

Les lymphocytes T expriment des récepteurs (TcR) composés de deux chaînes polypeptidiques gamma et delta ou alpha et bêta, associées au complexe CD3. L'expression séquentielle de ces TcR pendant l'ontogénèse a fait l'objet de nombreuses études chez la souris et plus récemment chez le poulet. Chez la souris, les réarrangements des gènes gamma et delta précèdent ceux des gènes alpha et bêta. La diversité des TcR résulte de la combinaison des réarrangements entre les différents segments de gènes variables (V), de jonction (J) et de diversité (D).

gie de la colo-  
et de la bourse  
nnaires par les  
poïétiques, éta-  
expérimental

Par ailleurs, le répertoire des lymphocytes T dépend aussi de la sélection positive résultant de l'interaction entre le TcR et les antigènes de classe I ou II du CMH et de l'élimination des cellules T capables de répondre contre le soi [7].

## BOURSE DE FABRICIUS

### ORIGINE EMBRYONNAIRE DES COMPOSANTS BURSIQUES

La bourse de Fabricius se développe à partir de la membrane cloacale formée par l'accolement de l'endoderme de la chambre cloacale et de l'ectoderme de la dépression caudale de l'embryon. Comme le thymus, la bourse a pour origine un bourgeon épithélio-mésenchymateux.

Des greffes de rudiments épithélio-mésenchymateux de la bourse d'embryon de caille de 5 à 11 jours d'incubation ont été réalisées dans des embryons de poulet de 3 jours. L'origine de la population lymphocytaire des bourses chimères développées dépend de l'âge du donneur. Les lymphocytes sont du type de l'hôte (poulet) lorsque les rudiments bursiques sont prélevés avant le 7<sup>e</sup> jour d'incubation. Un mélange de lymphocytes de caille et de poulet est observé dans les bourses de caille greffées entre 7 et 11 jours d'incubation. Au contraire, lorsque les rudiments bursiques d'embryons de caille de plus de 11 jours d'incubation sont greffés, les lymphocytes qui s'y développent sont uniquement du type du donneur.

Ces expériences ont montré que les CPH qui se différencient dans l'environnement bursique ont une origine extrinsèque et que la colonisation de la bourse a lieu entre le 7<sup>e</sup> et le 10<sup>e</sup> jour chez l'embryon de caille et entre le 8<sup>e</sup> et le 14<sup>e</sup> jour chez l'embryon de poulet (voir Fig. 15-1 b) [4]. Il n'existe qu'une seule vague d'invasion des CPH dans le rudiment bursique.

Ensuite, les bourgeons épithéliaux se développent pour former chez l'adulte  $1 \times 10^4$  follicules, chaque follicule bursique ayant été colonisé par un petit nombre (2 à 10) de précurseurs lymphocytaires.

L'histogenèse de la bourse de Fabricius fait intervenir des interactions tissulaires remarquablement spécifiques entre le composant épithélial et le composant mésenchymateux de l'ébauche. La séparation de ces deux composants par digestion

enzymatique et leur culture à l'état séparé in vitro ou in vivo ne permet pas la différenciation des CPH. Cependant, lorsque des recombinaisons homospécifiques (poulet-poulet) ou hétérospécifiques (caille-poulet) d'endoderme et de mésenchyme dissociés sont réalisées et ensuite greffées dans un embryon receveur, le développement bursique s'effectue normalement. Au contraire, lorsque l'endoderme est associé au mésenchyme de la somatopleure d'un embryon de 3 jours ou d'autres territoires embryonnaires (intestin, somites), le développement de l'épithélium bursique ne peut se faire. Du mésenchyme bursique associé à de l'endoderme thymique ou digestif n'induit pas l'histogenèse bursique.

Les interactions tissulaires entre ces 2 composants bursiques ont été étudiées après injection de testostérone. Cet androgène arrête le développement de la bourse de Fabricius et inhibe la différenciation des cellules B.

Le développement et le rôle de la bourse ont été récemment étudiés grâce à l'emploi de marqueurs (anticorps monoclonaux) spécifiques d'espèce et d'antigènes de différenciation, dans des situations chimériques caille-poulet. Lorsque des greffes in situ de rudiments bursiques de caille de 4,5 jours sont réalisées chez des embryons de poulet bursectomisés (5 jours), les lymphocytes B et les cellules accessoires de poulet se différencient normalement dans une trame de cellules épithéliales de caille (voir Fig. 15-2 c, d). Ces chimères bursiques xénogéniques sont capables de synthétiser des anticorps alors que la réponse immunitaire est inexistante chez des poulets bursectomisés à 5 jours d'incubation [2].

La bourse est donc essentielle pour l'établissement du répertoire en anticorps.

### RÉPERTOIRE DES CELLULES B

Le répertoire immunitaire des anticorps est engendré différemment chez les Oiseaux et les Mammifères. Chez ces derniers, la diversité des anticorps est assurée par des réarrangements géniques dans les cellules du foie fœtal et de la moelle osseuse après la naissance.

La combinaison des réarrangements entre différents segments géniques codant pour les régions VL et VH permet aux Mammifères de fabriquer des milliers de chaînes L et H différentes. Elles s'associent pour former des millions de molécules d'anticorps différents, ce qui représente le répertoire en anticorps d'un individu.

Chez les Oiseaux, le réarrangement des gènes d'Ig a lieu dans la bourse de Fabricius pendant la courte période où elle est colonisée par les CPH. L'analyse moléculaire du locus de la chaîne légère des Ig de poulet a révélé une organisation particulière aux Oiseaux. Ce locus ne comprend qu'un seul gène V fonctionnel (V lambda 1), une seule unité J-C et 25 pseudogènes V. Ce processus de réarrangement qui implique le même gène fonctionnel dans toutes les cellules B est donc incapable d'engendrer la diversité des anticorps. Celle-ci est établie par un mécanisme de conversion génique entre le gène V lambda 1 réarrangé et les pseudogènes V, dans la bourse de Fabricius [10].

## CONCLUSION

La connaissance de l'ontogenèse du système immunitaire est importante :

— c'est une étape cruciale de la différenciation des CPH en lymphocytes et cellules accessoires et de l'acquisition des différents marqueurs et récepteurs des cellules T et B ce qui leur permet d'être fonctionnelles;

— elle représente une phase du développement où ont lieu les mécanismes de la génération de la diversité (Ig et TcR) et de la distinction entre le soi et le non-soi.

*Remerciements : je remercie Madame le Professeur Nicole Le Douarin pour ses conseils critiques au cours de la rédaction de ce manuscrit.*

## BIBLIOGRAPHIE

1. COOPER MD, PETERSON RDA, GOOD RA. Delineation of the thymic and bursal lymphoid systems in the chicken. *Nature*, 1965, 205 : 143-146.
2. CORBEL C, BELO M, MARTIN C et al. A novel method to bursectomize avian embryos and obtain quail-chick bursal chimeras. II. Immune response of bursectomized chicks and chimeras and post-natal rejection of the grafted quail bursas. *J Immunol* 1987, 138 : 2813-2821.
3. GLICK B. Normal growth of the bursa of Fabricius in chickens. *Poult Sci*, 1956, 35 : 843-851.
4. HOUSSAINT E, BELO M, LE DOUARIN NM. Investigations on cell lineage and tissue interaction in the developing bursa of Fabricius through interspecific chimeras. *Dev Biol*, 1976, 53 : 250-264.
5. LE DOUARIN NM. Particularités du noyau interphasique chez la caille japonaise (*Coturnix coturnix japonica*). Utilisation de ses particularités comme « marquage biologique » dans des recherches sur les interactions tissulaires et les migrations cellulaires au cours de l'ontogenèse. *Bull Biol Fr Bel*, 1969, 103 : 435-452.
6. LE DOUARIN NM, JOTEREAU FV. Origin and renewal of lymphocytes in avian embryo thymuses studied in interspecific combinations. *Nature*, 1973, 246 : 25-27.
7. MOLLER G. The T cell repertoire. *Immunol Rev*, 1988, 101 : 1-215.
8. MOORE MAS, OWEN JJT. Experimental studies on the development of the bursa of Fabricius. *Dev Biol*, 1966, 14 : 40-51.
9. OHKI H, MARTIN C, CORBEL C et al. Tolerance induced by thymic epithelial grafts in birds. *Science*, 1987, 237 : 1032-1035.
10. WEILL JC, REYNAUD CA. The chicken B cell compartment. *Science*, 1987, 238 : 1094-1098.

G. Chaouat

## IMMUNOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Les fœtus sont, chez les mammifères, des greffons semi-allogéniques par rapport à la mère qui les porte. Par transplantation embryonnaire, on peut à présent obtenir des naissances totalement allogéniques à l'organisme maternel : en effet, on sait transférer couramment des embryons CBA/J (H-2k) chez une mère C57B1/Ks (H-2d). On a même transféré des embryons d'une espèce dans l'utérus d'une autre espèce : le zèbre de Grant (*Hippotigris quagga bohmi*) chez une jument (zèbre : 46 chromosomes et cheval : 64 chromosomes) [1]. Cette méthode a un grand intérêt en recherche fondamentale. Elle peut aussi être utile pour améliorer la reproduction de certaines espèces. Elle a même été envisagée pour sauver des espèces en voie d'extinction [2].

Ces transplants hétérospécifiques sont immunologiquement acceptés, comme l'est un œuf normal, semi-allogénique. Il y a donc transgression de la discrimination « soi, non-soi ». Cependant, toute allo- ou xénogreffe de tissu adulte de même origine (ex : CBA/J donneur, C57B1/Ks receveur) serait rejetée. Or, le fœtus et

surtout son placenta survivent et nouent d'étroites relations vasculaires avec le tissu maternel d'accueil.

### PROBLÈMES D'ANTIGÉNICITÉ DU FŒTUS PAR RAPPORT À SA MÈRE

#### SPERMATOZOÏDES ET VACCINS CONTRACEPTIFS VÉTÉRINAIRES

Ce paradoxe vaut également pour les spermatozoïdes. Ils sont aussi un inoculum plus ou moins répété de cellules étrangères. La tolérance aux antigènes du sperme reste mal connue, bien qu'on connaisse des antigènes spécifiques du spermatozoïde [9]. Des vaccins contraceptifs ont été obtenus par immunisation à l'aide de ces

antigènes ou des isoenzymes acrosomiales, tels que la lactate déshydrogénase C4 (LDH-C4). La stérilisation ainsi obtenue est réversible et donc intéressante. Toutefois, les meilleurs résultats, obtenus par immunisation contre l'enzyme acrosomial LDH-C4, n'atteignent que 85 p. cent, taux encore peu acceptable en pratique vétérinaire, et encore moins en contraception humaine [7].

### ANTIGÉNICITÉ DU PLACENTA

Il existe plusieurs types anatomiques de placentation et de nombreuses variantes antigéniques dans chacun d'eux. Le placenta exprime des antigènes d'histocompatibilité mineurs et d'organes sur les cellules en contact direct avec les tissus utérins. Ceux-ci expriment des antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe I. Le placenta des primates n'exprimerait que des antigènes monomorphes, sans variation entre individus. Le placenta étant dès lors une barrière neutre, il n'y aurait pas de problèmes de survie du conceptus. C'est en tout cas la situation du syncytiotrophoblaste de primates tels que le babouin, qui n'exprime pas d'antigènes d'histocompatibilité, polymorphes ou monomorphes. De même, chez le rat, selon l'équipe de Gill [8], les antigènes paternels seraient réprimés lors de la gestation semi-allogénique et même allogénique.

### RÉPONSE IMMUNE MATERNELLE SYSTÉMIQUE ANTIPATERNELLE

Cependant, la mère reconnaît l'unité fœtoplacentaire. La production d'anticorps anti-HLA, anti-SLA (porc), anti-ELA (cheval), etc., par la mère contre son fœtus, en témoigne. Par contre, il n'existe aucun cas connu d'espèce animale où la mère élabore des cellules tueuses cytotoxiques (CTL) spécifiques antipaternelles au cours d'une gestation normale.

### ÉVÉNEMENTS RÉGULATEURS

#### ÉVÉNEMENTS RÉGULATEURS SYSTÉMIQUES

Il existe indiscutablement des mécanismes régulateurs systémiques : chez la souris, la gestation

suscite une synthèse quasi exclusive d'anticorps de classe IgG1 non cytotoxiques, typiques de la facilitation immunitaire [10]. Cependant, la majorité des espèces produisent des IgG cytotoxiques. La gestation induit aussi des lymphocytes T-suppresseurs, dont la présence, bien démontrée chez l'homme, le rat, la souris, semble dépendre de facteurs placentaires. Toutefois, la gestation demeure normale même si on appauvrit la mère en cellules suppressives, par injection d'anticorps dirigés contre un marqueur de ces cellules (CD8). De même, la gestation reste normale en présence d'un compartiment cellulaire T maternel hyperimmunisé artificiellement, ayant des cellules tueuses actives *in vivo* et *in vitro* [5].

#### ÉVÉNEMENTS RÉGULATEURS LOCAUX À L'INTERFACE FŒTOMATERNELLE

La plupart des auteurs attribuent actuellement un rôle-clé aux événements régulateurs locaux. D'une part, dans la déciduale, les cellules T n'expriment pas de récepteur pour l'interleukine 2. Des immunodépresseurs sécrétés par la déciduale [6] et par le placenta, agissant comme « anti-IL-2 », sembleraient être à l'origine de ce phénomène. Notons que le recrutement des cellules déciduales dépendrait d'un facteur chimiotactique et différenciateur sécrété par le placenta. D'autre part, certaines cellules du placenta « normal » sont capables de résister à la lyse dépendante des anticorps et du complément, ou des cellules tueuses d'origine T (CTL) ou non (NK, LAKC). Ce dernier phénomène est dû à la sécrétion placentaire de molécules protéiques inhibant les propriétés cytolytiques des CTL et des NK.

D'autres observations méritent d'être signalées :

— une forte proportion des cellules du spongiotrophoblaste est résistante à la lyse, soit d'origine cellulaire, soit par des anticorps. Le mécanisme de cette résistance constitutionnelle est encore mal connu [11];

— la progestérone et le 1,25-dyhydroxycalciférol, quand ils sont synthétisés par le placenta en quantité suffisante pour atteindre de fortes concentrations locales sont des immunorégulateurs par inhibition des NK et des CTL;

— il existe un effet immunodépresseur *in vitro* de diverses protéines comme la « pregnancy

alpha 2 macroglobulin » dont le taux chute en cas de menace grave d'avortement, et qui pourrait servir au suivi d'une gestation;

— deux immunosuppresseurs doivent encore être mentionnés. D'une part, l'uromoduline qui a été purifiée et agit comme antagoniste de l'interleukine 1. Elle se trouve en grande quantité dans l'urine de la femme enceinte. Son site de synthèse et son rôle *in vivo* restent inconnus actuellement, mais elle devrait permettre un diagnostic de la grossesse. D'autre part, l'« Early Pregnancy Factor » (EPF), qui a été découvert grâce à son effet inhibiteur sur la formation des rosettes E par les lymphocytes T, pourrait également avoir des effets immunodépresseurs directs.

## THÉORIE DE L'IMMUNOTROPHISME

Les relations placenta-système immunitaire sont loin d'être toutes nocives pour le placenta qui utilise à son profit certaines fonctions. Ainsi, il exprime l'oncogène C-Fms sur le spongiotrophoblaste, utilisant comme facteur de croissance autocrine et paracrine le CSF-1 (Colony Stimulating Factor 1), et les autres membres de la « famille CSF », produits par les lymphocytes T, le « Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor 1 » (GM-CSF, CSF bêta-1) et l'interleukine 3 (CSF bêta) [3]. La prolifération placentaire, la phagocytose et la sécrétion de facteurs inhibant les cellules tueuses sont augmentées par ces lymphokines [3].

Dans la théorie de l'immunotrophisme placentaire [3], le placenta provoquerait « délibérément », en exposant ses propres antigènes sur ses couches externes, sa reconnaissance comme étranger par la mère. Il bloquerait sélectivement certaines fonctions immunitaires maternelles (lytiques), tout en en exploitant d'autres (les CSF), en une véritable boucle paracrine dont il prendrait partiellement le contrôle.

## AVORTEMENTS D'ORIGINE IMMUNITAIRE

Il existe des cas où ce mécanisme fonctionne mal : placenta mal reconnu, mauvais producteur

de facteurs dépresseurs, anormalement sensible à la lyse. C'est l'avortement immunitaire. Ainsi, la souris CBA/J (H-2k) avorte-t-elle avec une grande fréquence quand elle est accouplée à une souris DBA/2 (H-2d) mais non à une BALB/c (aussi H-2d). On constate dans ce cas que le placenta et le fœtus sont infiltrés de nombreuses cellules NK, LAKC, puis CTL [4]. Le placenta est plus petit chez les hybrides (CBA × DBA/2)F1 que chez les (CBA × BALB/c)F1. Il y a moins de cellules suppressives décíduales chez les souris qui avortent que dans les souris gestantes témoins. Le spongiotrophoblaste est plus « sensible » : déficit des inhibiteurs de NK, déficit des populations résistant intrinsèquement à la lyse.

On peut réduire le taux d'avortement, le poids et les fonctions placentaires par une préimmunisation des femelles CBA/J contre les antigènes d'histocompatibilité BALB/c avant leur accouplement avec des souris DBA/2. On peut également transférer la « protection » par des cellules ou du sérum d'animaux immunisés [4]. D'autres approches sont possibles : le sérum anti-Asialo GM1 qui détruit la population cellulaire des NK est antiabortif; à l'inverse, les avortements augmentent après injection de Poly-(I) C qui est un activateur des NK.

L'avortement semble aussi dépendre de facteurs microbiens : les souris CBA/J ont un taux normal d'avortement dans des conditions gnotobiotiques. Ce taux augmente dès que les souris sont transférées dans une pièce à environnement « conventionnel ». Or, on sait que le lipopolysaccharide (LPS) est abortif chez la souris où il déclenche la production décíduale de facteur nécrosant des tumeurs (TNF alpha et bêta) et de lymphotoxines. Le TNF recombinant est un puissant abortif chez les souris CBA/J accouplées à des DBA/2.

Ainsi, des lymphocytes ou leurs produits modulent négativement la reproduction. À l'inverse, les facteurs GM-CSF et IL-3 sont antiabortifs *in vivo*. Le mécanisme reste spéculatif : activation des fonctions antimicrobiennes des macrophages utérins et des cellules placentaires, conduisant à un nettoyage de l'environnement microbien, ou action directe sur la croissance et les fonctions placentaires ? Il est possible que ces deux mécanismes jouent un rôle.

On a immunisé des femmes ayant eu plusieurs avortements lors de grossesses successives avec le même père, contre les lymphocytes du père ou même d'un donneur non apparenté. La prévention de l'avortement se situe entre 75 à 80 p. cent. Il

est probable que l'immunisation se fasse soit contre des antigènes d'histocompatibilité de classe I, soit contre des antigènes partagés par le placenta et les lymphocytes.

Normalement, un hybride comme le mulet est toléré par sa mère (jument), mais il y a amorce d'immunodestruction [1], c'est-à-dire l'apparition d'un infiltrat lymphocytaire de l'endomètre. La gestation xénogénique est, par contre, impossible; il en est de même ainsi du transfert d'embryons âne × âne à des juments. Les villosités se développent mal, entraînant finalement la mort fœtale in utero, avec une très forte infiltration lymphocytaire. Or, l'immunisation préalable de la jument contre des lymphocytes d'âne, ou le transfert passif de sérum de jument gravide à une jument porteuse de l'embryon xénogénique (âne) permet sa survie: le parallèle avec le modèle CBA × DBA/2 est frappant.

## CONCLUSION

Les modèles que nous venons de décrire sont déjà d'application en médecine vétérinaire. Ainsi, en immunisant activement des truies contre des lymphocytes, du sperme ou des membranes placentaires allogéniques, on a pu augmenter d'un individu et demi la taille moyenne des portées, ce qui représente un gain moyen de productivité très important. De même, on peut manipuler la fertilité d'une femelle par immunisation contre des stéroïdes.

Les applications pratiques de l'immunologie de la reproduction en médecine vétérinaire sont: les castrations immunologiques simples (réversibles ou non) d'animaux de compagnie et de production; la manipulation positive de la prolificité (immunisations décrites précédemment); la création (par immunisation) de mères porteuses plus aptes que l'espèce d'origine à assurer l'expansion ou la réexpansion d'une souche, la création de chimères et d'animaux transgéniques que l'on développerait rapidement dans des animaux qui serviraient de façon transitoire d'espèces porteuses intermédiaires.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

- CHAOUAT G. Immunologie de la reproduction: Relation materno-fœtale. Implications fondamentales et perspectives d'application. Colloque INSERM 154. Editions INSERM, 1987.
- CHAOUAT G ed. The riddle of the fetal allograft. 5<sup>e</sup> Forum d'Immunologie. Annales Immunologie, Institut Pasteur. 135D, novembre-décembre 1984, n° 3, pp. 301-352.
- EDELMAN P, SUREAU C. Immunologie de la reproduction humaine. L'actualité en gynécologie-obstétrique. Editions Sandoz 1983.
- GILL TJ III, WEGMAN TG. Immunoregulation and fetal survival. Oxford University Press. New York, 1987.
- HOGARTH PJ. Immunological aspects of mammalian reproduction. Blacic and Son, 1982.

### Références

1. ALLEN WR, KYDD JH, ANTCZACK DF. Successful application of immunotherapy to a model of pregnancy failure in equids. *In*: DA Clark, BA Croy, Reproductive Immunology Elsevier 1986, 253-261.
2. ANDERSON GB. Interspecific pregnancies: barriers and prospects. *Biology of Reproduction* 1983, 38: 1-15.
3. ATHANASSAKIS I, BLEACKLEY RC, PAETKAU V et al. The immunostimulatory effects of T cells and T cells lymphokines on murine fetally derived placental cells. *J Immunol* 1987, 138: 37-43.
4. CHAOUAT G, LANKAR D, KOLB JP et al. Deux modèles d'avortements d'origine immunitaire chez la souris de laboratoire: mécanismes abortifs, modalités et mécanismes du traitement par l'immunisation contre un mâle relié ou non relié suivant les différences antigéniques père-mère. *Immunologie de la relation fœtomaternelle*. G Chaouat Ed. Editions INSERM-J. Libbey. Colloque INSERM 154. 1987, 243-254.
5. CHAOUAT G, MONNOT P. Systemic active suppression not necessary for successful allopregnancy. *Amer J Reprod Immunol*, 1983, 6: 5-8.
6. CLARK DA. Maternal immune response to the fetus. *EOS-Revista di Immunologia e Immunofarmacologia*, 1985, 2: 114-117.
7. GOLDBERG E, WHEAT R, POWELL JE et al. Reduction of fertility in femal baboons immunized with lactic dehydrogenase-C4. *Fertil Steril*, 1981, 35: 214-217.
8. KANBOUR A, HONG NERG HO, MISRA DN et al. Differential expression of MHC class I antigens on the placenta of the rat. A mechanism for the survival of the fetal allograft. *J Exp Med*, 1987, 166: 1861.
9. TOULET F, VOISIN GA, NEMIROVSKY M. Histological localization of three guinea pig spermatozoal autoantigens. *Immunology*, 1973, 24: 635-647.
10. VOISIN GA, CHAOUAT G. Demonstration, nature and properties of maternal antibodies fixed on the placenta and directed against paternal alloantigens. *J Reprod Fertil*, 1974, 21: 89-103.
11. ZUCKERMAN FA, HEAD JR. Murine trophoblast resist cell mediated lysis. I. Resistance to allospecific cytotoxic T lymphocytes. *J Immunol*, 1987, 139: 2856-2865.

A. Silim, M.-R. Rekik, R.S. Roy, H. Salmon, P.-P. Pastoret

## IMMUNITÉ CHEZ LE FŒTUS ET LE NOUVEAU-NÉ

La maturation du système immunitaire chez le fœtus et le nouveau-né est un phénomène particulièrement complexe. En effet elle se déroule dans un contexte particulier et doit tenir compte de plusieurs exigences, parfois contradictoires, et d'interactions variées :

- la construction d'un système immunitaire efficace qui permette progressivement à l'organisme de se défendre de manière autonome contre les agressions extérieures;
- les échanges immunologiques entre la mère et sa progéniture;
- chez les mammifères, la tolérance du fœtus par la mère au cours de la gestation;
- l'acquisition de la tolérance du jeune organisme à l'égard des antigènes du soi.

Ce chapitre ne traitera que des deux premiers aspects. Les mécanismes qui permettent à la mère de tolérer l'embryon sont en effet évoqués dans le chapitre 16, et la tolérance naturelle fait l'objet du chapitre 12.

En outre, l'ontogenèse du système immunitaire ne sera que brièvement abordée, car elle est décrite dans le chapitre 15. Enfin, les modalités

du développement propres à chaque espèce sont décrites dans la partie de l'ouvrage consacrée à l'immunologie comparée.

### IMMUNITÉ ACTIVE DU FŒTUS

L'acquisition de la compétence immune se fait progressivement dans toutes les espèces animales. En règle générale cependant, chez les mammifères, les espèces qui ont une courte période de gestation présentent à la naissance un système immunitaire plus immature que celui des espèces à longue durée de gestation.

Les cellules-souches du système hématopoïétique apparaissent au niveau du sac vitellin au tout début de la gestation. Elles produisent les cellules de toutes les lignées hématopoïétiques et en particulier les lymphocytes; elles migrent ensuite du sac vitellin vers le foie fœtal puis vers la moelle osseuse peu avant la naissance. C'est la moelle osseuse qui assumera ce rôle pendant toute la vie de l'animal.



Le thymus (voir chapitre 5) est le premier organe lymphoïde primaire qui se différencie. Il est constitué de deux lobes provenant de deux ébauches latérales ayant migré à partir des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> poches pharyngées. C'est lui qui est responsable de la maturation des lymphocytes T dans toutes les espèces. Chez les oiseaux, la bourse de Fabricius est le lieu de différenciation des lymphocytes B; il n'existe pas d'organe anatomiquement comparable chez les mammifères.

Les premières réponses immunes humorales sont limitées à la classe IgM puis assez rapidement IgM et IgG et enfin IgM, IgG et IgA. Les IgD sont comme chez l'adulte confinées à la surface des lymphocytes. Il n'y a pratiquement jamais d'anticorps circulants de classe IgD. Le fœtus étant en principe stérile, il ne contient pas de plasmocytes. La présence de ces cellules chez le fœtus ou le nouveau-né résulte toujours d'une infection fœtale.

Des études pratiquées chez la souris ont montré qu'en l'absence de toute influence extérieure, les lymphocytes B capables de répondre à diverses stimulations antigéniques apparaissent dans un ordre donné et immuable; l'acquisition du répertoire exprimé est donc sous contrôle génétique [6].

En règle générale, les réactions d'immunité à médiation cellulaire apparaissent relativement tôt en cours de gestation.

Le système phagocytaire subit également une évolution progressive; ainsi chez le fœtus de porc, les leucocytes périphériques sont capables de phagocyter des staphylocoques dès le 90<sup>e</sup> jour, mais ils n'acquièrent leur capacité bactéricide qu'au 100<sup>e</sup> jour de gestation.

La capacité de défense du fœtus à l'égard des infections va également évoluer en fonction de son âge; en règle générale cependant, les fœtus sont beaucoup plus sensibles que les animaux adultes à beaucoup d'infections. Ainsi certaines infections anodines pour l'adulte sont mortelles pour le fœtus et même le nouveau-né.

## TRANSMISSION DE L'IMMUNITÉ PASSIVE [1]

L'animal nouveau-né ou nouvellement éclos, qui provient d'un milieu protégé, est brusquement confronté au monde extérieur et à une grande

variété de micro-organismes ou de virus potentiellement pathogènes. Même si les nouveau-nés sont immunologiquement capables de répondre à ces agressions, leur réponse est de type primaire, caractérisée par une longue période de latence et une faible synthèse d'anticorps. Le nouveau-né a donc impérativement besoin d'un soutien immunitaire passif d'origine maternelle pour ne pas succomber aux infections.

La protection maternelle, quasi exclusivement humorale peut s'exercer au niveau général (systémique) ou local. Après la naissance, chez les Mammifères, la protection locale, au niveau de la lumière du tube digestif, est conférée par les sécrétions colostrales et lactées. Par contre, l'immunité passive systémique peut déjà être acquise avant la naissance (chez les primates et les lagomorphes), principalement après la naissance (chez les carnivores et les rongeurs) ou intégralement après la naissance (chez les ruminants, les équidés et les suidés) selon le type de placentation.

Quelles qu'en soient les modalités, la transmission de l'immunité maternelle fournit au jeune animal un taux d'anticorps circulants équivalent à celui de sa mère.

## MODES D'ACQUISITION DE L'IMMUNITÉ SYSTÉMIQUE PASSIVE D'ORIGINE MATERNELLE

Chez les animaux télolécithes comme les sauropsidés (reptiles et oiseaux) et les monotrèmes, qui sont les mammifères les plus primitifs, l'immunité passive est transmise par le vitellus. Les jeunes éclosent donc pourvus de leur réserve d'immunité maternelle.

Les métathériens (marsupiaux) inaugurent chez les mammifères l'œuf microlécithe et leurs nouveau-nés larvaires naissent dépourvus d'IgG. Immédiatement après la naissance, les nouveau-nés larvaires gagnent la poche marsupiale où ils poursuivent leur développement, appendus à la mamelle. Le lait des marsupiaux est riche en IgG2 mais contient aussi des IgA en faible quantité. Le nouveau-né sera ainsi protégé localement des infections intestinales.

Les mammifères euthériens, disposant d'un placenta qui autorise un plus long développement du fœtus in utero, ont élaboré différents systèmes pour le transfert des immunoglobulines maternelles. Plusieurs familles de mammifères euthé-

riens transfèrent les IgG maternelles in utero grâce à des récepteurs spécifiques des IgG situés soit au niveau du placenta (primates) soit au niveau de la vésicule ombilicale (rongeurs et lagomorphes).

Chez les primates, le jeune naît pourvu d'une protection systémique presque aussi élevée que celle de sa mère à en juger par la concentration de son sérum en IgG. La protection systémique étant assurée, le lait, riche en IgA, ne sera chargé de transmettre qu'une protection locale.

Chez les rongeurs, la concentration en IgG du sérum des nouveau-nés est inférieure à celle de la mère; les sécrétions mammaires assurent une protection locale et la poursuite du transfert de l'immunité systémique. Cependant, comme le lait n'est pas riche en IgG, le nouveau-né pallie cette déficience grâce à une perméabilité sélective de l'intestin qui se prolonge jusqu'au sevrage (21 jours chez le rat).

Chez d'autres Mammifères comme les artiodactyles, le transfert des IgG se fait uniquement grâce aux sécrétions mammaires en raison d'une imperméabilité du placenta à tout transfert d'immunoglobulines de la mère au fœtus. Ce transfert des immunoglobulines dans le sang du nouveau-né s'opère grâce à la perméabilité du tube digestif. Celle-ci n'est cependant que transitoire et brève (24 h), inconvénient compensé par la richesse du colostrum en IgG qui permet au nouveau-né, en un laps de temps très court d'acquérir un taux sérique comparable à celui de la mère. Des différences entre espèces subsistent cependant puisque l'intestin du veau est perméable à toutes les classes d'immunoglobulines, y compris les IgA sécrétoires du colostrum, alors que l'intestin du porcelet ne laisse filtrer que les IgG, les IgA sécrétoires restant fixées à la muqueuse digestive.

Après la période colostrale, le niveau maternel d'IgG sérique étant atteint par le jeune, la sécrétion lactée assure l'immunité locale à l'aide des IgA chez le porcelet et des IgA + IgG1 chez les polygastriques. Ainsi la situation des ruminants rappelle-t-elle celle des mammifères métathériens.

#### TYPES DE PLACENTATION ET TRANSFERT DE L'IMMUNITÉ SYSTÉMIQUE

Chez les primates, le placenta est de type hémochorial (Fig. 17-1); le sang maternel entre donc directement en contact avec les cellules

trophoblastiques. Ceci permet aux IgG maternelles de parvenir à la circulation sanguine du fœtus et de lui fournir, avant la naissance, un taux d'IgG comparable à celui de la mère. Le primate nouveau-né est donc avantagé car il acquiert la majeure partie de ses IgG spécifiques au travers du placenta et ne dépend donc pas pour son immunité systémique, de l'apport colostrale ultérieur. En outre, le fœtus est partiellement protégé, même pendant la gestation, d'infections transmises épigénétiquement. Le placenta hémochorial n'autorise cependant pas le transfert des IgA, IgM ou IgE au fœtus. La présence d'anticorps de classe IgM chez le nouveau-né de ces espèces témoigne donc de réponses primaires actives élaborées pendant la vie fœtale.

Les rongeurs possèdent un placenta de type hémendothélial et une seule couche tissulaire, l'endothélium capillaire, sépare la circulation fœtale de la circulation maternelle. Chez le rat, les IgG sont transportées au travers du placenta pendant la gestation et, après la naissance, au travers de l'intestin pendant les 3 premières semaines de lactation. Le lait des rongeurs est moins riche en IgG que le sérum, mais cette relative pauvreté est compensée par l'absorption sélective et prolongée des IgG au niveau de la partie proximale de l'intestin chez le nouveau-né.

Les IgA sécrétoires s'attachent à l'épithélium de surface et s'y maintiennent jusqu'à son remplacement. Ce n'est qu'à partir de la troisième semaine de la vie que le nouveau-né débute la synthèse des IgA dans la *lamina propria* de l'intestin ainsi que celle du composant sécrétoire pour produire ses propres IgA sécrétoires. Au sevrage donc (3 semaines), l'adhésion des IgA maternelles cesse en même temps que le raton devient capable de produire ses propres immunoglobulines locales.

Les carnivores comme le chien et le chat possèdent un placenta de type endothélial qui permet le passage d'une quantité limitée (environ 10 à 12 p. cent de la teneur finale) d'anticorps (IgG) de la mère au fœtus. La majeure partie des anticorps acquis (88 à 90 p. cent) est transmise par le biais du colostrum durant les premiers jours de la vie.

Le placenta des suidés et des équidés est de type épithéliochoiral; six couches de tissus sont interposées entre la circulation maternelle et fœtale; celui des ruminants ne comporte que 5 couches et est qualifié de desmochorial. Ces deux types de placentation ne permettent pas le passage transplacentaire de molécules d'immuno-

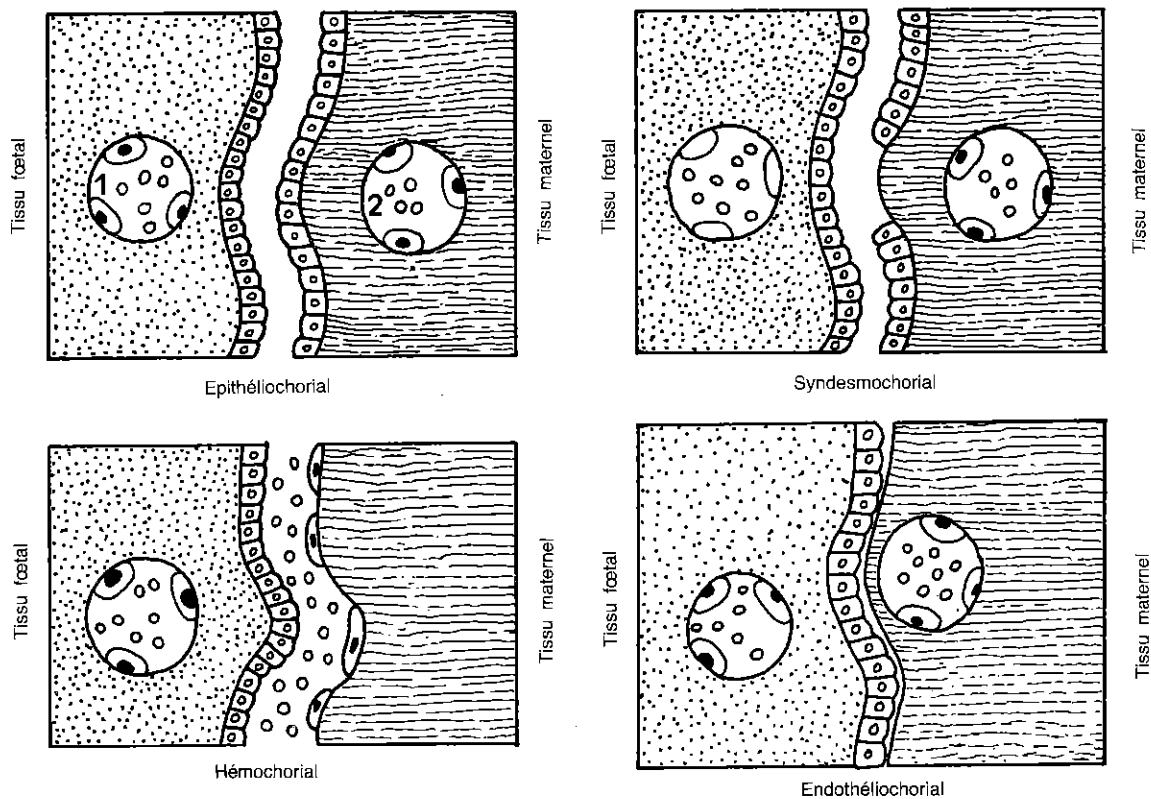


Figure 17-1 Types de placentation. 1 = vaisseau sanguin fœtal; 2 = vaisseau sanguin maternel.

globulines; ainsi les nouveau-nés de ces espèces sont-ils totalement dépourvus d'anticorps maternels avant la prise du premier colostrum. Dans ces espèces, la présence d'anticorps spécifiques avant l'ingestion du colostrum témoigne toujours d'une infection surmontée au cours de la vie fœtale.

### MÉCANISMES DE TRANSFERT DES IgG COLOSTRALES ET LACTÉES

Les mécanismes d'acquisition et de transfert des anticorps colostraux ont été particulièrement bien étudiés chez le rat, espèce nidicole. Comme cela a été mentionné précédemment, chez cette espèce, une partie des anticorps maternels est acquise pendant la gestation. Mais la majeure partie est fournie après la naissance par l'apport

prolongé de lait maternel. Le lait maternel constitue donc une source d'IgG qui se lie à un récepteur (FcRn) [4] des cellules épithéliales de l'intestin. Ce récepteur existe sous forme de monomères et de dimères. Par un processus appelé transcytose, les molécules d'IgG sont alors transportées au travers de l'épithélium intestinal et entrent dans la circulation. Les complexes résultant de la liaison entre le récepteur et l'immunoglobuline sont internalisés dans des dépressions de la membrane plasmique qui sont préférentiellement situées à la base des microvilli et sont recouvertes de clathrine à leur face interne. Le relargage à la surface basale pourrait impliquer la participation d'une seconde population de vésicules enrobées.

Le récepteur FcRn, comme les autres récepteurs des immunoglobulines, se lie à la région Fc formée par le deuxième et le troisième domaines constants des deux chaînes lourdes de l'IgG. Ce

rece  
dans  
(6,0  
lumi  
un  
prop  
imm  
sang  
cell  
lium  
nem  
jusq  
D  
FcR  
avec  
donc  
sem  
que  
du n  
rece  
pend  
pass  
U  
trans  
fœta  
trans  
est  
vitel  
A p  
reco  
poss  
prob  
rent  
bulin

Tabl  
diffé

Vach

Veau

Jume

Poull

Truie

Porc

récepteur possède cependant une propriété unique dans la mesure où il se lie à l'IgG à un pH acide (6,0), comme celui rencontré au niveau de la lumière intestinale, et libère l'immunoglobuline à un pH de 7,4 rencontré dans le sang. Cette propriété assure le transport unidirectionnel des immunoglobulines de la lumière intestinale vers le sang. Cette direction de transport est à l'opposé de celle suivie par le récepteur poly-Ig de l'épithélium intestinal chez l'adulte, qui permet le cheminement de l'IgA produite par les plasmocytes jusqu'à son excrétion dans la lumière intestinale.

Des études [5] ont montré que le récepteur FcRn présente d'étroites analogies de séquence avec les molécules du CMH de classe I. Il ferait donc partie de cette famille de molécules qui semble posséder d'autres fonctions biologiques, que la simple reconnaissance des lymphocytes T, du moins chez les mammifères. La synthèse de ce récepteur est transitoire et il n'est présent que pendant la période d'acquisition de l'immunité passive (3 semaines).

Un mécanisme similaire est responsable du transfert des immunoglobulines au cours de la vie fœtale chez les espèces où cette modalité de transfert existe. Ainsi chez les lagomorphes, l'IgG est transférée via la splanchnopleure du sac vitellin à partir du deuxième tiers de la gestation. A partir de cette période, la splanchnopleure est recouverte par des cellules endodermiques qui possèdent des récepteurs Fc pour les IgG et probablement pour les IgM. Ces récepteurs assurent le transfert intracellulaire des immunoglobulines.

## ORIGINE DES IMMUNOGLOBULINES DES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES

Chez les artiodactyles notamment, le colostrum est nettement plus riche que le sang en IgG (suidés) ou en IgG1 (ruminants) (Tableau 17-1). La totalité de ces immunoglobulines dérive du sang maternel. L'origine presque exclusivement sérique des IgG1 du colostrum chez les ruminants est attestée par l'observation d'une chute importante de la concentration en cette sous-classe d'immunoglobuline dans le sang maternel à partir de la deuxième semaine précédant la mise-bas chez la brebis (de 15 mg/ml à 6 mg/ml). Chez le veau et l'agneau, le processus de transfert passif débute par une concentration sélective des IgG1 dans le colostrum qui sera ingéré par le nouveau-né. Chez le porc et le cheval, la concentration d'Ig dans le colostrum à partir du sang n'est pas sélective.

La prééminence des IgG1 sur les IgG2 dans les sécrétions chez les ruminants s'explique par une filtration sélective. Les molécules d'IgG1 se fixent sur des récepteurs spécifiques situés au niveau de la membrane basale des cellules épithéliales des acini mammaires. Cette fixation est suivie d'un transport intracytoplasmique et d'une libération dans la lumière de l'organe.

Le niveau du transport est conditionné par la quantité de récepteurs spécifiques de l'IgG1; il atteint son apogée pendant la période de formation du colostrum et se poursuit à un degré moindre pendant la période de lactation. Les IgA et les

**Tableau 17-1** Concentration en mg/ml des différentes classes d'immunoglobulines dans le sang, le colostrum et le lait chez différentes espèces et dans le sérum de leur progéniture après la prise du colostrum.

		IgG	IgA	IgM
<i>Vache</i>	sérum	11 (IgG1)	8 (IgG2)	0,3
	colostrum	88 (IgG1)	2 (IgG2)	3
	lait	0,35 (IgG1)	0,06 (IgG2)	0,05
<i>Veau</i>	sérum	44 (IgG1)	1 (IgG2)	1,7
<i>Jument</i>	sérum	12 (IgG)	3 (IgGT)	2,0
	colostrum	24 (IgG)	8 (IgGT)	3,0
	lait	0,4 (IgG)		0,5
<i>Poulain</i>	sérum	13 (IgG)	2 (IgGT)	0,5
<i>Truie</i>	sérum	22		2
	colostrum	64		16
	lait	1,37		3,04
<i>Porcelet</i>	sérum	19		4

maternel  
lient à un  
séliales de  
forme de  
processus  
sont alors  
ntestinal et  
exes résul-  
l'immuno-  
pressions de  
férentielle-  
li et sont  
terne. Le  
mpliquer la  
lation de

récepteurs  
région Fc  
e domaines  
l'IgG. Ce

Tissu maternel

Tissu maternel

IgM sont également plus concentrées dans le colostrum que dans le sang (voir Tableau 17-I). Chez le porc, 80 p. cent des IgM et 40 p. cent des IgA sont d'origine sérique et, chez le bovin, 50 à 70 p. cent des IgM et 50 p. cent des IgA. Le reste provient d'une synthèse locale. Chez le bovin, les IgA sont associées aux globules graisseux : la crème de lait contient en effet 16 fois plus d'IgA que le petit-lait [3].

Les pourcentages respectifs des différentes classes d'immunoglobulines dans le colostrum se répartissent comme suit (voir Tableau 17-I) : chez le porc on trouve 75 p. cent d'IgG, 19 p. cent d'IgA, 5 p. cent d'IgM; chez le bovin 87 p. cent d'IgG1, 2 p. cent d'IgG2, 6 p. cent d'IgM et 5 p. cent d'IgA; chez la jument 65 p. cent d'IgG, 22 p. cent d'IgG (T), 8 p. cent d'IgA et 5 p. cent d'IgM. Il semble en outre exister, au moins chez le porc, un axe entéro-mammaire des plasmocytes à IgA. Bohl a observé en 1975 que la truie allaitante n'élaborait des IgA spécifiques du virus de la gastro-entérite transmissible du porcelet que si le stimulus antigénique avait été exercé au niveau intestinal. On a par la suite démontré chez les rongeurs que la majorité des plasmocytes à IgA rencontrés dans la mamelle dérivent de l'intestin.

Ces résultats apportent la preuve expérimentale de l'existence d'un lien immunologique entre l'intestin et la mamelle et permettent d'expliquer pourquoi les IgA des sécrétions lactées sont principalement spécifiques d'agents pathogènes rencontrés dans la lumière intestinale.

Les spécificités des autres immunoglobulines présentes dans le colostrum, comme les IgG1 chez les ruminants, correspondent strictement à celles de la mère et l'immunité systémique conférée à la progéniture ne permet pas dès lors de surmonter des infections par des agents pathogènes auxquels la mère n'a pas elle-même été exposée.

Chez la truie, les IgA constituent environ 19 p. cent des immunoglobulines colostrales alors que dans le lait elles représentent 60 p. cent des immunoglobulines. Cependant lors des premières 24 heures qui suivent la naissance, la teneur des sécrétions mammaires en IgA est trois fois plus élevée que durant le reste de la lactation.

Progressivement, la sécrétion mammaire évolue du colostrum vers le lait. Chez les espèces domestiques, cette évolution est d'autant plus rapide que la race a été sélectionnée pour la production laitière. Les ruminants se distinguent par le fait que le lait est particulièrement riche en IgG1. Au début de la vie cette immunoglobuline

est présente au niveau de l'ensemble du tractus digestif. L'IgA sécrétoire résiste mieux à la digestion enzymatique que les autres immunoglobulines et intervient de manière déterminante dans la protection du jeune vis-à-vis des infections entériques.

### TRANSMISSION ET ÉVOLUTION DES IMMUNOGLOBULINES DES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES

Des variations spécifiques sont observées dans la résorption intestinale des immunoglobulines (Fig. 17-2). Chez les primates, il n'y a presque aucun passage alors que l'intestin du porcelet nouveau-né absorbe non spécifiquement les différentes classes d'immunoglobulines à l'exception des IgA sécrétoires qui restent fixées à l'épithélium intestinal. Chez le veau nouveau-né, il n'y a apparemment aucune sélection : toutes les immunoglobulines ingérées, y compris les IgA sécrétoires, de même que d'autres protéines traversent l'épithélium intestinal. Celles-ci ne subsistent cependant pas plus de deux jours dans la circulation car elles sont éliminées par un processus de transsudation inverse au niveau des épithéliums sécrétoires.

Chez les rongeurs l'absorption se fait grâce aux récepteurs des IgG dans la région proximale de l'intestin, là où l'activité lysosomiale des cellules est la moins développée. Chez les ruminants, le cheval et le porc l'absorption des immunoglobulines est maximale durant les premières heures qui suivent la naissance puis décline rapidement, probablement du fait de l'activité lysosomiale des cellules épithéliales. Absente à la naissance, cette activité augmente progressivement ce qui entraîne la digestion enzymatique des immunoglobulines dont l'absorption cesse après 24 heures chez le bovin et le cheval, et 36 heures chez le porc; l'épithélium intestinal du nouveau-né prend les caractères de celui de l'adulte dès qu'il a été renouvelé. Grâce à ce transfert passif d'immunoglobulines, le veau par exemple atteint une concentration sérique maximale en anticorps dès la 24<sup>e</sup> heure.

Le taux d'anticorps maternels diminue ensuite graduellement à une vitesse qui dépend de la demi-vie des anticorps dans l'espèce considérée et de la vitesse de croissance de celle-ci. C'est ainsi que les taux d'anticorps maternels atteignent en

Fig  
nogl

mo  
30  
mo  
che  
dur  
mè  
que  
imp  
bul  
de  
de  
Co  
res  
me  
ant  
(  
nog  
sen  
ren  
me  
de  
nel  
nit  
l'é  
rés

du tractus  
eux à la  
munoglo-  
nante dans  
infections

vées dans  
globulines  
a presque  
porcelet  
les diffé-  
exception  
l'épithé-  
é, il n'y a  
es immu-  
gA secré-  
traversent  
subsistent  
a circula-  
cessus de  
pithéliums

grâce aux  
ximale de  
s cellules  
inants, le  
munoglo-  
es heures  
oidement,  
miale des  
nce, cette  
i entraîne  
globulines  
s chez le  
le porc;  
prend les  
il a été  
'immuno-  
ceint une  
corps dès

ne ensuite  
nd de la  
sidérée et  
est ainsi  
ignent en

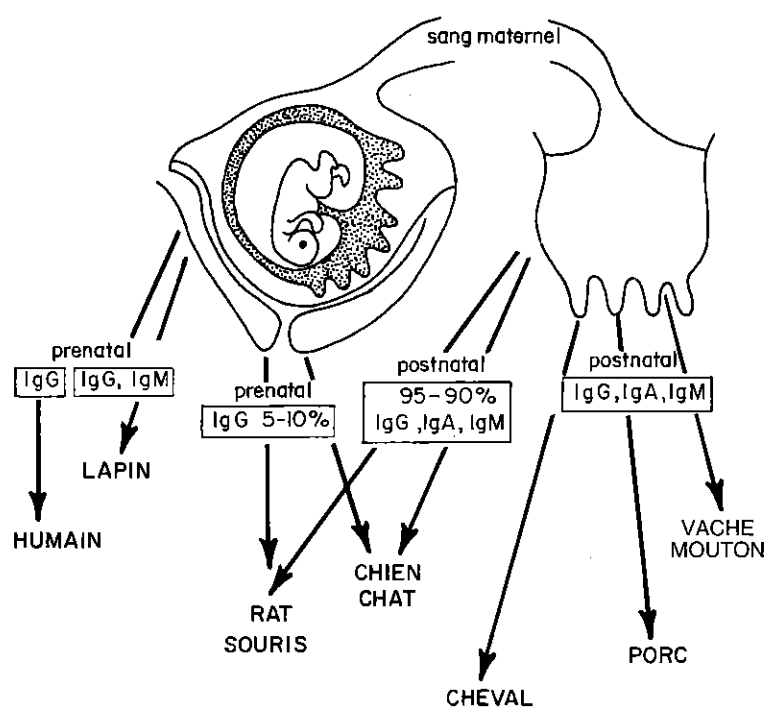


Figure 17-2 Transfert passif d'immunoglobulines chez les mammifères.

moyenne 1 à 3 p. cent de leur valeur initiale : en 30 jours chez le chien; en 40 jours chez le mouton; en 60 jours chez le porc; en 100 jours chez le bovin et en 115 jours chez le cheval. La durée de la protection conférée varie donc dans les mêmes proportions mais sera d'autant plus longue que la quantité d'immunoglobulines est plus importante au départ. La quantité d'immunoglobulines transférée dépend elle-même de la quantité de colostrum ingérée, du moment de l'ingestion et de la richesse en immunoglobulines du colostrum. Comme mentionné précédemment, les quantités respectives d'anticorps spécifiques sont extrêmement variables et dépendront des stimulations antigéniques subies par la mère.

Chez les espèces pluripares, les taux d'immunoglobulines acquises passivement peuvent présenter une grande hétérogénéité entre les différents membres d'une même portée, principalement parce qu'ils ingèrent des quantités variables de colostrum.

En outre, l'immunité passive d'origine maternelle peut contrarier l'établissement d'une immunité active par le jeune animal, notamment à l'égard d'agents pathogènes. Cette inhibition peut résulter de l'élimination de l'antigène (par

exemple le blocage de la multiplication virale) et d'un contrôle rétroactif négatif de la synthèse des anticorps exercé par les IgG.

#### AUTRES FACTEURS TRANSMIS PAR LES SÉCRÉTIONS MAMMAIRES

D'autres facteurs solubles que les immunoglobulines, intervenant dans la défense immunitaire, sont également transmis au nouveau-né par les sécrétions mammaires et contribuent à sa protection systémique ou locale. Le colostrum et le lait contiennent notamment de nombreuses cellules du système immunitaire. Ainsi, le colostrum humain contient au moins  $10^6$  cellules/ml dont 70 à 80 p. cent de macrophages et environ 10 p. cent de lymphocytes. Parmi ces derniers figurent pour moitié des lymphocytes T et pour le tiers des lymphocytes B dont la moitié à IgA.

Chez le bovin, chaque millilitre de colostrum contient  $2-3 \times 10^6$  cellules appartenant au système immunitaire. Une fois ingérés par le nouveau-né, ces lymphocytes pourraient traverser la paroi intestinale et se loger dans les organes

lymphoïdes périphériques. Ils ne doivent cependant jouer qu'un rôle très mineur dans la protection.

## IMMUNITÉ EN PÉRIODE NÉONATALE

L'immunité passive du nouveau-né lui permet de surmonter les premiers écueils de l'existence; l'immunité active va progressivement prendre le relais et rendre l'individu autonome. Les capacités de réponse immune active du nouveau-né sont cependant au départ moins développées que celles de l'adulte et partiellement contrecarrées par les anticorps acquis passivement. Par exemple, à la naissance, le nombre de lymphocytes B circulants correspond au tiers de celui des adultes. Les

particularités du développement immun des différentes espèces seront envisagées dans la partie de l'ouvrage consacrée à l'immunologie comparée.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BRAMBELL FWR. The transmission of passive immunity from mother to young. Editors, A Neuberger, El Tatum and EJ Holborow. *Frontiers of Biology*, vol. 18, North Holland Publ. Amsterdam and London, 1970.
2. GREISOW M. Pathways of endocytosis. *Nature*, 1980, 288 : 434-436.
3. HONKANEN-BUZALSKI T, SANDHOLM M. Association of bovine secretory immunoglobulins with milk fat globule membranes. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 1981, 4 : 329-342.
4. PARHAM P. MHC meets mother's milk. *Nature*, 1989, 337 : 118-119.
5. SIMISTER NE, MOSTOU KE. An Fc receptor structurally related to MHC class I antigens. *Nature*, 1989, 337 : 184-187.
6. TEALE JM. B cell immune repertoire diversities in a predictable temporal order in vitro. *J Immunology*, 1985, 135 : 954-958.

F. Homo-Delarche

# IMMUNOLOGIE DU VIEILLISSEMENT

Le vieillissement est caractérisé par une diminution des facultés d'adaptation de l'organisme aux agressions du milieu, et donc, par une plus grande difficulté à maintenir l'homéostasie. Compte tenu de la sensibilité des sujets âgés aux infections, le système immunitaire, qui constitue l'un des mécanismes physiologiques de régulation de l'homéostasie, apparaît comme l'un des plus vulnérables. Des données à la fois épidémiologiques et expérimentales montrent que le vieillissement entraîne des altérations profondes du système immunitaire mais, le plus souvent, celles-ci sont insuffisantes pour donner lieu à des signes cliniques patents. Néanmoins, les sujets âgés sont plus sensibles à certaines infections que l'ensemble de la population. Par exemple, la tuberculose est plus fréquente après 70 ans. Les infections bactériennes, en particulier pulmonaires, sont aussi plus fréquentes et plus graves que chez l'adulte jeune. Les réponses aux vaccinations sont généralement anormalement basses, mais une certaine variabilité existe en fonction de l'individu et du vaccin. C'est ainsi que de

nombreuses personnes âgées, après injection du vaccin contre la grippe ou l'hépatite B, présentent une réponse immune insuffisante pour les protéger, ce qui est exceptionnel chez l'adulte jeune bien portant. D'autres manifestations cliniques plus graves sont probablement liées au vieillissement du système immunitaire, comme le suggèrent l'incidence accrue des tumeurs avec l'âge, l'apparition plus fréquente des phénomènes auto-immuns et dégénératifs. Les autoanticorps, fréquemment retrouvés chez les sujets âgés, ne provoquent d'habitude pas de maladie auto-immune, mais peuvent contribuer à l'athérosclérose par dépôts de complexes immuns. De fait, on note, avec une fréquence anormale, la présence de complexes immuns circulants chez le sujet âgé. Enfin, il existe des corrélations significatives entre le risque de décès et l'existence d'anomalies immunologiques liées à la sénescence, telles la présence d'autoanticorps, des anomalies des cellules T ou la diminution des réactions d'hyper-sensibilité retardée.

Depuis une vingtaine d'années, de nombreux



travaux ont été consacrés à l'étude des fonctions immunes chez l'homme et l'animal âgés. Plus récemment, du fait de facteurs spécifiquement démographiques, cet axe de recherche est devenu un impératif médical et social, en vue de développer des stratégies thérapeutiques susceptibles de renforcer les défenses immunes au cours de la sénescence.

## MODIFICATIONS DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE

La majorité des travaux effectués chez l'homme et chez l'animal montrent que le déclin des fonctions immunes lié au vieillissement repose, en grande partie, sur un déficit des lymphocytes T, dont la cause peut relever de l'involution du thymus.

### ALTÉRATIONS MORPHOLOGIQUES ET FONCTIONNELLES DU THYMUS

Chez la souris, le poids du thymus augmente rapidement après la naissance, atteignant son maximum à la puberté, puis diminue progressivement avec l'âge. Cette involution porte d'abord sur le cortex thymique, puis sur la partie médullaire. Parallèlement, on note des altérations morphologiques des cellules épithéliales, une infiltration du thymus par des macrophages, des plasmocytes et des mastocytes. Chez l'homme, l'involution thymique débute au cours de la deuxième décennie, mais le thymus ne disparaît pas complètement : chez le sujet âgé, on retrouve des îlots de parenchyme thymique, pauvre en thymocytes, au sein du tissu adipeux qui a envahi l'organe.

Le vieillissement affecte la production de différentes substances synthétisées par les cellules épithéliales du thymus et, en particulier, les hormones thymiques. Parmi ces hormones, plusieurs polypeptides capables d'induire la différenciation des lymphocytes T ont été caractérisés : la thymopoïétine, la thymosine  $\alpha_1$  et la thymuline (un nonapeptide contenant du zinc, autrefois appelé facteur thymique sérique ou FTS). Chez l'homme, les taux sériques de thymuline sont stables jusqu'à 15-20 ans, puis décroissent pour n'être plus décelables au-delà de 60 ans. Des

observations comparables ont été faites pour la thymopoïétine et la thymosine  $\alpha_1$ . La chute du taux de thymuline se retrouve aussi au cours du vieillissement chez la souris et suit l'évolution du poids du thymus. Ceci correspond à une baisse de synthèse de la thymuline, puisque le nombre de cellules épithéliales thymiques productrices, évalué par immunofluorescence indirecte au moyen d'anticorps monoclonaux spécifiques, diminue parallèlement aux concentrations sanguines de l'hormone. Le rôle de l'insuffisance hormonale thymique dans le déficit immunitaire lié à la sénescence est difficile à évaluer. Néanmoins, la thymectomie effectuée à la naissance ou à l'âge adulte accélère l'apparition des effets immunologiques du vieillissement. De plus, l'existence d'anomalies de l'hormone thymique a été notée dans la trisomie 21, maladie qui se caractérise par un vieillissement accéléré.

L'hypothèse selon laquelle le thymus représente l'un des organes « horloge » contrôlant le vieillissement a été suggérée par de nombreux auteurs. Cependant, la faiblesse de cette théorie réside dans la sensibilité du thymus à différents facteurs environnementaux, tels la régulation neuroendocrinienne, les régimes diététiques et les infections. De fait, l'axe hypothalamo-hypophysaire représente l'un des principaux mécanismes régulant la fonction thymique. Par exemple, la souris Dwarf se caractérise par une involution prématurée du thymus et des fonctions thymiques, qui peut être corrigée par l'administration d'hormone de croissance ou de thyroxine. Des expériences plus récentes confirment l'hypothèse selon laquelle le déclin de la régulation neuroendocrinienne, lié au vieillissement, contribue à l'involution thymique. Ainsi, chez le rongeur âgé, différents traitements hormonaux sont capables de restaurer l'histologie ou la fonction endocrine du thymus, comme l'administration de thyroxine, d'agonistes du LH-RH (luteotrope hormone-releasing hormone) ou la greffe de cellules tumorales sécrétant de l'hormone de croissance.

### ALTÉRATIONS DES LYMPHOCYTES T ET DES CELLULES TUEUSES NATURELLES

Il est généralement admis qu'in vivo l'immunité à médiation cellulaire de type T est diminuée au cours de la sénescence. Néanmoins, il faut noter l'existence d'un certain nombre de résultats contradictoires, aussi bien chez l'homme que chez

l'anim  
la soi  
(perte  
intrad  
coura  
réacti  
au co  
prima  
expér  
des  
étaier  
greff  
tumo  
In  
évide  
tion  
à des  
allog  
l'ani  
En  
ou le  
résis  
des  
chez  
l'hor  
l'act  
D  
de l  
au c  
—  
sus  
T, e  
cell  
cyt  
—  
C  
pho  
selc  
p. d  
mo  
cell  
des  
Che  
ten  
san  
—  
mo  
âgé  
aug  
n'é  
CD

l'animal. On a ainsi pu mettre en évidence, après la soixantaine, la fréquence élevée des anergies (perte de l'hypersensibilité retardée cutanée après intradermoréaction avec une série d'antigènes courants). Une diminution encore plus nette des réactions d'hypersensibilité retardée est retrouvée, au cours de la sénescence, lors d'une réaction primaire induite par le dinitrochlorobenzène. Des expériences ont montré qu'*in vivo* chez la souris, des réactions dépendantes des lymphocytes T étaient abaissées, telles la réaction de rejet du greffon contre l'hôte et la résistance à des cellules tumorales syngéniques ou allogéniques.

*In vitro*, la plupart des expériences ont mis en évidence, au cours du vieillissement, une diminution de la réponse proliférative des lymphocytes T à des mitogènes non spécifiques ou à des cellules allogéniques, aussi bien chez l'homme que chez l'animal.

En ce qui concerne les cellules T cytotoxiques ou les cellules NK, dont on connaît le rôle dans la résistance aux cellules tumorales ou infectées par des virus, on note une diminution de leur activité chez l'animal sénéscent. En revanche, chez l'homme, des résultats contradictoires relatifs à l'activité des cellules NK ont été obtenus.

Différents mécanismes peuvent rendre compte de la diminution de l'activité des lymphocytes T au cours de la sénescence :

- une réduction du nombre des cellules susceptibles de répondre;
- un déséquilibre dans le rapport des cellules T, effectrices et régulatrices;
- un défaut qualitatif de la réponse des cellules T et/ou une altération de la production des cytokines;
- enfin, plusieurs de ces situations associées.

Chez l'homme, le nombre absolu de lymphocytes, incluant les lymphocytes T et B est, selon les auteurs, normal ou diminué d'environ 15 p. cent. L'utilisation d'anticorps monoclonaux montre que cette baisse reflète une réduction des cellules T, tandis que le nombre de cellules B et des macrophages n'est pas sensiblement modifié. Chez la souris, le nombre de cellules Thy-1<sup>+</sup> a tendance à diminuer avec l'âge dans le thymus, le sang, la rate et les ganglions.

L'étude des sous-populations cellulaires au moyen d'anticorps monoclonaux chez des sujets âgés et en bonne santé a mis en évidence une nette augmentation des cellules nulles (définies comme n'étant ni B, ni T, ni monocytaires, mais CD16<sup>+</sup>Leu7<sup>+</sup>). D'autre part, on retrouve aussi

chez l'homme que chez l'animal, une élévation du nombre de cellules T immatures. En ce qui concerne les cellules T auxiliaires et suppressives/cytotoxiques, des résultats contradictoires ont tout d'abord été obtenus chez l'homme. Cependant, des études plus récentes montrent que ces deux sous-populations diminuent de manière parallèle avec l'âge. La divergence des résultats tenait essentiellement aux méthodologies employées : la sélection des patients ou la souche de souris utilisée. Parmi les anomalies les plus fréquemment rencontrées au cours du vieillissement, il faut noter la baisse de production d'interleukine 2 (IL-2), éventuellement associée à une diminution des récepteurs de l'IL-2, ou à une diminution de la fréquence des cellules qui les expriment. Dans l'ensemble, on trouve généralement une dépression de la fonction T auxiliaire (peut-être liée au déficit de la synthèse d'IL-2 ou à la réduction de l'expression des récepteurs de l'IL-2) ou une activité excessive des cellules T suppressives. Une relation de cause à effet peut d'ailleurs exister entre ces deux anomalies. En effet, il faut distinguer différents types de cellules suppressives : des cellules suppressives non spécifiques d'antigène, regroupant différents types de populations cellulaires et, en particulier, les monocytes et les macrophages, et les cellules suppressives spécifiques d'antigène. Les données en faveur d'une activité suppressive non spécifique d'antigène au cours du vieillissement semblent les plus nombreuses. A titre d'exemple, les monocytes et les macrophages produisent des dérivés du métabolisme de l'acide arachidonique, les prostaglandines, qui inhibent la réponse des lymphocytes T aux mitogènes. La levée de cette inhibition est obtenue par un inhibiteur de la cyclo-oxygénase, l'indométacine. Au cours de la sénescence, on note, chez la souris, une augmentation de la production de prostaglandines par les macrophages et, chez l'homme, une augmentation de la sensibilité des lymphocytes aux prostaglandines et en particulier à la PGE<sub>2</sub>. La PGE<sub>2</sub> peut agir à plusieurs niveaux : en inhibant la production d'IL-1, d'IL-2, l'expression des récepteurs de l'IL-2 et en stimulant l'activité des cellules T suppressives.

La production d'autres lymphokines peut être diminuée au cours du vieillissement, telle celle de l'interféron  $\gamma$ , qui joue un rôle dans la résistance aux infections virales. D'autre part, un certain nombre d'anomalies de la cellule T ont été décrites, tant en ce qui concerne des antigènes de surface, des récepteurs hormonaux, des propriétés

membranaires, des activités enzymatiques ou enfin des altérations qualitatives ou fonctionnelles au niveau du noyau.

## MODIFICATIONS DE L'IMMUNITÉ HUMORALE

S'il existe de profondes modifications de l'immunité cellulaire au cours du vieillissement, il existe parallèlement une diminution de la réponse humorale, même si, a priori, les fonctions des lymphocytes B semblent moins (ou moins rapidement) affectées que celles des lymphocytes T.

### ALTÉRATIONS DES COMPOSANTES HUMORALES ET DE LA RÉPONSE ANTICORPS

La concentration sérique des immunoglobulines ne varie pas en fonction de l'âge, mais la distribution des différentes classes d'immunoglobulines change. D'une manière générale, les taux des IgG et des IgA augmentent avec l'âge, alors que les concentrations sériques d'IgM sont normales ou abaissées. Si les taux circulants des allo- et xénoanticorps naturels sont diminués, en revanche la fréquence des autoanticorps dans le sérum des sujets apparemment sains s'accroît nettement avec l'âge, surtout chez la femme.

Enfin, des complexes immuns circulants, de même que des immunoglobulines monoclonales, sans néoplasie apparente de type B, sont fréquemment rencontrés chez des sujets âgés.

La plupart des réponses primaire et secondaire sont diminuées au cours de la sénescence, tant chez l'homme que chez l'animal. Par exemple, la réponse en anticorps contre le virus de l'hépatite B est abaissée chez les personnes âgées de même que celle obtenue après vaccination antigrippale ou antitétanique. Des réponses insuffisantes aux polysaccharides du pneumocoque ainsi qu'à *S. pneumoniae* ont aussi été notées au cours du vieillissement. Chez la souris, de nombreux travaux ont mis en évidence, tant in vivo qu'in vitro, une diminution de la production d'anticorps contre de nombreux antigènes. Il existe donc, à la fois chez l'animal et chez l'homme, une diminution de la réponse humorale à de nombreux

antigènes, qu'ils soient thymo-dépendants ou thymo-indépendants. Néanmoins, la diminution de la réponse humorale aux antigènes thymo-dépendants est plus évidente. On a observé une production élevée d'autoanticorps anti-idiotype chez l'animal âgé, en relation avec les réponses thymo-dépendantes et indépendantes.

Le nombre de lymphocytes B circulants semble relativement stable ou diminue légèrement avec l'âge chez l'homme. Chez la souris, la réponse proliférative des cellules B aux lipopolysaccharides varie selon les souches utilisées, tandis que chez l'homme, aucune modification n'est généralement mentionnée au cours du vieillissement.

Les mécanismes sous-jacents à la baisse de l'immunité humorale observée au cours de la sénescence sont extrêmement complexes. Un défaut de régulation des cellules T a tout d'abord été invoqué, reflété par une diminution de l'effet auxiliaire et/ou une augmentation de l'activité suppressive des lymphocytes T. Une anomalie des lymphocytes B n'est pas non plus exclue. Ainsi, il existe non seulement un défaut de régulation lié au récepteur du fragment Fc des immunoglobulines, mais aussi une diminution du nombre des différents antigènes de membrane des lymphocytes B au cours du vieillissement. Finalement, il est difficile de faire la part entre un défaut intrinsèque des cellules B et une anomalie de la régulation des cellules T, qui peuvent en fait coexister. En effet, il a été suggéré que, chez la souris âgée, les lymphocytes T, de par leur interaction tout au long de la vie avec les antigènes environnementaux, avaient acquis la capacité de reconnaître les idiotypes exprimés sur les cellules B du même organisme. Cette reconnaissance, conduisant à la production d'autoanticorps anti-idiotype, entraînerait une rétro-inhibition de la réponse des lymphocytes B.

### MODIFICATIONS DES CELLULES SOUCHES HÉMATOPOÏÉTIQUES

Dans la mesure où les lymphocytes B et T sont le résultat de la prolifération et de la différenciation des cellules souches hématopoïétiques, il semblait important de déterminer si les anomalies immunologiques observées au cours du vieillisse-

ment reflétaient des altérations du nombre, de la fonction ou du micro-environnement de ces cellules souches.

Le nombre absolu de cellules capables de former des colonies n'est pas modifié avec l'âge, ni l'aptitude des cellules-souches d'un animal âgé à recoloniser un animal receveur.

Les cellules hématopoïétiques provenant d'animaux âgés sont moins efficaces pour recoloniser le thymus ou le compartiment lymphocytaire T de la rate que des cellules souches provenant d'animaux jeunes. Des anomalies des précurseurs des cellules T semblent exister au cours de la sénescence et il faut rappeler ici l'augmentation du nombre des cellules nulles. Enfin, s'il existe des anomalies intrinsèques, il convient de noter aussi que l'environnement médullaire de l'animal sénéscent n'est pas sans jouer un rôle.

En ce qui concerne les bases cellulaires et moléculaires des anomalies des cellules hématopoïétiques observées avec l'âge, il semble que le thymus ou les lymphocytes soient impliqués, par l'intermédiaire de la production de certaines cytokines. En effet, il a été montré au cours du vieillissement une diminution de la production d'interleukine 3 (ou multi-CSF), impliquée dans la maturation de plusieurs lignées cellulaires hématopoïétiques.

## DÉCLIN DES FONCTIONS IMMUNITAIRES DÛ À L'ÂGE ET POSSIBILITÉS THÉRAPEUTIQUES

La sénescence s'accompagne d'anomalies immunologiques complexes. Si de grands progrès ont été accomplis dans la description de ces anomalies, le mécanisme n'est pas univoque. Un certain nombre de travaux ont tenté de retarder

l'apparition, de diminuer l'incidence et même de conduire à la restauration des fonctions immunes déficientes chez l'animal vieillissant. Ceci dans l'espoir qu'une stimulation, plus ou moins spécifique, du système immunitaire diminuerait notamment l'incidence des infections et des cancers chez le sujet âgé. Les différentes approches thérapeutiques ont consisté en des méthodes aussi variées que des greffes d'organes lymphoïdes ou l'injection de cellules du système immuno-hématopoïétique chez l'animal, des régimes diététiques (portant sur les protéides, les lipides, certaines vitamines et oligo-éléments), l'administration chez l'animal et chez l'homme d'hormones thymiques, de cytokines comme l'IL-2, d'immunomodulateurs, voire d'inhibiteurs de la cyclo-oxygénase. Certains des résultats obtenus chez l'animal sont encourageants, de même que chez l'homme avec la thymosine  $\alpha_1$ . Néanmoins, l'administration de ces différents agents à l'homme doit être abordée avec prudence et nécessite la connaissance de la sélectivité d'action de ces substances, sous peine de stimuler certaines fonctions du système immunitaire, telles les cellules auxiliaires, susceptibles d'aggraver certaines manifestations.

## BIBLIOGRAPHIE

- DELAFUENTE JC. Immunosenescence. Clinical and Pharmacological considerations. *Med Clin North Am*, 1985, 69 : 475-486.
- MAKINODAN T, KAY MMB. Age influence on the immune system. *Adv Immunol*, 1980, 29 : 287-330.
- MAKINODAN T, LUBINSKI J, FONG TC. Cellular, biochemical and molecular basis of T cell senescence. *Arch Pathol Lab Med*, 1987, 111 : 910-914.
- SALTZMAN RL, PETERSEN PK. Immunodeficiency in the elderly. *Rev Infect Diseases*, 1987, 9 : 1127-1139.
- WADE AW, SZEWCZUK MR. Aging, idiotype repertoire shifts and compartmentalization of the mucosal-associated lymphoid system. *Adv Immunol*, 1984, 36 : 143-188.
- ZATZ MA, GOLDSTEIN AL. Thymosins, lymphokines and the immunology of aging. *Gerontology*, 1985, 31 : 263-277.

P.-H. Lagrange

## **PROTECTION IMMUNE SPÉCIFIQUE ET NON SPÉCIFIQUE**

La capacité de survie d'un individu immuno-compétent, au sein d'un environnement microbien polymorphe, provient du développement harmonieux et de la parfaite fonction des mécanismes non spécifiques et spécifiques de défense. Dans des conditions normales, seuls quelques microbes, parasites ou virus, du fait de leurs facteurs de pathogénicité, sont capables de circonvenir ces mécanismes et d'entraîner, après un contact infectieux réussi (par l'agent infectieux ou infestant), l'apparition de désordres cellulaires et métaboliques, signes patents de la maladie infectieuse. Si dans certaines circonstances, l'expression de ces désordres peut être liée directement soit à la production d'un métabolite microbien (c'est en général le cas pour les toxines bactériennes protéiques : diphtérie, tétanos, botulisme), soit à la destruction cellulaire par action cytopathogène d'un virus (poliomyélite, hépatite, etc.), dans de nombreuses circonstances, les désordres pathologiques sont la résultante des réactions de l'hôte aux produits ou aux structures des micro-organismes. Ces réactions font intervenir les systèmes

non spécifiques et spécifiques de la défense, au centre desquels se situe la réaction inflammatoire induite non spécifiquement ou spécifiquement par l'intermédiaire des effecteurs de l'immunité (anticorps et cellules lymphoïdes thymo-dépendantes). Une représentation schématique et simplifiée est donnée à la figure 19-1. A partir de ce schéma, on peut alors redéfinir un agent pathogène suivant les critères de Koch, comme un micro-organisme (MO) ou un virus qui, étant responsable d'une pathologie patente ou latente, a franchi avec succès les différentes barrières de protection naturelle, lui permettant de s'implanter et de se multiplier chez un hôte normal. De l'importance de l'inoculum initial, de la rapidité avec laquelle peuvent se mettre en place les mécanismes de la réponse immune spécifique, de la présence ou non des facteurs microbiens permettant d'y échapper, va alors dépendre l'issue du conflit entre le micro-organisme et l'hôte. Pour plus de clarté et par argument de fréquence, nous envisageons ici l'infection bactérienne avant l'ère des antibiotiques. Suivant les pathologies considérées, seuls

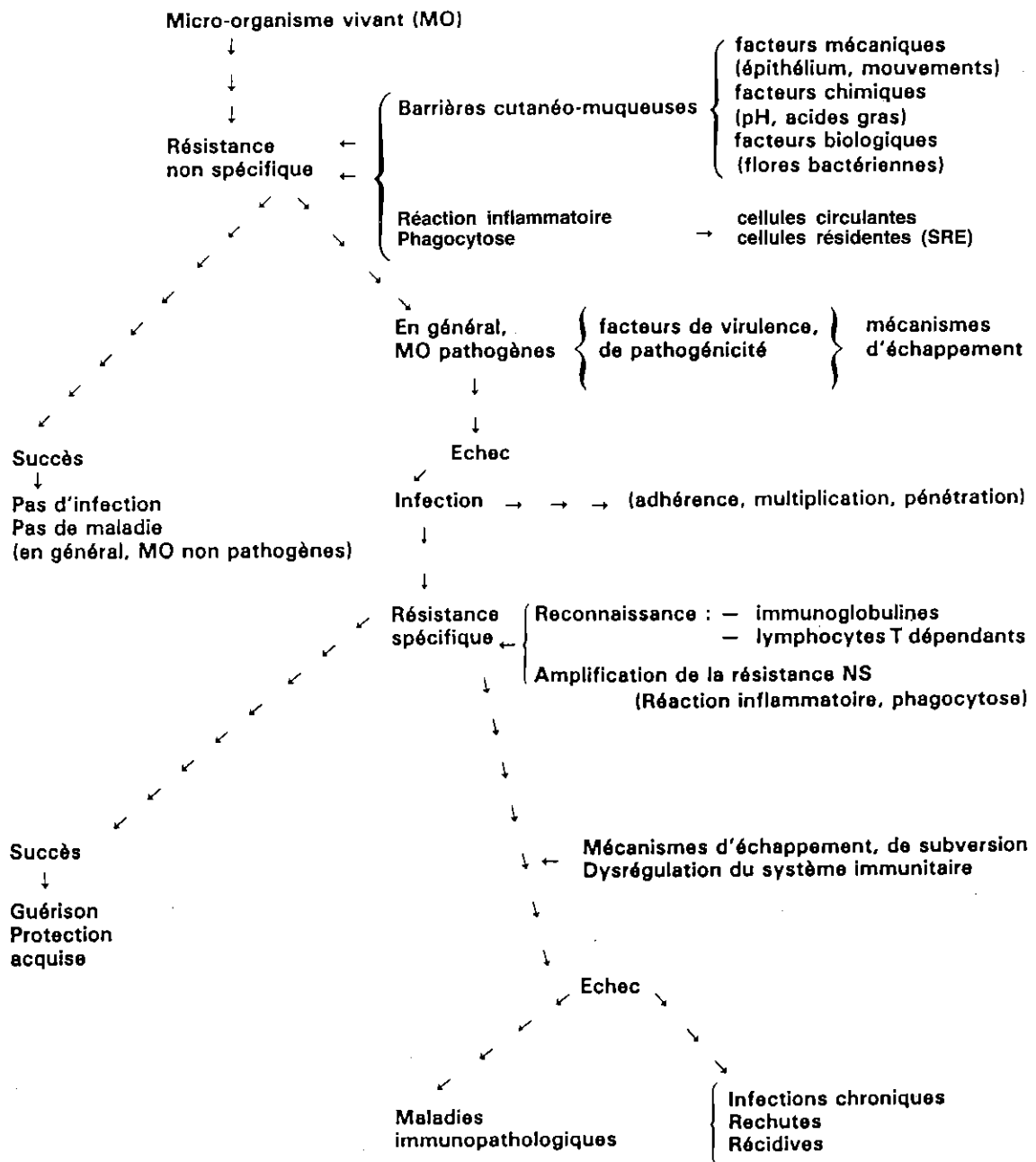


Figure 19-1 Représentation schématique des événements qui suivent un contact avec un micro-organisme. (Prospective et Santé, D. Michel Salomon, n° 42 (1987) p. 102).

une minorité d'individus étaient capables de sortir victorieux de ce combat. Grâce aux mesures préventives (hygiène et vaccination) et curatives, le conflit évolue actuellement vers le succès de

l'hôte dans la très grande majorité des cas. Mais que, pour des raisons intrinsèques ou extrinsèques, les mécanismes spécifiques ou non spécifiques de l'hôte soient altérés, les chances de

succès sont alors totalement ou partiellement annihilées, aboutissant aux récidives et aux rechutes malgré l'utilisation correcte de l'antibiothérapie, et même à la mort.

Parallèlement, alors que dans les conditions normales seules des bactéries pathogènes, dites conventionnelles, sont capables d'entraîner une pathologie infectieuse, dans les situations d'immuno-incompétence, qu'elles soient spontanées (déficits congénitaux de la production des immunoglobulines, de la différenciation des lymphocytes T, des polynucléaires, des protéines du complément) ou qu'elles soient acquises (affections malignes ou infectieuses), d'autres bactéries vont pouvoir entraîner l'apparition d'infections parfois létales. Ces bactéries sont alors appelées agents pathogènes opportunistes. Il s'agit en général de bactéries commensales des flores microbiennes, qui normalement sont tenues en respect par le système immunitaire non spécifique. Ainsi la définition d'un agent pathogène conventionnel doit-elle passer obligatoirement par l'analyse et la connaissance des facteurs de défense qu'il doit subvertir afin de s'établir chez l'hôte normal [1]. La définition des agents non pathogènes s'établissant ainsi en miroir, ce sont ceux qui sont maintenus en respect par ces mécanismes de défense. Il est donc important, d'une part de bien connaître les mécanismes de défense d'un individu normal et, d'autre part, de classer les pathogènes en fonction des différents facteurs et étapes qui leur permettent d'échapper aux mécanismes de défense [5].

Les mécanismes de la défense antimicrobienne sont nombreux, diversifiés, complexes et très souvent interdépendants. Ils font intervenir à la fois des éléments non spécifiques cellulaires et humoraux, c'est-à-dire intervenant quel que soit le micro-organisme en cause, ou spécifiques c'est-à-dire capables de reconnaître des antigènes de l'agent pathogène. Ces mécanismes interviennent quel que soit l'agent pathogène infectant et peuvent être mis en évidence au décours de la plupart des infections chez l'hôte possédant un système immunitaire normal.

## IMMUNITÉ HUMORALE

La protection immune dite humorale est le fait d'anticorps dits protecteurs, c'est-à-dire capables d'entraîner une résistance acquise après leur

transfert passif chez un hôte « naïf » infecté expérimentalement. Par extension, certains d'entre eux ont été appelés anticorps neutralisants lorsqu'ils sont capables de neutraliser l'action d'une toxine (in vivo ou in vitro), ou lorsqu'ils sont capables d'empêcher la multiplication d'un virus dans une cellule-cible in vitro. Le mécanisme d'action de ces anticorps est généralement d'empêcher la toxine ou le virus, dont un épitope spécifique est reconnu par le site anticorps, de se fixer sur le substrat. Cette action neutralisante et protectrice ne fait habituellement pas intervenir le complément (Fig. 19-2). Une activité antibactérienne de ce type a été attribuée aux Ig de type IgA sécrétoires, permettant d'empêcher l'adhérence de bactéries pathogènes aux cellules des muqueuses digestives et respiratoires. Certains anticorps neutralisants ne possèdent pas d'activité protectrice, comme cela est le cas pour les anticorps antistreptolysines O induits après infection par les streptocoques du groupe A par exemple. Ceci provient vraisemblablement du fait que la streptolysine O n'intervient que peu dans l'implantation et la pathogénie de l'infection à streptocoques.

Un autre mécanisme de protection à médiation anticorps et qui est dominant dans la lutte contre les bactéries, est représenté par l'opsonisation des particules infectantes. Ceci correspond à la réalisation d'un pont entre les bactéries (représentées par leurs structures externes antiphagocytaires : capsule, glycocalix) et les cellules phagocytaires professionnelles (polynucléaires neutrophiles, macrophages) grâce à leur récepteur du fragment Fc des Ig. Cette fixation permet de réduire les forces de répulsion des bactéries et entraîne l'activation des systèmes membranaires des phagocytes qui vont permettre de proche en proche l'adhésion, la contraction des systèmes actine-myosine et la stimulation du métabolisme de l'oxygène. Cette opsonisation Fc-dépendante est renforcée par une deuxième étape, celle qui permet l'accrochage du fragment C3b à son récepteur (CR1) sur la surface des cellules phagocytaires. Cette double liaison renforce l'adhésion et surtout l'ingestion des bactéries dans les cellules [10].

Lorsque certains micro-organismes (parasites, formes filamenteuses de champignons pathogènes) ne peuvent être phagocytés, la reconnaissance de leurs épitopes de surface, par l'intermédiaire d'anticorps attachés aux récepteurs Fc de polynucléaires neutrophiles, de polynucléaires éosinophiles ou de macrophages, entraîne une activa-

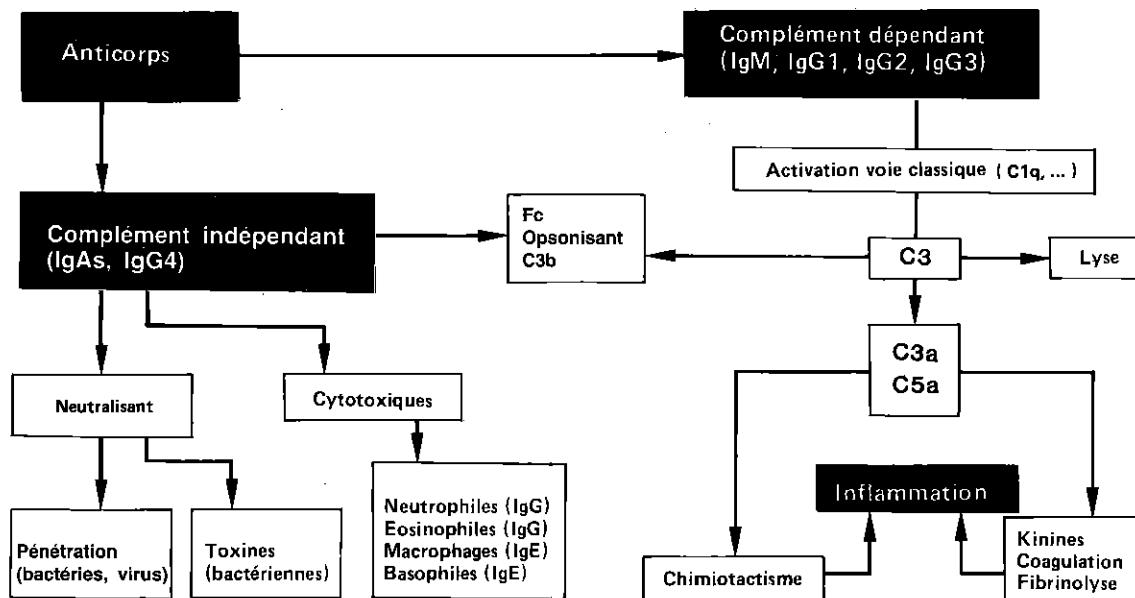


Figure 19-2 Les différents modes d'action simplifiés des anticorps dans l'immunité humorale antimicrobienne chez l'homme.

tion et une dégranulation des systèmes cytotoxiques, libérant ainsi des médiateurs toxiques au contact de la surface de l'agent pathogène, comme cela a été décrit dans la cytotoxicité cellulaire dépendant des anticorps (ADCC).

Enfin la protection humorale peut être due à la participation des anticorps à l'activation classique du complément par l'intermédiaire de ses fragments activés (C3a, C5a, ...) qui interviennent dans le déclenchement, l'entretien et l'augmentation de la réponse inflammatoire. L'agglutination des particules infectantes, ou leur lyse par l'activation complète du système du complément semblent n'être que partiellement responsables de la protection immune chez l'homme [9].

## IMMUNITÉ CELLULAIRE

La protection immune dite cellulaire est le fait de lymphocytes thymo-dépendants (lymphocytes T), capables d'entraîner une résistance acquise après leur transfert passif chez un animal « naïf » infecté expérimentalement. Deux types principaux de lymphocytes T sont impliqués dans la protection immune spécifique. Ce sont les lymphocytes

CD8 et les lymphocytes CD4 [4]. La fonction des premiers est de reconnaître les épitopes spécifiques des cellules infectées coexprimés avec les glycoprotéines de classe I codées par les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Cette reconnaissance s'accompagne d'une libération de médiateurs cytotoxiques au contact des cellules-cibles. La fonction des seconds est de reconnaître l'antigène coexprimé avec les glycoprotéines de classe II. Cette reconnaissance s'accompagne le plus souvent de la libération de médiateurs ou lymphokines qui vont agir sur les autres cellules de défense antimicrobienne : lymphocytes cytotoxiques (CD8 et CD4), macrophages, plaquettes, polynucléaires éosinophiles. Ces dernières sont d'une part recrutées localement et d'autre part activées, leur permettant d'acquérir une efficacité antimicrobienne augmentée. Un des exemples les plus connus actuellement concerne l'activation des cellules phagocytaires mononucléées par l'intermédiaire de l'interféron gamma [8]. L'accumulation cellulaire préférentielle sous forme de granulome, produite par ces lymphokines est une caractéristique de l'immunité cellulaire liée aux cellules CD4 [6]. Suivant le micro-organisme en cause et les caractères génétiques du sujet infecté, ce



phénomène peut être plus ou moins important, pouvant aboutir à des désordres cellulaires et tissulaires majeurs, indépendants de la multiplication du micro-organisme (ex. : lèpre tuberculoïde, méningite chorio-lymphocytaire...). Un certain nombre de mécanismes régulateurs semblent intervenir afin de limiter cette réponse inflammatoire thymo-dépendante. Plusieurs ont été proposés : l'absence d'expression des antigènes à la surface des cellules présentatrices par diminution des glycoprotéines de classe II, la production de médiateurs régulateurs dépendant de l'activation de la cyclo-oxygénase des macrophages [3], la production d'anticorps anti-idiotypiques et la stimulation des cellules lymphocytaires suppressives. Néanmoins la démonstration de l'interaction de chacun d'entre eux dans la fragilité à l'infection, dans la chronicité de la maladie ou dans la régulation des effets immunopathologiques post-infectieux n'a été apportée que dans certaines maladies infectieuses (lèpre, tuberculose, candidose chronique cutanéomuqueuse).

## IMMUNITÉ MIXTE

La séparation arbitraire entre l'immunité humorale et l'immunité cellulaire facilite l'exposé et la compréhension de la réponse immune, mais ne se vérifie que pour certains états pathologiques et certains micro-organismes. Ainsi, chez les patients porteurs de déficit B pur (comme l'agammaglobulinémie du syndrome de Bruton et l'hypogammaglobulinémie commune variable), on observe essentiellement des infections par des bactéries capsulées (streptocoques, pneumocoques, *Hemophilus influenzae*) qui témoignent de l'importance des anticorps permettant l'opsonisation de ces bactéries et donc leur phagocytose. Par contre, peu d'infections virales, fongiques ou parasitaires sont observées, à l'exception des giardiases intestinales. A l'opposé, en cas de déficit pur en lymphocytes T (ex. : le syndrome de Di George), les infections les plus fréquentes sont dues aux virus, aux champignons, à *Pneumocystis carinii* et aux mycobactéries.

Il est alors intéressant de noter qu'il s'agit la plupart du temps de pathogènes dits endogènes produisant une primo-infection latente et parfois persistante chez l'hôte normal.

Mais le plus souvent, la protection immune est

mixte et on peut lui reconnaître plusieurs niveaux d'action [7]. Le premier correspond aux relations entre mécanismes non spécifiques et éléments de reconnaissance des antigènes.

Ces derniers ont comme rôle principal de focaliser dans un organe ou un tissu les éléments lytiques non spécifiques, cellulaires ou humoraux, sur les micro-organismes. Ainsi en est-il des anticorps pour la fixation et l'activation du complément lytique, des anticorps pour la lyse dans les réactions d'ADCC et pour l'opsonisation permettant la phagocytose. Il en est de même pour la production, la différenciation, le recrutement et l'activation des cellules phagocytaires mononucléées et des cellules lymphocytaires cytotoxiques qui contribuent ainsi à stériliser les foyers infectieux [4].

Le deuxième niveau de cette immunité mixte correspond à l'intégration des différents éléments de reconnaissance en fonction de la cinétique de l'infection. Il est évident que les éléments qui concourent à éviter l'adhésion, la pénétration et la survie d'un micro-organisme pathogène dans un organe, peuvent être différents de ceux qui interviennent une fois l'implantation et l'organisation du micro-organisme effectuées. Il pourrait en être de même des différentes cellules CD4 qui concourent soit à la protection, soit à la réalisation de lésions cytotoxiques [2].

Le troisième niveau concerne la régulation de la production d'effecteurs de type immunoglobuline, ou de type cellulaire cytotoxique, ce qui nécessite une collaboration cellulaire étroite.

## CONCLUSION

L'augmentation des connaissances sur le système immunitaire a permis le développement de nouvelles stratégies à la fois dans l'approche diagnostique et physiopathologique des maladies infectieuses, mais aussi dans l'élaboration de méthodes immunologiques en thérapeutique. Les développements attendus dans les trois domaines évoqués vont certainement conduire à un meilleur contrôle de cette pathologie. Citons simplement un aspect actuel : l'utilisation d'anticorps monoclonaux, déjà introduite en pratique courante pour le diagnostic direct et rapide des infections bactériennes, virales et parasitaires qui permet d'améliorer les choix thérapeutiques dans des situations critiques. La possibilité dans un avenir proche de caractériser le pouvoir pathogène de

certaines bactéries au sein d'une population issue des flores bactériennes contaminantes d'un prélèvement, amènera une meilleure fiabilité du diagnostic biologique. Cette même approche utilisant les anticorps monoclonaux doit parallèlement permettre, lorsque les anticorps sont protecteurs, de caractériser l'antigène correspondant, et de le produire, soit par clonage, soit par synthèse biochimique, afin de l'utiliser pour la vaccination. Une meilleure définition des déficits immunitaires locaux ou généraux associés aux infections opportunistes devra permettre d'envisager des moyens thérapeutiques appropriés permettant la restauration active de l'immunité ainsi qu'un choix judicieux d'agents antimicrobiens dépourvus d'activité immunorégulatrice négative.

### BIBLIOGRAPHIE

1. COSTERON JW, IRVIN RT, CHENG KJ. The role of bacterial surface structures in pathogenesis. *CRC Critical Review in Microbiology*, 1981, 8 : 303-328.
2. DEVRIES RRP. Regulation of T cell responsiveness against mycobacterial antigens by HLA class 2 immune response genes. *Rev Infect Dis*, 1989, 11 : 400-403.
3. FISCHER A, DURANDY A, LEDEISR F et al. The role of PGE2 in the induction of suppressor cells in humans. *In* : JS Goodwin « Prostaglandins and Immunity », Boston Martinus Nijhoff Publ, 1985 : 55-78.
4. KAUFMANN SHE. In vitro analysis of cellular immunity involved in immunity to tuberculosis. *Rev Infect Dis*, 1989, 11 : 448-454.
5. LAGRANGE PH. Immunité et maladies bactériennes. *Prospective et Santé*, 1987 : 42 : 99-111.
6. LAGRANGE PH. Les différents aspects des réponses immunologiques dans les infections à mycobactéries. *Médecine et Hygiène*, 1989, 47 : 249-255.
7. LAGRANGE PH, VIRELIZIER JL. Défense immunitaire vis-à-vis des bactéries et des virus. *In* : JF Bach « Immunologie », (3<sup>e</sup> Edition), Paris, Flammarion Médecine Sciences, 1986 : 612-639.
8. MURRAY HW. Interferon-gamma, the activated macrophage and host defense against microbial challenge. *Ann Intern Med*, 1988, 108 : 595-608.
9. NYDEGGER UE. Pathophysiological aspects of bacterial infection : towards a rationale for prophylaxis and treatment with intravenous immunoglobulins. *Clin Immunol Allergy*, 1985, 5 : 105-120.
10. WINKELSTEIN JA. Complement and the host defense against the pneumococcus. *CRC, Critical Review in Microbiology*, 1984, 11 : 187-208.

INTR

H. Ba

Le s  
supérie  
particu  
les mu  
d'écha  
comme  
consid  
commé  
la glar  
deveni  
parasit  
ce fait  
Le

# IMMUNITÉ LOCALE

## INTRODUCTION

### H. Bazin

Le système immunitaire local des organismes supérieurs a pour tâche de protéger des sites particulièrement vulnérables : la peau et surtout les muqueuses. Ce sont des lieux de passage ou d'échanges importants. A l'état normal, certains, comme l'intestin ou la peau, hébergent une flore considérable et variée, d'autres sont stériles comme la partie profonde du tractus respiratoire, la glande mammaire ou l'utérus. Tous peuvent devenir le siège de pullulations bactériennes ou parasitaires, de multiplication virale et subir, de ce fait, des agressions plus ou moins sévères.

Le système immunitaire local doit combattre

ces attaques mais, en même temps, il doit faire la distinction entre les antigènes (potentiellement dangereux) comme ceux des organismes pathogènes et ceux qui normalement ne le sont pas, comme ceux de l'alimentation ou des flores commensales. Ses réactions doivent être mesurées.

Les organes exposés aux agressions extérieures possèdent tous des mécanismes de défense spécifiques ou non. Les premiers se distinguent de ceux de l'immunité générale par plusieurs particularités : une immunité humorale à base d'anticorps d'isotype IgA, anticorps ayant des propriétés biologiques propres, une immunité cellulaire encore mal comprise avec un certain nombre de populations cellulaires dont toutes les propriétés ne sont pas connues. Enfin la circulation lymphocytaire et celle des anticorps permettent des connexions entre les divers composants du système.

## PHÉNOMÈNES CELLULAIRES

### Circulation lymphocytaire

Elle a déjà été étudiée au chapitre 5. Seuls des rappels seront donnés.

#### Circulation de charge du système

Les cellules-souches hématopoïétiques sont établies dès la naissance dans la moelle osseuse. Les précurseurs des lymphocytes T migrent dans le thymus puis dans la réserve générale sanguine. Les précurseurs des lymphocytes B quittent directement la moelle osseuse pour la réserve générale sanguine circulante et non circulante [9].

#### Circulation générale

Découverte par Gowans et Knight [6], elle consiste en une perpétuelle recirculation des lymphocytes T et B, de la circulation sanguine aux tissus lymphoïdes secondaires, avec retour au sang en passant par la lymphe, etc. Ce phénomène fut reconnu en marquant des lymphocytes du canal thoracique de rat, à l'aide d'isotopes radioactifs, en les réinjectant ensuite, par voie intraveineuse dans un animal histocompatible, puis en suivant leur devenir par autoradiographie.

Injectés par voie intraveineuse, les petits lymphocytes disparaissent en moins d'une heure de la circulation sanguine du rat. Ils prennent 5 à 6 heures pour traverser la rate et 15 à 20 heures, pour un ganglion lymphatique. Chez le rat ou la souris, un lymphocyte inoculé par voie intraveineuse met approximativement 15 à 24 heures pour atteindre la lymphe [5]. Ce temps de transit dépend des espèces, il est plus long chez les grands animaux; par exemple, de 27 à 36 heures chez le mouton.

#### Circulation au niveau des muqueuses

La stimulation antigénique au niveau des muqueuses, en particulier de la muqueuse intestinale, conduit à l'activation de lymphocytes B qui quittent les plaques de Peyer par les vaisseaux lymphatiques, traversent les ganglions mésentériques, puis empruntent le canal thoracique pour rejoindre le torrent circulatoire. Certaines cellules en voie de migration, surtout au départ des plaques de Peyer, peuvent être arrêtées dans un ganglion mésentérique ou dans la rate qui forment de véritables filtres sur leur trajet [1]. Ce sont des cellules activées, essentiellement des lymphoblastes alpha mais il y a également quelques

lymphoblastes T [11]. Après un certain temps de circulation, ces cellules retournent dans les tissus lymphoïdes des muqueuses, c'est-à-dire la *lamina propria* de la muqueuse intestinale et accessoirement des autres muqueuses grâce à des récepteurs particuliers [3]. Ce phénomène peut être profondément modifié lors de certaines circonstances physiologiques : ainsi, il y a un afflux important de lymphoblastes à IgA de l'intestin vers la glande mammaire à la fin de la gestation et durant la lactation, flux inexistant à d'autres périodes de la vie de la souris femelle [10]. Arrivées à la fin de leur périple, ces cellules peuvent encore se diviser et augmenter en nombre in situ [8].

### Rôle de la circulation lymphocytaire

#### Circulation de charge

Elle est soumise à une régulation très efficace qui a été étudiée, en particulier, dans les chapitres 4 et 5. Toute agression pathogène entraîne une stimulation de l'hématopoïèse qui peut être générale ou limitée à une lignée cellulaire seulement.

#### Recirculation générale

Cette circulation permet, de façon évidente, de rassembler en un ensemble cohérent les populations dispersées du système immunitaire. Elle permet également une mobilisation cellulaire générale en réponse à une agression locale, impliquant des cellules T et B, mûres et à mémoire. Elle met aussi à la disposition du système immunitaire la totalité de ses moyens à tout endroit de l'organisme.

#### Circulation au niveau des muqueuses

Ce type de circulation permet une répartition des cellules T et surtout B, productrices d'anticorps, à la surface des muqueuses, à la suite d'une agression antigénique, c'est-à-dire qu'elle facilite l'établissement d'une protection généralisée à l'ensemble du tube digestif après une infection plus ou moins localisée. Ceci doit être considéré avec une certaine réserve, car il n'est pas certain que les cellules immunes se répartissent réellement, au hasard, le long de toute la *lamina propria* intestinale, revenant s'établir plutôt au lieu de l'agression, siège d'une inflammation qui pourrait être la cause de cette localisation préférentielle.

La c  
encore

PHÉN

La  
mécan  
d'impo

Rôle

Une  
thésisé  
dans l  
comm  
d'agre  
dans l  
des p  
facteu

L'I  
des m  
sécréti  
en m  
sécréti  
capilla  
bilité

organ  
tent d  
massi  
intesti  
nisme  
toocyte  
sant s

Des  
retrou  
bronc  
origin  
épithé  
sants  
mocy  
tractu  
faits  
bronc  
nisme

Tran  
imm

Les  
du sé  
peuvé  
cours

La circulation mucosale des lymphocytes T est encore peu connue.

### PHÉNOMÈNES HUMORAUX

La circulation des anticorps obéit à plusieurs mécanismes. Au niveau des muqueuses, ils sont d'importance variable selon les espèces.

### Rôle de la réserve générale commune

Une grande partie des immunoglobulines synthétisées au niveau des muqueuses se déversent dans la réserve générale sanguine. La mise en commun de ces anticorps synthétisés à la suite d'agressions antigéniques, et leur redistribution dans la même ou dans d'autres muqueuses sont des phénomènes qui dépendent de plusieurs facteurs.

L'IgA, l'immunoglobuline la plus importante des muqueuses, peut être transférée du sérum aux sécrétions en fonction de la concentration sérique en molécule dimérique possédant le composant sécrétoire, des possibilités de passage à travers les capillaires de cette IgA dimérique, de la disponibilité de composants sécrétoires au niveau d'un organe donné. Ces différents paramètres permettent d'expliquer que, chez le rat, il y a un passage massif d'IgA du sérum vers la bile et les fluides intestinaux. Par contre, chez l'homme, ce mécanisme est d'importance mineure car les hépatocytes humains synthétisent très peu de composant sécrétoire.

Des IgA dimériques sériques peuvent aussi être retrouvées dans le lait, les larmes, les sécrétions bronchiques et les sécrétions utérines. Leurs origines peuvent être locales. Ainsi, les cellules épithéliales des bronches synthétisent des composants sécrétoires et l'IgA sécrétée par les plasmocytes que l'on peut trouver dans les tissus du tractus respiratoire [2] est dimérique. Ces deux faits conduisent à penser que l'IgA des sécrétions bronchiques pourrait être transportée par un mécanisme composant sécrétoire-IgA dimérique [4, 7].

### Transmission passive des immunoglobulines

Les immunoglobulines peuvent être transférées du sérum dans le colostrum et le lait. De là, ces Ig peuvent être transférées chez le nouveau-né au cours de l'allaitement (voir chapitre 17).

### CONCLUSION

L'immunité locale intervient largement dans la défense contre les agressions extérieures. Elle agit par des mécanismes spéciaux, de manière mesurée, évitant de créer des lésions d'hypersensibilité. Cette immunité locale est, cependant, très liée à l'immunité générale et vouloir les dissocier serait une erreur.

## IMMUNITÉ DU TRACTUS DIGESTIF

### H. Bazin

« Le mode de vaccination de choix est sans conteste celui qui emprunte la voie buccale » A. Besredka, 1919 [15].

Cette phrase de Besredka, écrite il y a environ trois quarts de siècle, était prémonitoire. Il est tout à fait évident que, pour des raisons tant de simplicité d'administration que purement immunologiques, l'idée était excellente.

### ANATOMIE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DU TRACTUS INTESTINAL

Le système immunitaire du tractus intestinal comprend de nombreuses cellules lymphoïdes et apparentées : lymphocytes et lymphoblastes des lignées T et B, plasmocytes, cellules dites accessoires de l'immunité comme les macrophages, les cellules dendritiques, les polynucléaires neutrophiles, basophiles ou éosinophiles et, enfin, des cellules dont l'origine et la nature sont encore matière à discussion, comme les lymphocytes intraépithéliaux et les mastocytes muqueux. Ces cellules sont soit incluses dans des formations tissulaires bien définies, comme les plaques de Peyer ou l'appendice, soit plus ou moins libres dans la *lamina propria* de la muqueuse intestinale.

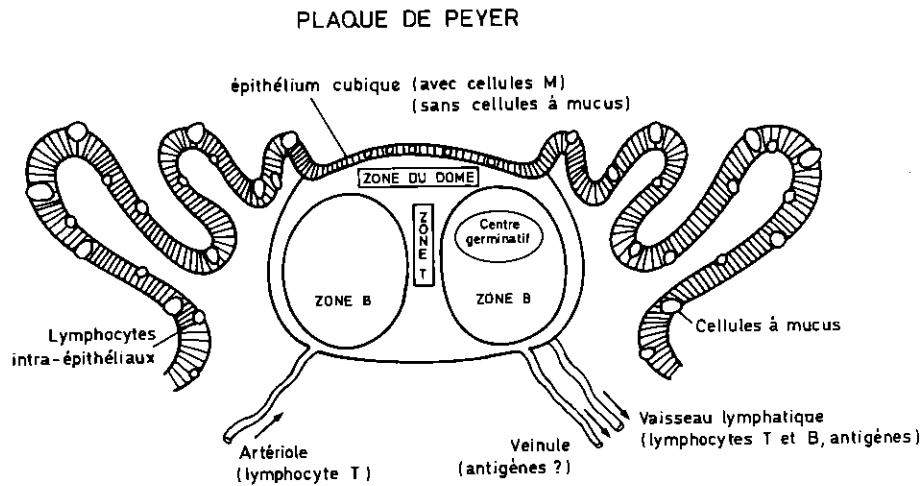


Figure 20-1 Schéma d'une plaque de Peyer.

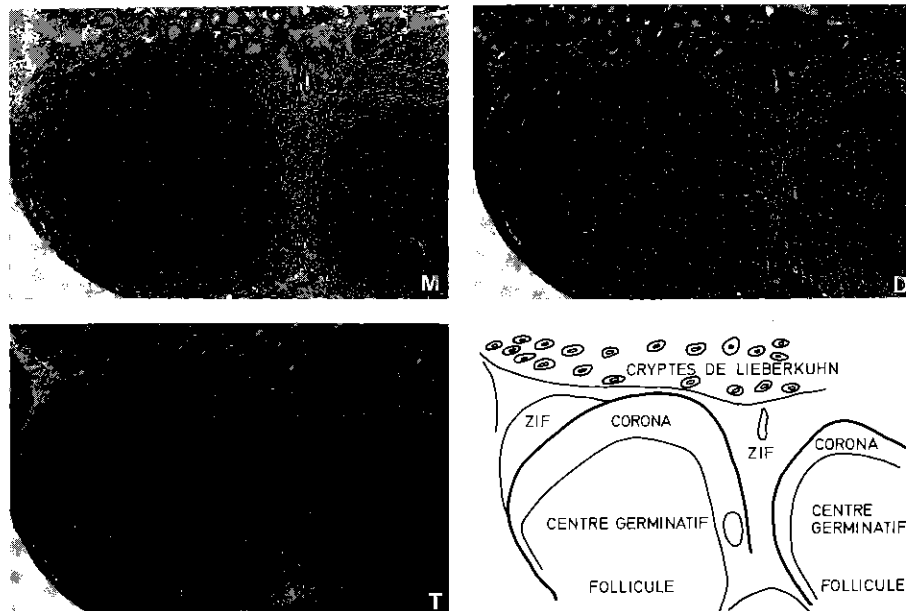


Figure 20-2 Coupes sériées d'une plaque de Peyer de rat. En haut à gauche, coloration à la peroxydase avec un anticorps monoclonal (AcMo) anti-IgM, les deux follicules sont bien marqués ainsi que les centres germinatifs (CG) (en fait, ce ne sont pas les cellules des centres germinatifs qui sont colorées, mais des complexes immuns à base d'anticorps d'isotype IgM). En haut à droite, coloration à la peroxydase par un AcMo anti-IgD, les deux follicules sont colorés mais pas les centres germinatifs. L'aspect en couronne du follicule repoussé par le CG lui fait donner le nom de corona. En bas à gauche, coloration à la peroxydase avec un AcMo anti-pan T (W3/13) montrant la coloration des lymphocytes T entre les deux follicules et à gauche du follicule gauche. En bas de la coupe, la paroi extérieure de l'intestin, en haut des cryptes de Lieberkühn coupées transversalement (ZIF : zone intra-folliculaire).

## Plaques de Peyer

Découvertes en 1667 par Peyer, un anatomiste suisse, ces formations lymphoïdes existent en nombre variable suivant les espèces et les individus. Elles sont dispersées le long de l'intestin, surtout au niveau de la partie distale du grêle : environ au nombre de 12 chez la souris, 15 chez le rat, 20 chez le chien et 200 chez l'homme. Chez le porc et le mouton, certaines plaques de Peyer peuvent atteindre 80 à 100 cm de long (au maximum de leur développement), au niveau de l'iléon. Elles ont une couleur blanchâtre due aux amas lymphocytaires qui les composent et à l'absence de musculature à leur niveau. Elles sont séparées de la lumière intestinale par un mince épithélium cubique formé de cellules particulières appelées M pour « microfold ». Ces cellules ont une barrière en brosse rudimentaire. Elles semblent être spécialisées dans l'absorption des antigènes de la lumière intestinale. Cet épithélium cubique comprend de nombreux « lymphocytes intra-épithéliaux », mais pas de cellules à mucus [20]. Le tissu lymphoïde sous-jacent à cet épithélium comprend un ou plusieurs follicules composés principalement de lymphocytes de la lignée B, d'un nombre limité de lymphocytes T, essentiellement des T auxiliaires et peu ou pas de plasmocytes. Ces follicules ont souvent, en leur milieu, des centres germinatifs. Autour de ces follicules, il existe une zone thymo-dépendante ne contenant pratiquement que des lymphocytes T (CD4 ou CD8) ainsi que des populations de cellules réticulaires et dendritiques. Enfin, entre les follicules et l'épithélium cubique, il existe une zone, dite du dôme, comprenant un grand nombre de cellules dendritiques (du système réticulo-endothélial), et des lymphocytes B et T (CD4 et CD8) (Fig. 20-1 et 20-2). Les plaques de Peyer possèdent uniquement des vaisseaux lymphatiques efférents, contrairement aux ganglions lymphatiques normaux qui, eux, possèdent des vaisseaux lymphatiques afférents et efférents. Ce sont les « gut-associated-lymphoid-tissue » ou GALT des auteurs anglo-saxons.

L'appendice a une structure plus ou moins apparentée à celle des plaques de Peyer. Par contre, l'anneau de Waldeyer comprend des formations lymphoïdes ressemblant fortement à celles des ganglions lymphatiques périphériques.

### Cellules immunes isolées

La muqueuse intestinale sert également de résidence à de nombreuses cellules isolées prove-

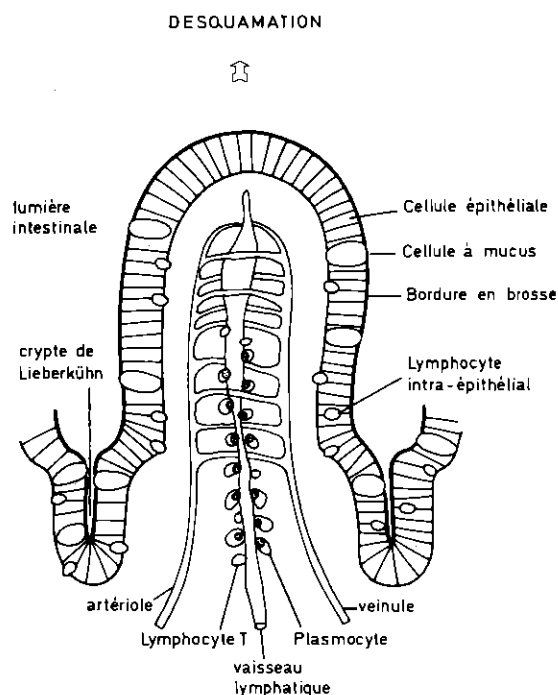


Figure 20-3 Coupe d'une villosité intestinale.

nant de la circulation sanguine et qui viennent élire domicile permanent en ce lieu (Fig. 20-3).

### Lignée lymphocytaire B

La majorité de ces cellules sont des lymphoblastes ou des plasmocytes. Chez l'homme, les proportions des plasmocytes à IgA, IgM et IgG se situent respectivement aux environs de 85, 10 et 5 p. cent. Les plasmocytes à IgD et à IgE sont en nombre très limité; ces derniers cependant peuvent augmenter de manière significative dans certaines allergies ou parasitoses. Dans la plupart des espèces, le nombre des plasmocytes à IgA domine très largement celui des autres isotypes, les pourcentages en plasmocytes des autres isotypes étant relativement variables. Ainsi, les rongeurs n'ont pratiquement aucun plasmocyte à IgM dans leur muqueuse intestinale. Ces cellules immunes proviennent, en grande partie, des immunoblastes du canal thoracique et, en fait, des plaques de Peyer. Le trajet est rapidement effectué. Le mécanisme de reconnaissance utilisé

par les cellules est partiellement connu. La demi-vie des plasmocytes intestinaux est relativement brève, de 2 à 5 jours chez la souris.

### Lignée lymphocytaire T

La *lamina propria* de la muqueuse intestinale contient également de nombreux lymphocytes T, surtout auxiliaires (CD4), mais aussi cytotoxiques/suppresseurs (CD8).

### Cellules accessoires de l'immunité

Il existe de nombreuses autres cellules, dites accessoires, du système immunitaire dans la muqueuse intestinale. Les « lymphocytes intra-épithéliaux » (LI) ont longtemps été considérés comme des cellules en migration vers la lumière intestinale et donc proches de leur mort. En fait, cela ne semble pas être le cas pour la grande majorité d'entre eux. Ces cellules proviennent de la moelle osseuse et expriment le plus souvent l'antigène CD8, mais rarement l'antigène pan-T (Thy-1 de la souris ou W3/13 du rat). Elles ont également la particularité d'avoir un cytoplasme granuleux rappelant celui des cellules NK. Leur parenté avec les lymphocytes T et les mastocytes muqueux n'est pas encore bien définie.

La muqueuse intestinale comprend également un grand nombre de macrophages ou cellules apparentées. Il est tentant de leur attribuer un rôle dans l'induction des réponses immunes locales.

Le nombre de mastocytes dans la *lamina propria* des villosités intestinales est relativement important chez l'homme normal. Ces mastocytes muqueux semblent différer de ceux des tissus conjonctifs. Cependant, les uns comme les autres sont relativement mal connus et leur origine à partir des populations cellulaires de la moelle osseuse est le seul point bien acquis. Ni les mastocytes muqueux, ni les autres n'ont de thymo-dépendance obligatoire. Par contre, leur hyperplasie en réponse à un stimulus, par exemple parasitaire, est thymo-dépendante. Certains mastocytes muqueux semblent avoir la propriété de s'infiltrer entre les cellules épithéliales. Le rôle de ces mastocytes intraépithéliaux est encore l'objet de spéculations.

Les éosinophiles peuvent également être présents en grand nombre dans la *lamina propria*, principalement en cas d'helminthiase. Leur hyperplasie est aussi dépendante des lymphocytes T.

Il est donc évident que la variété des populations cellulaires plus ou moins apparentées au

système immunitaire du tractus intestinal est très grande. Cependant, leurs rôles restent encore mal définis.

## IMMUNOGLOBULINES DE SÉCRÉTION

### Description

Les cinq classes d'immunoglobulines que l'on connaît chez l'homme comme chez les mammifères, se retrouvent pratiquement dans tous les liquides biologiques de l'organisme.

Toutefois, leurs concentrations varient fortement en fonction de leurs localisations. Dans les sécrétions internes (humeur aqueuse, liquides céphalorachidiens, synovial, amniotique, pleural et péritonéal), le rapport IgG/IgA se situe aux environs de 4, comme dans le sérum sanguin. Par contre, dans les sécrétions externes, telles que celles des poumons ou de la lumière intestinale, le rapport IgG/IgA est égal ou inférieur à 1 (Tableau 20-I). Ces rapports montrent clairement que les

Tableau 20-I Taux d'immunoglobulines dans le sérum et les sécrétions intestinales chez l'homme normal (mg/ml).

	IgM	IgA	IgG	Rapport IgG/IgA
Sérum	1,32	3,28	12,30	3,8
Salive entière	0,05	0,30	0,05	0,2
Sécrétion jéjunale	—	0,28	0,34	1,2
Sécrétion colique	—	0,83	0,86	1,0

immunoglobulines trouvées dans les sécrétions externes ne résultent pas d'une simple filtration du plasma sanguin mais procèdent, au moins partiellement, d'un passage actif de certaines immunoglobulines du sérum dans les sécrétions externes.

Des caractéristiques propres aux molécules IgA de sécrétion ont été décrites : d'une part, leur résistance à la dépolymérisation par les agents capables de rompre les liaisons disulfures; d'autre part, leur polymérisation et la présence de chaînes polypeptiques supplémentaires : la pièce de jonction et le composant sécrétoire (Tableau 20-II). Elles leur confèrent des déterminants antigéniques supplémentaires et un poids moléculaire supérieur à celui de l'IgA sérique.



Tableau 20-II Formules des différentes classes d'immunoglobulines humaines.

	IgM	IgD	IgA	IgE	IgG
Sérum	5(2H + 2L) + J	(2H + 2L)	90 p. cent : (2H + 2L) 10 p. cent : 2(2H + 2L) + J	(2H + 2L)	(2H + 2L)
Sécrétion externe	70 p. cent : 5(2H + 2L) + J + CS 30 p. cent : 5(2H + 2L) + J	—	2(2H + 2L) + J + CS	—	—

H : chaîne lourde; L : chaîne légère; J : pièce de jonction; CS : composant sécrétoire.

La structure de base des molécules d'IgA sérique ou de sécrétion est constituée par une molécule composée de deux chaînes lourdes alpha et de deux chaînes légères kappa ou lambda. Les chaînes lourdes alpha qui donnent leur spécificité isotypique (ou encore de classe) à ces molécules, sont composées de quatre domaines : un domaine variable et trois domaines constants. Il existe deux sous-classes d'IgA chez l'homme correspondant à deux chaînes lourdes alpha différentes. Dans les sérums normaux, il y a 85 à 90 p. cent d'IgA1 pour 10 à 15 p. cent d'IgA2. Aucune sous-classe d'IgA n'a été découverte chez l'animal, à l'exception de la souris où il existe, comme chez l'homme, deux sous-classes. Les chaînes lourdes alpha possèdent, comme les chaînes lourdes mu,

un extrapeptide à leur extrémité C terminale permettant de les distinguer des chaînes lourdes d'autres isotopes (Fig. 20-4). Cette séquence supplémentaire se termine par les acides aminés : cystéine-tyrosine. Elle sert de point d'ancrage à la pièce de jonction (J). La pièce J a un poids moléculaire de 15 000 daltons. Toutes les molécules d'IgM possèdent cette pièce ainsi que la grande majorité des molécules d'IgA polymériques. L'affinité des IgM et IgA polymériques pour le composant sécrétoire (CS) est faible. Elle est fortement augmentée dans les IgA polymériques par la présence de la pièce J. Le CS est une glycoprotéine de 8 000 daltons contenant environ 20-25 p. cent de sucre. Il s'attache aux molécules d'IgA polymériques ayant une pièce J et d'IgM au

que l'on  
chez les  
dans tous

ent forte-  
Dans les  
liquides  
pleural et  
situé aux  
guin. Par  
elles que  
stinale, le  
(Tableau  
t que les

rum et les  
(ml).

Rapport  
IgG/IgA

3,8  
0,2  
1,2  
1,0

écrétions  
ration du  
s partiel-  
immuno-  
externes.  
cules IgA  
part, leur  
es agents  
; d'autre  
e chaînes  
de jonc-  
u 20-II).  
géniques  
supérieur

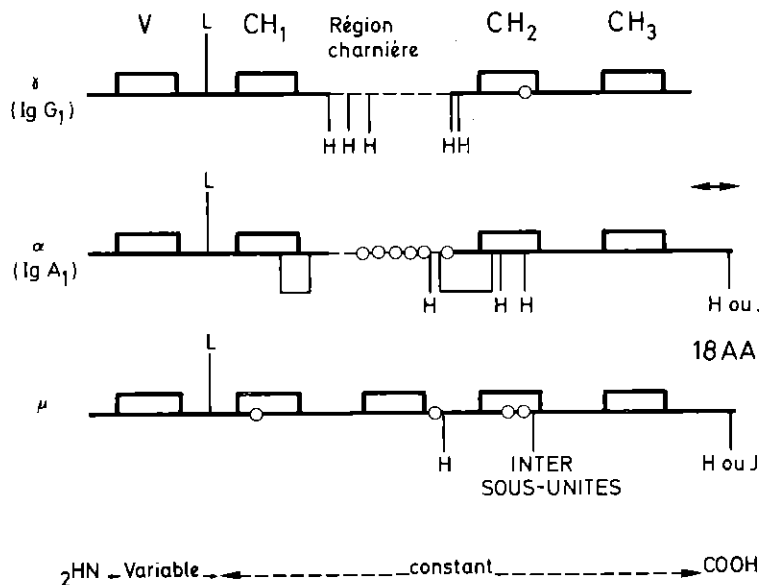


Figure 20-4 Schéma des chaînes lourdes d'immunoglobulines humaines, gamma, alpha et mu. L : chaîne légère; H : chaîne lourde; J : pièce de jonction.

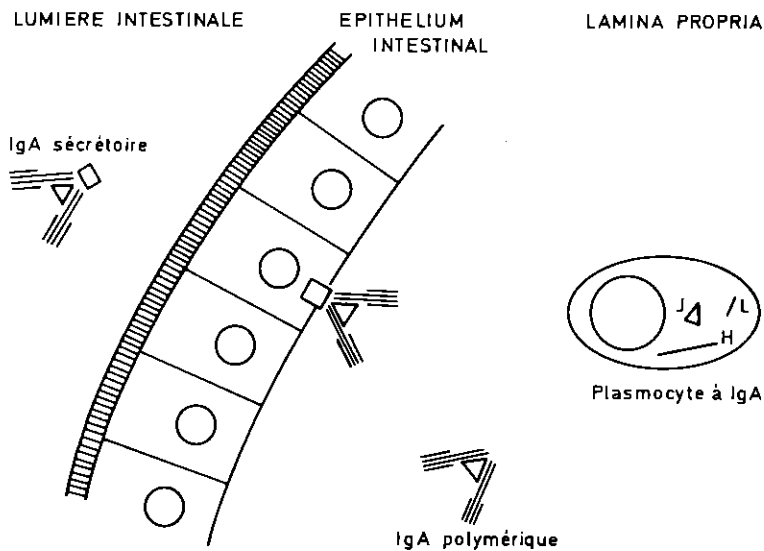


Figure 20-5 La production de l'IgA de la lamina propria de l'intestin et son transport dans la lumière intestinale.

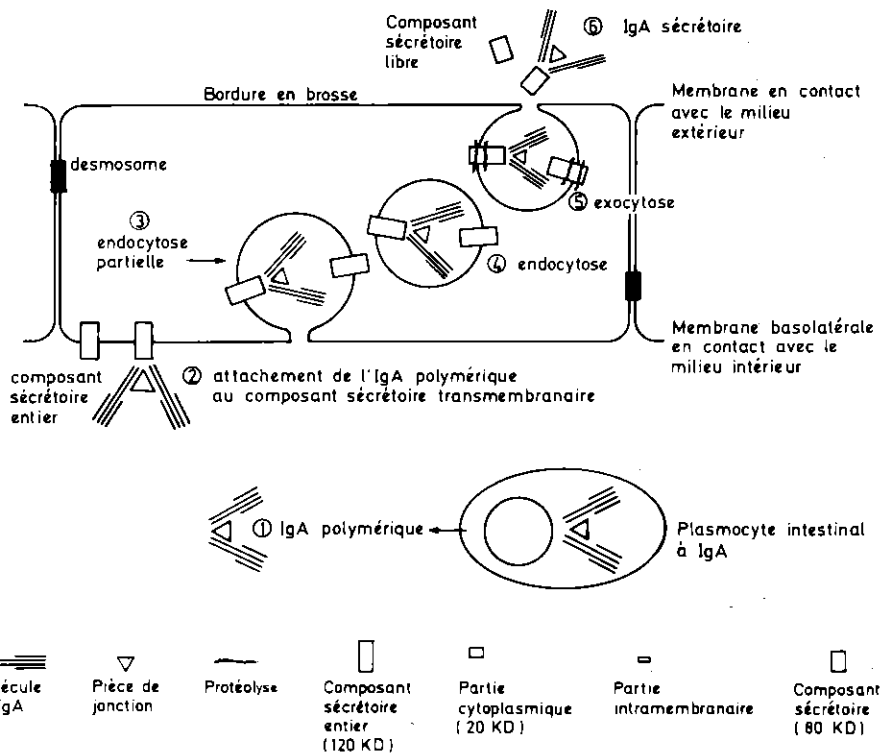


Figure 20-6 Schéma détaillé du passage des IgA dimériques de la lamina propria de l'intestin à la lumière intestinale.

IMM  
mo  
iso  
l'ex  
cro  
dev  
sen  
L  
bul  
pro  
san  
les  
glan  
lac  
cert  
pou  
(Fig  
Mé  
L  
dans  
des  
sus  
muq  
retr  
déve  
cons  
série

Figure  
lambd

moyen de liaisons covalentes ou non. Les autres isotypes d'immunoglobulines ne possédant pas l'extrapeptide supplémentaire qui permet l'accrochage de la pièce J ne peuvent donc pas devenir des immunoglobulines de sécrétion au sens strict du terme.

Les chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines, ainsi que les pièces de jonction sont des produits de synthèse des plasmocytes. Le composant sécrétoire est synthétisé puis extériorisé par les cellules épithéliales des muqueuses ou de glandes exocrines (salivaire, pancréatique, lacrymale, etc.) et par les cellules hépatiques de certaines espèces. Il sert de récepteur spécifique pour les molécules ayant une pièce de jonction (Fig. 20-5 et 20-6).

### Métabolisme

La plupart des plasmocytes à IgA se trouvent dans la *lamina propria* de l'intestin et sécrètent des dimères pourvus d'une pièce de jonction, susceptibles d'être sécrétés à l'extérieur des muqueuses. Une partie de l'IgA intestinale se retrouve dans la lymphe mésentérique et va se déverser dans le torrent circulatoire, où elle constitue la majorité des IgA polymériques sériques.

Les IgA dimériques du sérum peuvent être soustraites de la circulation sanguine par le foie et déversées dans la bile puis la lumière intestinale. Ce mécanisme semble très actif chez le rat moyennement actif chez la souris et les bovins, peu actif chez le chien et l'homme, dont l'IgA sérique est surtout monomérique et sans pièce de jonction.

Les IgA monomériques du sérum sont produites par des plasmocytes à IgA localisés dans la rate, les ganglions et la moelle osseuse. La figure 20-7 résume ces données.

Les IgM de sécrétion proviennent principalement des IgM sériques, mais peuvent également être synthétisées in situ, dans la muqueuse intestinale de certaines espèces. Les autres isotypes d'immunoglobulines, trouvés dans les sécrétions, sont essentiellement d'origine sérique, comme les IgG1 que l'on trouve en grande quantité chez les bovins.

### Propriétés biologiques

Comparés aux anticorps IgM, IgG ou IgE, les anticorps de classe IgA sont peu actifs. Ils n'activent pas le complément par la voie normale, mais seulement par la voie alterne. Ils ne semblent pas précipiter avec l'antigène correspondant ni

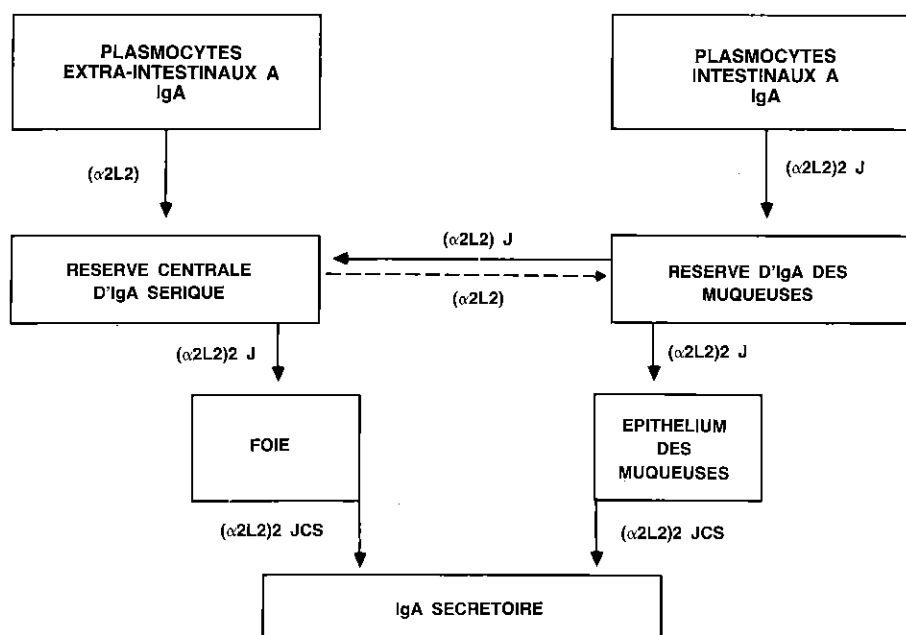


Figure 20-7 Schéma récapitulatif du métabolisme intestinal de l'IgA. α : chaîne lourde d'IgA; L : chaîne légère kappa ou lambda; J : pièce de jonction; CS : composant sécrétoire.

avoir de propriété cytophilique bien marquée, mais ils peuvent opsoniser certaines bactéries. Ils pourraient les lyser aussi à l'aide du complément et du lysosome ou les agglutiner. Cependant, jusqu'à présent, la propriété la plus intéressante attribuée aux anticorps IgA est certainement leur pouvoir neutralisant de toxines et de virus ou de blocage de récepteurs membranaires. Ce rôle est essentiellement joué par encombrement stérique, mais il n'est pas certain que ce soit le seul mécanisme.

Les IgA polymériques possédant une pièce de jonction, résistent mieux à l'action des enzymes que les molécules de même isotype ne la possédant pas. Toutefois, il existe des enzymes bactériens (IgA protéases) qui semblent attaquer uniquement les chaînes lourdes alpha (par exemple les IgA1 humaines). Les bactéries concernées par cette production sont des *Neisseria* (*gonorrhoeae* et *meningitidis*), *Haemophilus influenzae* et des *Streptococcus pneumoniae* et *sanguis*. Elles sont toutes pathogènes.

Le métabolisme des IgA est encore relativement mal connu. Les catabolismes des deux sous-classes chez l'homme sont probablement différents. La demi-vie moyenne des IgA humaines monomériques est de 5 à 6 jours, celle des molécules polymériques est très brève. Le taux de synthèse des IgA est voisin de celui des IgG, c'est-à-dire de 25 mg par kilogramme de poids et par jour.

## SYSTÈME IMMUNITAIRE INTESTINAL

### Modifications du système immunitaire induites par voie orale

#### Réponses immunes induites par voie orale

L'énorme accumulation de plasmocytes dans la muqueuse du tractus intestinal semble dépendre essentiellement de stimulations antigéniques provenant de la flore intestinale étant donné que les animaux axéniques (sans germes) en sont pratiquement dépourvus.

Crabbé et coll. [16] ont été les premiers à démontrer de façon précise la localisation des réponses immunes au niveau de la muqueuse intestinale. Le système expérimental utilisé consistait en des souris immunisées avec de la

ferritine de cheval administrée dans l'eau de boisson. Des plasmocytes intestinaux furent étudiés individuellement pour la spécificité des anticorps et la classe des immunoglobulines qu'ils synthétisaient. Les résultats obtenus par ces expériences démontrèrent, qu'en délivrant l'antigène par voie orale, on pouvait induire des réponses immunes au niveau de la muqueuse intestinale, et qu'elles étaient caractérisées par leur abondance en plasmocytes à IgA.

Il est actuellement possible de mieux comprendre les mécanismes physiologiques qui régissent les réponses immunes induites par voie orale. En résumé, l'antigène arrivant dans la lumière intestinale s'introduit dans l'organisme au niveau des plaques de Peyer. Il est ensuite modifié ou non par les cellules présentatrices de l'antigène de ces plaques et va induire, avec l'aide ou non des lymphocytes T auxiliaires, une réponse immune provenant de précurseurs lymphocytaires préadaptés à la synthèse des IgA. Il est aussi possible que ce soient des lymphocytes T auxiliaires des plaques de Peyer qui orientent les lymphocytes B vers des réponses immunes essentiellement IgA en favorisant le passage d'une production d'IgM à IgA (commutation IgM à IgA).

Ces cellules, activées sous forme de lymphoblastes alpha, quittent les plaques de Peyer par les voies lymphatiques, traversent les ganglions mésentériques, empruntent le canal thoracique et aboutissent au torrent circulatoire. Après un temps court de recirculation, elles élisent domicile, en majorité, dans la *lamina propria* de la muqueuse intestinale. Certaines cellules qui sont en voie de migration, des plaques de Peyer à la *lamina propria* intestinale, peuvent s'arrêter dans des ganglions mésentériques ou dans la rate qui forment des filtres sur leur trajet [13]. Arrivées à la fin de leur périple, ces cellules peuvent encore se diviser et augmenter en nombre in situ (Fig. 20-8). Cependant, il faut noter que dans toutes les réponses immunes induites par voie orale, il y a également une induction de plasmocytes à IgM et à IgG.

Dans certaines circonstances, il est même possible d'induire des réponses immunes à IgE par voie orale.

#### Tolérance systémique induite par voie orale

Une autre catégorie de phénomènes immunologiques déclenchés par ingestion orale d'antigènes relève de la tolérance. Plusieurs équipes ont



dém  
tion  
bum  
au n  
antig  
est p  
seur  
dans  
final

Mé

A  
nom

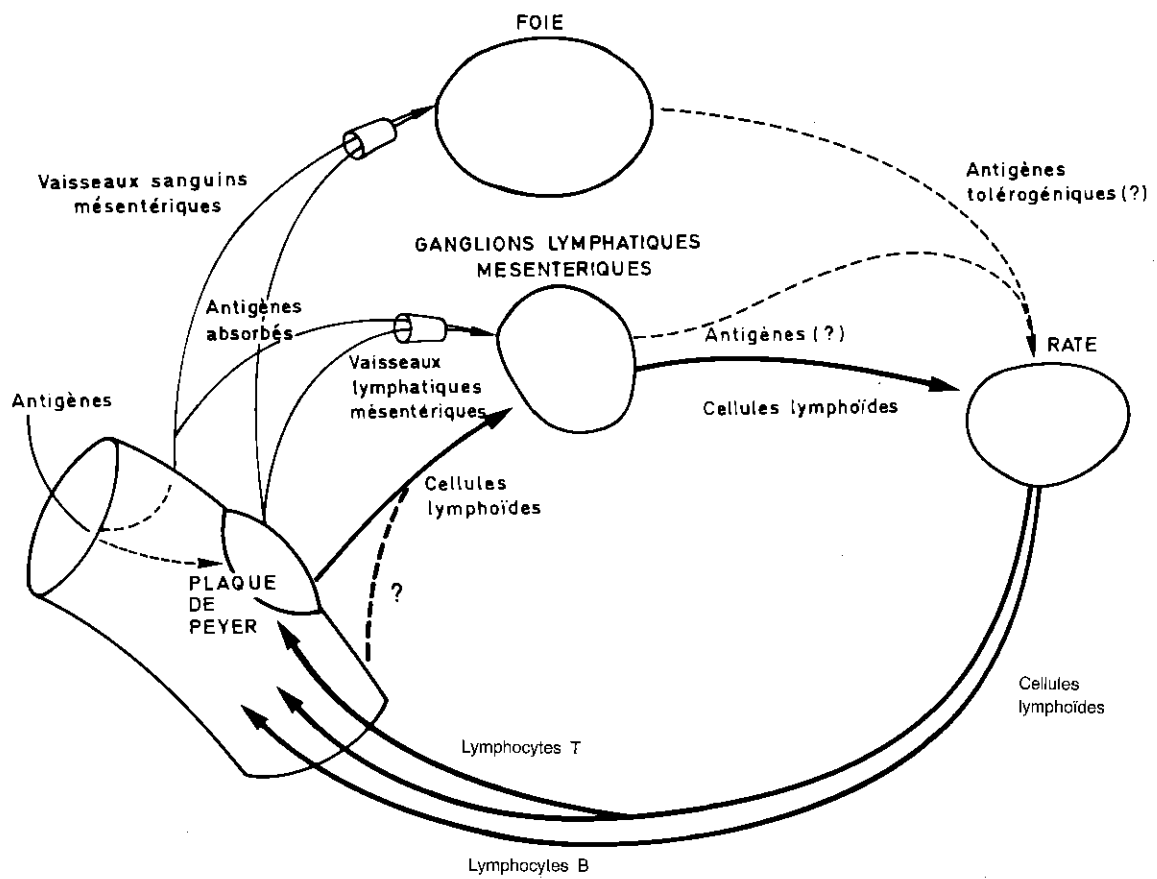


Figure 20-8 Schéma du trafic des antigènes et des lymphocytes B et T de l'intestin à l'intestin.

démonstré chez le rat ou la souris que l'administration par voie orale d'un antigène, tel que l'ovalbumine, conduisait rapidement à une tolérance ou, au moins, à une nette hyporéactivité à ce même antigène inoculé par voie générale [14, 18]. Ceci est probablement dû à des lymphocytes T suppresseurs dont une population non négligeable existe dans les plaques de Peyer et l'épithélium intestinal, mais d'autres mécanismes ont été décrits.

### Mécanismes de protection

Au niveau du tractus intestinal, un certain nombre de mécanismes peuvent s'opposer à

l'entrée, dans le milieu intérieur de l'organisme, de molécules du bol alimentaire, de bactéries pathogènes de l'intestin ou de virus.

### Mécanismes non spécifiques

**Première ligne de défense.** La barrière constituée par l'épithélium intestinal oppose certainement une résistance importante à l'envahissement du milieu intérieur. Ce rôle est d'autant plus difficile à jouer qu'il doit être sélectif. L'épithélium intestinal est continuellement renouvelé. Les cellules-souches se divisent au fond des cryptes de Lieberkühn et remontent le long des villosités. Arrivées à leurs extrémités, elles sont dispersées

dans la lumière intestinale. Ce phénomène est important, conduisant au relargage de dizaines de millions de cellules par minute, chez l'homme. La barrière intestinale est donc sans cesse renouvelée.

Toutefois, environ 0,002 p. cent des molécules des aliments ingérés peuvent, sans avoir subi d'altération, traverser la muqueuse intestinale et se retrouver dans l'organisme.

Diverses substances bactéricides existent également au niveau intestinal. Certaines se déversent dans l'intestin : suc gastrique à pH très bas, sécrétions biliaires qui peuvent inhiber particulièrement les virus à enveloppe lipidique. Le mucus a un rôle important en protégeant la surface intestinale contre les variations de pH et les micro-organismes qu'il empêche plus ou moins efficacement d'arriver aux structures des cellules épithéliales auxquelles ils sont capables de s'attacher. Le lysozyme, la lactoperoxydase et surtout la lactoferrine peuvent également avoir des rôles antibactériens. Le lysozyme que l'on trouve dans le mucus peut dégrader des composants de la paroi bactérienne; la lactoperoxydase et la lactoferrine peuvent être décelées dans le suc digestif où leur activité est identique à celle qu'elles développent dans le lait (voir plus loin).

Le principal mécanisme de défense non spécifique est assuré par la flore bactérienne intestinale.

Luckey [19] estime que le tractus digestif de l'homme contient  $10^{14}$  bactéries, chiffre à comparer aux  $10^{13}$  cellules de tout l'organisme. Les relations hôte-flore sont donc importantes. Le développement des bactéries du tractus intestinal est très rapide. Dix-huit à 24 heures de vie après la naissance, les populations dominantes atteignent déjà  $10^9$  par gramme de fèces. Mais l'équilibre bactérien s'établit lentement. Les bactéries sont considérées comme autochtones quand elles peuvent croître en anaérobiose, être toujours présentes chez l'adulte normal, coloniser certaines parties de l'intestin, s'implanter dès la naissance, rester stables chez l'adulte et être intimement associées à l'épithélium. Chez l'adulte, le nombre de bactéries vivantes par gramme de contenu intestinal se situe au voisinage de  $5 \times 10^9$  avec autant de bactéries mortes et plusieurs centaines d'espèces différentes. L'équilibre qui s'installe dépend des espèces de bactéries en présence. Certaines peuvent vivre à l'état libre dans l'intestin, d'autres vivent dans le mucus de l'épithélium ou dans les niches écologiques comme les cryptes de Lieberkühn. Cette flore bactérienne offre une résistance importante et

efficace à toute modification de sa composition et en particulier, à l'arrivée de nouvelles espèces bactériennes pathogènes.

**Deuxième ligne de défense.** Le foie représente un filtre sur le système porte aussi bien pour les toxines ou les antigènes bactériens ayant traversé la barrière intestinale que pour les antigènes alimentaires. L'altération de son intégrité physiologique ou même la dérivation artificielle du système porte vers les vaisseaux suprahépatiques, conduit à un accroissement très significatif du taux des anticorps contre les antigènes d'origine intestinale.

### Mécanismes spécifiques

Plusieurs fonctions majeures du système immunitaire intestinal ont pu être reconnues grâce à de très nombreux travaux expérimentaux effectués ces dernières années.

**Réactions humorales.** Le système immunitaire intestinal est manifestement stimulé par la flore intestinale.

Les bactéries pathogènes de l'intestin ne peuvent exprimer leur pathogénicité qu'après adhésion à l'épithélium (*E. coli*, *Vibrio cholerae*) ou pénétration (*Shigella*, *Salmonella*, *Treponema*) de l'épithélium intestinal. L'adhérence réelle des bactéries à l'épithélium est due à des fimbriae bactériens flexibles ressemblant à une brosse, qui sont codés par des plasmides (par exemple, K88 pour les porcelets, K99 pour les veaux). L'attachement des bactéries à plasmide K88 ou K99 est tout à fait spécifique et se fait sur des récepteurs cellulaires. Leur pathogénicité est due à une ou deux entérotoxines, codées aussi par des plasmides. L'absence de ces récepteurs pour *E. coli* K88 chez certains porcs, leur confère une résistance à ce type de bactéries.

Le rôle des anticorps de classe IgA dans l'empêchement de l'adhésion des bactéries pathogènes à l'épithélium intestinal a été montré par Fubara et Freter [17]. Par contre, il semble peu probable que des anticorps de sécrétion puissent avoir un rôle important sur la flore bactérienne intestinale totale de l'individu normal.

Les molécules d'anticorps IgM ou IgA peuvent neutraliser des toxines à l'intérieur de la muqueuse intestinale. Il en est de même pour les anticorps dans leur forme sécrétoire, à l'extérieur des muqueuses. De plus, elles peuvent agglutiner des virus ou des bactéries et entraver ainsi la division de ces dernières.

On  
d'isoty  
parfois  
d'allerg  
ques.  
d'entra  
partici  
antico  
nophil  
tosom

Une  
antico  
moléc  
l'orga  
immu  
doute  
p. cer  
la mu  
nisme  
tantes  
ficativ  
avec

Ré  
au n  
connu  
lymp  
intra  
ces c  
comp  
retard  
cytot  
ment  
tions  
éosin  
de m

CO

Le  
en n  
impo  
gang  
asso  
défè  
cont  
tout  
pens

On peut déceler aisément des anticorps d'isotype IgE dans la muqueuse intestinale et parfois, dans le suc intestinal, surtout en cas d'allergies digestives ou de parasitoses helminthiques. Ces anticorps IgE sont susceptibles d'entraîner des réactions allergiques locales, qui participent à l'élimination des parasites. Les anticorps IgE, avec les macrophages et les éosinophiles exercent une ADCC qui tue les schistosomes et certainement d'autres parasites.

Une autre conséquence des réactions antigène-anticorps est la diminution de l'entrée de molécules antigéniques du bol alimentaire dans l'organisme, processus encore appelé « exclusion immune ». Comme indiqué plus haut, il n'est plus douteux qu'un pourcentage faible (environ 0,002 p. cent), mais très réel de ces molécules traverse la muqueuse intestinale normale et a dans l'organisme des conséquences immunologiques importantes. Ce pourcentage diminue de manière significative chez l'individu immunisé par voie orale avec l'antigène considéré [12].

**Réactions cellulaires.** Les réactions cellulaires, au niveau de l'intestin, sont relativement mal connues. La *lamina propria* contient de nombreux lymphocytes T et la population de lymphocytes intraépithéliaux est importante. Les fonctions de ces cellules sont encore peu étudiées, mais elles comprennent des phénomènes d'hypersensibilité retardée (type IV), de cytotoxicité, d'ADCC et de cytotoxicité NK. Elles peuvent inclure probablement des réactions faisant intervenir des populations importantes de polynucléaires neutrophiles, éosinophiles ou basophiles (ou des mastocytes) et de macrophages.

## CONCLUSION

Le système immun intestinal est très important; en nombre de cellules, il est de très loin le plus important de l'organisme (surtout si on inclut les ganglions mésentériques qui lui sont étroitement associés). Son rôle est délicat car il implique une défense efficace contre des agressions presque continues (flore intestinale et bol alimentaire), tout en laissant passer l'apport nutritionnel indispensable à la survie de tout organisme.

## IMMUNITÉ DU TRACTUS RESPIRATOIRE

Y. Sibille, J.-M. Bois, A. Silim

### POUMON NORMAL

Le poumon est avant tout l'organe où s'effectuent les échanges gazeux entre l'air ambiant et l'organisme. Cependant, il participe aussi activement à la défense de ce dernier contre les agressions du milieu et peut être le siège de réactions immunes, locales ou systémiques. En effet, le tractus respiratoire est continuellement exposé à des particules et à des micro-organismes présents dans l'air inhalé. Les particules les plus larges (>15 microns) sont habituellement interceptées dans la partie supérieure des voies aériennes comprise entre les narines et les bronches de calibre intermédiaire où l'éternuement, la toux, la clairance mucociliaire et les anticorps de classe IgA dans leur forme sécrétoire (sIgA) constituent les principaux mécanismes d'élimination. Par contre, les voies aériennes inférieures et les alvéoles sont dépourvues de système d'épuration mécanique et dépendent presque exclusivement du système phagocytaire pour éliminer les plus petites particules qui pourraient s'y déposer.

### Systèmes mécaniques de défense

Ces mécanismes de défense sont en grande partie d'ordre physique et capables d'assurer l'épuration de l'air inspiré. Ce sont la filtration aérodynamique des particules d'aérosols, la clairance mucociliaire et la toux.

#### Filtration aérodynamique

L'air, avant de pénétrer dans les poumons, doit traverser les voies respiratoires supérieures c'est-à-dire : le nez ou les naseaux, le nasopharynx, le larynx et la trachée. Au cours de ce trajet, il est progressivement porté à la température du corps et saturé en vapeur d'eau; en même temps, il est soumis à la filtration aérodynamique. C'est ainsi que l'air aspiré à grande vitesse dans les cavités nasales voit son mouvement se ralentir progressivement. La plupart des particules en suspension dans l'air vont, par sédimentation, s'immobiliser

tout au long des voies respiratoires selon un gradient où la taille des particules joue un rôle déterminant. Cette filtration est inhérente aux caractéristiques anatomiques de ces voies et à la présence de mucus à la surface des parois.

Il est admis que les éléments de 2 à 10  $\mu\text{m}$  de diamètre se déposent sur les parois de l'arbre respiratoire sans atteindre les poumons. Des particules plus petites peuvent réussir à franchir ce passage. Chez les bovins, les particules de 1 à 2  $\mu\text{m}$  de diamètre échappent habituellement à la filtration du système respiratoire supérieur et vont se déposer dans les alvéoles des poumons où elles seront prises en charge par les macrophages alvéolaires. Ces particules peuvent être des aérosols bactériens et viraux. Par ailleurs, les particules les plus petites (0,5  $\mu\text{m}$ ) soumises aux lois de diffusion, sont pour la plus grande part, éliminées lors de l'expiration suivante.

### Clairance mucociliaire

L'épithélium de la trachée, des bronches et des bronchioles comporte un grand nombre de cellules ciliées. Chacune de ces cellules porte environ 200 cils de 5  $\mu\text{m}$  de long. Cet épithélium cilié est recouvert d'une couche de mucus. Les cellules épithéliales ciliées et le mucus forment l'appareil mucociliaire. Les cils sont animés d'un mouvement antérograde synchrone qui permet le drainage des particules et du mucus vers le carrefour pharyngien où ils sont ensuite éliminés par déglutition. La coordination de ces mouvements ciliaires qui ont lieu environ 700 à 1 200 fois par minute, permet la formation d'une vague continue à la surface de la muqueuse. Les mesures de déplacement du mucus vont de 0,5 mm/minute dans les petites bronchioles à 15 mm/minute dans la trachée. De ce fait, environ 90 p. cent des particules déposées au niveau des bronches sont éliminées en une heure.

La provenance du mucus est multiple; il est fait de plasma transsudé à travers la paroi alvéolaire et de la sécrétion des cellules de la muqueuse bronchique. Il est composé d'eau, de minéraux et de glycoprotéines. Le mucus sert aussi de barrière aux agents toxiques. Enfin, il véhicule des facteurs importants de la défense anti-infectieuse comme : des polynucléaires neutrophiles, des immunoglobulines, de la lactoferrine, etc.

Cet appareil mucociliaire peut être affecté à des degrés variables par l'hypoxie, l'hyperoxie, l'inhalation aiguë ou chronique d'agents irritants tels que le  $\text{SO}_2$ , l'ammoniac, certaines substances

thérapeutiques (atropine, lidocaïne), des variations importantes de température ou d'humidité ou encore par de nombreuses infections microbiennes.

Une paralysie complète ou partielle de ce transport mucociliaire par un de ces facteurs peut prédisposer à une infection pulmonaire.

### La toux

Des souffles explosifs d'air produits par des étternuements ou par la toux permettent le rejet des corps étrangers, sécrétions et produits pathologiques contenus dans les voies respiratoires. L'efficacité de la toux est réduite quand les voies respiratoires sont obstruées ou ont perdu leur élasticité enfin lorsque les sécrétions ont diminué ou même cessé.

## Systèmes cellulaires de défense

### Macrophages

A l'état normal, les macrophages constituent la majorité des phagocytes des alvéoles et de l'interstitium pulmonaires. Le précurseur du macrophage pulmonaire est le monocyte dérivé lui-même d'une cellule-souche de la moelle osseuse. On distingue plusieurs types de macrophages dans le poumon : les macrophages alvéolaires, les macrophages bronchiques, les macrophages interstitiels et les macrophages intravasculaires [23]. Tous ont en commun la capacité de phagocyter ou de digérer des particules exogènes, mais les macrophages interstitiels et intravasculaires se distinguent des autres par une capacité accrue à proliférer *in vitro*. Les macrophages alvéolaires ont été les mieux étudiés car ils peuvent être aisément recueillis par le lavage trachéobronchique chez l'animal et par lavage bronchoalvéolaire chez l'homme [29]. Ces macrophages représentent eux-mêmes une population hétérogène, tant sur le plan morphologique que fonctionnel [31].

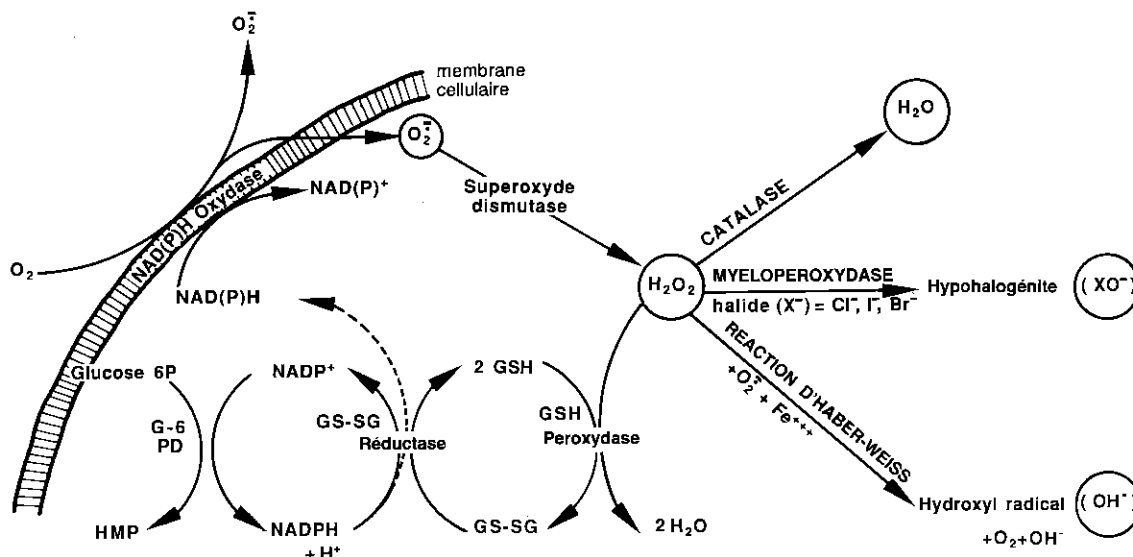
En dehors de cette fonction de phagocytose, les macrophages pulmonaires participent activement aux réactions immunes locales. Cette participation s'explique d'une part par leur richesse en récepteurs membranaires et d'autre part par la libération de plus d'une cinquantaine de médiateurs [25]. Au repos, en l'absence de tout stimulus, le macrophage alvéolaire libère peu de médiateurs et n'active que faiblement les fonctions lymphocytaires. Par contre, lorsqu'il est activé, ce

O<sub>2</sub>

Figur  
différ  
réduit  
polyn

phag  
méd  
poly  
méd  
méta  
mon  
l'ox  
hydr  
(H<sub>2</sub>O  
tum  
prot  
inter  
pulm  
horr  
niqu  
tum  
d'ac  
aux  
lym  
la c  
vés  
teur  
lipid  
mul





**Figure 20-9** Principales voies de synthèse et de désintoxication des métabolites de l'oxygène produits par les phagocytes. Les différents métabolites impliqués dans les processus de bactéricidie, tumoricidie et cytotoxicité ont été encadrés. GSH : glutathion réduit; GS-SG : glutathion oxydé; HMP : shunt des hexoses monophosphates; G-6PD : glucose-6-phosphate déshydrogénase. PN : polynucléaires neutrophiles.

phagocyte libère d'importantes quantités de médiateurs et active les lymphocytes et les polynucléaires neutrophiles (PN). Parmi ces médiateurs, on peut retenir particulièrement les métabolites de l'oxygène, les enzymes, les monokines et les lipides bioactifs. Les dérivés de l'oxygène (Fig. 20-9), en particulier le radical hydroxyl ( $\text{OH}^\bullet$ ) et le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), sont de puissants agents bactéricides et tumoricides [22]. Les enzymes, surtout les protéases, sont capables de dégrader les fibres interstitielles et donc de léser le parenchyme pulmonaire. Les cytokines quant à elles sont des hormones qui permettent aux cellules de communiquer entre elles. Le facteur nécrosant des tumeurs et l'interleukine 1 ont un large spectre d'action, favorisant l'adhérence des phagocytes aux cellules endothéliales, recrutant et activant les lymphocytes T et les polynucléaires, promouvant la croissance fibroblastique [26]. Enfin, les dérivés de l'acide arachidonique et le facteur activateur des plaquettes (PAF) sont les principaux lipides bioactifs. Leur action est également multiple tant sur les cellules inflammatoires que

sur les muscles lisses des bronches et des vaisseaux [28].

Cette capacité du macrophage alvéolaire de répondre à toute une série de stimuli (facteurs du complément, immunoglobulines, complexes immuns, endotoxines, cytokines, lipides, etc.) et de libérer un large éventail de médiateurs confère à ce phagocyte un rôle de pivot dans les réactions inflammatoires et immunes au niveau du poumon.

### Lymphocytes

Les lymphocytes sont localisés dans plusieurs sites du poumon. D'abord, on les trouve dans les ganglions lymphatiques, situés essentiellement au niveau des grosses bronches (bronches de 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> ordre). Ensuite, on trouve des nodules lympho-épithéliaux en relation étroite avec l'endothélium bronchique. Ces nodules rappellent les nodules de tissu lymphoïde (plaques de Peyer) du tractus digestif, ce qui leur a valu l'appellation de tissu lymphoïde associé aux bronches, connue sous l'abréviation de BALT dans la littérature anglo-

saxonne [21]. Ce tissu lymphoïde folliculaire est recouvert de cellules épithéliales aplaties et non ciliées. Plus distalement, au sein du parenchyme pulmonaire, les lymphocytes peuvent former des agrégats présents au niveau des bronches terminales, des septa interlobulaires et dans la plèvre. Finalement, on trouve des lymphocytes isolés en nombre variable dans la lumière alvéolaire. Chez l'homme et chez l'animal sains, ces lymphocytes représentent rarement plus de 15 p. cent des cellules libres dans l'espace alvéolaire [29].

#### *Polynucléaires neutrophiles (PN)*

Malgré le peu de PN présents dans les bronches, et leur absence virtuelle dans l'alvéole, le poumon constitue un large réservoir de PN rassemblés dans le lit vasculaire pulmonaire. Certains sont en contact intime avec les cellules endothéliales des capillaires et forment le « réservoir marginal » de PN du poumon [33]. Ce contact intime et la courte distance qui sépare la lumière capillaire de la lumière alvéolaire permettent de comprendre que dans certaines circonstances pathologiques les PN puissent affluer dans les alvéoles.

#### *Polynucléaires éosinophiles*

En tant que phagocytes, les éosinophiles sont beaucoup moins efficaces que les neutrophiles. Cependant, grâce à la présence de récepteurs Fc, ces cellules sont capables de cytotoxicité dépendante des anticorps. Une augmentation du nombre d'éosinophiles dans les sécrétions pulmonaires survient au cours de réactions d'hypersensibilité résultant soit d'infestations parasitaires, soit de l'inhalation d'allergènes.

### **Facteurs humoraux**

#### *Facteurs non spécifiques*

On retrouve plusieurs substances à activité antibactérienne dans les sécrétions des voies respiratoires. Les neutrophiles, les macrophages et les cellules de l'épithélium glandulaire produisent le lysozyme qui dégrade la paroi cellulaire de bactéries à Gram positif. Les macrophages, les lymphocytes T et l'épithélium des voies respiratoires produisent l'interféron qui possède des propriétés antivirales. Mentionnons également la

lactoferrine, la transferrine et les composants du complément qui sont capables d'activité antibactérienne.

#### *Immunoglobulines*

Les Ig détectées dans les sécrétions des voies respiratoires de la plupart des espèces animales sont des IgA, des IgG et des IgM. Les IgA sont constituées d'un dimère dont les molécules constituantes sont réunies par le composant sécrétoire qui est ajouté à la molécule lors du passage au travers de certaines cellules. Il semble que ce composant rende les molécules d'IgA sécrétoires moins sensibles à la protéolyse.

Les IgA et les IgG prédominent, mais leur rapport varie selon les différents sites du tractus. Les IgA sont majoritaires dans les voies respiratoires supérieures, alors que la part des IgG augmente dans la partie distale du tractus pour devenir prédominante au niveau bronchoalvéolaire. Une exception a été rapportée chez le veau au cours des six premières semaines de sa vie : les IgG1 prédominent dans les voies respiratoires supérieures et par la suite, ce sont les IgA. La plupart de celles-ci seraient synthétisées localement par des plasmocytes distribués le long du tractus respiratoire. Ces Ig sont capables de neutraliser certaines toxines, d'empêcher la fixation de certains virus sur les cellules bronchiques et de prévenir l'attachement de certaines bactéries (comme *Pasteurella*). Les IgG des voies respiratoires supérieures dérivent de la transsudation du plasma et celles des voies respiratoires inférieures sont produites localement. Elles jouent également un rôle dans la phagocytose par le phénomène d'opsonisation et dans la cytolyse par activation du complément.

La présence des IgM est plutôt discrète dans les voies respiratoires supérieures (antérieures), mais plus marquée dans les bronchioles et les alvéoles. La proportion des cellules lymphoïdes productrices d'IgM n'est pas très élevée dans les conditions normales. Lors d'une réaction inflammatoire sévère, la concentration des IgM peut augmenter rapidement par la venue d'IgM de la circulation sanguine. Les IgM ont des fonctions similaires à celles des IgG mais avec une activité plus ou moins grande suivant les fonctions considérées.

Les IgE peuvent aussi être produites localement; leur présence à la surface des mastocytes isolés dans la *lamina propria* des bronches et des bronchioles, ou des basophiles peut donner lieu à

des réa  
des pne  
nombre  
netteme

La v  
à ce niv  
spécific  
rieures,  
contre l  
muqueu  
même  
germe  
beaucou  
vaccina  
confère  
pouvan  
du pou  
général  
protect  
rieures  
talisati  
qui se  
montra  
plus l  
système

RÉAC  
DU R

Immu

L'in  
facteur  
aux n  
d'antig  
à la su  
étapes  
extrins  
l'asthm  
l'œdèm  
chiqué  
Cepen  
chiqué  
qués :  
monau  
dans la  
gonist  
d'hypé  
mastoc  
bronch  
taglan

des réactions d'hypersensibilité immédiate. Dans des pneumonies chroniques d'origines variées, le nombre de cellules productrices d'IgE augmente nettement.

La vaccination par voie nasale ou une infection à ce niveau entraîne une forte concentration d'IgA spécifiques dans les voies respiratoires supérieures, ce qui constitue une bonne protection contre les virus et les bactéries qui s'attachent à la muqueuse respiratoire. Une dose de rappel du même antigène ou une réexposition au même germe provoquera une réponse en IgA et en IgG beaucoup plus intense et rapide. Par ailleurs, une vaccination systémique par voie parentérale confère une protection générale à IgM et à IgG pouvant être efficace contre les agents infectieux du poumon ou ceux responsables de maladies généralisées, mais ne confère qu'une faible protection au niveau des voies respiratoires supérieures. Ceci entraîne la notion de « compartimentalisation » entre les deux secteurs immunitaires qui se fonde sur un certain nombre d'expériences montrant qu'une immunisation systémique stimule plus le système immunitaire général que le système immunitaire local et vice versa.

### RÉACTIONS INFLAMMATOIRES DU POU MON

#### Immunité bronchique

L'inhalation constante d'antigènes constitue un facteur favorisant les réponses immunes, d'abord aux niveaux nasal, puis bronchique. Le dépôt d'antigènes et la formation de complexes immuns à la surface de l'épithélium bronchique sont des étapes cruciales dans la pathogénie de l'asthme extrinsèque ou allergique. La physiopathologie de l'asthme caractérisée par la bronchoconstriction, l'œdème sous-muqueux et l'hypersécrétion bronchique est encore imparfaitement comprise. Cependant, il paraît acquis que la réponse bronchique est déclenchée par des mécanismes intriqués : immunologiques, toxiques et neurohormonaux. L'IgE et le mastocyte tissulaire résidant dans la sous-muqueuse bronchique, sont les protagonistes majeurs de la réaction réaginique ou d'hypersensibilité immédiate de l'asthme [27]. Le mastocyte contient de grandes quantités d'agents bronchoconstricteurs tels que l'histamine, la prostaglandine D<sub>2</sub>, des leucotriènes (LT), C<sub>4</sub>, D<sub>4</sub>, E<sub>4</sub>

(anciennement connus sous le nom de Slow Reacting Substances of Anaphylaxis) et des substances dites chimiotactiques parce qu'elles attirent les polynucléaires éosinophiles et neutrophiles. La multiplicité des activités de ces médiateurs permet d'expliquer la bronchoconstriction, l'hypersécrétion bronchique et l'œdème sous-muqueux. De plus, en attirant les polynucléaires, les mastocytes peuvent amplifier la réaction inflammatoire. En effet, lors des crises d'asthme, les polynucléaires éosinophiles et neutrophiles s'accumulent fréquemment dans les bronches. Les éosinophiles contiennent notamment du LTC<sub>4</sub> et des protéines basiques et cationiques cytotoxiques et les PN sécrètent du LTB<sub>4</sub>, agent chimiotactique pour les mêmes neutrophiles.

Les PN sont également des producteurs de PAF dont le spectre d'activité est large avec en particulier une puissante activité constrictrice du muscle lisse et une activité chimiotactique pour les polynucléaires éosinophiles et neutrophiles.

Enfin, les macrophages alvéolaires, tant humains que murins peuvent également répondre à une stimulation dépendante d'IgE en libérant du PAF et des leucotriènes B<sub>4</sub> et C<sub>4</sub>.

Si l'ensemble de ces cellules et de ces médiateurs paraissent bien impliqués dans la pathogénie de l'asthme, au même titre que les neuropeptides et le système nerveux autonome, il reste à déterminer les interactions entre ces diverses composantes et leurs mécanismes régulateurs.

#### Immunité pulmonaire

Les réactions immunes font partie des mécanismes de défense du poumon contre tout antigène, micro-organisme ou virus qui atteint les voies aériennes terminales et l'alvéole. Un dépôt excessif d'antigènes peut entraîner une réaction immune intense associée ou non à des phénomènes lésionnels. Ceci est bien illustré par l'expérimentation animale où des complexes immuns instillés par voie endotrachéale provoquent des réactions inflammatoires aiguës ou chroniques. La réaction immune aiguë s'accompagne habituellement d'un œdème interstitiel alvéolaire et d'un afflux de PN des capillaires pulmonaires vers l'espace alvéolaire. Cette réaction à complexes immuns IgG se rencontre soit après une aérosolisation des complexes, soit après une injection systémique de l'anticorps et l'instillation intratrachéale de l'antigène [30]. Elle entraîne l'activation du complément et la présence

de PN. Par exemple, en présence de complexes immuns IgA, l'inflammation paraît dépendante des macrophages, des métabolites de l'oxygène et du complément, mais pas des PN [32]. Ces modèles de réaction inflammatoire aiguë pourraient être impliqués dans la pathogénie du syndrome de détresse respiratoire aiguë de l'adulte.

Les pneumopathies de l'hypersensibilité sont souvent citées comme exemples de réactions immunes à complexes immuns, qui s'accompagnent d'une intense réaction inflammatoire initiale suivie d'une phase subaiguë, évoluant vers la chronicité lorsque la stimulation immune persiste. Dans le cas des alvéolites extrinsèques, l'antigène est souvent connu (par exemple l'IgA de pigeon pour la maladie des éleveurs de pigeons ou des protéines dérivées du *Thermoactinomyces faeni* pour le « poumon de fermier »). Les tests de provocation réalisés par inhalation de l'antigène déclenchent une réaction immune immédiate caractérisée par une accumulation de PN dans les voies aériennes distales et les alvéoles [24]. Cette réaction immédiate est suivie par une phase subaiguë associée à un afflux de lymphocytes, surtout de type supprimeur/cytotoxique. Si l'éviction de l'antigène n'est pas réalisée, la réaction immune évolue vers la chronicité avec la présence à la fois de lymphocytes, de PN, d'éosinophiles et de mastocytes dans la lumière alvéolaire, mais avec également l'apparition de remaniements de type fibreux au niveau de l'interstitium du septum alvéolaire. Ces remaniements sont caractérisés par un dépôt accru de collagène, surtout de type I au niveau du stroma interstitiel, une prolifération des fibroblastes au sein de ce stroma et un remplacement des cellules épithéliales alvéolaires aplaties de type I par des cellules cubiques plus larges de type II. Cette fibrose entraîne une moins bonne diffusion des gaz à travers la membrane alvéolo-capillaire.

Ce type de lésions fibreuses se retrouve également dans des pathologies strictement pulmonaires comme dans la fibrose pulmonaire idiopathique et dans des immunopathologies systémiques comme certaines maladies auto-immunes et rhumatismales, ou plus rarement la sarcoïdose. La fibrose pulmonaire idiopathique pourrait également être due à des complexes immuns dont l'antigène (qui reste à déterminer) serait soit inhalé, soit transporté par le flux sanguin et déposé au niveau du poumon où il déclencherait une activation chronique des macrophages et un afflux modéré de PN. Ces phagocytes libéreraient

des métabolites de l'oxygène et des enzymes protéolytiques capables d'endommager les structures alvéolaires. Le même type de réponse immune peut être invoqué pour les atteintes pulmonaires fibrosantes dans des maladies auto-immunes où les dépôts de complexes immuns se feraient aussi dans d'autres organes. La sarcoïdose, pathologie multifocale, d'étiologie indéterminée et le plus souvent d'évolution spontanément résolutive (>90 p. cent des cas), se caractérise par une infiltration granulomateuse des tissus. Ces granulomes contiennent des cellules épithélioïdes et géantes, et surtout des lymphocytes, la plupart exprimant le phénotype T auxiliaire. Dans certains cas de sarcoïdose, les lésions pulmonaires évoluent vers la fibrose sans que l'on puisse déterminer la cause de cette évolution.

### CONCLUSION

Le contact permanent du poumon avec une grande quantité d'antigènes laisse supposer que des mécanismes de protection préviennent le développement de réactions immunes exagérées. La capacité du macrophage à la fois de phagocyter les particules exogènes et d'être peu réactif lui permettent de jouer un rôle fondamental dans l'homéostasie pulmonaire. Par contre, dans certaines circonstances, le poumon peut très rapidement devenir le siège de réactions inflammatoires et immunes intenses. Le recrutement de polynucléaires neutrophiles et éosinophiles, de lymphocytes et de mastocytes libérant de grandes quantités de médiateurs, peut aboutir à des phénomènes lésionnels qui empêchent le poumon de remplir sa fonction de filtre pour les échanges gazeux.

## IMMUNITÉ DE LA GLANDE MAMMAIRE

### A. Silim

L'amélioration des conditions d'élevage, de l'hygiène de la traite des animaux élevés pour leur production laitière et la mise en œuvre d'une antibiothérapie adéquate ont permis de réduire

l'incidence des mammites; cependant de nombreuses infections intramammaires (IIM) subsistent endémiquement. Nous présenterons un aperçu général des défenses de la glande mammaire, essentiellement chez la vache où elles ont été le mieux étudiées.

## DÉFENSES NON SPÉCIFIQUES

### Canal du trayon

La première ligne de défense de la glande mammaire contre les attaques des agents pathogènes est le canal du trayon. Le muscle du sphincter entourant ce canal empêche la contamination bactérienne en maintenant son orifice fermé. Une perte de tonus musculaire accroît donc la sensibilité aux infections intramammaires. La traite contribue aussi à expulser les bactéries pouvant s'être introduites dans l'orifice ou à l'intérieur du trayon.

Normalement, la kératine qui se trouve à la surface du canal du trayon obstrue partiellement son ouverture, empêchant la pénétration des bactéries. Dans les quartiers sensibles, cette couche de kératine recouvrant l'intérieur du canal du trayon est plus mince, moins dense et se détache plus facilement de l'épithélium que celle recouvrant l'intérieur des quartiers plus résistants. De plus, la kératine provenant de quartiers plus résistants aux infections contient une plus forte concentration d'acides laurique, myristique et palmitique. Par contre, dans les quartiers sensibles, ce sont les concentrations en acides stéarique, linoléique et oléique qui sont augmentées. Le rôle de l'hérédité dans la composition en acide gras de la kératine semble assez important pour envisager la possibilité de sélectionner génétiquement les vaches les plus résistantes sur ce critère. Les protéines cationiques telle que l'ubiquitine, isolée de la kératine, empêchent la croissance de *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus aureus*.

### Lysozyme

La concentration de lysozyme dans le lait est d'environ 1,3 µg/ml et elle augmente durant les infections intramammaires. Cette protéine détruit les bactéries en lysant leur paroi de peptidoglycans. Une déficience en lysozyme prédisposerait la glande mammaire aux infections.

### Lactoferrine

Elle est bactériostatique, en rendant le fer non disponible aux bactéries qui en ont besoin pour leur développement. La lactoferrine, dérivée de cellules épithéliales et de leucocytes, est présente dans le lait normal en faibles quantités de 0,01 à 0,05 mg/ml. La lactoferrine est efficace contre les staphylocoques et les coliformes mais non contre les streptocoques qui contiennent peu de fer. Elle peut aussi être active dans la modulation du fonctionnement des macrophages, des lymphocytes et des polynucléaires neutrophiles.

### Autres facteurs solubles

Le système lactoperoxydase/thiocyanate/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans le lait empêche la croissance de *Staphylococcus aureus*, de la plupart des streptocoques et des coliformes. La lactoperoxydase est synthétisée par l'épithélium mammaire, le thiocyanate est dérivé des fourrages contenant des précurseurs du thiocyanate et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est produit par les streptocoques. Ce système est actif lorsque la lactoperoxydase en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oxyde le thiocyanate en hypothiocyanate, provoquant alors des dommages à la membrane des streptocoques. *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* sont détruits lorsqu'une grande quantité de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exogène est disponible.

Les concentrations en lactoperoxydase et en thiocyanate augmentent dans les quartiers infectés; ils peuvent fournir une bonne protection si une source exogène de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est disponible. De l'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exogène peut être fourni par administration intramammaire de glucose oxydase.

## ACTIVITÉS CELLULAIRES

C'est en 1844, en France, que A. Donné reconnut pour la première fois la présence de cellules dans le colostrum. Ces cellules possédaient un cytoplasme fortement vacuolisé et furent appelées « corpuscules de Donné » ou « corpuscules colostraux ». Depuis lors, des travaux importants ont été menés afin de définir la fonction et l'origine des cellules dans les sécrétions mammaires. Il est bien connu maintenant que les cellules somatiques le plus souvent retrouvées dans les sécrétions mammaires sont des neutrophiles, des macrophages, des lymphocytes, des plasmocytes, des éosinophiles et des cellules

épithéliales. Les proportions de ces différentes cellules varient en fonction du stade de la lactation, de l'espèce et même des individus. Par exemple, on retrouve une faible proportion de cellules épithéliales dans le lait des vaches et des brebis. Par contre, chez la truie jusqu'à 51 p. cent des cellules du lait peuvent être d'origine épithéliale.

### Polynucléaires neutrophiles

Après avoir passé la première barrière de défense, c'est-à-dire le canal du trayon, les bactéries en rencontrent une deuxième, celle assurée par les leucocytes phagocytaires. La plupart des leucocytes présents dans le colostrum ou lors d'inflammations sont des polynucléaires neutrophiles (PN). Durant l'inflammation, ces cellules s'accumulent dans la glande mammaire, en réponse aux bactéries, aux enzymes libérés par les cellules sécrétrices endommagées, et aux lymphokines. Ces PN phagocytent et tuent les bactéries de la même manière que les macrophages.

### Macrophages

Dans le lait non infecté, la plupart des leucocytes sont des macrophages. Ils auraient comme origine probable les populations de macrophages retrouvées dans le tissu conjonctif interalvéolaire et dans l'épithélium. Les macrophages du lait sont chargés de gouttelettes de lipides. Etant donné leur grand nombre, ils sont donc les premiers à entrer en contact avec les bactéries. Les macrophages interviennent dans la phagocytose et la lyse des bactéries ainsi que dans l'induction de l'immunité à médiation cellulaire en présentant les antigènes aux lymphocytes.

### Lymphocytes

Parmi les lymphocytes présents dans le lait durant la lactation, approximativement 45 p. cent sont des cellules T, 20 p. cent des cellules B et les autres sont non différenciables. Les cellules T sont responsables de la réaction cytotoxique aussi bien que de la production des lymphokines. Ces lymphokines sont chimiotactiques pour les PN et les macrophages; elles servent aussi à stimuler l'activité des leucocytes. Les cellules B associées à l'épithélium mammaire ont accès aux antigènes

bactériens; ce contact favorise la multiplication des clones sensibles et leur maturation en plasmocytes.

### ANTICORPS ET COMPLÉMENT

Toutes les classes d'immunoglobulines sont présentes dans les sécrétions de la glande mammaire. Chez les ruminants, les immunoglobulines prédominantes du lait sont les IgG1 suivies des IgG2. Les IgM et les IgA sont présentes en quantités plus faibles. La plupart des IgG sont dérivées du sérum, alors que les IgA et IgM sont sécrétées localement. La concentration d'anticorps dans le lait normal de la vache est faible (1 mg/ml) et dépend du degré de perméabilité vasculaire des tissus de la glande mammaire. Lorsque la perméabilité augmente, la concentration d'anticorps peut approcher 50 mg/ml, taux que l'on retrouve dans le colostrum et dans le lait d'une glande mammaire infectée.

Le rôle principal des anticorps dans le lait est d'opsoniser les bactéries envahissantes et de faciliter leur phagocytose par les PN. L'immunoglobuline la plus importante pour la phagocytose bactérienne semble être l'IgG2, car les PN auraient plus de récepteurs pour les IgG2 que pour les IgG1. D'autres études chez les bovins ont démontré que les IgM plutôt que les IgG2 seraient les meilleures opsonines pour les staphylocoques car elles augmentent l'efficacité de la phagocytose et de la lyse des bactéries phagocytées. En effet, les IgM activent le complément et favorisent la formation de C3b qui, déposé à la surface de la bactérie, accroît sa phagocytose par les neutrophiles.

Parmi les autres rôles joués par les anticorps dans la glande mammaire, on peut citer la neutralisation des toxines et l'agglutination des bactéries. Les IgA dans le lait n'ont pas de rôle opsonisant, mais elles préviennent l'adhérence des bactéries aux membranes épithéliales, les agglutinent et inhibent leur multiplication ou neutralisent leurs toxines. Un sérieux handicap de la glande mammaire est la faible concentration de tous les isotypes d'immunoglobulines dans le lait, comparée à celle du sérum. Généralement, le taux d'anticorps dans le lait est d'environ 5 p. cent de celui du sérum et ce n'est qu'au cours d'une réaction inflammatoire qu'une quantité plus élevée d'immunoglobulines afflue du sang vers le lait. Cette réponse est trop tardive pour être efficace dans la défense initiale de la glande mammaire.

### EFFET DE LA LACTATION SUR LA DÉFENSE DE LA GLANDE MAMMAIRE

Les infections intramammaires sont plus fréquentes en l'absence de lactation. Cependant, c'est au moment de la lactation qu'elles provoquent les problèmes les plus sérieux. L'incidence des mammites augmente au début de la période de tarissement, diminue ensuite et réaugmente à la période pré-partum. Presque toutes les infections contractées en l'absence de lactation persistent jusqu'à la lactation suivante. Certaines modifications des soins donnés aux animaux à la fin de la lactation pourraient augmenter leur sensibilité aux infections : l'arrêt de la traite empêche l'expulsion des bactéries due à l'écoulement lacté; l'augmentation de la pression interne de la glande mammaire provoque une dilatation du trayon, favorisant la pénétration des bactéries; l'arrêt des bains antiseptiques des trayons favorise l'accumulation des bactéries au niveau de l'orifice des trayons.

Un autre mécanisme de protection de la muqueuse de la citerne a été mis en évidence en infusant des cytotoxines bactériennes dans des glandes mammaires. Ces toxines détruisent l'épithélium des glandes en lactation mais pas celui des glandes tariées démontrant une diminution de la sensibilité épithéliale en l'absence de lactation.

### EFFONDREMENT DES MÉCANISMES DE DÉFENSE

Les bactéries responsables de mammites libèrent souvent des toxines qui accentuent leur virulence. Des staphylocoques pathogènes libèrent des hémolysines alpha et delta, des leucocidines et une coagulase qui peuvent provoquer l'effondrement des mécanismes de défense de la glande mammaire.

Une autre cause de rupture des mécanismes de défense de la glande mammaire est un affaiblissement de la phagocytose et de la lyse intracellulaire des bactéries. Des déficiences nutritionnelles en vitamine A, en fer, en cuivre et en zinc ont été impliquées dans la diminution de l'activité bactéricide des PN. L'utilisation d'antibiotiques tels que le chloramphénicol, la gentamicine, les tétracyclines, la novobiocine-pénicilline, peut diminuer jusqu'à 54 p. cent la phagocytose dans la

glande mammaire, mais les bénéfices liés à leur utilisation contrebalancent leurs effets négatifs. Si par contre la bactérie est résistante aux antibiotiques, les effets négatifs peuvent être sérieux et non compensés.

### IMMUNITÉ DU TRACTUS UROGÉNITAL

R. De Coster, J.-P. Van Cutsem

#### GÉNÉRALITÉS

C'est à la surface des tissus que s'établissent en général les premiers contacts entre les micro-organismes et les individus. C'est pourquoi la peau, les tractus digestif et respiratoire, la glande mammaire et le tractus urogénital jouent un rôle important dans la défense de l'organisme, fondée sur des mécanismes spécifiques ou non. Le simple flux urinaire et le pH de l'urine assurent par eux-mêmes une certaine protection. La présence d'un épithélium pluristratifié riche en glycogène au niveau du vagin fournit, en se desquamant, un substrat abondant pour une flore spécifique qui entre en compétition avec les germes pathogènes (résistance à la colonisation). La flore vaginale normale, constituée principalement par *Lactobacillus acidophilus* produit en outre des quantités abondantes d'acide lactique, ce qui abaisse le pH vaginal et contrecarre la prolifération de certains micro-organismes pathogènes. La teneur en glycogène des cellules épithéliales étant sous contrôle œstrogénique chez la femme, les infections vaginales seraient plus fréquentes avant la puberté et plus encore, après la ménopause. Les œstrogènes provoquent également un afflux de neutrophiles au niveau de la muqueuse utérine, ce qui contribue à l'élimination des germes par phagocytose. Cela explique sans doute une plus grande résistance à l'infection de l'utérus en phase folliculaire. La progestérone, par contre, exerce une action inverse.

A côté de ces mécanismes non immunologiques, des anticorps de différentes classes, mais principalement des IgA, sont retrouvés dans l'urine et le mucus cervicovaginal. Ces immunoglobulines protègent efficacement les muqueuses,

notamment en prévenant l'adhésion de certains virus, bactéries et levures à la surface épithéliale. Toutefois, des IgE, IgG et IgM peuvent être détectés dans l'urine, le mucus cervicovaginal et le sperme. La concentration des IgG augmente fortement lors de réactions inflammatoires : par exemple, à la suite de la perturbation de la filtration glomérulaire due à une néphrite. De plus, la présence de cellules sanguines dans le mucus vaginal et les réactions d'hypersensibilité retardée de type IV observées lors d'infections à *Campylobacter fetus* suggèrent que l'immunité cellulaire participe également à la défense immunitaire du tractus génital.

### TRACTUS GÉNITAL MÂLE

La présence d'anticorps dans les sécrétions préputiales est fréquente lors d'infections par des micro-organismes, mais leur rôle exact n'est pas connu. Par contre, la présence d'anticorps anti-sperme dans le plasma séminal et dans le sérum pourrait être à l'origine de certains cas d'infertilité, au moins chez l'homme. La présence de ces anticorps résulte d'une auto-immunisation ou est la conséquence d'une rupture de la barrière hémato-testiculaire à la suite de traumatisme, d'une inflammation, d'obstruction tubaire ou de vasectomie [34]. Toutefois, la présence de ces anticorps n'est pas systématiquement liée à des troubles de la fertilité. En médecine vétérinaire, leur rôle est inconnu mais pourrait expliquer certains cas d'infertilité.

### TRACTUS GÉNITAL FEMELLE

L'existence d'une réponse immunitaire lors d'infection du tractus génital femelle a été étudiée dans les cas d'infertilité chez la vache. Ainsi, lors d'infection à *Mycoplasma bovigenitalium* ou *Mycoplasma bovis*, la présence d'agglutinines dans le mucus cervicovaginal pourrait, d'une manière semblable à ce qui a été décrit *in vitro*, promouvoir la phagocytose, empêcher l'adhésion des mycoplasmes à la surface de la muqueuse ou inhiber leur croissance [36, 37].

Lors d'infections à *Trichomonas fetus* et à *Trichomonas vaginalis*, la réponse immunitaire locale est principalement due à des IgE, au moins chez la femme. La réaction d'hypersensibilité locale qui

en résulte est à la base de la symptomatologie, mais affecte aussi la perméabilité vasculaire, ce qui augmente la concentration locale en IgG.

La réponse immunitaire aux infections à *Candida albicans* a été particulièrement étudiée dans l'espèce humaine [37, 38]. Cette levure est un organisme commensal essentiellement présent dans le tractus digestif de l'homme et des animaux; elle est considérée, de ce fait, comme endosaprophyte. En cas de modification du système hormonal (grossesse), de changement dans la flore intestinale (antibiothérapie), de déficit du système immunitaire (glucocorticoïdes exogènes, neutropénie) ou en présence d'autres facteurs prédisposants ou favorisants, *Candida albicans* peut se développer et envahir différents organes du corps. En plus de l'augmentation du nombre de micro-organismes, c'est surtout la transformation de la phase levure en phase pseudomycélienne ou mycélienne qui est déterminante pour l'invasion des tissus.

Au niveau de la muqueuse vaginale, la phagocytose est le mécanisme de défense non spécifique principal. Ce sont les polynucléaires neutrophiles, et dans une moindre mesure les macrophages, qui phagocytent et détruisent *Candida albicans* après opsonisation par des anticorps. Les polynucléaires neutrophiles peuvent également adhérer aux formes hyphales de la levure, trop grandes pour être phagocytées et tenter de les détruire grâce à leurs enzymes lysosomiales. A ce stade de développement, les défenses de l'organisme sont en général insuffisantes mais une intervention thérapeutique conduit en général à la guérison. De plus, des mécanismes spécifiques de défense immunitaire ont été décrits, dans lesquels les lymphocytes T semblent jouer un rôle important. Finalement, la présence d'agglutinines dans le mucus cervicovaginal peut être détectée en vue d'un test diagnostique. C'est le cas pour la brucellose, la campylobactériose et la trichomonose. Ces tests sont toutefois de peu d'utilité pratique. De même une vaccination locale contre *Campylobacter fetus* a été expérimentée par Winter et coll. [40] mais sans succès.

Les propriétés antigéniques des spermatozoïdes induisent également la production d'anticorps dans le mucus cervicovaginal de la femme [34, 35]. Cependant, certains facteurs immunodépresseurs du sperme, la phagocytose des spermatozoïdes et leur faible nombre dans les parties supérieures de l'utérus limitent cette réaction immunitaire. Environ 10 p. cent des cas d'infertilité d'origine indéterminée seraient dus à la présence



de ces anticorps. Ces derniers semblent agir par immobilisation des spermatozoïdes, stimulation de la phagocytose, inhibition du mécanisme de la capacitation des spermatozoïdes et de leur pénétration dans l'ovule. Ici encore, le rôle, voire l'existence même de ces anticorps, est inconnu en médecine vétérinaire mais pourrait expliquer certains cas d'infertilité.

## IMMUNITÉ DE LA PEAU

P. Gengoux-Vincke

C'est à partir de 1970 que l'étude des marqueurs et des fonctions immunologiques de la cellule de Langerhans a permis de considérer la peau (Fig. 20-10) comme un organe immunitaire. Depuis longtemps cependant, les phénomènes de rejet de greffons allo- ou xénogéniques avaient démontré l'antigénicité de la peau, qui paraît même plus grande que celle de la plupart des autres organes. La transformation lymphoblastique à l'aide de cellules épidermiques comme inducteurs est d'ailleurs un test d'histocompatibilité prédictif utilisable avant une greffe de rein.

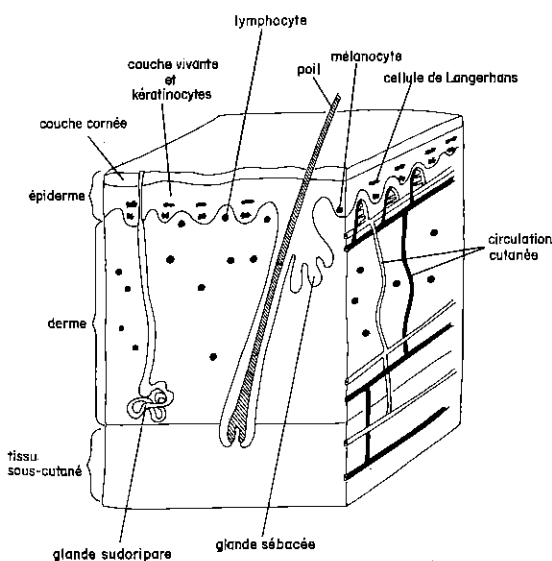


Figure 20-10 Coupe schématique de la peau. (Figure composée par J.M. Bois et A. Silim, Faculté de Médecine Vétérinaire, St Hyacinthe, Québec, Canada).

Il est impensable, à l'heure actuelle, de se passer de l'immunodiagnostic pour la mise au point ou la compréhension d'un grand nombre de dermatoses, allant des bullozes aux maladies de système (lupus érythémateux par exemple) en passant par l'eczéma, les tumeurs, les lymphomes, les rejets de greffes...

## ÉPIDERME

Les antigènes cutanés sont mis en évidence par des anticorps monoclonaux produits qui ont été regroupés en classes de différenciation d'où leur dénomination abrégée « CD ».

### Antigènes intercellulaires

*Antigènes du pemphigus ou Ag P*  
(Fig. 20-11)

Cet antigène, constitué en partie par des résidus sulfhydriques libres et par du calcium, est de nature glycoprotéique. Son poids moléculaire est de 66 kd.

Les autoanticorps du pemphigus se lient à des antigènes de surface des cellules épidermiques, distincts des composants structuraux des desmosomes. Cette fixation d'anticorps à la surface de la cellule entraîne une activation cellulaire qui aboutit à la libération de protéases responsables de l'acantholyse.

### Antigènes d'histocompatibilité

Il existe deux classes principales d'antigènes majeurs d'histocompatibilité. Les antigènes du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe I représentent des constituants importants de la membrane cellulaire, responsables des rejets de greffons cutanés. Les kératinocytes n'expriment pas normalement les antigènes du CMH de classe II, présents seulement à la surface des cellules de Langerhans et d'autres cellules indéterminées, mais ils peuvent l'acquérir en situation pathologique : lichen, réaction du greffon contre l'hôte (graft versus host, GVH), eczéma, mycosis fongoïde et lèpre tuberculoïde. En effet, le kératinocyte humain serait capable de synthétiser les antigènes HLA-D sous l'influence de l'interféron  $\gamma$ .

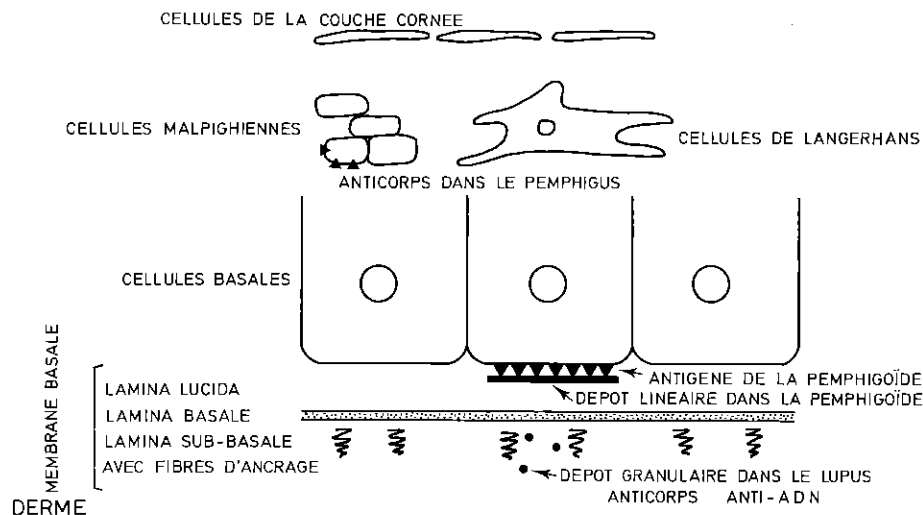


Figure 20-11 Schéma de la peau avec la localisation des dépôts dans les principales maladies auto-immunes.

### Antigènes cytoplasmiques

Ils sont portés par les filaments intermédiaires de 8 à 11  $\mu\text{m}$  de diamètre qui forment le constituant cytoplasmique capital des cellules des épithéliums stratifiés kératinisants. On peut les trouver dans d'autres tissus, mésenchymateux ou nerveux. Par exemple, leur recherche permet de préciser l'origine, le stade de développement et la localisation d'un groupe cellulaire dans les tumeurs et l'embryogenèse (cytokératines, involucrine et filaggrine).

### Antigènes nucléaires

Les noyaux des cellules épidermiques contiennent tous les types d'antigènes nucléaires connus.

Dans le lupus, si le sujet possède des anticorps anti-ADN, ceux-ci se lient à l'ADN altéré par les UV et qui a diffusé par la jonction dermoépidermique pour se lier aux fibres collagènes, réalisant ainsi un dépôt d'immunoglobulines et de complément à la membrane basale que l'on appelle « band test » en immunodiagnostic par immunofluorescence.

### Couche basale

Les cellules basales expriment à leur surface les antigènes du CMH de classe I et les antigènes de

groupes sanguins. Elles synthétisent l'antigène de la pemphigoïde bulleuse et l'expriment à leur surface.

### Antigènes des cellules de Langerhans

Les cellules de Langerhans (CL) sont des cellules immunocompétentes provenant de la moelle osseuse et résidant dans l'épiderme où elles représentent 2 à 4 p. cent de la population cellulaire totale. Les CL portent des récepteurs de surface à certains antigènes liés à leurs fonctions immunologiques. Elles expriment au niveau de leur membrane basale :

- les antigènes d'histocompatibilité (de classe I et II);
- les antigènes CD1 qui constituent le meilleur marqueur de l'épiderme;
- l'antigène CD4 marqueur des lymphocytes T auxiliaires;
- un récepteur pour le fragment Fc des IgG et un pour le composant C3b du complément, point commun avec le macrophage.

### LE DERME

Outre de nombreux antigènes, il faut mentionner dans certaines situations la présence

d'un infiltrat dont la caractérisation peut avoir un intérêt dans le diagnostic des lymphomes par exemple.

### Lymphocytes B

Ils présentent à leur surface des immunoglobulines et les antigènes de classes I et II du CMH, ainsi que les récepteurs pour le fragment Fc des IgG, pour l'interféron et pour le facteur de stimulation des lymphocytes T (interleukine 4) produit par les lymphocytes T.

Après leur activation, les cellules B expriment des récepteurs pour les facteurs modulant leur croissance et leur différenciation : récepteurs pour les IgM et les IgE, la transferrine, l'interleukine 2 produite par les lymphocytes T activés.

### Lymphocytes T

Les antigènes CD4 se retrouvent à la surface des lymphocytes T auxiliaires et les antigènes CD8 à la surface des cellules T suppressives et cytotoxiques, capables de produire des interleukines sous l'influence de certains stimulants.

## FONCTION IMMUNITAIRE DE LA PEAU

Les cellules de Langerhans (CL) sont capables de capter des antigènes exogènes pénétrant dans l'épiderme, comme des haptènes, des antigènes infectieux (trichophytine) et de les traiter puis de les présenter aux lymphocytes T. Cette fonction de présentation des antigènes dépend des molécules de classe II du CMH qui sont associées à l'antigène au moment de la coopération CL-lymphocyte T auxiliaire. Ceci constitue le premier signal de l'activation des lymphocytes T. Un second signal est aussi indispensable pour l'activation des lymphocytes T, il s'agit de l'interleukine 1. Celle-ci est souvent sécrétée par les macrophages. Mais au niveau de l'épiderme, il semble que le producteur soit le kératinocyte : son interleukine est appelée ETAF (epidermal cell derived thymocyte-activation factor); la CL la produit également. Ce facteur est fort semblable au pyrogène endogène. Outre l'activation des lymphocytes, il peut induire la production de substances amyloïdes par l'hépatocyte et de fibroblastes dans la cicatrisation; il peut enfin induire le chimiotactisme des neutrophiles.

L'épiderme étant soumis, in vivo, à un certain nombre de facteurs physiques et chimiques, il semble logique qu'il intervienne dans la production d'ETAF.

Cependant, d'autres produits de la cellule épidermique peuvent moduler les réactions immunes et inflammatoires : les facteurs thymiques, la prostaglandine E2, les leucotriènes et l'interféron.

Les mécanismes de la réponse immune ne sont pas liés aux seules cellules dérivées de la lignée myéломonocytaire mais d'autres cellules (en l'occurrence les kératinocytes) y prennent donc une part importante.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

- *Immunité du tractus digestif*
- BAZIN H, MAYRHOFFER G. Le système immunologique du tractus intestinal. In : « Allergies non respiratoires », Laboratoires Fisons, 1983, pp. 203-248.
- HEYWORTH MF, JONES AL. Immunology of the Gastrointestinal tract and liver. Raven Press, New York, 1988, 229 pages.
- *Immunité de la glande mammaire*
- CRAVEN N, WILLIAMS MR. Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. Vet Immuno and Immunopath, 1985, 10 : 71-127.
- EAGLESON JS, MORIARTY KM. Neutrophils oxidative killing mechanism and chemiluminescence. New Zealand Vet J, 1984, 32 : 41-43.
- LARSON BL, HEARY HL, DEVERY JE. Immunoglobulin production and transport by the mammary gland. J Dairy Sci, 1980, 45 : 131-147.
- NEWBOULD FHS. Factors affecting bacterial invasion of bovine udder via the teat canal. Dairy Sci Abstr, 1964, 26 : 245-255.
- NICKERSON SC. Immune mechanisms of bovine udder : An overview. JAVMA, 1985, 87 : 41-45.
- POUTREL B. Susceptibility to mastitis : A review of factors related to the cow. Ann Rech Vet, 1982, 13 : 85-99.
- REITER B. Review of the progress of dairy science : antimicrobial systems in milk. J Dairy Sci, 1978, 45 : 131-147.
- *Immunité de la peau*
- ANHALT GJ, PATEL H, DIAZ LA. Mechanisms of immunologic injury, pemphigus and bullous pemphigoid. Editorial Arch Dermatol, 1983, 119 : 711-713.
- KATZ SI. The skin as an immunologic organ. J Amer Derm, 1985, 499 : 530-536.
- MACKIE RM, TUBITT ML. Quantitation of dendritic cells in normal and abnormal human epidermis using monoclonal antibodies directed against Ia and HTA antigens. J Invest Derm, 1983, 81 : 216-220.
- VOLE-PLATZER B, MAJDIC O, KNAPP W et al. Evidence of HLA-DR antigen biosynthesis human keratinocytes in disease. J Exp Med, 1984, 159 : 1784-1789.

## Références

## — Introduction

1. BAZIN H, LEVI G, DORIA G. Predominant contribution of IgA antibody-forming cells to an immune response detected in extraintestinal lymphoid tissues of germ-free mice exposed to an antigen by oral route. *J Immunol*, 1970, 105 : 1049-1051.
  2. BINENSTOCK J. The lung as an immunologic organ. *Ann Rev Med*, 1984, 35 : 49-62.
  3. BUTCHER EC. Lymphocyte migration and mucosal immunity. In : MF Heyworth and AL Jones, Immunology of the Gastrointestinal Tract and Liver, Raven Press Ltd, New York, 1988 : 93-103.
  4. CRAGO SS, TOMASI TB. Immunoglobulin circulation and secretion. In : MF Heyworth and AL Jones, Immunology of the Gastrointestinal Tract and Liver, Raven Press Ltd, New York, 1988 : 105-124.
  5. DE SOUSA M. Lymphocyte circulation, experimental and clinical aspect. *J Wiley and Sons*, Bath, 1981, 259 pages.
  6. GOWANS JL, KNIGHT EJ. The route of recirculation of lymphocytes in the rat. *Proc Roy Soc*, 1964, 159 : 257-282.
  7. HUSBAND AJ. Mucosal immune interactions in intestine, respiratory tract and mammary gland. *Prog Vet Microbiol Immun*, 1985, 1 : 25-57.
  8. MAYRHOFER G, FISHER R. IgA containing plasma cells in the lamina propria of the guts: failure of a thoracic duct fistula to deplete the number in rat small intestine. *Eur J Immunol*, 1979, 9 : 65-69.
  9. MICKLEM HS, FORD CE, EVANS EP et al. Interrelationship of myeloid and lymphoid cells: studies with chromosome-marked cells transfused into lethally irradiated mice. *Proc Roy Soc*, 1966, 165 : 781-795.
  10. ROUX ME, MCWILLIAMS M, PHILLIPS-QUAGLIATA JM et al. Origin of IgA-secreting plasma cells in the mammary gland. *J Exp Med*, 1977, 146 : 1311-1322.
  11. WILLIAMS AF, GOWANS JL. The presence of IgA on the surface of rat thoracic duct lymphocytes which contain internal IgA. *J Exp Med*, 1975, 151 : 335-345.
- Immunité du tractus digestif
12. ANDRÉ C, LAMBER R, BAZIN H et al. Interference of oral immunization with the intestinal absorption of heterologous albumin. *Eur J Immunol*, 1974, 4 : 701-704.
  13. BAZIN H, LEVI G, DORIA G. Predominant contribution of IgA antibody-forming cells to an immune response detected in extra-intestinal lymphoid tissues of germ-free mice exposed to an antigen by the oral route. *J Immunol*, 1970, 105 : 1049-1051.
  14. BAZIN H, PLATTEAU B. Oral feeding of ovalbumin can make rats tolerant to an intraperitoneal injection of dinitrophenylated ovalbumin and Bordetella pertussis vaccine. *Biochem Soc Trans*, 1977, 5 : 1571-1573.
  15. BESREDKA A. De la vaccination contre les états typhoïdes par la voie buccale. *Ann Immunol (Paris)*, 1919, 33 : 882-903.
  16. CRABBE PA, NASH DR, BAZIN H et al. Antibodies of the IgA type in intestinal plasma cells of germ-free mice after oral or parenteral immunization with ferritin. *J Exp Med*, 1969, 103 : 723-744.
  17. FUBURA ES, FRETER R. Protection against enteric bacterial infection by secretory IgA antibodies. *J Immunol*, 1973, 111 : 395-403.
  18. HANSON DG, VAZ NM, MAIA LCS et al. Inhibition of specific immune response by feeding protein antigens. *Int Arch Allergy*, 1977, 55 : 526.
  19. LUCKEY TD. Introduction to intestinal microecology. *Am J Clin Nutr*, 1972, 25 : 1292-1294.
  20. OWEN RL, JONES AL. Epithelial cell specialization within Peyer's patches: an ultrastructural study of intestinal lymphoid follicles. *Gastroenterology*, 1974, 66 : 189-203.
- Immunité du tractus respiratoire
21. BIENENSTOCK J. Immunology of the lung and upper respiratory tract, New York, McGraw-Hill, 1984, 414 pages.
  22. FANTONE JC, WARD PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocyte-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol*, 1982, 107 : 397-418.
  23. FELS AOS, COHN ZA. The alveolar macrophage. *J Appl Physiol*, 1986, 60 : 353-369.
  24. FOURNIER E, TONNEL AB, GOSSET P et al. Early neutrophil alveolitis after antigen inhalation in hypersensitivity pneumonitis. *Chest*, 1985, 88 : 563-566.
  25. HERSCOWITZ BH. In defense of the lung: paradoxical role of the pulmonary alveolar macrophage. *Ann Allergy*, 1985, 55 : 634-649.
  26. LE J, VILCEK J. Biology of disease. Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest*, 1987, 56 : 234-248.
  27. NEWBALL HH. Immunopharmacology of the lung. New York, Marcel Dekker, 1983.
  28. PINCKARD RN, FARR RS, HANAHAN DG. Physicochemical and functional identity of rabbit platelet-activating factor (PAF) released in vivo during IgE anaphylaxis with PAF released in vitro from IgE sensitized basophils. *J Immunol*, 1979, 123 : 1847-1858.
  29. REYNOLDS HY. Respiratory infections may reflect deficiencies in host defense mechanisms. *Disease-a-month*, February 1985.
  30. SCHERZER H, WARD PA. Lung injury produced by immune complexes of varying compositions. *J Immunol*, 1978, 121 : 947-952.
  31. SHELLITO J, KALTREIDER HB. Heterogeneity of immunological function among subfractions of normal rat alveolar macrophages. *Am Rev Respir Dis*, 1984, 129 : 747-753.
  32. WARD PA, JOHNSON KJ, WARREN JS et al. Immune complexes, oxygen radicals, and lung injury. In : B Halliwell. Oxygen radicals and tissue injury, Upjohn Symposium Proceedings, 1988 : 107-114.
  33. WORTHEN GS, HENSON PM. Mechanisms of acute lung injury. *Clin Lab med*, 1983, 3 : 601-607.
- Immunité du tractus urogénital
34. BARLOW DH. Antisperm antibodies in infertility. *Br Med J*, 1988, 296 : 310-311.
  35. BILLINGHAM RE, BEER AE. Reproductive immunology: past, present and future. *Perspect Biol Med*, 1984, 27 : 259-275.
  36. BIENENSTOCK J, BEFUS AD. Mucosal immunology. *Immunology*, 1980, 41 : 249-270.
  37. PATHAK RC, GERG DN. Immunology of bovine genital mycoplasmosis. *Prog Vet Microbiol Immun*, 1988, 4 : 218-245.
  38. REISS E. In : E Reiss, Molecular Immunology of Mycotic and Actinomycotic Infections. Elsevier Science Publishing, New York, 1986 : 191-239.
  39. WARNOCK DW, RICHARDSON MD. Mechanism of resistance to fungal infection in the non-compromised host. In : Warnock DW and Richardson MD, Fungal Infection in the Compromised Patient, John Wiley, 1982 : 1-28.
  40. WINTER AJ. Microbial immunity in the reproductive tract. *JAVMA*, 1985, 10 : 1069-1073.

P.-P. Pastoret, J. Dubuisson, E. Thiry, J. Wérenne

## RÉSISTANCE ENVERS LES VIRUS

Les virus, pour se multiplier, doivent infecter des cellules vivantes, procaryotes ou eucaryotes, capables d'effectuer des biosynthèses. Le monde des virus est très diversifié et les stratégies de multiplication que ceux-ci ont développées varient considérablement selon la nature de l'acide nucléique viral (ADN ou ARN; mono- ou bicaténaire, de polarité positive ou négative) et la nature de la cellule infectée. Nous n'envisagerons dans ce chapitre que les virus qui infectent des animaux vertébrés.

Du fait de la multiplication intracellulaire obligée des virus, les mécanismes de la réponse immune s'adresseront soit au virus en phase extracellulaire, soit en phase intracellulaire, en cours de multiplication. Les mécanismes disponibles vont pour certains intervenir très précocement, pour d'autres plus tardivement. Ainsi le mécanisme d'interférence qui s'installe très rapidement à la suite de la multiplication virale joue vraisemblablement un rôle déterminant pour maintenir celle-ci dans des limites supportables par l'organisme lorsqu'il affronte une infection à ses

débuts pour la première fois. Les différents mécanismes de la réponse immune lors d'infections virales agissent en effet souvent de manière distincte, mais de concert et selon une certaine séquence.

Lorsqu'un animal subit une infection primaire, les mécanismes spécifiques de la réponse immune n'étant pas installés, l'infection aboutit très souvent à une maladie, mais peut cependant passer inaperçue. L'animal va dans ce cas davantage solliciter des mécanismes qui font intervenir l'immunité non spécifique; ainsi la neutralisation virale par les anticorps (IgM) sera fortement tributaire du complément à l'issue d'une infection primaire et beaucoup moins à l'issue d'une infection secondaire (IgG). Les mécanismes de défense immune humorale et à médiation cellulaire vont également intervenir de manière distincte et séquentielle; la réponse immune spécifique produite par les lymphocytes T est décelable 4 à 6 jours après la généralisation d'une infection systémique, au moment où la multiplication virale décroît. Par contre, les anticorps spécifiques ne

sont généralement détectables qu'après l'élimination du virus. Alors que la réponse immune spécifique des lymphocytes T ne dépend pas du mode d'entrée du virus dans l'organisme, la réponse en anticorps spécifiques varie selon la localisation de l'infection : IgA au niveau des muqueuses, IgG et IgM dans la circulation. En outre des travaux récents ont montré que les premières étapes du cycle de multiplication virale dans la cellule eucaryote jouent également un rôle crucial dans la nature de la réponse immune développée par l'animal.

Compte tenu de tous ces facteurs, il est difficile de comprendre la nature de l'immunité antivirale protectrice sans rappeler quelques notions de pathogénie de l'infection virale tant au niveau cellulaire qu'au niveau de l'organisme. Il faut également évoquer comment le virus peut dans certains cas échapper au contrôle exercé par la réponse immune.

La nature du virus, et tout particulièrement de ses déterminants antigéniques, intervient également pour orienter la réponse immune; une part importante de ce chapitre sera dès lors consacrée à la description des virus animaux et de leurs antigènes. Il faut également garder à l'esprit que la plupart des infections virales sont très spécifiques et que les différentes espèces animales ne peuvent être infectées que par un nombre très limité de virus et sont donc naturellement réfractaires à l'infection par la majorité des autres (voir chapitre 65). Enfin, l'organisme reconnaît les antigènes viraux indépendamment des mécanismes potentiels d'immunité antivirale; ainsi les anticorps impliqués dans le diagnostic d'une infection peuvent différer de ceux intervenant dans la protection. La cinétique de la réponse de l'organisme aux divers antigènes viraux peut notamment être étudiée par la technique de l'immunotransfert.

## **PATHOGÉNIE DES MALADIES VIRALES**

La première relation qui s'établit entre le virus et l'animal est la reconnaissance mutuelle du virus et des cellules sensibles. La sensibilité de la cellule dépend de la présence de récepteurs spécifiques du virus, exposés à la surface de sa membrane plasmique. L'état réfractaire est une situation génétique où l'hôte ne possède pas les

récepteurs membranaires qui peuvent être reconnus par le virus infectant. Le contrôle épigénétique permet de limiter cette sensibilité à certains tissus de l'organisme. Une cellule réfractaire à l'infection peut cependant être permissive dans la mesure où elle peut être capable de multiplier certains virus auxquels elle est naturellement insensible; ainsi, des cellules fibroblastiques d'embryon de poulet sont parfaitement capables de multiplier le virus de la poliomyélite humaine après transfection, mais pas après simple infection. Sensibilité et permissivité cellulaires sont deux propriétés indépendantes l'une de l'autre. Il peut exister, pour un même virus des cellules sensibles mais non permissives et à l'inverse, des cellules insensibles et pourtant permissives.

L'infection réussie est suivie d'une multiplication du virus au niveau de l'organe d'entrée de l'infection (site de multiplication primaire). L'infection peut rester cantonnée à cet organe d'entrée ou se disséminer par la suite. Plusieurs infections (ou maladies) virales ont pour siège le site primaire d'infection, l'ecthyma contagieux du mouton en est un bon exemple. Dans d'autres infections, les deux possibilités existent : soit le virus se cantonne au site primaire d'infection, soit après un premier cycle de multiplication, il se distribue dans tout l'organisme ou dans un autre organe (maladie de Carré par exemple). La première situation est souvent rencontrée lors d'infections secondaires.

L'extension de l'infection peut se faire par contiguïté de tissu : par exemple le virus herpès qui emprunte la voie intra-axonale au départ de la muqueuse infectée pour atteindre le ganglion nerveux sensible correspondant; par virémie libre comme dans le cas de la fièvre aphteuse ou associée aux cellules sanguines (maladie des muqueuses chez le bovin, maladie de Carré chez le chien). Un cas particulier est celui de l'infection des cellules immunocompétentes. Les répercussions de ce type d'infection sur la réponse immune se traduisent par des perturbations variées, allant de la leucopénie passagère (maladie de Carré, parvovirose canine ou féline) au syndrome d'immunodéficience (rétrovirus responsable du syndrome d'immunodéficience acquise féline (SIDAF) ou du SIDA chez l'homme).

La pathogénie et les limites d'une infection virale vont donc en partie dépendre du tropisme du virus envers les cellules et les tissus sensibles, mais également, dans une très large mesure, de la réponse immune.

## INFECTIONS VIRALES PERSISTANTES

Certains virus ont élaboré des stratégies très particulières pour persister dans l'organisme infecté durant de très longues périodes et souvent pendant toute la vie de l'individu. Ces virus ont ainsi résolu le problème d'esquiver la réponse immune par la réponse immune de l'hôte et sont à l'origine du portage asymptomatique [13].

### LATENCE DES HERPÈSVIRUS

La latence est une propriété commune à tous les herpèsvirus, qui leur permet de persister indéfiniment chez l'hôte après une infection primaire ou secondaire. Les mécanismes d'établissement et de maintien de l'état latent sont encore imparfaitement connus au niveau moléculaire. Chez le virus de l'herpès simplex, seule une partie très réduite du génome viral est transcrite durant la phase de latence, mais aucun polypeptide viral n'est synthétisé. La cellule qui supporte l'infection latente n'exhibe donc pas de séquences peptidiques virales et échappe aux cellules T cytotoxiques. Néanmoins, les mécanismes de latence peuvent varier selon les herpèsvirus étudiés et ce terme de latence n'a certainement pas la même signification pour chacun d'eux. Le système immunitaire exerce cependant un contrôle sur les accès de réexcrétion de ces virus [12, 14, 18].

### PERSISTANCE DES RÉTROVIRUS

Les rétroviridæ provoquent des infections persistantes avec intégration du génome proviral dans le génome des cellules infectées. Le provirus peut rester à l'état latent durant de très nombreuses années sans être exprimé (virus de la leucémie féline). Dans le cas du virus Visna-Maedi, il y a une virémie constante, associée à de hauts titres en anticorps circulants. Ce paradoxe semble avoir été résolu en 1982 avec la découverte de l'apparition successive de virus porteurs d'antigènes différents. Une autre possibilité est la faible affinité des anticorps spécifiques retrouvés chez les animaux infectés de manière persistante. L'infection du chat maintenu en chatterie par le

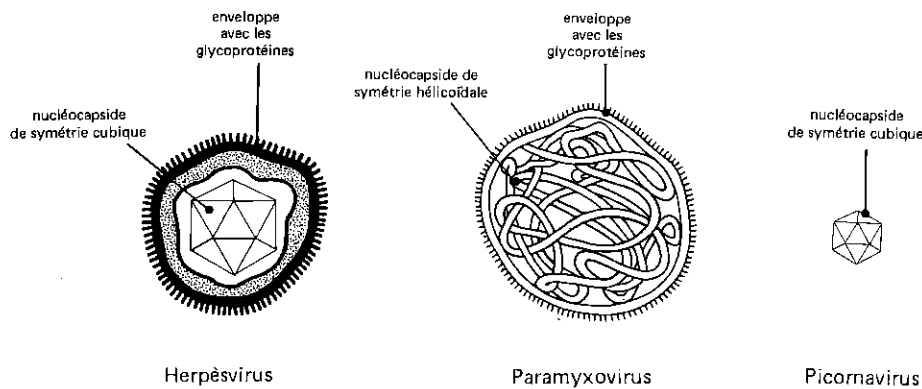
virus de la leucémie féline est suivi dans 40 p. cent des cas par un état de virémie persistante : 85 p. cent de ces animaux meurent dans un délai de 3,5 ans après l'infection. Parmi les chats qui ne deviennent pas virémiques persistants après primo-infection, certains ont complètement éliminé le virus, d'autres le conservent à l'état latent dans les cellules de la moelle osseuse. Dans les deux cas, l'animal est protégé contre une réinfection ultérieure. L'immunodépression est la conséquence la plus fréquente de l'infection par ce virus (rôle de la protéine p15E). Elle résulte d'un défaut de l'immunité cellulaire et probablement de la fonction des cellules T auxiliaires.

### INFECTIONS PERSISTANTES PAR LES PESTIVIRUS

Le mode de persistance des pestivirus est tout à fait différent, car il est lié au passage de la barrière placentaire durant la période d'acquisition de la tolérance (voir chapitre 12). Le virus est reconnu comme un élément du soi par le fœtus, tout au moins si sa virulence est réduite. Pour le virus de la maladie des muqueuses, cela signifie qu'une souche virale non cytopathogène est capable de s'installer de manière persistante chez le fœtus bovin. Le même type de relation s'établit entre le virus de la maladie de Border et l'agneau. Le veau naît infecté et conserve la faculté de s'immuniser contre les déterminants antigéniques portés par d'autres souches du même virus qui diffèrent de celui qu'il héberge déjà [15]. Le virus infecte les quatre groupes cellulaires majeurs du sang : principalement les cellules T, les monocytes, les cellules non B, non T et, dans une moindre mesure, les cellules B [2].

### ANTIGÈNES VIRAUX

Les virions sont constitués d'acide nucléique, ADN ou ARN, protégé par un ensemble organisé de protéines, la capsid. Les virus enveloppés possèdent en outre une enveloppe externe, constituée d'une double couche de phospholipides, qui est acquise aux dépens d'une membrane cellulaire. Sur cette enveloppe sont ancrées des glycoprotéines spécifiques du virus. Tous les constituants



**Figure 21-1** Structure de quelques virus animaux. Les virus herpès et les Paramyxovirus possèdent une enveloppe qui entoure la nucléocapside. Les Picornavirus sont parmi les plus petits virus animaux. Leur nucléocapside est nue.

polypeptidiques du virus sont des antigènes potentiels. L'analyse tridimensionnelle comparée de virus végétaux et animaux a montré que les virus animaux présentent une configuration beaucoup plus complexe à leur surface; cette plus grande complexité pourrait résulter de la pression de sélection exercée par la réponse immune. Leur importance relative vis-à-vis de la réponse immune diffère néanmoins en fonction de leur accessibilité (Fig. 21-1).

Les antigènes viraux les plus accessibles pour la neutralisation sont les protéines externes du virion. Celles-ci sont impliquées dans l'attachement et la pénétration du virion dans la cellule infectée. Ces protéines sont soit des protéines de capsid, soit des glycoprotéines pour les virus enveloppés. Certains virus non enveloppés possèdent aussi des glycoprotéines à la surface de leur capsid (par exemple, les rotavirus). Ces antigènes de surface sont les plus exposés aux variations antigéniques et contribuent à l'antigénicité de type. Les protéines de capsid des virus enveloppés et les protéines internes de capsid pour les virus non enveloppés sont les antigènes viraux internes, dont les propriétés antigéniques sont beaucoup plus stables. Ces protéines rendent compte de l'antigénicité de groupe.

D'un point de vue fonctionnel, les protéines de surface impliquées de façon majeure dans la neutralisation peuvent exercer diverses fonctions, dont celle d'antirécepteur chargé de reconnaître spécifiquement les récepteurs membranaires des cellules sensibles, mais elles peuvent également intervenir dans le processus de pénétration ou

jouer un rôle enzymatique, comme la neuraminidase des orthomyxoviridae. Enfin, elles peuvent se présenter à la surface des cellules infectées.

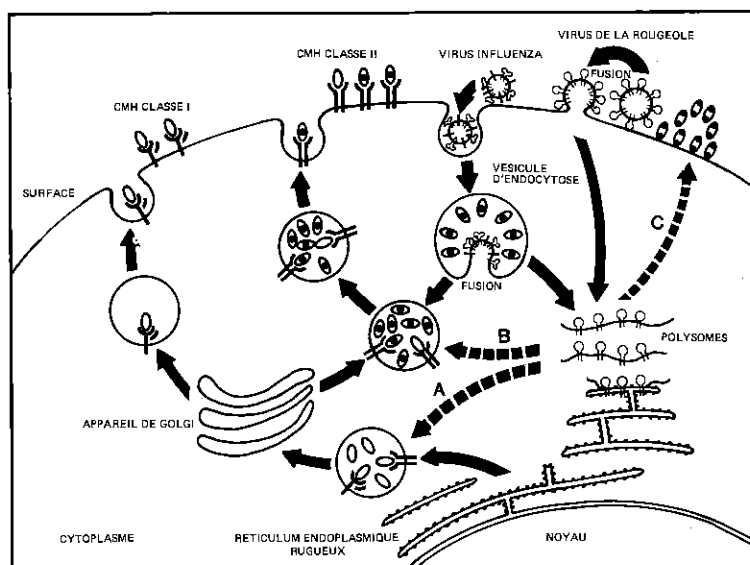
La réponse immune à médiation cellulaire reconnaît à la fois des antigènes externes et internes du virion. Le mode de présentation des antigènes viraux revêt une importance fondamentale pour la réponse immune cytotoxique. Cette réponse dépend du traitement (processing) de l'antigène viral par la cellule infectée (activité cytotoxique), ou par la cellule présentatrice d'antigènes (différenciation des précurseurs des cellules Tc) qui permet de révéler des séquences peptidiques spécifiques de l'antigène couplées aux molécules du CMH. Ce traitement diffère selon que la réponse cytotoxique est restreinte par le CMH de classe I ou de classe II, comme cela a été décrit pour l'hémagglutinine du virus influenza A humain [11].




Dans ce contexte, la voie d'entrée du virus dans la cellule infectée, première étape du cycle de multiplication virale, est un élément déterminant. L'entrée du virus dans la cellule se produit selon deux mécanismes majeurs : soit la fusion, indépendante du pH, entre la membrane plasmique et l'enveloppe d'un virus qui possède une glycoprotéine de fusion (par exemple, le virus de la rougeole, un paramyxovirus), soit l'endocytose par l'entremise des récepteurs où, dans le cas des virus enveloppés, la fusion se produit dans le compartiment acide de l'endosome (par exemple, le virus grippal) (Fig. 21-2). Le modèle actuellement proposé suggère que les antigènes viraux traités dans les endosomes interagissent avec les

Figur  
prot  
sépa  
imm  
mem  
Dan  
géné  
anti  
nota  
class  
fléch  
surfa

mol  
anti  
pén  
ass  
anti  
dan  
cou  
form  
[8]  
olig  
ren  
tale  
viru  
les  
cyt  
de s  
stru  
imm  
rég





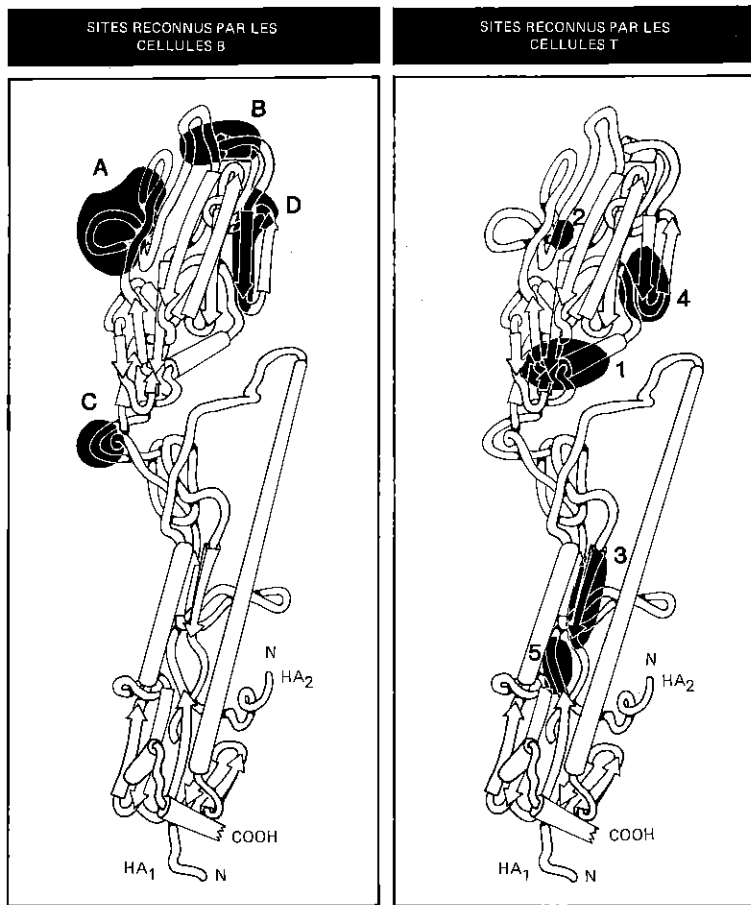
**Figure 21-2** Relation entre le mode de pénétration du virus dans la cellule et le traitement des antigènes viraux. La synthèse des protéines du CMH de classe I et de classe II est décrite par des flèches pleines. Il n'y a pas de preuve directe de compartiments séparés pour le transport des protéines du CMH de classes I et II vers la surface cellulaire, mais il y a des évidences immunologiques. Le mode de pénétration des virus est montré par des flèches pleines. Le virus influenza fusionne avec une membrane cellulaire dans une vésicule d'endocytose et le virus de la rougeole fusionne avec la membrane cellulaire de surface. Dans les deux cas l'ARN messager viral est traduit au niveau des polysomes et du reticulum endoplasmique rugueux. Les peptides générés par le traitement des antigènes viraux dans le compartiment acide de la vésicule d'endocytose (ovale ) sont associés aux antigènes du CMH de classe II. Le traitement endogène des protéines virales transmembranaires synthétisées dans la cellule est notamment réalisé par l'appareil de Golgi. Les peptides ainsi générés (ovales ouverts ) sont associés aux antigènes du CMH de classe I. Les voies de traitement des protéines cytoplasmiques sont inconnues mais les voies possibles sont indiquées par les flèches pointillées. Elles peuvent envoyer des peptides traités dans les compartiments cellulaires (voir A et B) ou directement à la surface cellulaire (voir C, ovales ) [8].

molécules du CMH de classe II. Par contre, les antigènes viraux provenant de virus qui ont pénétré par fusion indépendante du pH seraient associés aux molécules du CMH de classe I. Ces antigènes, comme toute protéine virale synthétisée dans la cellule infectée, subissent un traitement au cours de la biosynthèse et s'associent sous la forme de petits peptides aux molécules du CMH [8] (voir Fig. 21-2). La taille minimale de ces oligopeptides est de 5 acides aminés. Ce modèle rend compte des différences observées expérimentalement dans la réponse cytotoxique envers des virus différents. Il explique également pourquoi les antigènes viraux reconnus par la réponse cytotoxique ne sont pas uniquement des protéines de structure du virus, mais aussi des protéines non structurales, par exemple des protéines précoces immédiates (immediate early) intervenant dans la régulation d'expression des gènes viraux, qui sont

présentes dans la cellule infectée, mais absentes du virion.

### GLYCOPROTÉINES VIRALES

L'hémagglutinine des virus influenza A (Orthomyxoviridae) est probablement la glycoprotéine virale la mieux étudiée (Fig. 21-3). Les variations antigéniques de l'hémagglutinine sont à l'origine des épidémies de grippe humaine : bénignes dans le cas de dérive antigénique, graves dans le cas de cassure antigénique résultant d'une modification profonde des caractéristiques antigéniques de la molécule. La comparaison des séquences nucléotidiques codant pour des hémagglutinines de plusieurs virus influenza a démontré l'existence de quatre sites variables dans la séquence peptidique [22]. Une substitution d'un acide aminé au moins



**Figure 21-3** Structure tridimensionnelle de l'hémagglutinine du virus influenza. Cette glycoprotéine d'enveloppe se présente sous la forme d'un trimère à la surface de l'enveloppe virale. Les sites de reconnaissance par les cellules B et par les cellules T diffèrent et sont indiqués dans le monomère. Les sites reconnus par les cellules B sont tous disposés dans la partie globulaire externe du monomère (d'après Male, Champion et Cooke, *Advance Immunology*).

au niveau des quatre sites est nécessaire pour une dérive antigénique. La cassure antigénique suppose des modifications plus profondes de la séquence de l'hémagglutinine.

La structure tridimensionnelle de l'hémagglutinine offre un exemple de glycoprotéine membranaire comportant trois domaines : le premier, hydrophile et glycosylé, se présente à la surface externe de la membrane; le deuxième est un petit peptide non chargé, hydrophobe, de 24 à 28 acides aminés, qui traverse la membrane; le troisième est un petit domaine hydrophile (10 à 55 acides aminés) à la face interne de la membrane [24]. Le site récepteur, les sites de liaison aux anticorps et le site impliqué dans la fusion se situent dans le premier domaine. Les sites de reconnaissance par les cellules T sont placés à d'autres endroits de la molécule (voir Fig. 21-3).

L'hémagglutinine joue le rôle d'antirécepteur

qui reconnaît spécifiquement le récepteur cellulaire. L'analyse tridimensionnelle du site de liaison de l'hémagglutinine à son récepteur a montré qu'il se situe dans une petite dépression du domaine le plus externe de la molécule. Cette poche d'acides aminés est entourée des sites de liaison aux anticorps. Cette proximité suggère que les anticorps neutralisants agissent en empêchant l'attachement du virus au récepteur cellulaire par inhibition stérique.

#### PROTÉINES DE CAPSIDE

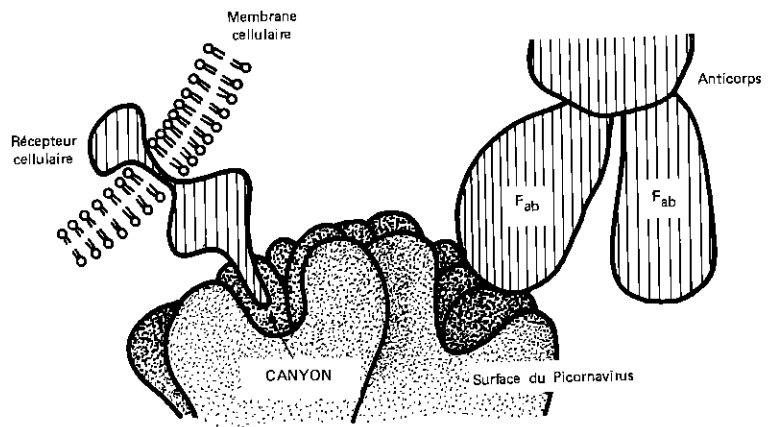
Seuls 10 p. cent des cellules T cytotoxiques induites par l'infection due au virus influenza sont dirigées contre les glycoprotéines de surface. La grande majorité reconnaît les protéines internes du virus. La réponse cytotoxique dirigée contre la

Figure nucléocanyo laquell perme récept d'attach d'attei virus 1987).

nuclé virus infec l'imp tion Le antig virus famil capsu la pr prése Les souc VP1.

Figure récept des str varier permis

**Figure 21-4** Détail de la surface de la nucléocapside des picornavirus. Le canyon est une dépression dans laquelle se situe l'antirécepteur qui permet l'attachement du virion au récepteur de la cellule sensible. Le site d'attachement du virus serait donc hors d'atteinte des anticorps spécifiques du virus (d'après Rossman et Ruckert, 1987).



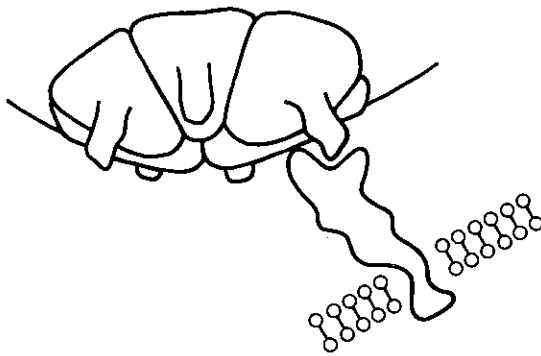
nucléoprotéine (NP), la protéine de capsid du virus influenza, protège la souris contre une infection létale. Ceci démontre clairement l'importance des protéines internes dans l'induction de la réponse immunitaire antivirale [16].

Les protéines de capsid constituent aussi les antigènes externes des virus non enveloppés. Le virus de la fièvre aphteuse, appartenant à la famille des Picornaviridæ, possède 4 protéines de capsid (Planche couleur, Fig. 2). Parmi celles-ci la protéine VP1 est la plus immunogène. Ce virus présente 7 sérotypes et de nombreux sous-types. Les variations antigéniques observées entre les souches virales sont supportées par la protéine VP1. L'injection de peptides synthétiques repré-

sentant les sites où les variations d'acides aminés entre sérotypes viraux sont les plus importantes (résidus 146 à 154 et 201 à 213) est capable d'induire la production d'anticorps neutralisants et, dans certains cas, de protéger ultérieurement l'animal contre l'épreuve virulente. La structure tridimensionnelle du virus de la fièvre aphteuse a été résolue à 2,9 Å [1]. Elle révèle que la capsid ne possède pas les canyons caractéristiques d'autres picornavirus (Fig. 21-4), dans lesquels se trouve le site d'attachement (Fig. 21-5). La partie immunogénique de la capsid se présente comme une protubérance désordonnée à la surface du virion.

### PROTÉINES NON STRUCTURALES

La réponse cytotoxique dirigée contre les herpèsvirus, virus enveloppés à ADN bicaténaire, est induite par un grand nombre de protéines virales. Parmi celles-ci, les polypeptides viraux induits exprimés précocement dans le cycle de multiplication virale sont des cibles non négligeables. Ces protéines précoces immédiates sont en effet les cibles d'une part importante de la spécificité clonale des cellules T cytotoxiques. Synthétisées dans la cellule très précocement après son infection, elles subissent un traitement qui génère des oligopeptides. Ces derniers, couplés aux protéines du CMH de classe I, sont présentés à la surface de la cellule infectée. La cellule exhibe donc des déterminants antigéniques spécifiques du virus bien avant l'accomplissement du cycle de multiplication virale.



**Figure 21-5** Dans le cas du virus de la fièvre aphteuse, le récepteur cellulaire se lie à des résidus critiques situés au sein des structures superficielles très flexibles et dont les séquences varient fortement (d'après Ravindra Acharya, avec permission).

## RÔLE DES ANTICORPS ET DU COMPLÉMENT

Les anticorps dirigés contre les antigènes viraux peuvent intervenir dans différents mécanismes de lutte antivirale. L'importance relative de ces différents moyens de lutte humorale dépend étroitement de la biologie de l'infection virale.

### MÉCANISMES D'ACTION DIRIGÉS CONTRE LES VIRIONS EN PHASE EXTRACELLULAIRE

#### Neutralisation

La neutralisation virale est la perte du pouvoir infectieux du virion après liaison avec un anticorps neutralisant. Elle est le résultat de l'interaction entre le virus, l'anticorps et la cellule hôte (Fig. 21-6).

La neutralisation intervient soit dans les premières étapes du cycle de multiplication virale (attachement, pénétration, décapsidation et transcription du génome viral) soit, pour certains virus, lors de leur sortie en milieu extracellulaire. Les anticorps qui empêchent l'attachement bloquent l'accès de la protéine virale d'attachement au récepteur cellulaire (blocage par liaison au site

viral d'attachement, par encombrement stérique ou par modification allostérique de la protéine virale d'attachement). Certains anticorps monoclonaux neutralisant le poliovirus induisent l'agrégation de particules virales et réduisent ainsi chaque agrégat à une unité infectieuse. Un cas plus particulier est celui de la neutralisation du virus de la fièvre aphteuse par un anticorps monoclonal qui induit des altérations conformationnelles du virus provoquant la perte de l'ARN génomique. Le virus ainsi neutralisé apparaît sous forme de « particules vides » en microscopie électronique. Des anticorps neutralisant les virus enveloppés peuvent bloquer la pénétration en inhibant la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane soit de la cellule, soit d'un endosome selon le mode de pénétration virale (Fig. 21-7). Le blocage de la décapsidation a été invoqué pour des virus non enveloppés et le blocage de la transcription du génome est décrit pour le virus influenza [4]. Certains virus enveloppés ont la propriété d'induire la fusion cellulaire en cours de multiplication et peuvent ainsi infecter les cellules voisines du site initial d'infection sans obligatoirement passer par une phase extracellulaire. Des anticorps dirigés contre des épitopes situés sur les glycoprotéines responsables de cette fusion peuvent inhiber la propagation du virus en culture cellulaire.

La neutralisation est également influencée par l'isotype de l'anticorps impliqué. Ainsi, des anticorps de classes différentes peuvent neutraliser le même virus par des mécanismes différents.

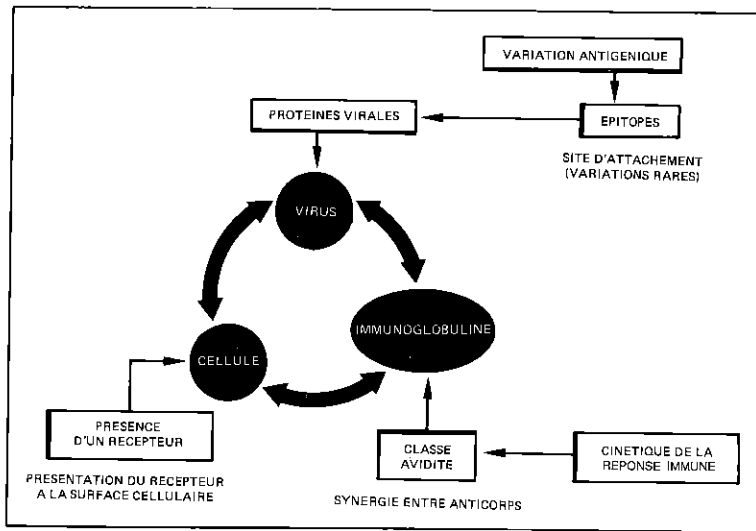


Figure 21-6 Diverses interactions entre virus, cellule et immunoglobuline mènent au phénomène de neutralisation virale.

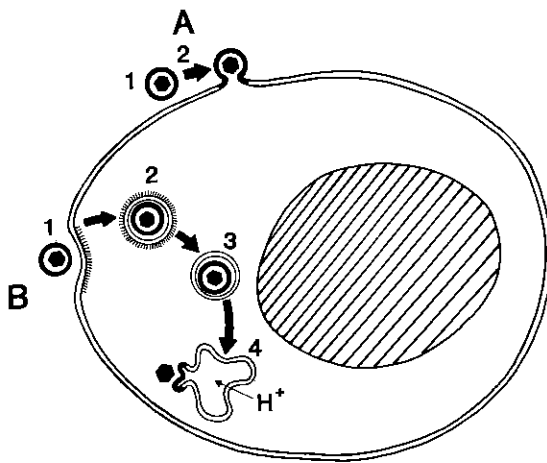
Fig  
diff  
viru  
A :  
l'en  
neut  
B :  
anti  
fusio

L'av  
l'eff  
neut  
temp  
crois

Titre en anticorps neutralisants

1<sup>re</sup>

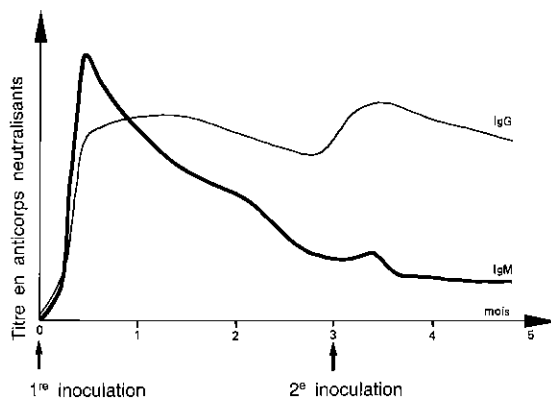
Figure  
sants  
après  
après  
et Pot



**Figure 21-7** La neutralisation virale peut se produire à différents stades de l'initiation du cycle de multiplication des virus enveloppés.

A : Lorsque la pénétration du virus est réalisée par fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire, les anticorps neutralisants peuvent inhiber l'attachement (1) ou la fusion (2). B : Lorsque le virus pénètre par endocytose adsorptive, les anticorps neutralisants empêchent l'attachement du virus (1), la fusion avec la membrane de l'endosome (2, 3, 4).

L'avidité de l'anticorps peut également modifier l'efficacité de la neutralisation virale. L'activité neutralisante d'un sérum évoluera au cours du temps avec l'apparition d'anticorps d'avidité croissante et de classes différentes (Fig. 21-8).



**Figure 21-8** Cinétique de la réponse en anticorps neutralisants de la classe des IgM (trait gras) et des IgG (trait fin) après une première inoculation par le *Bovine herpesvirus-1* et après une seconde inoculation par le même virus (d'après Guy et Potgieter, 1985).

Deux anticorps, non neutralisants par eux-mêmes, peuvent agir en synergie et, associés, provoquent la neutralisation virale.

Le mécanisme de neutralisation peut également varier selon la lignée cellulaire. Dans le cas extrême, le virus impliqué dans la réaction antigène-anticorps conserve son caractère infectieux pour une lignée cellulaire et est neutralisé dans une autre. Le récepteur cellulaire peut donc jouer un rôle-clé dans la neutralisation virale. Par exemple le marqueur CD4 des lymphocytes T est un composant essentiel du récepteur cellulaire du virus du syndrome d'immunodéficience acquise chez l'homme. Des anticorps monoclonaux dirigés contre ce marqueur bloquent l'attachement du virus et préviennent ainsi l'infection subséquente. Des formes solubles de cet antigène bloquent l'infectivité virale par compétition avec le récepteur présent sur les cellules sensibles et agissent en tant qu'agent antiviral [20].

### Neutralisation dépendant du complément

Le complément peut neutraliser des complexes virus-anticorps ou augmenter la capacité neutralisante d'un anticorps sans même nécessiter une activation complète de sa cascade. Il augmente la neutralisation virale par enveloppement du virus ou agrégation du complexe virus-anticorps, ce qui inhibe les étapes d'adsorption ou de pénétration virale par encombrement stérique; il peut également solubiliser le complexe virus-anticorps ou induire des changements conformationnels de l'antigène par adhésion à l'immun-complexe. Le complément neutralise aussi certains virus (rétrovirus) en l'absence d'anticorps; une des protéines virales jouerait le rôle de récepteur pour le fragment C1q.

### Opsonisation

Quand un anticorps se lie à un virus, l'immun-complexe formé peut être phagocyté par les macrophages ou les polynucléaires neutrophiles (opsonisation). L'anticorps ne doit pas nécessairement être neutralisant pour être opsonisant. La phagocytose se produit grâce à la présence du récepteur Fc pour les immun-complexes et du récepteur C3b pour les complexes antigène-anticorps-complément.

## MÉCANISMES D'ACTION DIRIGÉS CONTRE LES CELLULES INFECTÉES

### Cytotoxicité complément-dépendante

Les cellules infectées par la majorité des virus étudiés, peuvent induire l'activation de la cascade du complément par la voie alterne, mais il existe des exceptions comme celle du virus de la peste porcine africaine. Ce phénomène n'est pas dépendant de la présence d'anticorps, mais l'addition d'IgG sur les glycoprotéines virales augmente la quantité de C3 fixée aux cellules et conduit à la lyse cellulaire alors qu'en son absence, il n'y a généralement pas de lyse. Le mécanisme qui permet d'expliquer l'augmentation de l'activité lytique n'est pas connu, mais celle-ci n'est pas due à une activation de la voie classique. La quantité d'anticorps nécessaire à la lyse cellulaire et la densité des épitopes exposés sur la cellule infectée sont des éléments importants. La fixation du complément va induire la lyse de la cellule cible mais cette réaction nécessite la présence d'un nombre de molécules d'anticorps beaucoup plus élevé qu'en cas de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendant des anticorps.

### Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps

Les leucocytes possédant des récepteurs Fc ou C3b peuvent induire la lyse des cellules infectées par l'intermédiaire d'anticorps seuls ou en présence de complément. Les principaux effecteurs de la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps sont les cellules tueuses naturelles (cellules NK), les macrophages et les polynucléaires neutrophiles qui possèdent tous des récepteurs Fc. Le nombre de ces récepteurs Fc augmente sous l'influence de l'interféron  $\gamma$ .

### Action facilitante des anticorps

A l'inverse de ce qui vient d'être décrit, certains anticorps peuvent augmenter l'infektivité du virus lorsque les cellules réceptrices possédant des récepteurs Fc sont sensibles à l'infection (ex. : macrophages); l'anticorps joue dans ce cas le rôle d'anti-récepteur et le virus pénètre dans la cellule par endocytose adsorptive. Un autre mécanisme d'interférence avec l'action des anticorps est

observé dans certaines infections à herpèsvirus; les cellules infectées par le virus de l'herpès simplex développent des récepteurs Fc à leur surface. La partie constante des anticorps dirigés contre les glycoprotéines virales exposées à la surface des cellules infectées sera captée par ces récepteurs, ce qui empêchera l'activation des mécanismes immunitaires dépendant de la partie constante de l'immunoglobuline.

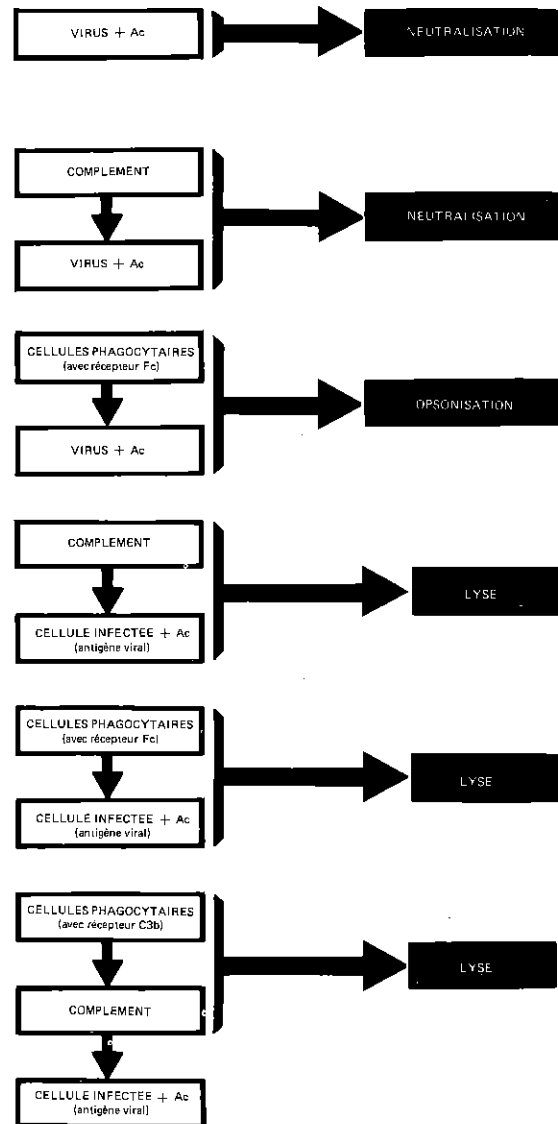


Figure 21-9 Les différents mécanismes par lesquels les anticorps protègent l'organisme contre une infection virale.

## ACTION PROTECTRICE DES ANTICORPS

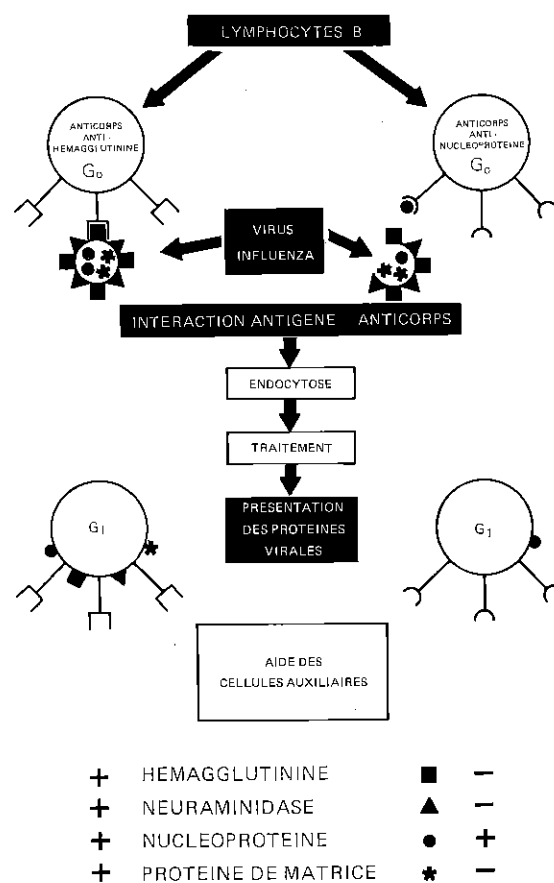
Certains anticorps neutralisants *in vitro* peuvent ne pas avoir d'effet protecteur *in vivo* alors que d'autres ont une activité antivirale *in vitro* et *in vivo*. En outre, dans ce dernier cas, ils peuvent avoir un titre neutralisant (effet protecteur) plus élevé *in vivo* qu'*in vitro*; leur action s'exerce donc également par l'intermédiaire d'autres mécanismes comme la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps, la cytotoxicité à médiation par le complément ou l'opsonisation (Fig. 21-9). Qui plus est, des anticorps ne présentant aucune activité neutralisante *in vitro* peuvent conférer une protection *in vivo*.

L'immunité humorale peut ainsi jouer un rôle déterminant dans la protection contre les infections virales, comme cela est particulièrement bien mis en évidence chez le nouveau-né passivement protégé par les anticorps d'origine maternelle.

## RÔLE DES CELLULES T

### CELLULES AUXILIAIRES (Ta)

Les cellules T auxiliaires (Ta) ( $CD4^+/CD8^-$ ) sont stimulées par les cellules présentatrices d'antigènes et peuvent activer les cellules B et Tc. Dans l'infection par le virus influenza, on distingue des sous-populations spécifiques ou non des sous-types viraux; 37 p. cent réagissent avec la protéine de matrice, 45 p. cent avec la neuraminidase, 9 p. cent avec la nucléoprotéine et 9 p. cent avec l'hémagglutinine [10]. Les cellules B reconnaissant des protéines de surface, hémagglutinine ou neuraminidase, reçoivent l'aide de cellules Ta spécifiques de n'importe laquelle des protéines virales majeures de structure. On assiste donc à une collaboration intermoléculaire (Fig. 21-10). Par contre, les cellules B répondant aux protéines internes, protéine de matrice et nucléoprotéine, ne reçoivent pratiquement que l'aide des cellules Ta de même spécificité protéique. Les cellules B spécifiques des protéines virales externes présenteraient à leur surface toutes les protéines majeures de structure du virus lorsqu'elles ont capté au préalable un virus complet. Toutes les protéines du virion sont alors



**Figure 21-10** Réactivité intermoléculaire entre les cellules T et B spécifiques du virus influenza. Les cellules B spécifiques de l'hémagglutinine (ou de tout autre déterminant antigénique accessible aux immunoglobulines de surface des cellules B) peuvent reconnaître cette protéine exposée à la surface d'un virion intact. Ces cellules vont alors traiter toutes les protéines virales et présenter à leur surface des déterminants antigéniques de ces protéines en association avec les molécules du CMH de classe II. Elles recevront l'aide des cellules Ta reconnaissant une des protéines structurales majeures du virus influenza (partie gauche du schéma). Les cellules B spécifiques de la nucléoprotéine (ou d'une autre protéine interne) ne vont reconnaître cette protéine que sous sa forme libre. Elles ne vont alors traiter et présenter à leur surface que les déterminants antigéniques de cette protéine; elles ne recevront donc l'aide que des cellules Ta de la même spécificité protéique (partie droite du schéma) (d'après [17]).

traitées et les déterminants antigéniques sont exposés à la surface cellulaire en association aux antigènes du CMH de classe II. Ceci permet aux cellules B d'interagir avec les cellules Ta spécifi-

herpèsvirus;  
de l'herpès  
Fc à leur  
rps dirigés  
osées à la  
ée par ces  
vation des  
e la partie

RALISATION

RALISATION

ONISATION

LYSE

LYSE

LYSE

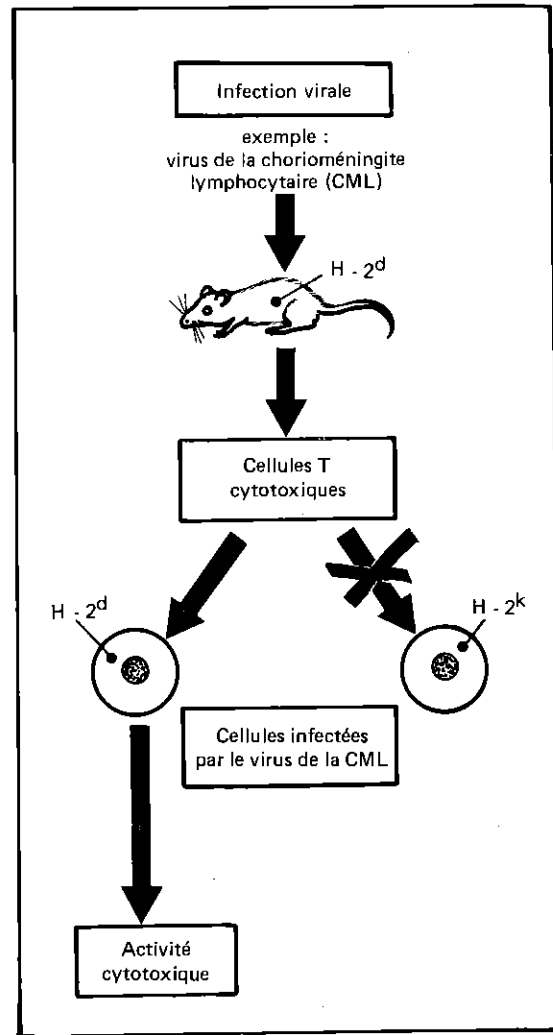
lesquels les  
ection virale.

ques de n'importe laquelle des protéines virales. Les cellules B qui reconnaissent des protéines virales internes accessibles aux immunoglobulines réceptrices des cellules B sous forme de protéines libres présenteraient seulement la protéine pour laquelle elles sont spécifiques et ne pourraient par conséquent recevoir l'aide que des cellules Ta de même spécificité [17].

### RÉPONSE CYTOTOXIQUE (Tc)

Les cellules Tc cytotoxiques ( $CD4^-/CD8^+$ ) interviennent dans l'élimination des cellules infectées qui expriment des antigènes étrangers en association avec les antigènes du CMH de classe I du même haplotype (Fig. 21-11) [25]. Des cellules  $CD4^+/CD8^-$  peuvent également présenter une action cytotoxique vis-à-vis de cellules présentant des antigènes en association avec des molécules du CMH de classe II. Les cellules Tc induisent la lyse de leurs cellules-cibles; elles interviennent également par l'entremise de l'interféron  $\gamma$  qui possède une activité antivirale. Celui-ci entraîne une augmentation du nombre d'antigènes de classe I sur les cellules-cibles, les rendant plus sensibles aux cellules Tc. De plus, l'interféron  $\gamma$  peut également activer les cellules NK qui produisent une lyse non spécifique. Les cellules Tc sécrètent aussi d'autres lymphokines qui induisent la réponse inflammatoire. Les pré-curseurs des cellules Tc n'ont aucune activité lytique; ils se différencient en cellules lytiques après stimulation par des cellules qui présentent l'antigène en association avec une molécule du CMH de classe I (Fig. 21-12) ou de classe II selon que la cellule Tc est  $CD8^+$  ou  $CD4^+$ .

Les cellules Tc reconnaissent des épitopes portés par des glycoprotéines virales de surface mais également des épitopes présents sur des protéines internes. C'est ainsi que la cible principale des cellules Tc dirigées contre le réovirus est l'hémagglutinine (une glycoprotéine de surface); par contre, 90 p. cent des cellules Tc dirigées contre le virus de l'influenza sont spécifiques des protéines internes. La localisation des épitopes reconnus par les cellules Tc peut différer de celle des épitopes reconnus par les anticorps (voir Fig. 21-3). Les cellules Tc présentent un certain degré d'immunité hétérotypique lorsqu'elles sont dirigées contre des épitopes présents sur les protéines internes. Pour la plupart des antigènes viraux, les cellules Tc  $CD4^-/CD8^+$



**Figure 21-11** Phénomène de restriction haplotypique des cellules Tc dans la reconnaissance des cellules-cibles infectées par un virus (d'après Zinkernagel et Doherty). Les cellules Tc d'un animal infecté par un virus reconnaissent les cellules-cibles infectées qui présentent à leur surface le même antigène de classe I (ou de classe II), ici H-2-d, en association avec le déterminant antigénique viral reconnu par ces cellules Tc. Lorsque ces cellules Tc sont mises en présence de cellules-cibles infectées qui présentent un haplotype H-2 différent, la reconnaissance n'aura pas lieu et aucune activité lytique ne sera observée.

ne sont pas stimulés par l'exposition à des virus inactivés, contrairement à ce qui est observé pour des cellules Ta ou Tc restreintes au CMH de classe II qui sont stimulées par une source d'antigène exogène traité au niveau lysosomal. En outre, des peptides synthétiques peuvent

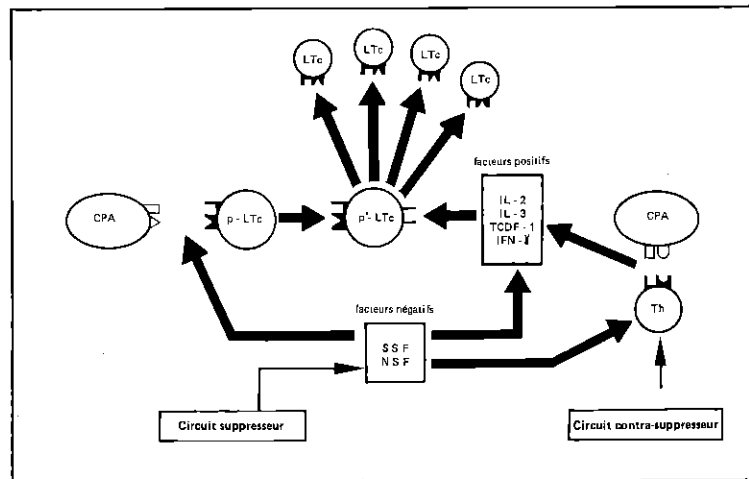
Figure  
lymph  
d'anti  
surf  
macro  
par d  
contra

s'ass  
du C  
L'  
stimu  
se si  
les  
s'ass  
préf  
néof  
neur  
reco  
étran  
ment  
signa  
[16].  
La  
ploty  
des c  
très  
vidu  
Ces  
pept

RÉP  
RET

La  
rôle





**Figure 21-12** Représentation schématique des cellules et de leurs molécules immunorégulatrices qui contribuent à l'induction des lymphocytes Tc (classe I). L'antigène est présenté aux précurseurs des lymphocytes Tc (P-LTc) par une cellule présentatrice d'antigènes CPA en association avec une molécule du CMH de classe I. Ces P-LTc vont alors être activés et exprimer à leur surface des récepteurs pour les cytokines. Différentes molécules stimulatrices (IL-2, IL-3, IFN- $\gamma$ , ...) sont produites par les macrophages et les cellules Th. La différenciation des lymphocytes Tc est soumise au contrôle régulateur des circuits suppresseurs par des facteurs à action négative (SSF-NSF) (facteur spécifique de l'antigène-facteur non spécifique de l'antigène) et contrasuppressive en protégeant les cellules des facteurs de l'action suppressive (d'après [16]).

s'associer directement à des antigènes de classe I du CMH.

L'endroit exact du traitement des antigènes stimulant les cellules Tc n'est pas encore connu. Il se situerait au niveau de l'appareil de Golgi pour les glycoprotéines [8]. Les antigènes viraux s'associent à la surface des cellules infectées de préférence avec des antigènes de classe I néoformés. Certaines protéines virales, comme la neuraminidase du virus influenza, ne sont pas reconnues par les cellules Tc. Les protéines étrangères seraient conduites dans un compartiment cellulaire où elles seraient traitées grâce à un signal, mais toutes ne posséderaient pas ce signal [16].

La réponse des cellules Tc dépend de l'haplotype du CMH de l'animal infecté; la réponse des cellules Tc contre un épitope donné sera donc très variée dans une population et certains individus seront incapables de reconnaître cet épitope. Ces résultats rendent illusoire l'utilisation de peptides monovalents comme vaccin.

### RÉPONSE D'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE (Tr)

La réponse d'hypersensibilité retardée joue un rôle dans la résistance de l'hôte aux micro-

organismes intracellulaires et aux virus. Les cellules T sensibilisées produisent un certain nombre de médiateurs solubles qui sont responsables du recrutement et de l'activation des macrophages. Ces macrophages activés participent à l'élimination des micro-organismes et virus de façon non spécifique. La spécificité de la réaction provient donc de l'interaction entre l'antigène et les cellules Tr (« retardées ») (pas de marqueur spécifique connu). L'action protectrice de ce type de réaction a été démontrée dans l'infection par *Listeria*. Pour les infections virales, des effets protecteurs ont été observés, mais ils peuvent s'accompagner d'une importante destruction tissulaire. Par exemple, le transfert de cellules Tr dirigées contre le virus influenza a hâté la mort des souris traitées par rapport aux non traitées; par contre, un effet protecteur a été montré pour le virus de l'herpès simplex.

### RÉPONSE DES CELLULES T SUPPRESSIVES (Ts)

Le rôle des cellules Ts (CD4<sup>-</sup>/CD8<sup>+</sup>) dans les infections virales a été peu étudié. L'existence d'un circuit suppresseur est importante, notam-

ment pour la prévention des réactions immuno-pathologiques dans les infections virales persistantes. Le traitement à la cyclophosphamide de souris infectées par le virus de l'herpès simplex entraîne une augmentation de la réponse des cellules Tc. Le même résultat est obtenu après appauvrissement en cellules IJ<sup>+</sup> in vitro. Or, les cellules Ts expriment les antigènes IJ à leur surface et sont sensibles à la cyclophosphamide. C'est donc une preuve indirecte d'une action suppressive dans l'infection par le virus de l'herpès simplex. Les épitopes responsables de l'induction des cellules Ts peuvent différer de ceux reconnus par les autres cellules T. En effet, certaines molécules porteuses favorisent une réponse Ts envers l'haptène couplé. La voie d'inoculation peut également influencer la réponse suppressive.

## IMMUNITÉ NON SPÉCIFIQUE

### RÔLE DES CELLULES NK

Les cellules tueuses naturelles (NK pour « Natural Killer ») sont caractérisées par une activité lytique en l'absence de sensibilisation préalable et indépendante du CMH; elles présentent des récepteurs Fc de faible affinité à leur surface. Les cellules NK sont activées et prolifèrent durant les premières étapes de l'infection virale. Elles joueraient un rôle dans la résistance naturelle aux infections virales. Les patients souffrant d'une déficience complète en cellules NK sont rares, mais les quelques cas observés sont associés à des pathologies virales sévères montrant clairement le rôle majeur des cellules NK dans la défense contre les virus. La relation entre une haute activité NK déterminée génétiquement et la résistance au virus de l'herpès simplex a été établie; de même, un appauvrissement en cellules NK augmente la sensibilité de la souris à l'infection par ce virus. Des cellules infectées avec des mutants de ce virus, défectifs en glycoprotéines C et D, ont une sensibilité réduite à la lyse par les cellules NK. De plus, l'expression de gènes précoces, mais pas de gènes tardifs, serait indispensable pour une sensibilité à la lyse par les cellules NK [9]. Les cellules NK agissent directement par effet cytotoxique et/ou indirecte-

ment par la sécrétion de cytokines mais le mécanisme de reconnaissance des cellules-cibles n'est pas encore connu.

### RÔLE DES CELLULES MONONUCLÉAIRES PHAGOCYTAIRES (MP)

Les cellules MP sont certainement importantes dans la résistance aux infections virales, mais il est difficile de le démontrer in vivo. Le <sup>89</sup>Sr radioactif détruit les cellules souches de la moelle et provoque rapidement un appauvrissement en leucocytes mais sans avoir d'effet significatif sur le nombre et la fonction des macrophages tissulaires. Dans ces conditions de traitement, la résistance aux virus de l'encéphalomyocardite et de l'herpès simplex n'est pas significativement modifiée. Ces données mettent en évidence le rôle des macrophages dans la résistance non spécifique à ces virus. La résistance extrinsèque est la capacité des cellules MP à inactiver le virus extracellulaire ou à réduire sa multiplication dans d'autres cellules voisines permissives. Les mécanismes qui interviennent dans la résistance extrinsèque sont très variés, ils dépendent de la cellule MP considérée et de la stratégie de multiplication du virus dans les cellules permissives. On distingue également une résistance intrinsèque qui intéresse la multiplication virale dans les cellules MP elles-mêmes. Certains virus se multiplient dans les macrophages et produisent une infection non cytotytique. C'est notamment le cas du virus Visna-Maedi qui, ainsi protégé de la réponse immune, est continuellement disséminé dans l'organisme.

### INTERFÉRON EN TANT QU'AGENT ANTIVIRAL (voir chapitre 11)

Il aura fallu quelque trente années pour que l'interféron — ou plutôt les interférons — prennent leur place dans le dense réseau des cytokines [3].

L'action de l'interféron est intimement liée au système immunitaire, mais il peut également exercer une activité antivirale indépendamment de ce dernier. C'est en 1957 qu'Isaacs et Lindenmann [7], cherchant à comprendre le phénomène d'interférence virale, par lequel une première infection par un virus, même avirulent ou

inactivé, protège les animaux ou les cellules en culture à l'égard d'une seconde infection, ont très clairement montré que le virus interférant établit dans les cellules un état antiviral en induisant une substance nommée ainsi tout naturellement « interféron ».

Très tôt, réalisant pleinement tout l'intérêt potentiel de leur découverte pour la thérapeutique, plusieurs groupes dont celui d'Isaacs, ont établi les propriétés fondamentales du facteur anti-viral :

— le facteur, de nature protéique, est excrété par la cellule induite;

— son action dépend de la synthèse d'acides nucléiques et de protéines;

— l'activité antivirale du facteur présente une « restriction d'hôte ».

Cette dernière propriété trop strictement prise à la lettre et connue encore souvent aujourd'hui comme la « spécificité d'espèce », très inélegant pléonasse, correspond à l'observation selon laquelle l'interféron de poulet n'exerce pas d'activité antivirale sur les cellules de lapin et vice versa.

Les interférons de type 1, induits par les virus, sont des molécules de structures chimiques apparentées, résistant à l'acide et qui comportent deux classes : l'interféron  $\alpha$  (ou leucocytaire) et l'interféron  $\beta$  (ou fibroblastique).

Une autre catégorie — l'interféron  $\gamma$  — a également été mise en évidence. Cet interféron est produit par les lymphocytes en réponse à un mitogène comme par exemple la phytohématagglutinine, ou à un antigène contre lequel les lymphocytes T sont dirigés. L'activité de l'interféron  $\gamma$  ne résiste pas à un traitement à l'acide, et s'exerce par l'intermédiaire d'une interaction avec un autre récepteur membranaire que celui utilisé par les interférons  $\alpha$  et  $\beta$ .

C'est la technologie de recombinaison de l'ADN qui a permis de mieux connaître les gènes codant pour les divers interférons. C'est également cette méthodologie qui a permis de montrer que les gènes codant pour l'interféron  $\alpha$  ou  $\beta$  ne comportent pas d'intron, alors que celui de l'interféron  $\gamma$  en possède 3.

C'est enfin l'analyse par les méthodes de la biologie moléculaire qui permettra d'éclaircir la complexité des mécanismes d'action antivirale des interférons, à l'image de la multiplicité des molécules impliquées. Il est clair qu'à part l'adsorption du virus sur la cellule hôte, toutes les étapes de la production d'une progéniture virale depuis la pénétration du virus à l'intérieur de la cellule, jusqu'à sa sortie dans le milieu extracellu-

laire — en passant par la décapsidation, la transcription, la traduction des ARN messagers et l'assemblage du virion — peuvent être affectées à un degré ou à un autre, par le traitement à l'interféron. C'est cependant l'étape de traduction qui se présente comme la cible réellement significative de l'action antivirale. C'est en fait cette étape moléculaire qui fut la plus étudiée puisque la biosynthèse des protéines constitue la première étape commune de la séquence des opérations nécessaires à la multiplication de tous les types de virus, que leur génome soit constitué par de l'ARN ou par de l'ADN.

L'établissement de l'état antiviral par l'interféron (Fig. 21-13) requiert sa fixation sur le récepteur membranaire spécifique localisé à la surface de la cellule. Cette interaction, dont l'étude est facilitée par le clonage et par l'expression des gènes codant pour les divers récepteurs, déclenche une cascade d'événements conduisant à la dérégulation de gènes codant pour toute une série de protéines (plus d'une vingtaine ont été jusqu'ici mises en évidence). Les mécanismes responsables de cette « transmission » du signal apporté par l'interféron associé à son récepteur, sont encore mal compris, et il en est de même des mécanismes de l'établissement de l'état antiviral. Ces mécanismes sont certainement multiples, et deux voies au moins sont impliquées dans l'action antivirale de l'interféron, au niveau de l'inhibition de la synthèse des protéines (Fig. 21-13).

L'interféron induit la 2-5A synthétase (2-5 oligoadénylate synthétase), une enzyme dépendant de la présence d'ARN bicaténaire (dsRNA) qui permet la formation d'un oligomère adénylique, le 2-5A. Le 2-5A active une ribonucléase cryptique (RNase L) qui, activée, dégrade les ARN messagers. La synthèse des protéines virales peut ainsi être bloquée au niveau de l'élongation [23]. L'interféron induit une protéine kinase qui est également activée dans les cellules traitées par de petites quantités de dsRNA. Dans un extrait acellulaire, la protéine kinase phosphoryle notamment, en plus de l'autophosphorylation observée, la sous-unité  $\alpha$  du facteur d'initiation eIF2. Ce facteur est nécessaire à la formation du complexe GTP-met tARNi. La traduction de l'ARN messager peut ainsi être bloquée à l'initiation.

Les deux mécanismes peuvent être observés dans les cellules intactes, mais on ne peut préciser l'importance de leur contribution à l'établissement de l'état antiviral. Ces deux voies ne suffisent pas

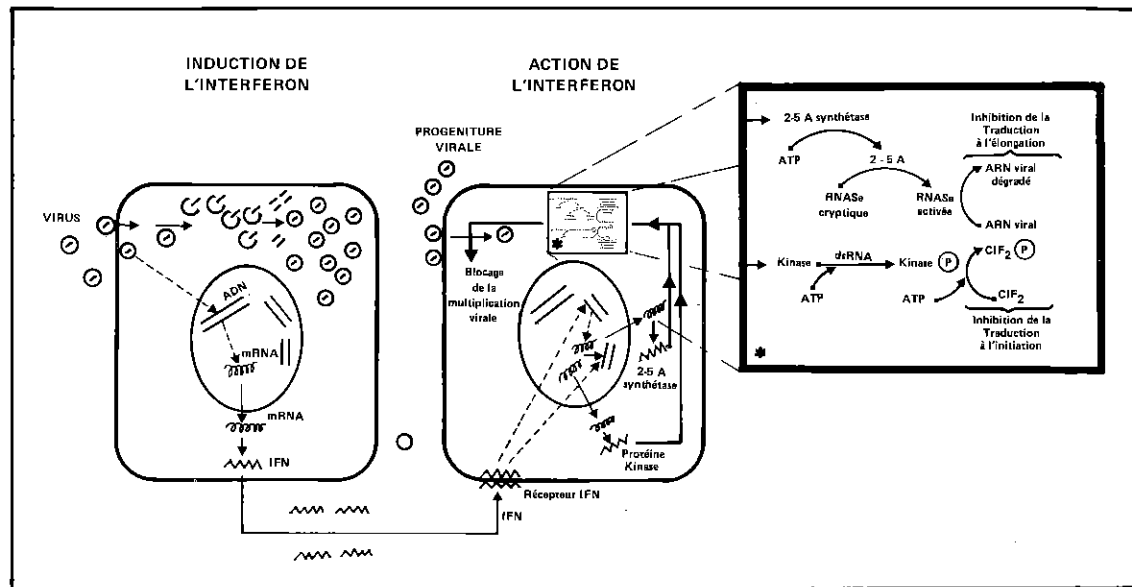


Figure 21-13 L'induction et l'action de l'interféron. Le détail des mécanismes de l'induction est encore fort mal connu, mais dans certains cas, le rôle d'une molécule virale d'ARN bicaténaire (dsRNA) a pu être impliqué. Pour l'action de l'interféron, les chemins décrits (2-5A synthétase et kinase) ne sont que les aspects les mieux connus des mécanismes impliqués.

à elles seules, à expliquer l'ensemble des effets de l'interféron. Certains de ceux-ci ne passent d'ailleurs certainement pas par ces voies, mais de nombreux arguments indirects plaident pour leur intervention dans un certain nombre de cas.

Par exemple, les Adénovirus qui sont peu sensibles à l'interféron, provoquent l'accumulation de petits ARN de 160 nucléotides bloquant l'activation de la protéine kinase. Des mutants de ces virus ne produisant pas ces petits ARN, sont plus sensibles à l'interféron que les virus sauvages. Le virus de la vaccine inhibe également l'activation de la protéine kinase mais par une toute autre voie impliquant l'action d'une protéine virale. Cette protéine bloque l'effet de l'interféron sur le virus de l'encéphalomyocardite EMC, le poliovirus ou le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV), comme le montrent des expériences de surinfection par ces virus.

D'autre part des virus peu sensibles à l'interféron, comme certains virus herpès dans quelques systèmes cellulaires, provoquent la formation dans les cellules traitées à l'interféron de molécules de structures apparentées au 2-5A, mais qui n'activent pas la RNase; elles conservent la propriété

d'inhiber l'activation en présence de 2-5A classique.

Le rôle antiviral de l'interféron endogène est également très clairement établi tant *in vitro* qu'*in vivo*, par l'utilisation d'anticorps anti-interféron.

Une différence spectaculaire de la taille des plages de lyse provoquées par le virus de la forêt de Semliki, est observée dans les cellules de souris BALB/c-3T3. Quand des anticorps bloquent l'action de l'interféron endogène produit lors de l'infection, la taille des plages augmente. En outre, l'action pathogène de différents virus [virus de l'herpès simplex, virus de la maladie de Newcastle (NDV), virus de la stomatite vésiculeuse (VSV)] est très fortement augmentée chez la souris lors d'une infection virale provoquée après injection d'anticorps anti-interféron [5].

Des arguments d'ordre génétique plaident également en faveur du rôle antiviral de l'interféron endogène. Ainsi, la plupart des souris succombent lors d'une infection par un myxovirus influenza adapté à cet hôte. Certaines souches de souris résistent par contre fort bien à de telles infections. Ces souris présentent une particularité génétique caractérisée par le locus  $Mx^+$  impliqué

dans l'action de l'interféron. Ici aussi, les souris  $Mx^+$  traitées par des anticorps anti-IFN  $\alpha/\beta$  (et non anti- $\gamma$ ), perdent leur résistance naturelle au virus influenza et y deviennent totalement sensibles. Les cellules provenant de telles souris répondent *in vitro* à l'interféron  $\alpha/\beta$  (et non à l'IFN- $\gamma$ ), en synthétisant une protéine Mx [6] (voir chapitre 65).

Enfin, il a été observé que des infections expérimentales par des doses infectieuses massives de virus pouvaient dans certains cas conduire paradoxalement à des effets pathogènes plus limités que lors d'infections par des doses moindres. Dans les cas décrits, ce phénomène s'accompagne d'une production plus précoce d'interféron, indiquant ainsi un rôle de ce dernier dans la protection contre les effets pathogènes des virus.

Pareilles observations ont été effectuées chez la souris infectée par le virus de l'herpès simplex, mortel à faible dose, mais sans effet à très forte dose. Dans ce cas, c'est l'interféron  $\gamma$  qui est impliqué. Le même phénomène a également été constaté chez le veau nouveau-né infecté par du rotavirus [19].

Il apparaît donc que l'interféron endogène peut jouer un important rôle protecteur contre les manifestations des infections virales. La précocité de la réponse, fait des interférons la première ligne de défense lors des infections par les virus, venant bien avant les réponses immunes spécifiques cellulaire et humorale. Ce type de protection non spécifique pourrait jouer un rôle important dans la protection du nouveau-né parallèlement à la protection spécifique conférée par les anticorps transmis passivement par la mère.

Enfin, comme l'interféron  $\gamma$  est produit par les lymphocytes T, et les interférons  $\alpha$  et  $\beta$ , non seulement par les macrophages et les lymphocytes, mais aussi par la plupart des autres cellules de l'organisme, le système interféron se manifeste par l'intermédiaire des cellules circulantes du système immunitaire et également au niveau tissulaire. L'activité peut donc se manifester à la fois localement, au site de l'infection initiale mais également à distance. On peut donc prévoir une possibilité d'action à la porte d'entrée comme au niveau de l'organe cible.

Comme l'action de l'interféron ne dépend pas aussi strictement du virus infectant que les réactions immunes spécifiques, il est logique de proposer l'utilisation de ces molécules pour protéger l'organisme contre l'ensemble des infections virales. Si l'induction des interférons

s'observe avec la plupart des virus, il existe cependant de meilleurs inducteurs que d'autres. De même, l'action antivirale de l'interféron s'exerce sur une large panoplie de virus différents; tous les virus lui sont plus ou moins sensibles, certains parfois plus que d'autres, dans la mesure où c'est le couple virus-hôte qui régit, pour un interféron donné, le degré de sensibilité.

La stimulation de la production d'interféron endogène par divers inducteurs n'a guère donné, jusqu'ici, de résultats encourageants. La plupart des inducteurs connus pour être actifs chez l'homme, présentent une trop grande toxicité pour être utilisés et, de plus, le phénomène d'hyporéactivité de l'organisme constaté après une première utilisation de l'inducteur, rend un emploi soutenu dans le temps impossible. Dans le domaine vétérinaire toutefois, cette approche peut présenter un intérêt, dans la mesure où une utilisation unique peut avoir un sens dans certaines circonstances.

Il était donc naturel d'envisager l'autre possibilité pour valoriser le système interféron, en éprouvant l'efficacité des interférons exogènes contre les infections virales [21]. Des résultats positifs ont été obtenus dans une série d'indications médicales (voir chapitre 67). Bien que par nature plus actif à titre préventif, l'interféron s'est montré efficace dans le contrôle de l'hépatite virale chronique, ou pour obtenir la régression des papillomes laryngés juvéniles chez l'homme. A côté des succès obtenus dans l'utilisation anticancéreuse de l'interféron, on retient de plus en plus ses succès dans le domaine antiviral.

Les études cliniques furent longtemps limitées en raison d'une part, du manque d'interféron de qualité suffisante et en quantité adéquate pour l'étudier dans de bonnes conditions, et d'autre part, de l'absence de modèle animal pour évaluer son efficacité et ses effets secondaires. Le génie génétique permet actuellement de disposer de certains interférons recombinants (notamment Hu IFN $\alpha 2$ ). L'expérimentation humaine dans de bonnes conditions ne fait que commencer. Il en est de même en médecine vétérinaire où, profitant d'une exception à la règle de restriction d'hôte — l'Hu IFN $\alpha 2$  étant même plus actif sur des cellules bovines que sur des cellules homologues — une expérimentation a pu être réalisée avec succès il y a quelques années déjà. L'interféron Hu IFN $\alpha 2$  protège [21] les veaux contre une infection par le virus de la vaccine (ceci a été confirmé par la suite en utilisant de l'interféron bovin recombinant).

de la  
on  
tion  
al  
é  
al  
0  
de la  
on  
ion

connu, mais  
interféron, les  
és.

2-5A clas-

ogène est  
vitro qu'in  
interféron.  
taille des  
de la forêt  
cellules de  
anticorps  
ène produit  
augmente.  
rents virus  
maladie de  
ite vésicu-  
tée chez la  
quée après  
].

e plaident  
de l'inter-  
des souris  
myxovirus  
souches de  
à de telles  
particularité  
+ impliqué

Compte tenu des différences d'activité constatées entre l'action de divers interférons, il faudrait également expérimenter d'autres molécules correspondant à des interférons naturels, voire des molécules analogues obtenues par mutagenèse dirigée dont certaines sont déjà disponibles. Il faudrait les expérimenter dans divers types d'infections, soit seuls, soit en les associant avec d'autres interférons, voire avec d'autres antiviraux.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

- ACHARYA R, FRY E, STUART D et al. The structure of foot and mouth disease virus : implications for its physical and biological properties. *Vet Microbiol*, in press.
- GUY JS, POTGIETER LND. Bovine herpesvirus-1 infection of cattle : kinetics of antibody formation after intranasal exposure and abortion induced by the virus. *Am J Vet Res*, 1985, 46 : 893-898.
- ROITT Y. *Essential Immunology*. 5<sup>e</sup> édition, Blackwell Scientific publication, Oxford, 1984.

### Références

1. ACHARYA R, FRY E, STUART D et al. The three-dimensional structure of foot-and-mouth disease virus at 2.9 Å resolution. *Nature (London)*, 1989, 337 : 709-716.
2. BIELEFELDT OHMANN H, RONSHOLT L, BLOCH B. Demonstration of bovine viral diarrhoea virus in peripheral blood mononuclear cells of persistently infected, clinically normal cattle. *J Gen Virol*, 1987, 68 : 1971-1982.
3. DEMAYER E, DEMAYER-GUIGNARD. *Interferons and other regulatory cytokines*. John Wiley and sons, N.Y. 1988.
4. DIMMOCK NJ. Multiple mechanisms of neutralization of animal viruses. *Trends in Biochem Sci*, 1987, 12 : 70-75.
5. GRESSER I, TOVEY MG, MAURY C et al. Role of the interferon in the pathogenesis of virus diseases in mice as demonstrated by the use of anti-interferon serum. II. Studies with herpes simplex, Moloney sarcoma, Vesicular stomatitis, Newcastle disease and influenza viruses. *J Exp Med*, 1976, 144 : 1316-1377.
6. HORISBERGER MA, STAEHELI P, HALLER O. Interferon induces a unique protein in mouse cells bearing a gene for resistance to influenza virus. *Proc Natl Acad Sci*, 1980, 83 : 1910-1914.
7. ISAACS A, LINDENMANN J. Virus interference. I. The interferon. *Proc Royal Soc B*, 1957, 143 : 258-267.
8. LONG EO, JACOBSON S. Pathways of viral antigen processing and presentation to CTL : defined by the mode of entry? *Immunol Today*, 1989, 10 : 45-48.
9. LOPEZ-CUERRERO JA, ALARCON B, FRESNO M. Mechanism of recognition of herpes simplex virus type 1 infected cells by natural killer cells. *J Gen Virol*, 1988, 69 : 2859-2868.
10. MITCHELL DM, McMICHAEL AJ, LAMB JR. The immunology of influenza. *Br Med Bull*, 1985, 41 : 15-21.
11. MORRISON LA, BRACIALE VL, BRACIALE TJ. Antigen form influences induction and frequency of influenza class I and class II MHC-restricted cytolytic T lymphocytes. *J Immunol*, 1988, 141 : 363-368.
12. PASTORET PP, BABIUK LA, MISRA V et al. Reactivation of temperature-sensitive infectious bovine rhinotracheitis vaccine virus with dexamethasone. *Infect Immun*, 1980, 29 : 483-488.
13. PASTORET PP, THIRY E, DUBUISSON J. Les porteurs de virus. Analyse des états d'équilibre entre le virus et son hôte. *Ann Rech Vet*, 1987, 18 : 181-191.
14. PASTORET PP, THIRY E, THOMAS R. Logical description of bovine herpesvirus 1 latent infection. *J Gen Virol*, 1986, 67 : 885-897.
15. RADOSTITS OM, LITTLEJOHNS IR. New concepts in pathogenesis, diagnosis and control of diseases caused by the bovine viral diarrhoea virus. *Can Vet J*, 1988, 29 : 513-528.
16. ROUSE BT, NORLEY S, MARTIN S. Antiviral cytotoxic T lymphocyte induction and vaccination. *Rev Infec Dis*, 1988, 10 : 16-33.
17. SCHERLE PA, GERHARD W. Differential ability of B cells specific for external vs. internal influenza virus proteins to respond to help from influenza virus-specific T-cell clones in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85 : 4446-4450.
18. THIRY E, DUBUISSON J, PASTORET PP. Pathogenesis, latency and reactivation of infections by herpesviruses. *Rev Sci Tech Off int Epiz*, 1986, 5 : 809-819.
19. VANDEN BROECKE C, SCHWERS A, DAGENAIS L et al. Interferon response in colostrum-deprived newborn calves infected with bovine rotavirus: its possible role in the control of the pathogenicity. *Ann Rech Vet*, 1984, 15 : 29-34.
20. WATANABE KA, REIMANN KA, DELONG PA et al. Effect of recombinant soluble CD4 in rhesus monkeys infected with simian immunodeficiency virus of macaques. *Nature*, 1989, 337 : 267-270.
21. WERENNE J. Interferon in veterinary medicine : the present position and future prospects. *Outlook on Agriculture*, 1985, 14 : 129-135.
22. WILEY DC, WILSON IA, SKEHEL JJ. Structural identification of the antibody-binding sites of Hong-Kong influenza haemagglutinin and their involvement in antigenic variation. *Nature (London)*, 1981, 289 : 373-378.
23. WILLIAMS B, KERR IM. Inhibition of protein synthesis by 2-5A linked adenine oligonucleotides in intact cells. *Nature (London)*, 1978, 276 : 88-89.
24. WILSON IA, SKEHEL JJ, WILEY DC. Structure of the haemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus at 3 Å resolution. *Nature (London)*, 1981, 289 : 366-373.

J. Pillot

## RÉSISTANCE ENVERS LES BACTÉRIES

Dans une perspective moderne de la relation hôte-bactérie, on peut considérer celle-ci comme une rencontre de deux types d'information génétique à stratégies opposées : les gènes de l'agent infectieux visent à lui assurer la meilleure survie dans le milieu environnant, c'est-à-dire la plus forte capacité à infecter le vivant et à s'y répliquer; les gènes impliqués dans l'immunité non spécifique et l'immunité spécifique codent pour la production de récepteurs membranaires, d'enzymes, de médiateurs solubles et d'anticorps... capables de neutraliser et/ou d'éliminer la bactérie. En d'autres termes, la relation qui s'établit entre un organisme vivant et la bactérie qui le contamine, met en jeu :

— des propriétés inhérentes à l'agent infectieux lui-même : pouvoir de pénétration, capacité à se multiplier dans des conditions biochimiques propres au tissu sensible, aptitude à résister aux défenses de l'organisme. L'ensemble de ces propriétés établit le degré de virulence de la bactérie;

— des capacités propres à l'hôte : immunité non spécifique, immunité spécifique, facteurs génétiques.

### STRUCTURE ANTIGÉNIQUE DES BACTÉRIES

#### ANTIGÈNES SOLUBLES

Ils sont représentés essentiellement par les toxines protéiques (diphthérique, tétanique, botulique, cholérique...). Elles sont le plus souvent, sinon toujours, codées par des prophages ou des plasmides. Elles diffusent dans le milieu de culture ou dans l'organisme infecté. Elles agissent par un mécanisme enzymatique.

## ANTIGÈNES DES CAPSULES ET EXOPOLYMÈRES

Ils ne correspondent pas à des structures essentielles à la vie de la bactérie. S'ils sont de nature polyosidique, ils participent au glycocalyx qui protège la bactérie vis-à-vis des mécanismes de défense de l'hôte.

### Capsules, microcapsules

Les polymères qui les constituent sont insolubles et restent attachés à la paroi bactérienne. Leur production est sujette à des variations phénotypiques et génotypiques. Ils sont surtout de nature polyosidique :

— polyosides capsulaires des méningocoques A (phosphate de 2-acétamido-2-déoxy-D-mannopyranosyl  $\alpha 1 \rightarrow 6$ ), B (acide D-N-acétylneuraminique  $\alpha 2 \rightarrow 8$ ), C (acide D-N-acétylneuraminique  $\alpha 2 \rightarrow 9$ ), sont les plus fréquents parmi les sérotypes connus. Ces polyosides sont plus ou moins immunogènes et induisent une protection;

— polyosides capsulaires des pneumocoques (92 sérotypes capsulaires définis dont 23 correspondent à des pathogènes pour l'homme); le type 3, le plus étudié, est un polymère d'acide cellobiuronique (3-acide glycuronique  $\beta 1,4$ -glucose), immunogène chez l'homme, haptène chez le lapin. Ces polyosides induisent une protection;

— polyosides capsulaires d'*Haemophilus influenzae* avec 6 sérotypes capsulaires distincts (a, b, c...). Le b correspond au plus pathogène et sa structure est un copolymère de ribose-ribitol lié par des ponts phospho-diester. Il est immunogène chez l'homme adulte et les animaux et il induit une protection.

### Exopolymères visqueux

Ils se délitent dans le milieu (dextrans, levans). Ils sont immunogènes s'ils sont suffisamment polymérisés, mais ils n'induisent pas de protection (streptocoques).

## ANTIGÈNES DES FLAGELLES ET DES ADHÉSINES

### Flagelles

Ils assurent la mobilité des bactéries et sont constitués de protéines spécifiques, les flagellines,

polymères impliquant des sous-unités de masse moléculaire variant de 17 à 400 kd. La flagelline est très immunogène (antigène T indépendant) mais elle n'induit pas de protection ni d'anticorps opsonisants.

### Adhésines

Les pili, fimbriæ ou plus globalement les adhésines. Les pili ou fimbriæ sont de courts appendices protéiques, rectilignes, insérés à la surface de la paroi. Ils interviennent dans l'adhésion des bactéries au récepteur correspondant des cellules épithéliales et des cellules phagocytaires. En fait, d'autres structures de la surface bactérienne, distinctes des pili, sont impliquées dans l'adhésion des bactéries aux épithéliums, comme c'est le cas pour le streptocoque A (protéine M et acide lipoteichoïque)... C'est pourquoi le terme plus général d'adhésines est à retenir pour cette propriété qui correspond à une interaction du type lectine-sucre. La plupart de ces adhésines sont polymorphes et varient dans leur stéréospécificité mais il existe des spécificités communes entre les adhésines de bactéries de différentes espèces. Nous citerons :

— l'adhésine commune des entérobactéries avec une structure mannosique comme récepteur (adhésion inhibable par le d. mannose et codée par le chromosome);

— l'adhésine de *E. coli* K 88 avec une structure D-galactose ou N-acétylgalactosamine et N-acétylglucosamine comme récepteur, codée par un plasmide et capable d'induire une protection locale;

— l'adhésine des *Neisseria gonorrhoeae* : galactose-1-3 N-acétylgalactose-1-4 galactose, immunogène;

— l'adhésine des *Streptococcus A* qui présente la particularité d'associer de longues chaînes d'acide lipoteichoïque (glycérol à fonctions alcool substituées), hapténiques, à des fibrilles de protéine M spontanément immunogènes, avec la fibronectine comme récepteur cellulaire. La protéine M est un hétéropolymère fibrillaire qui s'étend 50 nm au-delà de la surface bactérienne et présente une partie interne C terminale conservée et une partie distale variable avec 60 sérotypes différents. Certains sérotypes contiennent des épitopes qui croisent avec le sarcolemme du muscle cardiaque et la myosine de l'homme. La protéine M est l'antigène majeur de virulence des streptocoques A; elle est immunogène et induit la protection vis-à-vis du sérotype considéré. Des



études sont en cours visant à distinguer les épitopes qui induisent la protection (région N-terminale) de ceux qui induisent une réaction croisée (région médiane).

**ANTIGÈNES DE LA PAROI**

La paroi représente 5 à 30 p. cent du poids sec de la bactérie. Elle se caractérise essentiellement par la présence du peptidoglycane qui lui confère sa rigidité.

**Paroi des bactéries à Gram positif**

Elle est relativement simple et très riche en sucres. Sa composition est dominée par la présence du peptidoglycane qui représente 40 à 90 p. cent du poids sec de la paroi. C'est un polymère de N-acétylglucosamine et d'acide N-acétylmuramique. Des ponts peptidiques réunissent les chaînes glycosylées entre elles. Il est faiblement immunogène après purification; il l'est plus nettement dans la bactérie entière. Il ne joue aucun rôle dans l'induction de la protection. Cette paroi contient aussi des acides teichoïques (ribitol à fonctions alcool substituées) et d'autres poly-

osides. Ainsi le polysaccharide C des streptocoques permet leur classification mais est sans intérêt pour l'induction de la protection. La paroi des bactéries à Gram positif ne contient pas de protéines sauf celle de la plupart des staphylocoques pathogènes qui contient la protéine A. Celle-ci est immunogène mais n'induit pas de protection.

**Paroi des bactéries à Gram négatif**

Elle est beaucoup plus complexe que la paroi des bactéries à Gram positif. Chez elle, le peptidoglycane ne représente que 5 à 10 p. cent du poids sec de la paroi et occupe une situation interne (Fig. 22-1). Le lipopolysaccharide (LPS) est le composant majeur, fibrillaire, externe, caractéristique des souches S (148 sérotypes chez *E. coli*); il est présent sous forme raccourcie chez les souches R. La totalité ou la grande majorité des molécules de LPS sont donc localisées en surface, les chaînes terminales des sucres dans leur intégralité s'étendant à 30 nm au-delà de la surface de la paroi. Ainsi, les sucres terminaux distaux des souches S, insensibles au sérum frais, à la différence des souches R qui sont tuées, pourraient protéger les premières en maintenant les anticorps et le complément, à distance de la paroi, prévenant celle-ci de la bactéricidie causée

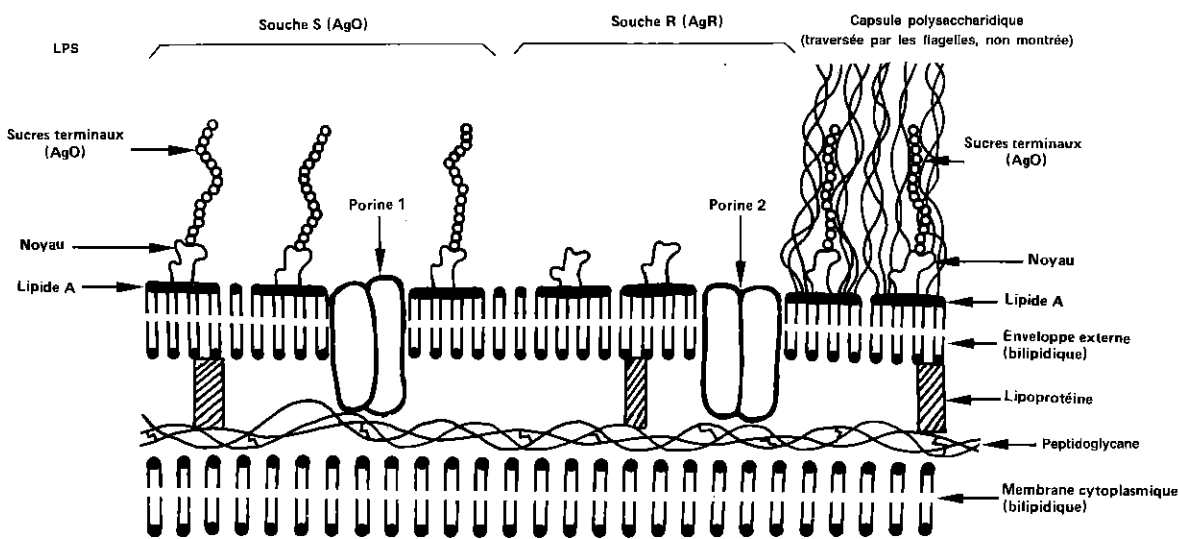


Figure 22-1 Structure de la paroi des bactéries à Gram négatif.

par les anticorps et le complément. Le lipide A, identique pour tous les LPS, leur confère les propriétés des endotoxines (pyrogénicité, adjuvantité, mitogénicité pour les lymphocytes B in vitro)... Le lipide A est peu immunogène dans la bactérie entière; il le devient nettement après extraction et fixation sur un « porteur ». On tente actuellement d'obtenir des anticorps qui pourraient bloquer les propriétés endotoxiques et permettre le traitement des chocs septiques.

La lipoprotéine de Braun est un autre immunogène de la paroi mais elle est pratiquement inaccessible dans les souches S. Les porines sont des protéines liées de façon non covalente, qui constituent des canaux sélectifs pour les échanges transparoi. Toutes ces porines sont immunogènes et spécifiques de l'espèce ou du sérotype. L'une de ces protéines chez le gonocoque (la protéine I avec 8 à 10 sérotypes différents) paraît induire un anticorps lytique pour la bactérie, en présence de complément.

#### ANTIGÈNES DE LA MEMBRANE PLASMIQUE ET DU CYTOPLASME

Ils n'ont que peu d'intérêt parce qu'inaccessibles aux éléments de la défense immunitaire.

#### MÉCANISMES HUMORAUX DE LA DÉFENSE ANTIBACTÉRIENNE SPÉCIFIQUE

Ils représentent les facteurs de la défense spécifique vis-à-vis des bactéries à développement extracellulaire et/ou de leurs produits de sécrétion (toxines).

#### IMMUNITÉ ANTIBACTÉRIENNE PROPREMENT DITE

Dans ce cas, la bactérie elle-même constitue la cible qui tend à être éliminée par les anticorps. Trois types de mécanisme paraissent intervenir dans le cadre de l'immunité humorale.

#### Exclusion immune

C'est l'agglutination ou l'immobilisation de la bactérie à sa porte d'entrée, au niveau des muqueuses. L'agglutination réduit le nombre des unités infectieuses. Les bactéries mobiles sont immobilisées. Agglutinats et bactéries immobilisées sont plus aisément éliminés vers l'extérieur par les battements ciliaires et/ou le cheminement du tapis muqueux.

En dehors de l'agglutination et/ou de l'immobilisation, l'infection peut être prévenue par le blocage de la capacité de l'adhésine bactérienne à se fixer sur le récepteur de la membrane de la cellule-cible. Il est en effet bien établi, in vitro, que les anticorps spécifiques sont capables de bloquer l'adhérence d'une bactérie à la cellule épithéliale cible et qu'il existe une relation entre cette propriété et la résistance, in vivo.

Chez le porcelet, l'immunité locale digestive qui assure la protection vis-à-vis d'*E. coli* K 88, entérotoxigène, est transmise passivement par le colostrum et le lait maternel. Dans le cas des méningocoques (porte d'entrée pharyngée, 7 sérotypes) et des gonocoques (porte d'entrée génitale, plus de 50 sérotypes), l'exclusion immune implique les antigènes capsulaires et des pili, respectivement. Les cobayes immunisés per os avec le vibron cholérique induisent des coproanticorps qui les protègent contre une ingestion de germes virulents. La présence locale d'anticorps réduit le nombre de bactéries capables de se fixer sur la muqueuse de l'anse iléale extériorisée du lapin. Dans ces deux cas, la protection n'apparaît pas liée à une réduction de la multiplication des vibrons dans le milieu intestinal mais à l'absence de colonisation de la muqueuse.

Dans l'exclusion immune, le rôle primordial semble dévolu aux IgAcs (IgA sécrétoire; cs pour composant sécrétoire), plus accessoirement aux IgMcs (qui compensent le défaut en IgAcs chez les individus déficients en IgA). Ainsi, il a été montré que la salive parotidienne humaine contient des anticorps capables d'inhiber l'adhérence des streptocoques aux cellules épithéliales de la bouche. L'inhibition paraît spécifique des souches de streptocoques qui sont agglutinés par les IgAcs, ce qui indique que des inhibiteurs non spécifiques ne sont pas en cause. Avec les streptocoques, on a montré que l'IgAs pouvait fixer préférentiellement ses 4 sites anticorps sur une même particule (préférence monogame). Le rôle primordial de l'IgAcs à la surface des

muqueuses est à rapprocher d'une certaine résistance de celle-ci aux enzymes protéolytiques que lui confère le composant sécrétoire.

### Opsonisation

Elle représente le mécanisme le plus important de la résistance humorale vis-à-vis des bactéries. Dans l'opsonisation in vitro, la part prise par le complément paraît plus importante que celle attribuée directement à l'anticorps, surtout s'il s'agit d'IgM dont le Fc n'a pas ou n'a que peu d'affinité pour les phagocytes. D'une façon générale, l'expérience montre que le C3b facilite mieux l'adhérence aux phagocytes que l'IgG, d'autant plus que les phagocytes n'ont pas les récepteurs correspondant à toutes les sous-classes d'IgG (les macrophages n'ont de récepteurs que pour les IgG1, les IgG3 et les IgE chez l'homme, les IgG2 chez le cobaye, les IgG2a et les IgE chez le rat). Effectivement, in vitro, la phagocytose n'est parfaitement opérationnelle que si l'anticorps et le complément sont présents. Par exemple, en présence d'immun-sérum dont le complément a été inactivé, la phagocytose des staphylocoques est réduite de 90 p. cent.

In vivo, un certain nombre de faits tend à montrer que si l'anticorps est efficace, il le doit plus à sa propriété d'activer le complément qu'à son action propre. Chez le cobaye, il a été montré qu'une même clairance du pneumocoque était obtenue avec 120 molécules d'IgM, pour 1 400 molécules d'IgG par bactérie. Quand les mêmes pneumocoques sont recouverts par 1 000 molécules d'IgM et injectés à des cobayes privés de C4 par un épuisement préalable, aucune clairance n'est observée. Ces faits correspondent à la plus grande capacité de l'IgM à fixer le complément et montrent que celui-ci est plus déterminant que l'anticorps pour éliminer les pneumocoques du courant sanguin. De plus, dans les mêmes conditions, la clairance n'est obtenue qu'en présence d'anticorps antipneumocoque capsulé mais non d'anticorps antipneumocoque acapsulé. Ces derniers anticorps induisent mal la fixation de C3b sur le pneumocoque capsulé et pour un même taux de C3b fixé, le C3b généré par les anticorps antipneumocoque acapsulé s'avère inactif pour l'opsonisation du pneumocoque capsulé. L'IgA qui ne fixe pas le complément doit théoriquement être peu active dans la phagocytose. Néanmoins, la phagocytose de *Sta-*

*phylococcus aureus* par des IgA a été décrite et l'IgAs s'est avérée plus active que l'IgA sérique.

### Bactéricidie et bactériolyse

Si l'on exclut la bactéricidie inhérente à la phagocytose, celle-ci ne peut être observée, du moins in vitro, que pour les bactéries à Gram négatif dont la paroi est plus vulnérable que celle des bactéries à Gram positif. Comme pour la lyse des globules rouges, la bactéricidie est obtenue par la formation du complexe final d'attaque des membranes, C5b-8 poly-9, mais la bactérie garde généralement sa forme et pour obtenir la lyse, l'adjonction de lysozyme (qui dépolymérise le peptidoglycane) est requise. Néanmoins, certaines bactéries à Gram négatif et à paroi très fragile comme le vibron cholérique et les spirochètes peuvent être lysées sans adjonction de lysozyme.

C5b-8 poly-9 est généré de façon optimale par un immun-complexe. Néanmoins, quand on fait appel aux différentes protéines purifiées du complément, on observe que la mort d'*E. coli* peut être obtenue en l'absence d'anticorps. Il a été parallèlement établi par plusieurs groupes de chercheurs que le peptidoglycane et le LPS purifié (lipide A), se montrent capables d'activer la voie classique comme la voie alterne et les porines, la voie classique. Ces observations jointes, d'une part au fait connu de longue date, qu'en l'absence d'anticorps le sérum frais est bactéricide pour des bactéries R à Gram négatif non pathogènes, d'autre part au fait que l'addition de LPS aux bactéries sensibles à l'action du sérum les protège et que la forme S correspondante est résistante, a conduit à postuler que la présence de la séquence complète des sucres dans le LPS favorise la résistance à la bactéricidie par le sérum frais. Dans le cas des salmonelles et d'*E. coli*, il a été établi que pour les souches pathogènes résistantes au sérum, le complexe d'attaque C5b-67 fixé à l'enveloppe bactérienne, est rapidement relargué alors qu'il ne l'est pas pour les souches sensibles. Ce relargage paraît lié à l'impossibilité qu'a le complexe de constituer une liaison hydrophobe avec la surface de la bactérie. En ce qui concerne le gonocoque dont les souches résistantes au sérum causent des affections disséminées, il a été montré que le complexe C5b-8 poly-9 est dans une configuration moléculaire différente, selon qu'il est fixé à la surface d'une souche résistante d'une part, d'une souche sensible ou résistante rendue sensible par l'anticorps bactéricide d'autre part.

## IMMUNITÉ ANTITOXIQUE

Elle intervient vis-à-vis des germes qui élaborent une exotoxine : bacilles diphtérique, tétanique, botulique... L'individu qui possède des anticorps en quantité suffisante est protégé. Les expériences sur l'animal ont montré que l'anticorps ne peut pas empêcher l'action de la toxine lorsque celle-ci est déjà fixée sur son récepteur; l'anticorps ne peut l'en détacher. Par contre, la toxine qui est combinée à l'antitoxine n'est plus capable de se fixer sur son récepteur et ne manifeste plus d'activité toxique. L'antitoxine neutralise la toxine par inhibition stérique, mais il est également possible que la toxine soit plus rapidement éliminée après son union à l'anticorps. Chez l'homme, les maladies dues aux toxines n'induisent pas de protection, sans doute parce que la quantité d'antigène produite lors de la maladie est faible et qu'il s'agit d'une protéine peu immunogène en l'absence d'adjuvant.

L'effet protecteur vis-à-vis de la toxine est à distinguer de l'immunité antibactérienne proprement dite. L'antitoxine n'intervient pas sur la prolifération du micro-organisme qui élabore la toxine, de sorte que les bactéries toxigènes peuvent être présentes chez un sujet bien protégé par une immunité antitoxique (porteurs sains de bacilles diphtériques, protégés par une antitoxine circulante de titre élevé). La chute de l'endémicité de la diphtérie apparemment liée à la vaccination antitoxique pourrait également résulter de la présence d'antigènes bactériens solubles accompagnant l'anatoxine et susceptibles d'induire une immunité vis-à-vis de la bactérie elle-même, supprimant ainsi les porteurs de germes.

## MÉCANISMES CELLULAIRES DE LA DÉFENSE SPÉCIFIQUE ANTIBACTÉRIENNE

Cette forme de résistance concerne les bactéries pathogènes qui ont développé une capacité à vivre au sein des cellules de leur hôte. Ces bactéries à développement cellulaire obligatoire peuvent être réparties en deux groupes selon le type de cellules qu'elles pénètrent : les premières pénètrent les phagocytes « professionnels » en utilisant sans doute les mécanismes de la phagocytose et elles

s'y développent dans un milieu particulièrement agressif; les bactéries du second groupe s'installent dans des cellules non phagocytaires et recourent à des mécanismes qui exigent une dépense d'énergie; le milieu dans lequel elles se développent est bien moins hostile que celui des phagocytes « professionnels ».

Comme il a été établi par Mackaness avec le modèle *Listeria monocytogenes* chez la souris, les bactéries qui se comportent comme des parasites intraphagocytaires obligatoires stimulent une population lymphocytaire T (CD8), jeune, blastoïde, à produire une variété de facteurs solubles qui activent sur les macrophages infectés. Les macrophages représentent en effet, la cible privilégiée de certaines bactéries résistantes à la phagocytose par les polynucléaires et capables de résister et de se multiplier à l'intérieur des macrophages (mycobactéries, brucelles, légionelles...). La lymphokine responsable de cette activation est l'interféron  $\gamma$  (MAF) mais il existe certainement d'autres facteurs activateurs, différents de celui-ci.

L'action des surnageants de lymphocytes T sensibilisés, à activité interféron  $\gamma$ -MAF sur les macrophages infectés, n'est pas restreinte par le CMH; de même, l'activité conférée n'est pas spécifique et peut se manifester vis-à-vis de bactéries infectant le macrophage, différentes de celles utilisées pour stimuler les lymphocytes T. Les mécanismes activés par le système interféron  $\gamma$ -MAF sont mal connus : l'explosion oxydative est certainement mise en œuvre ainsi que le système myéloperoxydase, mais d'autres mécanismes peuvent être mis en jeu selon la nature de l'agent infectieux.

Lorsque les lymphocytes T sensibilisés sont à nouveau mis en contact avec l'antigène bactérien, ils créent et entretiennent une réaction inflammatoire avec recrutement de cellules macrophagiques non permissives à la multiplication des bactéries (granulomes). Chez la souris, un mécanisme impliquant une cytolysse des macrophages infectés par des cellules T restreintes par les molécules non seulement de classe I mais aussi de classe II du CMH, a été mis en évidence. Enfin, certaines cellules lymphoïdes paraissent impliquées dans un mécanisme de destruction de cellules-cibles infectées par des bactéries, en dehors de toute restriction allogénique. C'est ainsi que la réponse immune adoptive de souris vis-à-vis de *Bacteroides fragilis* implique des cellules T(CD8), apparemment spécifiques de l'antigène.

En ce qui concerne la destruction des bactéries

particulièrement  
groupe s'instal-  
aires et recou-  
une dépense  
se dévelop-  
celui des

aness avec le  
z la souris, les  
des parasites  
stimulent une  
jeune, blas-  
teurs solubles  
infectés. Les  
la cible privi-  
istantes à la  
et capables de  
intérieur des  
lles, légionel-  
de cette acti-  
mais il existe  
vateurs, diffé-

mphocytes T  
MAF sur les  
restreinte par le  
ée n'est pas  
vis-à-vis de  
différentes de  
mphocytes T.  
me interféron  
ion oxydative  
ainsi que le  
autres méca-  
la nature de

bilisés sont à  
ène bactérien,  
ion inflamma-  
acrophagiques  
des bactéries  
n mécanisme  
hages infectés  
les molécules  
si de classe II  
nfin, certaines  
quées dans un  
s-cibles infec-  
toute restric-  
e la réponse  
vis de *Bacte-*  
ules T(CD8),  
gène.  
des bactéries

à développement intracellulaire en dehors des phagocytes, comme les chlamydia et les rickettsies, le mécanisme fait l'objet de spéculations. Une cytolysse restreinte par le CMH de classe I et de classe II reste, pour elles, possible mais non établie.

## STRATÉGIE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE POUR LA DÉFENSE CONTRE LES BACTÉRIES

### MÉCANISMES EN JEU SELON LES ESPÈCES BACTÉRIENNES

(Tableau 22-I)

Nous retiendrons trois exemples caractéristiques.

*Vibrio cholerae* se fixe et prolifère à la surface de la muqueuse intestinale mais ne pénètre jamais les cellules (entérocytes); il produit une toxine thermolabile comportant une sous-unité B qui se fixe sur un récepteur cellulaire, entraînant la

possibilité pour la sous-unité A de pénétrer la membrane cellulaire et de modifier le flux hydrique et électrolytique des entérocytes. La protection est strictement humorale et peut être obtenue soit par une immunité locale (IgAs) du type antiadhésine qui bloque la fixation du vibron sur l'entérocyte, soit par une immunité locale antitoxique, soit mieux, par les deux associées. Si une immunité générale est opérationnelle, elle le doit à une diffusion locale des anticorps actifs et une vaccination optimale devrait être locale, c'est-à-dire orale.

Le *gonocoque* pénètre les cellules en surface et s'y multiplie. Il ne produit pas de toxine diffusible à distance. L'immunité locale implique une antiadhésine qui peut prévenir la maladie mais en réalité, c'est la phagocytose qui assure la guérison. Le complément paraît jouer un rôle important pour restreindre de l'infection à son site initial car les sujets déficients en C5 ou C6 et C7 ou C8, font des localisations à distance ou même des infections généralisées. Dans ces conditions, la bactéricidie impliquant l'activation spécifique du complément par un anticorps antiporine I paraît jouer un rôle primordial pour limiter l'infection à son site initial. Pour la vaccination, l'immunisation locale anti-adhésine paraîtrait la voie, a priori la mieux adaptée, quoique les variations antigéniques des pili soient à considérer.

Tableau 22-I Caractéristiques selon les différentes familles de bactéries.

	Multiplication	Pathogénie	Immunité
Extracellulaire	<i>Streptococcus</i>		Anti-adhésine + opsonisation
	<i>Staphylococcus</i>		Anti-adhésine + opsonisation
	<i>Neisseria</i>		Anti-adhésine + opsonisation + bactéricidie (si invasifs)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	Non invasifs ou invasifs	Anti-adhésine + opsonisation + bactéricidie (si invasifs)
	<i>E. coli</i> entéro-invasifs	invasifs	Anti-adhésine + opsonisation + anti-toxine
	<i>Klebsiella</i>		Opsonisation
	<i>Pseudomonas</i>		Opsonisation
	<i>Vibrio cholerae</i>	Non invasifs	Anti-adhésine + anti-toxine
	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>		Anti-toxine
	Intracellulaire	<i>Salmonella</i>	
<i>Brucella</i>			
<i>Listeria</i>			
Mycobactéries			

Enfin dernier exemple, *S. typhi* pénètre les entérocytes, franchit la membrane basale sous-muqueuse et peut gagner la circulation lymphatique et sanguine. *S. typhi* se multiplie dans les macrophages. La prévention peut être envisagée avec une immunisation locale vis-à-vis de l'adhésine. La prévention et la guérison sont assurées par une immunité cellulaire T qui arme les macrophages, comme c'est le cas pour les infections à bactéries ayant un développement intracellulaire, et qui paraît tributaire de la multiplication bactérienne *in vitro*.

#### RELATIONS ENTRE LES DIFFÉRENTES FORMES DE L'IMMUNITÉ

L'immunité spécifique représente un mécanisme d'économie pour l'organisme ainsi éduqué. Elle permet en effet à celui-ci de ne pas devoir faire les frais coûteux d'une mise en route de l'immunité non spécifique (particulièrement la réaction inflammatoire), à chaque contact infectant.

L'action conjointe des deux types d'immunité, humorale et cellulaire mérite d'être soulignée.

Cette conjonction est particulièrement évidente dans l'infection pneumococcique de la souris. L'immunité cellulaire est représentée par la phagocytose stricto sensu, qui assure la protection en présence de l'anticorps opsonisant antipo-

lyoside capsulaire. Le transfert passif d'anticorps assure la protection de la souris receveuse, mais lorsque celle-ci, comme d'ailleurs la souris activement immunisée, est traitée par des corticoïdes (qui diminuent le granulopoïèse et freinent l'arrivée des polynucléaires), elle meurt de son infection.

Le nombre de *Listeria* qui se développe dans les macrophages diminue après l'apparition des anticorps. De plus les études d'immunité cellulaire montrent que le niveau de résistance aux bactéries à développement intracellulaire est toujours plus élevé si les cellules T ont été stimulées spécifiquement, plutôt que non spécifiquement. Enfin, Tagliabu a décrit une activité cellulaire antibactérienne dans le tissu lymphoïde intestinal, renforcée par la présence d'IgA spécifique (cytotoxicité dépendante de l'anticorps). Ces faits restent toutefois à confirmer.

#### BIBLIOGRAPHIE

##### Références générales

- BRUBAKER RR. Mechanisms of bacterial virulence. *Ann Rev Microbiol*, 1985, 39 : 21-50.
- FALCONE G, CAMPA M, SMITH H, SCOTT GM. Bacterial and viral inhibition and modulation of host defences. *FEMS Symp n° 19*, Acad Press Publ, 1984.
- KAUFMANN SHE. CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in intracellular microbial infection. *Immunol. Today*, 1988, 9 : 168-174.
- NAHMIA AJ, O'REILLY R. *Comprehensive immunology. Immunology of human infection. Part I*, Plenum Medical Book Company, 1981.

f d'anticorps  
veuse, mais  
ouris active-  
s corticoïdes  
éinent l'arri-  
urt de son

oppe dans les  
ion des anti-  
ité cellulaire  
aux bactéries  
oujours plus  
ulées spécifi-  
ment. Enfin,  
re antibacté-  
intestinal,  
ifique (cyto-  
). Ces faits

lence. Ann Rev

M. Bacterial and  
defences. FEMS

racellular micro-  
: 168-174.

e immunology.  
Plenum Medical

J.Y. Cesbron, A. Capron

## RÉSISTANCE ENVERS LES PROTOZOAIRES

Les parasites qui sont immunogéniques engendrent des perturbations importantes et variées du système immunitaire.

La complexité de la réponse immune résulte en partie : des modifications biologiques du parasite au cours de son développement dont chaque stade a généralement une localisation tissulaire et une identité moléculaire et antigénique spécifique; de l'existence de plusieurs composantes (l'immunité effectrice s'accompagne souvent d'effets immunopathologiques et/ou immunomodulateurs) qui agissent simultanément et dont l'importance relative dépend du parasite et de l'hôte infecté; des mécanismes de survie du parasite qui lui permettent de résister plus ou moins efficacement aux conséquences de la réponse immune et qui peuvent interférer avec la réactivité immunologique de son hôte. Enfin, une des particularités du parasitisme est la spécificité souvent très étroite de la relation hôte-parasite.

Ces caractéristiques expliquent la difficulté d'extrapoler d'espèce à espèce les observations

réalisées avec des modèles expérimentaux. C'est pourquoi, seules les situations immunologiques les plus démonstratives parmi les protozooses humaines, ou, les plus caractéristiques parmi les animales, seront abordées ici.

### ABSENCE D'IMMUNITÉ ACQUISE

La trypanosomiase qui est transmise par la piqûre d'une glossine infectée par *Trypanosoma brucei*, *rhodesiense* ou *gambiense*, représente une situation caricaturale. Malgré la synthèse d'anticorps trypanolytiques, la protection immune est inexistante parce que les trypanosomes africains développent une stratégie d'évasion qui consiste à exprimer à leur surface des antigènes sans cesse différents. Ce phénomène est appelé variation antigénique [2].

Dans ce modèle, la lyse par le complément, qui est un mécanisme rarement impliqué dans le contrôle immun des affections parasitaires (le complément étant généralement surtout efficace pour son activité opsonisante), est le phénomène essentiel de la réponse immune. La lyse des parasites s'accompagne d'une hypocomplémentémie, la libération d'antigènes circulants et la formation de complexes immuns ainsi que d'une augmentation caractéristique du taux d'immunoglobulines témoignant d'une stimulation polyclonale.

La réponse humorale est essentiellement dirigée contre une glycoprotéine de 50 000 à 60 000 daltons, qui constitue 95 p. cent des protéines membranaires [3] et est appelée antigène variable. Chaque molécule est fixée à la membrane cellulaire du parasite par sa partie carboxy-terminale, exposant au système immunitaire les déterminants antigéniques présents dans la partie N-terminale.

Les trypanosomes portant le type antigénique qui a induit la réponse immune sont détruits. Cependant, avant même que n'apparaissent les premiers anticorps, quelques parasites ( $1/10^4$ ) réprimant l'expression du gène codant pour l'antigène variable initial, expriment un autre gène codant pour une nouvelle spécificité antigénique. Ces parasites échappent à l'action trypanolytique des anticorps. Une nouvelle vague de parasitémie constituée par l'un de ces hétérotypes déterminera une nouvelle réponse en anticorps spécifiques...

On commence à comprendre les mécanismes moléculaires qui déclenchent et qui régulent le passage de l'expression d'un gène d'antigène de surface à l'expression d'un autre gène. Ces gènes qui sont plusieurs centaines, représentent près de 10 p. cent du patrimoine génétique du parasite. Les mécanismes d'activation semblent si complexes et variés qu'il se révèle difficile d'envisager une immunoprophylaxie qui aurait pour cible l'antigène variable.

A côté des trypanosomes parasites de l'homme existent de nombreuses espèces qui infestent les animaux. En particulier *T. brucei brucei*, qui est responsable chez le bovin de la cachexie du bétail entraînant d'importantes pertes économiques. Cependant, certaines races bovines présentent une résistance naturelle à l'infestation. Cette propriété, appelée trypanotolérance, est un caractère multifactoriel génétiquement transmis [6, 18]. Les liens entre la sensibilité à l'infestation et la réponse immune spécifique ne sont pas connus.

## IMMUNITÉ DE PRÉMUNITION

La malaria suscite une autre situation immunologique connue sous le nom d'immunité de prémunition : l'immunité induit une résistance à la réinfestation, associée à un contrôle du niveau de parasitisme. C'est la situation la plus fréquemment observée dans les parasitoses.

Elle est non stérilisante. Elle réduit seulement la présence du parasite dans le sang à un taux insuffisant pour entraîner des signes cliniques; elle s'acquiert lentement après de nombreuses infestations et a besoin d'être constamment entretenue par celles-ci; de plus, l'immunité antipalustre est spécifique d'espèce et de stade.

## IMMUNITÉ DIRIGÉE CONTRE LES SPOROZOÏTES [14]

Le paludisme est transmis par la piqûre d'un anophèle. Le moustique infesté injecte en même temps que sa salive une centaine de parasites extracellulaires appelés sporozoïtes qui gagnent très rapidement le foie et pénètrent dans les cellules hépatiques où ils se multiplient activement. Après une semaine environ, la lyse de l'hépatocyte libère des milliers de mérozoïtes qui vont pénétrer dans les globules rouges. Un des récepteurs connus est une structure O-tétrasaccharidique de la glycophorine de l'érythrocyte. Cet attachement déclenche un processus énergétique d'endocytose complexe mettant en jeu des organelles parasitaires spécialisés (rhoptries et micronèmes).

Le concept d'un vaccin antisporozoïtes est fondé sur la destruction du parasite avant qu'il n'ait pénétré l'hépatocyte, et/ou de l'hépatocyte infecté avant que les mérozoïtes ne soient libérés.

L'immunité antisporozoaire se développe rarement en zone d'endémie. Néanmoins, dans un modèle de paludisme de rongeur (*P. berghei*), une protection a pu être obtenue en inoculant des sporozoïtes irradiés. Deux types de mécanisme immunologique sont impliqués dans la destruction des parasites : la synthèse d'anticorps neutralisant l'infectivité des sporozoïtes et la production de cellules, soit des lymphocytes T cytotoxiques dirigés spécifiquement contre l'antigène plasmodial exprimé à la surface des hépatocytes infectés, soit des lymphocytes T sécrétant de l'interféron  $\gamma$ . L'antigène cible de cette réponse immune est une



protéine qui recouvre entièrement le sporozoïte. Cette protéine, appelée circumsporozoïtaire (Cs) [4], est spécifique de chaque espèce plasmodiale et comprend trois domaines distincts. La partie centrale de la molécule est constituée d'un motif de 4 résidus (NANP : Asn-Ala-Asn-Pro et NVDP : Asn-Val-Aso-Pro) répété 41 fois en tandem. La partie N-terminale possède une séquence hydrophobe caractéristique d'une séquence signal, tandis que l'extrémité C-terminale présente une séquence d'ancrage membranaire. La protéine possède un site antigénique B immunodominant situé dans le motif répétitif. Les anticorps monoclonaux dirigés contre cet épitope neutralisent *in vitro* la pénétration des sporozoïtes, et l'administration de fragments Fab protège l'animal.

Cependant, les immunisations réalisées chez la souris ont montré que la réponse anti-NANP est contrôlée par les gènes Ir. Par ailleurs dans la population infestée de façon endémique, 40 p. cent des personnes infestées présentent des cellules T CD4<sup>+</sup> stimulables par les peptides de la protéine Cs. Enfin, la non-reconnaissance par les cellules T CD4<sup>+</sup> des motifs répétés intéressant la partie centrale de la protéine Cs, et le polymorphisme de cette région sont des obstacles supplémentaires au développement d'un vaccin sporozoïtaire fondé sur cet antigène [11].

#### IMMUNITÉ CONTRE LES STADES ÉRYTHROCYTAIRES [7]

Au contraire des sporozoïtes, les stades érythrocytaires asexués ne représentent pas une population homogène : les trophozoïtes jeunes en forme d'anneau s'accroissent et évoluent en schizontes qui aboutissent à l'individualisation de mérozoïtes en un stade appelé rosace. Comme les hépatocytes infestés, les hématies parasitées exposent à leur surface divers antigènes plasmodiaux dont certains sont activement sécrétés par le parasite et sont libérés lors de la rupture de l'hématie infestée. Ces antigènes pourraient jouer un rôle dans l'immunité acquise qui permet le maintien de l'infestation à un niveau infraclinique. Dans la perspective d'un vaccin, l'immunité que l'on cherchera à établir doit contenir l'infection sanguine à un niveau assez faible pour ne pas entraîner de manifestations cliniques, au contraire d'un vaccin ant sporozoïtes, où l'immunité que l'on cherche à obtenir doit être stérilisante.

Les mécanismes effecteurs de la réponse immune naturelle contre les stades érythrocytaires de la malaria ne sont pas connus avec certitude. Plusieurs antigènes ont été identifiés et mis en relation avec la protection obtenue : transfert passif d'anticorps, étude de l'inhibition des anticorps sur la croissance du parasite en culture, étude de la phagocytose des hématies parasitées... Les antigènes les mieux caractérisés regroupent : l'antigène majeur du schizonte (195 000 daltons) qui présente la répétition de 3 acides aminés qui varient d'une souche plasmodiale à l'autre; une protéine de 155 000 daltons située dans les micronèmes et qui intervient pendant le processus d'invasion érythrocytaire. Cet antigène présente lui aussi deux blocs de répétition.

Ainsi les antigènes de *P. falciparum* possèdent souvent des motifs répétitifs [1], dont certains sont polymorphes, et vis-à-vis desquels la réponse immune est contrôlée par les gènes Ir. Le parasite pourrait donc échapper à l'action du système immunitaire en lui présentant des épitopes simples contre lesquels la réponse immune est génétiquement déterminée. De plus l'existence d'un réseau de multiples épitopes identiques portés par la même molécule entraînerait une stimulation polyclonale aux dépens de l'expansion de clones synthétisant les anticorps de haute affinité. En focalisant massivement une réponse immune de mauvaise qualité sur une seule cible et en l'empêchant d'en déceler d'autres, ces structures diminueraient l'efficacité de la réponse humorale.

#### IMMUNITÉ STÉRILISANTE

Si l'efficacité du système immunitaire entraîne l'élimination du parasite et une résistance de longue durée à la réinfestation, on parle d'immunité stérilisante. Cette situation est rare. C'est cependant le cas chez l'homme pour la leishmaniose cutanée où l'immunité persiste toute la vie, mais peut disparaître si l'hôte devient immunodéficient. De même, les individus traités et guéris de la leishmaniose viscérale sont résistants à toute infestation ultérieure.

La leishmaniose constitue une maladie dont les formes cliniques sont très diverses et dépendent à la fois de l'espèce infestante et de la réponse immune développée par l'hôte. Elles peuvent se traduire en trois tableaux principaux : la leishmaniose cutanée (Bouton d'Orient) causée par *Leish-*

*mania tropica major*; la leishmaniose cutanéomuqueuse (Espundia) due principalement à *Leishmania mexicana*; la leishmaniose viscérale (Kala-azar) transmise par *L. donovani*. La leishmaniose est une anthroponose dont les principaux réservoirs des espèces pathogènes pour l'homme sont le chien et les rongeurs. L'homme est infesté par la piqûre d'insectes appartenant à des familles diverses : *Phlébotomus*, *Lutzomia*, *Psychodopygus*... Les parasites qui se développent dans l'intestin moyen de l'insecte sont des formes mobiles appelées promastigotes. Ces parasites transmis à l'homme lors d'un repas sanguin sont rapidement phagocytés par les macrophages dans lesquels ils échappent à la destruction des enzymes lysosomiaux [13] et se transforment en amastigotes.

Les études de la réponse immune au cours de la leishmaniose ont largement bénéficié de l'utilisation expérimentale de souris congéniques. Dans cette espèce, la résistance naturelle à l'infection par *L. donovani* est contrôlée par le gène Lsh (chromosome 1), tandis que la résistance acquise est régulée par 3 gènes au moins : deux sont liés à H2 et à H11 et un est lié à Ir-2. Dans le cadre de la leishmaniose cutanée, la distinction entre ces deux types de résistance est moins nette, mais la sensibilité à l'infection par *L. major* est sous la dépendance de deux gènes Scl1, Scl2 et un gène lié à H11. L'expression phénotypique de ces gènes est inconnue, mais le gène Lsh semble contrôler la capacité des macrophages à détruire l'amastigote.

Dans ces modèles expérimentaux, peu de données sont en faveur d'un rôle joué par les anticorps (lyse complément-dépendante, amplification de la phagocytose), alors que de fortes présomptions plaident pour une intervention cellulaire dans la résistance acquise à l'infection : les souris CBA athymiques, qui sont sensibles à *L. major*, deviennent résistantes après avoir été reconstituées avec des cellules T syngéniques. Ce sont les cellules T CD4<sup>+</sup> qui sont le support de cette immunité protectrice [17]. La stimulation antigénique de ces cellules induit la synthèse de MAF et d'interféron  $\gamma$  qui sont essentiels pour activer le macrophage infesté et l'amener à détruire les amastigotes intracellulaires. Les souris reconstituées avec les cellules T CD4<sup>+</sup> développent une réaction d'hypersensibilité retardée (HSR) de type tuberculinique à l'injection intradermique d'antigène parasitaire. Cette réaction est corrélée avec la résistance acquise au cours de la leishmaniose cutanée. A l'opposé des souris

CBA, les souches BALB/c meurent de l'infection à *L. major*. Cette sensibilité provient de l'induction préférentielle de cellules T CD4<sup>+</sup> suppressives synthétisant de l'IL-3 et de l'IL-4 [8, 10]. Ces cellules inhibent la réaction d'HSR de type tuberculinique.

Au cours de la leishmaniose, le statut de l'affection résulte donc schématiquement d'un équilibre entre l'activité de 2 types de cellules CD4<sup>+</sup> modulant le métabolisme oxydatif du macrophage. Les cellules protectrices peuvent être assimilées aux cellules Ta1, et les cellules suppressives seraient à rapprocher des cellules Ta2 [16].

L'immunisation avec des promastigotes tués induit aussi ces deux types de cellules CD4<sup>+</sup> [9] : les voies intraveineuse et intrapéritonéale qui conduisent à une immunité de protection, induisent une production de cellules CD4<sup>+</sup> synthétisant de l'interféron  $\gamma$ ; tandis que les voies intramusculaires ou sous-cutanée, qui entraînent une exacerbation de la maladie, amènent l'induction préférentielle de cellules CD4<sup>+</sup> sécrétant de l'IL-3 et de l'IL-4. Les mécanismes par lesquels l'IL-3, l'IL-4 et l'interféron  $\gamma$  modulent le processus de présentation de l'antigène sont inconnus. Mais on peut penser que l'induction préférentielle de ces deux types de cellules CD4<sup>+</sup> résulte de la présentation de l'antigène par le macrophage. Le glycophospholipide membranaire majeur des leishmanies, libéré par une phospholipase membranaire, se fixerait sur le macrophage par un récepteur spécifique pour induire des cellules suppressives; par contre, la forme non délipidée, fixée à la membrane du macrophage par sa partie hydrophobe, activerait les cellules CD4<sup>+</sup> protectrices [12]. Un rôle similaire pourrait être joué par l'antigène majeur de surface des promastigotes, qui est une glycoprotéine de 63 000 daltons qui se fixe au macrophage par le récepteur du complément C3, et celui de la fibronectine [15].

## CONCLUSION

Des relations biologiques qui s'établissent entre le parasite et son hôte, il résulte un équilibre nécessaire à la survie des deux partenaires. Les mécanismes permettant aux protozoaires, qui sont zoologiquement proches les uns des autres, de déjouer la réponse immune sont très variés. Si nous avons ici centré notre intérêt sur la réponse

de l'infection  
t de l'induc-  
CD4<sup>+</sup> sup-  
de l'IL-4 [8,  
on d'HSR de

le statut de  
uement d'un  
s de cellules  
oxydatif du  
s peuvent être  
cellules sup-  
cellules Ta2

stigotes tués  
s CD4<sup>+</sup> [9] :  
ritonéale qui  
fection, indui-  
<sup>+</sup> synthétisant  
s intramuscu-  
t une exacer-  
duction préfé-  
de l'IL-3 et  
squels l'IL-3,  
processus de  
nus. Mais on  
entielle de ces  
résulte de la  
microphage. Le  
majeur des  
olipase mem-  
phage par un  
des cellules  
non délipidée,  
e par sa partie  
CD4<sup>+</sup> protec-  
t être joué par  
romastigotes,  
daltons qui se  
r du complé-  
ne [15].

immune effectrice, il ne faudrait pas pour autant oublier qu'elle a souvent par elle-même des effets pathologiques [5]. Enfin, le polyparasitisme et la malnutrition modifient la réponse immune observée en zone d'endémie, par rapport à celle obtenue dans des conditions expérimentales

contrôlées. La possibilité de développer un vaccin viendra non seulement de la caractérisation d'épitopes parasitaires « sensibles » mais aussi de la possibilité d'induire une réponse dirigée, en manipulant les phénomènes de régulation du système immunitaire.

*Les auteurs sont reconnaissants à J.-P. Dessaint et P. Fallangua pour la lecture critique de ce manuscrit.*

## BIBLIOGRAPHIE

1. ANDERS RF, COPPEL RL, BROWN GV, KEMP DJ. Antigens with repeated amino acid sequences from the asexual blood stages of *Plasmodium falciparum*. *Prog All*, 1988, 41 : 148-172.
2. BORST P, CROSS GA. Molecular basis for antigenic variation. *Cell*, 1982, 29 : 291-303.
3. CROSS GA. Identification, purification and properties of clone specific glycoprotein antigen constituting the surface coat of *Trypanosoma brucei*. *Parasitology*, 1975, 71 : 393-408.
4. DAME JB, WILLIAMS JL, MCCUTCHAN TF et al. Structure of the gene encoding the immunodominant surface antigen on the sporozoite of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Science*, 1984, 225 : 593-598.
5. DEL GIUDICE G, GRAU DE, LAMBERT PH. Host responsiveness to malaria epitopes and immunopathology. *Progr All*, 1988, 41 : 288-330.
6. DOLAN RB. Genetics and trypanotolerance. *Parasitol Today*, 1987, 3 : 137-143.
7. HOLDER AA. The precursor to major merozoite surface antigens : structure and role in immunity. *Progr All*, 1988, 41 : 72-97.
8. LEICHUCK R, GRAVELEY R, LIEW FY. Susceptibility to murine cutaneous leishmaniasis correlates with the capacity to generate interleukine 3 in response to *Leishmania* in vitro. *Cell Immunol*, 1988, 111 : 66-76.
9. LIEW FY, SINGLETON A, CILLARY E et al. Prophylactic immunization against experimental leishmaniasis : V. Mechanism of the antiprotective blocking effect induced by subcutaneous immunization against *Leishmania major* infection. *J Immunol*, 1985, 135 : 21021-2107.
10. LOCKSLEY RM, HEINZEL FP, SADICK MD et al. Murine cutaneous leishmaniasis : susceptibility correlates with differential expansion of helper T-cell subsets. *Ann Inst Pasteur*, 1987, 138 : 744-749.
11. MCCUTCHAN TF, DE LA CRUZ VF, GOOD MF et al. Antigenic diversity in *Plasmodium falciparum*. *Progr All*, 1988, 41 : 173-192.
12. MITCHELL GF, HANDMAN E. T lymphocytes recognize *Leishmania glycoconjugates*. *Parasitology Today*, 1985, 1 : 61-63.
13. MURRAY HW. How Protozoa evade intracellular killing. *Ann Int Med*, 1983, 98 : 1016-1018.
14. NUSSENZWEIG V, NUSSENZWEIG RS. Development of a sporozoite malaria vaccine. *Am J Trop Med Hyg*, 1986, 35 : 678-688.
15. OUAISSI MA. Role of the RGD sequence in parasites adhesion to host cells. *Parasitol Today*, 1988, 4 : 169-173.
16. POWRIE F, MASSON D. Phenotypic and functional heterogeneity of CD4<sup>+</sup> T cells. *Immunol Today*, 1988, 9 : 274-277.
17. REZAI HR, FARRELL J, SOULSBY EL. Immunological response of *L. donovani* infection in mice and significance of T cell in resistance to experimental leishmaniasis. *Clin Exp Immunol*, 1980, 40 : 508-514.
18. ROELANTS GE. Natural resistance to African trypanosomiasis. *Parasite Immunol*, 1986, 8 : 1-10.

ablissent entre  
un équilibre  
artenaires. Les  
aires, qui sont  
es autres, de  
rès variés. Si  
sur la réponse

J.-Y. Cesbron, A. Capron

## RÉSISTANCE ENVERS LES HELMINTHES

Les helminthes envahissent leur hôte en franchissant la peau ou s'établissent dans le tractus digestif. Adultes, leur taille varie de quelques millimètres à plusieurs mètres, selon les espèces. Ces parasites représentent un véritable défi aux défenses immunes de l'hôte vertébré infesté. Ils présentent des caractéristiques qui les distinguent radicalement d'organismes infectieux comme les bactéries ou les protozoaires qui sont unicellulaires, de petite taille, ont un temps de génération court et un taux de multiplication très élevé. Les helminthes sont des métazoaires qui vivent longtemps (ayant parfois une durée de vie dépassant 10 ans) et qui ne se multiplient pas ou peu chez l'hôte vertébré. Ces propriétés ont des conséquences importantes sur l'immunité, la physiopathologie et le diagnostic des maladies que ces parasites induisent.

### CONTRÔLE GÉNÉTIQUE DE LA RÉPONSE IMMUNE

La plupart des connaissances immunologiques sur les helminthes sont issues d'études focalisées sur un stade de développement d'un parasite donné dans un modèle expérimental précis. Or, la résistance ou la sensibilité, le développement ou non d'une pathologie, l'aspect de la réponse immune apparaissent assez souvent génétiquement déterminés de façon simple [13]. Ainsi la résistance à l'infestation semble être transmise comme un caractère dominant dans des modèles aussi divers que *Brugia malayi*, *Dipetalonema vitae*, *Nematospiroides dubius*, *Trichinella spiralis*, *Trichuris muris*... Ces données ont permis la sélection de moutons résistant à des parasitoses intes-

tinales telles que *Haemonchus contortus*, ou *Taenia colubriformis*.

L'influence des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) a reçu dans ce contexte une attention particulière. Elle a été complètement écartée ou définitivement établie dans un nombre limité de cas. Dans la trichinose murine, deux allèles TS1 et TS2 localisés près du locus H-2 interfèrent in vivo avec la fécondité parasitaire, le niveau et la durée de l'infestation primaire et secondaire. Dans la bilharziose murine à *Schistosoma japonicum*, la mortalité et la réponse immune varient en fonction des souches congéniques utilisées. Chez l'homme, les travaux consacrés aux rapports entre le CMH et la prévalence, la morbidité, ou la résistance aux infections par des helminthes sont souvent contradictoires. Il n'en reste pas moins vrai qu'une grande partie de la variation de la réponse immune mise en œuvre dépend du CMH.

## MÉCANISMES D'ÉCHAPPEMENT

Une des stratégies utilisées par les helminthes pour échapper à la reconnaissance du système immunitaire est celle du travestissement antigénique. La forme larvaire du schistosome acquiert en 24 à 48 heures des antigènes de l'hôte : elle devient alors reconnaissable par des anticorps dirigés contre les antigènes de cet hôte (ce mécanisme est différent du changement de topographie d'expression des antigènes constitutifs du parasite en fonction de leur stade de développement). In vivo, le rôle fonctionnel de ces antigènes d'hôte a été étayé par une expérience désormais classique de R. Smithers [11]. En transférant chirurgicalement des schistosomes provenant de la veine porte de souris infestées dans la veine porte de singes immunisés avec des antigènes de souris, il constata le rejet rapide de la population parasitaire ainsi passivement transférée. Des études ultrastructurales révélèrent des lésions importantes au niveau de la surface des parasites. De nombreux travaux sont venus ultérieurement apporter la preuve que les schistosomes, et d'autres helminthes, pouvaient acquérir des molécules extrêmement diverses de leurs hôtes, en particulier des antigènes de groupe sanguin (*Schistosoma mansoni*, *Loa loa*, *Wuchereria bancrofti*) ou du CMH de classes I et II

(*Schistosoma mansoni*); des immunoglobulines (*Schistosoma mansoni*, *Mesocertoides corti*, *Taenia crassiceps*, *Echinococcus granulosus*...); de l'albumine (*Litosomoides carinii*, *Wuchereria bancrofti*...).

En fait, il apparaît difficile de cerner l'importance réelle de ce mécanisme dans l'infestation naturelle. Il reste néanmoins que dans les 48 heures qui suivent son installation chez l'hôte définitif, le schistosomule va acquérir une solide protection vis-à-vis des mécanismes effecteurs, qui se prolongera à l'état adulte, et permettra une longue survie de la population parasitaire. Ainsi, ce sont essentiellement les produits du métabolisme du ver adulte qui sont reconnus par le système immunitaire de l'hôte et qui sont, dès lors, susceptibles d'intervenir efficacement dans l'induction des mécanismes de protection.

Cette première stratégie d'échappement, qui touche essentiellement aux modifications d'expression de l'antigénicité parasitaire et qui donc brouille les mécanismes de reconnaissance de l'hôte, peut être complétée d'un mécanisme supplémentaire lié à l'altération des circuits de communication cellulaire par des molécules d'origine parasitaire. Ainsi, les schistosomes excrètent une sérine protéase qui clive les immunoglobulines fixées à la surface du parasite à un récepteur pour le fragment Fc des IgG. Les peptides résultant de l'action de cette enzyme sur les IgG possèdent une activité fortement inhibitrice de l'activation des macrophages : elle réduit considérablement leur métabolisme oxydatif, leur cytoxicité et, plus généralement, leur capacité de phagocytose.

Si certains parasites sont insensibles à l'action lytique du complément du fait de leur localisation (bile pour *Fasciola hepatica*, par exemple), ou par leur encapsulement (*Paragonimus westermani*, par exemple), d'autres helminthes ont développé des stratégies évoluées pour y échapper. La voie alterne du complément, qui est activée par le manteau cellulaire du jeune schistosomule de *S. mansoni*, entraîne la lyse de la larve. Cependant, le parasite se débarrasse de son glycocalyx en quelques heures et perd ainsi sa capacité d'activer la voie alterne du complément. La voie classique est activée par la fixation des anticorps des sujets infestés sur le schistosomule. Cependant, le parasite renouvelle rapidement sa membrane et devient alors insensible à l'action du complément. Des récepteurs du Cr3, dont on connaît les capacités régulatrices sur l'activation du complément, sont présents à la surface du ver adulte.

## IMMUNITÉ NATURELLE ACQUISE

Dans les helminthiases, la réponse immune n'a en général pour conséquence que de contrôler le niveau de la population parasitaire. Ceci se traduit dans l'un des mécanismes fondamentaux de l'immunité antiparasitaire que représente l'immunité concomitante : la population parasitaire existante est responsable de l'induction de l'immunité; celle-ci n'a pour cible que les formes de réinfestation ou de réinvasion, cependant que les parasites qui l'ont suscitée y sont devenus réfractaires. Cette situation, où le parasite de primo-infection échappe totalement aux conséquences de la réponse immune qu'il a lui-même induite, s'applique globalement aux helminthiases. Elle a fait l'objet de nombreux travaux qui ont principalement porté sur la bilharziose.

### BILHARZIOSE [3]

Bien que l'immunité concomitante soit admise depuis de nombreuses années dans les schistosomiases expérimentales, cette notion est restée longtemps controversée chez l'homme. La difficulté d'en obtenir la démonstration tient à la complexité de déterminer le moment où un individu se surinfeste et, a fortiori, de mesurer son degré d'immunité. La prévalence et l'intensité de la bilharziose déclinent après l'adolescence. Si ces données épidémiologiques pouvaient être attribuées à l'établissement d'une immunité, elles pouvaient aussi être interprétées comme résultant de la diminution des contacts avec l'eau à cet âge. De récents travaux épidémiologiques ont permis de lever cette ambiguïté. En étudiant individuellement l'intensité de la réinfestation après traitement, en fonction de la fréquence et de la durée des baignades, il a pu être montré que la sensibilité à la réinfestation n'était pas en rapport avec la fréquence des contacts aquatiques. De surcroît, le développement d'une résistance est étroitement lié au passé épidémiologique de l'individu [12]. Ces résultats suggèrent fortement la participation d'une composante immunologique dans l'acquisition de l'immunité à la réinfestation. Cependant, les réponses immunes cellulaires et humorales responsables de cette protection restent mal connues chez l'homme. Les études réalisées indiquent que les mécanismes effecteurs et de régulation sont très similaires à ceux décrits dans les schistosomiases expérimentales des muridés, dont les plus étudiées sont celles de la souris et du rat.

Ces deux espèces diffèrent cependant par leur capacité à élaborer une réponse immune protectrice.

La souris est un hôte permissif chez qui les œufs de la femelle fécondée du parasite entraînent une réponse immunopathologique importante. A cet égard, ce modèle présente des analogies importantes avec la maladie humaine. Cependant, des souris infestées chroniquement développent une résistance à la réinfestation, qui semble reposer sur la mise en œuvre d'une réponse immune non spécifique.

Contrairement à la souris, le rat est un hôte non permissif à l'infection expérimentale par *S. mansoni* : le parasite migre et se développe comme chez la souris durant les 3 premières semaines, avant d'être détruit. En cas de réinfestation, la majorité des parasites qui pénètrent l'hôte sont détruits très rapidement. Cette immunité à la réinfestation a pour cibles les formes larvaires ou schistosomules.

### FILARIOSES

Le spectre clinique des filarioses lymphatiques causées par *Wuchereria bancrofti* et *Brugia malayi* suggère l'existence d'une immunité concomitante. Dans les zones haloendémiques, l'exposition aux moustiques infectés est permanente. La plupart des gens sont amicrofilarémiques, ne présentent pas de signes cliniques de la maladie mais possèdent des anticorps antimicrofilaires. Cependant, aucune démonstration précise de l'immunité concomitante n'a été expérimentalement établie. Dans le cas de l'onchocercose humaine, il n'y a pas d'évidence d'une résistance acquise à la réinfestation.

### HELMINTHIASES INTESTINALES

L'homme infesté traité, se réinfecte rapidement sans que, apparemment, ne se développe la moindre immunité à la réinfestation.

### MÉCANISMES EFFECTEURS

Parmi les helminthiases, la bilharziose à *S. mansoni* a certainement été la parasitose la plus étudiée. Les mécanismes effecteurs de l'immunité

qui ont été principalement décrits à partir de l'étude des modèles expérimentaux sont, jusqu'à preuve du contraire, extrapolables à l'homme [3].

### MÉCANISMES ANTICORPS-DÉPENDANTS

Les réactions de cytotoxicité à médiation cellulaire sont le support central de l'immunité à la réinfestation. Elles ne reposent cependant pas sur les cellules T cytotoxiques (bien que les schistosomules présentent les antigènes d'histocompatibilité de l'hôte infesté à leur surface) ni sur les cellules NK. Ce sont des cellules non lymphoïdes, macrophages, éosinophiles et plaquettes, qui sont responsables de la destruction du parasite par une réaction dépendante des anticorps (ADCC). La seconde caractéristique de cette cytotoxicité cellulaire réside dans le fait que les anticorps effecteurs sont des anticorps anaphylactiques, les IgE en particulier.

Les mécanismes par lesquels ces cellules tuent les parasites sont peu connus : les macrophages activés par l'interaction des IgE fixées à leur surface avec le schistosomule libèrent de l'interleukine 1, des enzymes lysosomiales et des superoxydes. L'éosinophile activé, dans les mêmes conditions, libère de la protéine basique majeure (MBP), et de la protéine cationique (ECP), qui sont toxiques pour le schistosomule *in vitro*, et de l'éosinophile-peroxydase spécifique de l'éosinophile (EPO). Cette enzyme engendre des radicaux bromés hautement cytotoxiques [14]. Les plaquettes activées génèrent aussi des radicaux oxygénés. Ces espèces radicalaires oxygénées, iodées, chlorées ou bromées sont cytotoxiques par elles-mêmes ou par les radicaux organiques qu'elles induisent.

Plusieurs arguments plaident en faveur de l'intervention réelle des mécanismes d'ADCC *in vivo* dans l'immunité à la réinfestation :

- l'accumulation d'éosinophiles et de macrophages autour des schistosomules morts chez les animaux immuns;

- la baisse de l'immunité chez les souris traitées avec des anticorps antiéosinophiles;

- le transfert passif de ces cellules (armées *in vivo* par des anticorps) à des animaux naïfs, ce qui confère aux receveurs un état de résistance.

L'IgE-dépendance qui constitue la seconde caractéristique de ces mécanismes de cytotoxicité est supportée par :

- son abolition si le sérum testé a été préalablement adsorbé sur des anti-IgE;

- sa diminution en présence d'IgE non spécifiques;

- son induction par des anticorps monoclonaux antischistosomule de classe IgE.

La pertinence *in vivo* du rôle de l'IgE est renforcée par :

- l'élévation importante du taux d'IgE totales et spécifiques au cours de l'évolution naturelle ou expérimentale de l'infestation; l'immunosuppression obtenue par l'injection d'anti-IgE à des rats nouveau-nés qui abolit chez eux l'acquisition d'une immunité concomitante;

- le transfert passif de sérum riche en IgE, ou d'IgE monoclonales antischistosomules, qui confère aux animaux receveurs un état de protection à la réinfestation.

Les IgE se fixent aux éosinophiles, macrophages et plaquettes par un récepteur de faible affinité FcεRII qui diffère du récepteur de forte affinité FcεRI présent sur les mastocytes et les basophiles [2].

La plaquette répond sélectivement, selon l'isotype, à l'interaction de l'antigène aux anticorps complexés sur sa membrane; les signaux dépendant des IgE induisent la génération de radicaux libres tandis que les signaux dépendant des IgG provoquent la libération de sérotonine. Avec l'éosinophile, l'interaction de l'IgG complexée stimule la libération d'ECP, tandis que l'IgE entraîne celle de l'EPO. Les éosinophiles de faible densité sont les plus stimulables par l'IgE et expriment le plus d'FcεRII.

Si la cytotoxicité induite par la plaquette et le macrophage est strictement IgE-dépendante, il n'en est pas de même pour l'activation des éosinophiles. Chez le rat en effet, l'interaction de l'IgG2a dont le taux sérique augmente au cours de l'infestation expérimentale avant celui de l'IgE, induit l'activation cytotoxique de l'éosinophile. Chez l'homme, la sous-classe d'IgG capable d'activer les éosinophiles est inconnue.

### MÉCANISMES INDUITS PAR LES LYMPHOKINES

Le rôle prépondérant des IgE dans l'activation de ces cellules n'exclut pas pour autant la participation d'autres mécanismes effecteurs. Ainsi, les macrophages sont activés en cellules tueuses par le facteur activateur des macrophages

(MAF), dont le composant principal est l'interféron  $\gamma$ .

La cytotoxicité des plaquettes est également induite et modulée par les lymphokines : l'interféron  $\gamma$  et le facteur nécrosant des tumeurs (TNF) activent directement les plaquettes sanguines humaines en cellules tueuses pour le schistosomule; l'interféron  $\gamma$  augmente l'expression du récepteur Fc $\epsilon$ RII à la surface des thrombocytes. Au contraire, les cellules T CD8<sup>+</sup> libèrent une lymphokine de 20 000 daltons capable d'inhiber les capacités cytotoxiques des plaquettes. Ainsi, la cytotoxicité plaquettaire résulte d'une balance entre l'activation des cellules T CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>.

Enfin, les éosinophiles sont activés en présence de TNF [10].

## MODULATION DE LA RÉPONSE IMMUNE

### COMPLÉMENT [5]

Par sa présence ou par les produits qu'il sécrète, le parasite module la réponse immune effectrice. Ainsi, la surface du schistosomule active le complément dont les fragments activent eux-mêmes l'éosinophile par leur fixation sur un récepteur de type C3.

### PRODUITS DE SÉCRÉTION-EXCRÉTION [3]

Le schistosomule excrète une sérine protéase qui clive les IgG fixées à sa surface par un récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines. Parmi les produits de clivage, un tripeptide TKP (thréonine, lysine, proline) inhibe l'activation des macrophages. Une autre molécule, présente dans les produits de métabolisme du ver adulte, inhibe la prolifération des lymphocytes T, tant *in vivo* qu'*in vitro*, et supprime les réponses immunes primaire et secondaire. Cette molécule n'intervient pas en interférant avec la sécrétion de l'IL-2. Elle rend sensible à la filariose des hôtes non permissifs. Ainsi, la production de ces puissants immunodépresseurs pourrait rendre compte de l'inefficacité des mécanismes de cytotoxicité T. Elle pourrait aussi être

un élément important de la régulation de la synthèse d'anticorps anaphylactiques, dans des situations où l'excrétion/sécrétion par le parasite lui-même de facteurs de potentialisation de cette réponse anticorps (SRP), pourrait conduire à la rupture de l'équilibre hôte-parasite.

### ANTICORPS BLOQUANTS [3]

Chez le rat, la baisse de l'efficacité des mécanismes anticorps-dépendants au cours de l'évolution de l'infestation ne provient pas d'une diminution de la synthèse d'IgE ou d'IgG2a, mais de l'apparition d'anticorps IgG2c qui empêchent (par encombrement stérique) la fixation des anticorps anaphylactiques sur le parasite et bloquent la mise en action de mécanismes de cytotoxicité cellulaire antiparasitaire.

Chez l'homme, les anticorps bloquants, qui sont présents dans le sérum des patients non immuns, en dépit de la présence d'anticorps potentiellement protecteurs, sont des IgM. Chez la souris, une telle restriction isotypique n'a pas encore été démontrée. Les anticorps bloquants sont préférentiellement induits par des antigènes polysaccharidiques. Dans le cadre de *Schistosoma mansoni*, l'épitope immunodominant pour l'induction d'anticorps bloquants est un épitope glycanique porté par une molécule de 38 000 daltons qui est exprimée au niveau de la membrane des larves de schistosomules et dans les produits métaboliques du ver adulte. L'induction de la synthèse de ces anticorps bloquants constitue, pour le parasite, un moyen très élaboré d'échapper au système immunitaire. Ces anticorps bloquants sont donc des marqueurs de non-immunité.

### ANTIGÈNES

L'usage veut que l'on présente les helminthes comme une mosaïque d'antigènes. La richesse des antigènes reconnus par un lapin immunisé avec un extrait brut d'antigène parasitaire, contraste cependant avec la pauvreté des antigènes fonctionnels. De plus, les antigènes connus au niveau moléculaire ne sont pas des molécules constitutives de la membrane du parasite. Ce sont des composés exprimés transitoirement à sa surface pour être sécrétés/excrétés. Dans le cadre de la



bilharziose les antigènes caractérisés sont les suivants :

#### GP38 [4, 6]

L'un des immunogènes majeurs présents à la surface du schistosomule est une glycoprotéine de 38 000 daltons. L'épitope correspondant est retrouvé sur un glycoconjugué de 155 000 daltons dans les produits métaboliques du ver adulte. Ce changement de topographie de l'expression de cet antigène selon le stade du développement du parasite constitue une confirmation moléculaire de l'immunité concomitante. Cet épitope est aussi présent au niveau du mollusque hôte intermédiaire (*Biomphalaria glabrata*). La copule glycosidique de cet antigène correspond à une structure oligosaccharidique retrouvée dans l'hémocyanine du mollusque marin (*Megathura crenulata*) plus connue des immunologistes sous le nom de Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH). Les rats immunisés avec de la KLH ou par des anticorps anti-idiotypiques de l'anticorps monoclonal ayant servi à caractériser cette molécule, témoignent d'un haut degré de protection vis-à-vis de l'infestation à *S. mansoni*. La partie protéique de la GP38 présente une activité aminopeptidique.

#### Sm 97 [7, 9]

Cet antigène dont le gène a été cloné à partir de *S. mansoni* est une paramyosine. L'antigène natif entraîne la synthèse d'interféron  $\gamma$  via les cellules T stimulées. L'action de cette interleukine sur les macrophages pulmonaires pourrait expliquer l'attrition des parasites observés à ce niveau.

#### GLUTATHION S-TRANSFÉRASES [1, 8]

Les anticorps de patients ou de rats infestés expérimentalement ont permis d'identifier un antigène de 28 000 daltons dans les extraits de *S. mansoni*. Des travaux similaires réalisés dans le

modèle souris avec *S. japonicum* ont conduit à la description d'une molécule de 26 000 daltons. L'analyse de la séquence des acides aminés déduite de la séquence codant pour ces antigènes a montré des homologies importantes avec celles des glutathion S-transférases connues. Une activité glutathion-transférase est retrouvée dans les antigènes natifs. Il n'existe aucune identité moléculaire et antigénique entre les 2 molécules. Cependant, l'immunoprécipitation des extraits antigéniques totaux après adsorption sur de l'agarose couplée à du glutathion montre 2 bandes de 26 000 daltons et 28 000 daltons, pour chaque espèce, suggérant que les schistosomes possèdent 2 glutathion-transférases, Sm 28 et Sm 26 qui sont très similaires à Sj 28 et Sj 26. Le rôle fonctionnel de ces enzymes reste à déterminer. On pense qu'elles détoxifieraient les produits de liperoxydation qui résultent de l'attaque du système immun sur la membrane du parasite. Les animaux immunisés avec ces molécules (recombinantes ou natives) montrent un haut degré de protection.

#### CONCLUSION

Les principaux mécanismes développés par les helminthes pour se soustraire à l'action du système immunitaire sont : le travestissement antigénique, l'interférence sur les circuits de communication cellulaire de l'hôte par la sécrétion/excrétion de molécules parasitaires, et la sélection isotypique de la réponse anticorps. Si chez les ovins et les bovins, il est possible d'obtenir une protection avec des larves infestantes irradiées de *Strongylus vulgaris*, ou d'*Oesophagostomum columbianum* par exemple, les mécanismes immunitaires et les antigènes qui permettent cette vaccination sont très mal connus. Dans le cadre de la bilharziose humaine, les antigènes-cibles ont été identifiés et leurs gènes séquencés. Les résultats des immunisations expérimentales avec ces antigènes parasitaires produits par génie génétique laissent entrevoir la possibilité de vacciner l'Homme contre cette maladie.

Les auteurs remercient J.-P. Dessaint et P. Falangua de la lecture critique du manuscrit.

t conduit à la  
000 daltons.  
acides aminés  
es antigènes a  
s avec celles  
es. Une acti-  
vée dans les  
dentité molé-  
2 molécules.  
des extraits  
tion sur de  
ntre 2 bandes  
pour chaque  
nes possèdent  
t Sm 26 qui  
26. Le rôle  
déterminer. On  
produits de  
l'attaque du  
parasite. Les  
ales (recombi-  
aut degré de

loppés par les  
l'action du  
ravestissement  
s circuits de  
par la sécré-  
itaires, et la  
anticorps. Si  
est possible  
larves infes-  
is, ou d'*Oeso-*  
exemple, les  
antigènes qui  
s mal connus.  
humaine, les  
et leurs gènes  
isations expé-  
itaires produits  
r la possibilité  
maladie.

manuscrit.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BALLOUL JM, SANDERMAYER P, DREYER D et al. Molecular cloning of a protective antigen of schistosomes. *Nature*, 1987, 326 : 149-153.
2. CAPRON A, DESSAINT JP, CAPRON M et al. From parasites to allergy : a second receptor for IgE. *Immunology Today*, 1986, 7 : 15-18.
3. CAPRON A, DESSAINT JP, CAPRON M et al. Immunity to schistosomes : Progress Toward Vaccine. *Science*, 1987, 238 : 1065-1072.
4. DISSOUS C, GRZYCH JM, CAPRON A. *Schistosoma mansoni* shares a protective oligosaccharide epitope with freshwater and marine snails. *Nature*, 1986, 323 : 443-445.
5. FISHELSON Z. Complement and parasitic trematodes. *Parasitol Today*, 1989, 5 : 19-25.
6. GRZYCH JM, DISSOUS C, CAPRON A. *Schistosoma mansoni* shares a protective carbohydrate epitope with freshwater keyhole limpet hemocyanin. *J Exp Med*, 1987, 165 : 865-878.
7. LANAR D, PEARCE EJ, JAMES SL et al. Identification of paramyosin as schistosome antigen recognized by intradermally vaccinated mice. *Science*, 1986, 234 : 593-596.
8. MITCHELL GF. Glutathione S-transferases-Potential Components of Anti-schistosome Vaccine ? *Parasitology Today*, 1989, 5 : 34-37.
9. PEARCE EJ, JAMES SL, HIENY S et al. Induction of protective immunity against *Schistosoma mansoni* by vaccination with schistosome paramyosin (Sm 97), a non-surface parasite antigen. *Proc Natl Acad Sci* 1988, 85 : 5675-5682.
10. SILBERSTEIN D, DAVID J. Tumor necrosis factor enhances eosinophil toxicity to *Schistosoma mansoni* larvae. *Proc Natl Acad Sci*, 1986, 83 : 1055-1058.
11. SMITHERS SR, TERRY RJ. Resistance to experimental infection with *S. mansoni* in rhesus monkeys induced by the transfer to adult worms. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1967, 61 : 517-533.
12. BENSTED-SMITH R, ANDERSON RM, BUTTERWORTH AE et al. Evidence of individual patients to reinfection with *Schistosoma mansoni* after treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 1987, 81 : 651-654.
13. WAKELIN D. Genetic control of immunity to helminth infections. *Parasitol Today*, 1985, 1 : 17-25.
14. WEISS SJ, TEST ST, ECKMANN CM et al. Brominating oxidants generated by human eosinophils. *Science*, 1986, 234 : 200-204.

B. Losson

## RÉSISTANCE ENVERS LES ECTOPARASITES

De très nombreuses espèces d'arthropodes parasitent le revêtement cutané des vertébrés terrestres. Ces infestations parasitaires peuvent induire des lésions localisées voire systémiques plus ou moins graves. Elles s'accompagnent donc souvent d'une pathologie spécifique. D'une plus grande importance encore est le rôle de vecteur que jouent de très nombreuses espèces d'acariens et d'insectes piqueurs qui assurent la transmission et constituent le réservoir de divers organismes pathogènes (rickettsies, bactéries, protozoaires et helminthes) ou de virus dont l'impact sur la santé humaine et animale est considérable.

D'un point de vue strictement biologique, le terme ectoparasitisme recouvre une foule d'associations qui diffèrent les unes des autres essentiellement par la durée et l'intimité des contacts entre un hôte et un parasite donné. Chez les mammifères, deux situations extrêmes sont représentées : d'une part, les infestations par *Sarcoptes scabiei*, agent des gales sarcoptiques humaine et animale qui creuse des galeries intraépidermiques et effectue l'entièreté de son cycle à ce niveau et,

d'autre part, les contacts sporadiques qu'ont, avec les vertébrés, les différentes espèces de moustiques en vue d'assurer la prise d'un repas sanguin. On comprendra donc aisément que dans des situations si diamétralement opposées, le type de réponse immune et le degré de résistance éventuelle seront souvent très différents. Si l'on excepte le cas un peu particulier des agents des myases spécifiques qui effectuent sous forme larvaire des migrations compliquées au sein même de l'organisme animal, c'est uniquement au niveau de la peau qu'ont lieu les premiers contacts entre les deux antagonistes. C'est par l'intermédiaire de cet organe qu'une réponse protectrice éventuelle pourra se développer. Lorsque le parasite est accessible, une résistance aux infestations ectoparasitaires est assurée par des mécanismes totalement non spécifiques tels que le léchage et le grattage; dans certains cas, des réactions immunes spécifiques, essentiellement d'hypersensibilité immédiate, peuvent augmenter les sensations de prurit et par conséquent aider à la localisation et à l'expulsion du parasite; enfin,

lorsque ce dernier est peu ou pas accessible ou difficile à déloger, certains types de réponses immunes à effets antiparasitaires directs peuvent entrer en jeu et assurer l'élimination de l'intrus.

Tous les ectoparasites introduisent un peu de salive au niveau de la lésion infligée par leurs pièces buccales. La salive des arthropodes piqueurs est un mélange complexe de facteurs anticoagulants, d'enzymes protéolytiques et de toxines. Ces diverses molécules, de nature essentiellement protéique, sont très immunogènes et suscitent la plupart du temps des réactions d'hypersensibilité dont l'efficacité antiparasitaire dépendra essentiellement de la durée du contact entre le parasite et son hôte.

L'énorme majorité des ectoparasites appartient soit au groupe des acariens soit à celui des insectes. Parmi les très nombreuses espèces parasitaires, certaines constituent un véritable fléau par leur importance médicale humaine ou vétérinaire; pendant plusieurs décennies, la lutte contre les arthropodes vecteurs a reposé presque exclusivement sur l'emploi d'insecticides ou d'acaricides. L'apparition et le développement de phénomènes de résistance constituent à l'heure actuelle une menace très sérieuse qui a poussé les chercheurs à imaginer d'autres moyens de lutte parmi lesquels l'immunoprophylaxie tient une place prépondérante.

## SYSTÈME IMMUNITAIRE ET ACARIENS PARASITES

### TIQUES

#### Résistance acquise vis-à-vis des tiques

On dénombre environ 800 espèces de tiques, toutes parasites des vertébrés et vectrices de très nombreux agents pathogènes pour l'homme et les animaux domestiques. Chez les Ixodidés ou tiques dures, la larve, la nymphe et l'adulte se fixent sur la peau d'un hôte déterminé pour y prélever, à chaque stade, un seul repas sanguin. La période dite d'engorgement dure plusieurs jours. Par contre, chez les Argasidés ou tiques molles, la prise du repas sanguin s'étale sur quelques heures,

voire quelques minutes, et chaque stade parasitaire peut se nourrir plusieurs fois.

Les pièces buccales sont utilisées pour pénétrer la peau de l'hôte et prélever le sang; la production de salive et, chez les tiques dures, d'un matériel d'ancrage (le ciment) précèdent toujours l'engorgement proprement dit. Le matériel antigénique contenu dans ces sécrétions persiste pendant plusieurs jours dans les couches de l'épiderme comme le démontrent les études par immunofluorescence. Chez les animaux résistants, les antigènes salivaires semblent se concentrer au niveau d'une population particulière de cellules dendritiques de la peau, les cellules de Langerhans [1].

Même si de nombreuses observations semblent démontrer que les bovins et en particulier certains individus ou certaines races peuvent développer une résistance marquée aux infestations naturelles, la plupart de nos connaissances sur la réponse immune induite par les tiques proviennent des études réalisées sur quelques modèles expérimentaux utilisant des animaux de laboratoire, essentiellement le cobaye et le lapin.

C'est en 1939 que Trager démontra pour la première fois que chez le cobaye soumis à plusieurs infestations par *Dermacentor variabilis*, les larves devenaient rapidement incapables de se nourrir et étaient par conséquent éliminées [6]. En règle générale, la résistance acquise vis-à-vis des Ixodidés se manifeste par une réduction du nombre de tiques capables de s'engorger jusqu'à réplétion lors d'une infestation d'épreuve, une diminution du poids moyen des individus et de la vitesse d'engorgement, une capacité réduite des larves et des nymphes à muer vers le stade suivant et une réduction de la fécondité des femelles adultes.

L'acquisition d'une résistance spécifique est un phénomène extrêmement rapide. C'est ainsi que, chez le cobaye, un contact de 48 heures entre une femelle adulte et l'hôte confère une résistance presque totale lors d'une infestation d'épreuve par 200 larves, ce qui démontre que la réponse immune n'est pas spécifique d'un stade parasitaire particulier; tous les stades induisent une résistance vis-à-vis des larves et ces dernières vis-à-vis des nymphes. L'existence d'antigènes salivaires communs chez des tiques appartenant à des espèces, voire à des genres différents, pourrait avoir des conséquences énormes lors de la mise au point éventuelle de vaccins. Néanmoins, de nombreux cas existent où aucune résistance croisée n'existe entre des espèces voisines; en outre, il

apparaît que le type de réponse immune varie d'une espèce animale à l'autre et qu'il faut, par conséquent, se garder de toute généralisation abusive. Chez les Argasidés ou tiques molles qui n'induisent pas de résistance chez leur hôte, le repas sanguin ne dure que quelques heures et ceci n'est sans doute pas suffisant pour permettre au système immunitaire d'entrer en jeu.

### Intervention de l'immunité humorale et cellulaire

La réponse immune acquise est de type systémique et agit au niveau de sites cutanés éloignés de l'endroit où a eu lieu le premier contact.

La présence de facteurs sériques doués d'activité antitique est bien documentée. C'est Trager qui montra le premier que, chez le cobaye, le transfert par injection intrapéritonéale de sérum en provenance d'un animal résistant conférerait un certain niveau de protection chez l'animal receveur [6]. Cette observation a, depuis lors, été largement confirmée. Chez le cobaye infesté expérimentalement par *Amblyomma americanum*, le facteur sérique est une IgG1 qui agit via les récepteurs Fc d'un certain nombre de types cellulaires de la lignée blanche.

Un niveau de protection plus élevé est obtenu par le transfert de cellules ganglionnaires ou d'exsudat péritonéal; un résultat légèrement supérieur encore est atteint lors du transfert simultané de cellules et de sérum d'animaux résistants.

Plusieurs équipes ont analysé les mécanismes immuns impliqués chez le cobaye par l'utilisation d'agents immunodépresseurs. A certaines doses destinées à supprimer essentiellement la production d'anticorps, la cyclophosphamide inhibe toute résistance acquise chez cette espèce. En outre, chez les animaux traités, l'accumulation de polynucléaires basophiles au niveau de la piqûre, si caractéristique chez les animaux résistants, est réduite; ceci suggère l'existence d'une association entre la résistance acquise par l'hôte et la basophilie cutanée.

### Analyse histopathologique

L'étude histopathologique chez le cobaye résistant montre que dans les 24 heures qui suivent la fixation de la tique, la jonction dermoépidermique est infiltrée massivement par des basophiles et accessoirement par des éosinophiles. On retrouve ces deux types cellulaires en contact intime avec

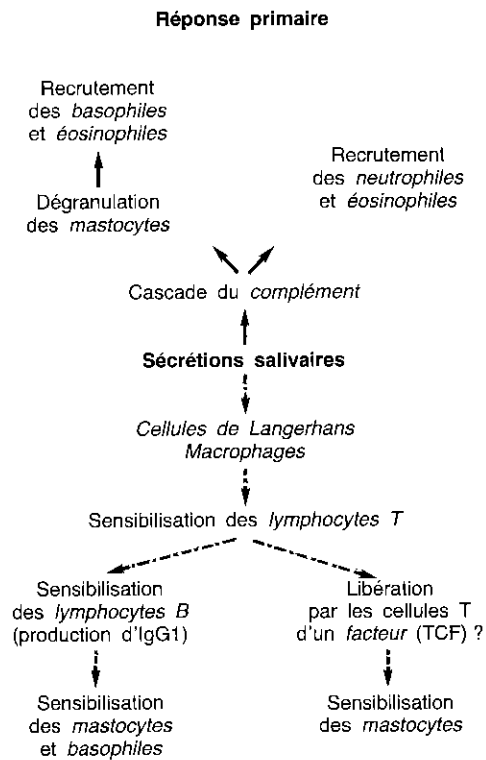
le ciment à proximité duquel ils peuvent former des vésicules intraépidermiques. Le transfert de sérum ou de lymphocytes d'animaux résistants induit le même type de réponse cutanée tandis que, lors d'une primo-infestation, ce sont essentiellement des neutrophiles et des éosinophiles qui s'accumulent à ce niveau. Ces lésions se retrouvent classiquement lors de réactions d'hypersensibilité de contact et sont probablement induites par certaines enzymes d'origine salivaire ou par certains constituants du ciment. Même si la plupart des arthropodes hématophages étudiés à ce jour induisent une basophilie cutanée, c'est lors d'infestations par les Ixodidés que le phénomène est le plus spectaculaire.

### Rôle central du polynucléaire basophile

Comme nous l'avons déjà mentionné, tout semble indiquer que la basophilie cutanée joue un rôle central dans l'expression de la résistance envers les tiques. L'administration à des cobayes résistants d'un sérum polyclonal antibasophiles entraîne une basopénie médullaire, sanguine et tissulaire et l'abolition complète de la résistance lors d'une infestation d'épreuve. Un résultat quelque peu similaire quoique beaucoup moins marqué est obtenu par l'emploi d'un sérum antiéosinophiles.

Le polynucléaire basophile représente moins de 1 p. cent des leucocytes circulants et ne réside pas normalement au niveau des tissus où il ne s'accumule qu'en réponse à un stimulus spécifique d'origine cellulaire (lymphocytes T) ou sérique (anticorps). Les antigènes salivaires libérés lors du repas sanguin sont sans doute captés par les cellules de Langerhans du derme; elles les présenteront aux lymphocytes T qui, par la libération de médiateurs, vont provoquer l'accumulation de basophiles au niveau de la lésion et permettre l'expression du phénomène de résistance (Fig. 25-1 et 25-2).

La dégranulation des mastocytes et la vasodilatation qu'elle provoque précèdent sans doute l'accumulation des autres leucocytes et, en particulier, des basophiles. La basophilie agit probablement en maintenant une vasoperméabilité favorable à la pénétration de certains médiateurs à activité antiparasitaire; l'histamine est probablement l'un d'entre eux comme semble le montrer l'emploi de divers antihistaminiques qui réduisent à la fois la réaction cutanée et la résistance



**Figure 25-1** Représentation hypothétique des mécanismes immunes lors d'une primo-infestation par les tiques chez un animal neuf (cobaye); les lignes pleines indiquent ce qui peut être visualisé lors de l'examen histopathologique, c'est-à-dire l'accumulation initiale des neutrophiles et éosinophiles suivis vers la 96<sup>e</sup> heure par les basophiles; les lignes en pointillé indiquent une série d'événements qui conduisent à la sensibilisation du système immunitaire qui ne pourra s'exprimer que lors d'une infestation d'épreuve (d'après Brown, 1985).

acquise. Lors d'une expérience particulièrement démonstrative, Brown et Askenase [2] ont induit la dégranulation non spécifique des basophiles à des moments précis au cours de la prise d'un repas sanguin par *A. americanum*. Ils ont ainsi démontré l'existence de deux périodes critiques (6 et 48 heures après la fixation) pendant lesquelles le parasite est particulièrement sensible aux médiateurs libérés par les basophiles. Au cours de la première période, la tique assure sa fixation à la peau et le développement d'un œdème local pourrait entraver voire inhiber ce processus, ce qui entraînerait la mort précoce de l'arthropode.

La seconde période coïncide avec l'absorption de substances essentielles juste avant la réplétion proprement dite et toute interférence à ce niveau pourrait aussi avoir des conséquences délétères pour le parasite.

### Antigènes salivaires et immunoprophylaxie

L'origine salivaire des antigènes responsables de l'induction et de l'expression de la résistance immune vis-à-vis des tiques a été clairement démontrée, du moins chez les animaux de laboratoire.

Le produit des glandes salivaires est sécrété très tôt après la fixation sur l'hôte et joue sans doute un rôle crucial lors de la pénétration des pièces buccales. Chez les Ixodidés, les glandes salivaires sont des organes complexes comprenant trois types différents d'acinis qui produisent vraisemblablement diverses molécules antigéniques à des moments précis du séjour sur l'hôte. Il en résulte que chaque antigène peut induire une réponse protectrice spécifique qui affectera la tique de manière variable. Par exemple, les anticorps dirigés contre les produits de sécrétion les plus précoces pourraient inhiber la fixation et entraîner la mort. Les tiques qui ont survécu produiraient d'autres molécules antigéniques et les anticorps dirigés contre ces dernières inhiberaient l'ingestion ou la digestion des aliments, ce qui entraînerait une diminution de la fertilité ou une incapacité à muer.

Quoi qu'il en soit, le degré de protection n'est jamais complet car quelques individus parviennent toujours à prélever sans encombre leur repas sanguin. Bien que le phénomène reste, à l'heure actuelle, inexpliqué, la production par les survivants de composants salivaires de nature antigénique différente ou neutralisant les anticorps spécifiques ou autres médiateurs constitue une hypothèse de travail. Chez *Ripicephalus sanguineus*, par exemple, l'existence d'un agent antihistaminique a été démontrée [3].

L'immunoprophylaxie des infestations par les Ixodidés chez le bovin en est encore à ses balbutiements. Des résultats encourageants ont été obtenus par l'emploi d'extraits parasitaires totaux. Par contre, dans les modèles expérimentaux, le cobaye infesté par *A. americanum* en particulier, des études très élégantes et détaillées ont démontré qu'un niveau élevé de protection était conféré par l'injection de sérum ou d'un extrait

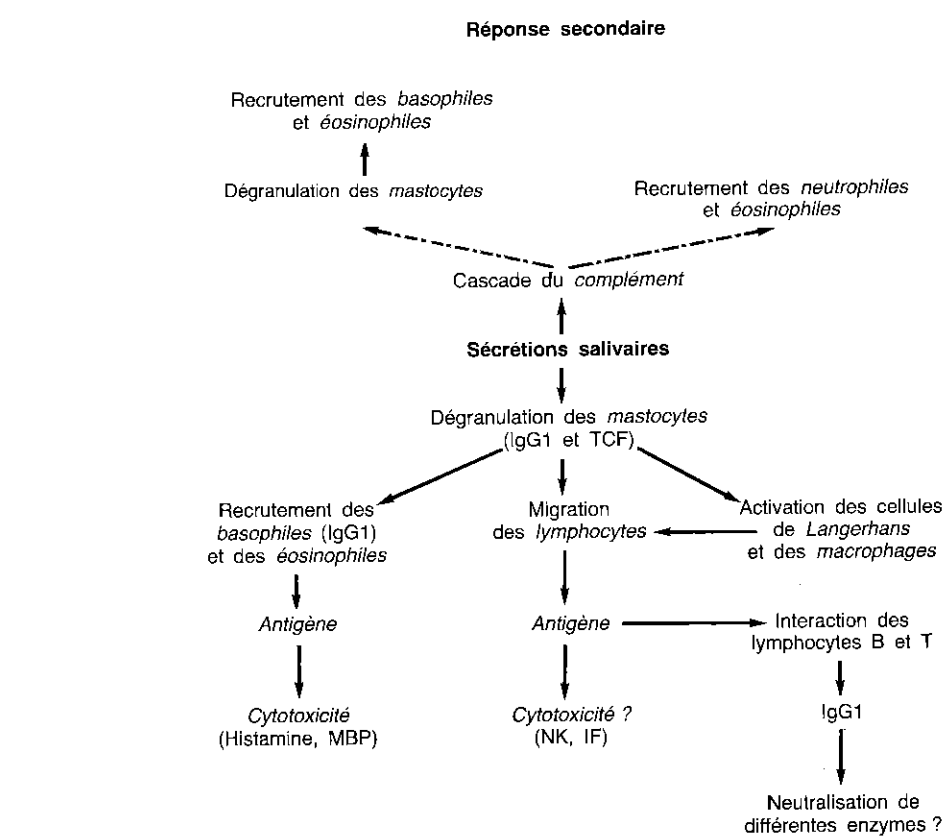
absorption de  
la réplétion  
à ce niveau  
ces délétères

responsables  
la résistance  
é clairement  
ux de labora-

et sécrété très  
e sans doute  
n des pièces  
des salivaires  
prenant trois  
ent vraisem-  
niques à des  
Il en résulte  
une réponse  
la tique de  
es anticorps  
ion les plus  
n et entraîner  
produiraient  
les anticorps  
ient l'inges-  
qui entraîne-  
me incapacité

tection n'est  
parviennent  
leur repas  
te, à l'heure  
ar les survi-  
ature antigé-  
es anticorps  
onstitue une  
*ipicephalus*  
e d'un agent

ions par les  
ncore à ses  
eants ont été  
aires totaux.  
imentaux, le  
n particulier,  
taillées ont  
tection était  
d'un extrait



**Figure 25-2** Représentation hypothétique des mécanismes immuns lors d'une infestation d'épreuve par les tiques chez un animal résistant (cobaye). Les lignes pleines décrivent les réactions cellulaires qui reposent essentiellement sur la libération d'amines vasoactives par les mastocytes. L'activité des médiateurs libérés par chacun des types de cellules effectrices est indiquée mais est le plus souvent purement hypothétique. Les lignes en pointillé indiquent les réactions non spécifiques qui sont quelque peu éclipsées par la réponse immune spécifique (MBP = Major Basic Protein de l'éosinophile; NK = cellules tueuses naturelles; If = interféron) (d'après Brown, 1985).

salivaire total et que le sérum des animaux résistants contenait des IgG1 monospécifiques capables de conférer une résistance passive aux animaux receveurs. En outre, ces IgG1 reconnaissent une seule et unique protéine présente à la fois dans le cément et l'extrait salivaire et d'un poids moléculaire de 20 000 daltons. L'emploi de ces IgG1 en chromatographie d'affinité a permis d'isoler la molécule et les recherches actuelles tendent à la purifier et à la caractériser sur le plan biochimique ce qui permettrait d'envisager sa production en masse par ingénierie génétique. Même s'il est hardi d'extrapoler ces résultats à l'espèce bovine et aux animaux domestiques en général, il n'est plus tout à fait utopique d'ima-

giner que dans un avenir proche l'immunoprophylaxie jouera un rôle majeur dans les programmes de lutte contre les tiques.

### AUTRES ACARIENS

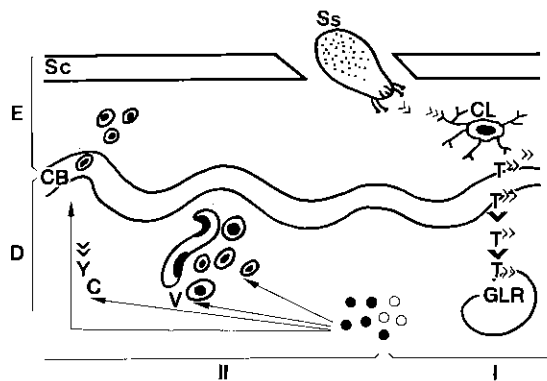
#### Infestations par *Sarcoptes scabiei*

*Sarcoptes scabiei*, l'agent des gales sarcoptiques humaine et animale, creuse des galeries intraépidermiques au niveau desquelles se déroule la totalité du cycle. Le parasite et ses produits d'excrétion ou de sécrétion semblent induire des

réactions d'hypersensibilité chez l'hôte mais l'étude des réactions immunes est rendue difficile par la taille réduite de l'acarien et l'absence de technique de culture *in vitro*.

Au cours d'une observation restée classique, Mellanby [4] a montré que, après une primo-infestation chez l'homme, le nombre d'acariens culmine 3 à 4 mois plus tard puis décline rapidement, les premiers symptômes et notamment le prurit n'apparaissant qu'un mois après l'infestation. Après réinfestation, le prurit apparaît dans les 24 heures et la population d'acariens reste extrêmement faible.

D'autres observations plus récentes confirment l'intervention du système immunitaire. Les patients ont généralement des taux sériques élevés en IgE, IgM et IgG et l'injection intradermique d'un extrait de *S. scabiei* induit des réactions d'hypersensibilité immédiate et retardée. La figure 25-3 décrit de manière schématique les mécanismes immuns opérant chez l'homme et que des études biochimiques et immunohistochimiques ont permis de préciser.



**Figure 25-3** Représentation schématique des mécanismes effecteurs et de reconnaissance chez l'homme infesté par *S. scabiei*. Après la pénétration du stratum corneum (SC) par *S. scabiei* (Ss), les antigènes de l'acarien (>>) diffusent dans l'épiderme (E). Ils atteignent les cellules de Langerhans (CL) qui transfèrent l'information aux lymphocytes T (T). Les lymphocytes activés (T>>) se multiplient et activent d'autres sous-populations de cellules T au niveau du ganglion lymphatique régional (GLR). Au cours d'une réponse secondaire les lymphocytes circulants (○●) s'accumulent au site d'infestation et y provoquent l'infiltration périvasculaire (⊙), l'élongation des vaisseaux sanguins (V), le dépôt d'immunocomplexes (∇C) et l'œdème dermique. L'exocytose des cellules inflammatoires à travers la couche basale de l'épiderme (CB) entraîne la prolifération épidermique associée à des troubles de la différenciation cellulaire (d'après Van Neste, 1986).

Chez l'homme et les animaux domestiques, la gale sarcoptique présente une symptomatologie individuelle très variable. La gale norvégienne ou hyperkératosique représente une forme particulière de l'affection décrite essentiellement chez les individus souffrant de désordres immunologiques ou neurologiques divers ou soumis à une thérapeutique immunodépressive. Cette forme de gale se caractérise par sa haute contagiosité et des charges parasitaires extrêmement élevées. Une situation similaire semble exister chez le porc où, à côté de la forme érythémateuse et prurigineuse classique, l'on peut observer des formes atypiques hyperkératosiques. Des anticorps spécifiques et des réactions d'hypersensibilité immédiate et retardée existent dans cette espèce qui apparaît de plus en plus comme un excellent modèle expérimental en dermatologie.

### Le genre *Demodex*

Les espèces appartenant à ce genre colonisent les follicules pileux et les glandes sébacées des mammifères; on les y trouve en petit nombre. Ils n'induisent en général aucune pathologie. Dans certaines conditions et notamment chez le chien, des formes généralisées graves peuvent se développer spontanément ou à la suite de l'administration d'agents immunodépresseurs ou de sérum antilymphocytaire.

Il apparaît maintenant que la gale démodectique est liée à un déficit immunitaire; chez les malades, les lymphocytes T sont incapables de proliférer *in vitro* en présence de divers mitogènes non spécifiques. Après élimination des acariens par chimiothérapie, une réponse proliférative normale est rétablie. En outre, le sérum des chiens atteints de démodécie généralisée et en particulier la fraction des  $\beta$ -globulines contient des facteurs immunodépresseurs non identifiés à ce jour, mais capables de réduire *in vitro* la prolifération lymphocytaire en présence de phytohématagglutinine.

Ces données s'expliquent si l'on admet qu'un déficit de l'immunité cellulaire, de nature héréditaire, permet une multiplication incontrôlée des acariens qui à leur tour maintiennent et renforcent l'état d'immunodépression. L'étude chez les malades de l'interaction entre les immunoglobulines sériques et les récepteurs Fc des lymphocytes B et T pourrait élucider les mécanismes immuns impliqués.



## SYSTÈME IMMUNITAIRE ET INSECTES PARASITES

### INSECTES HÉMATOPHAGES

#### Moustiques et autres diptères

Une des toutes premières observations remonte à 1946, époque à laquelle Mellanby [5] indique qu'une séquence prévisible de réactions cutanées se développe chez des volontaires soumis de manière prolongée aux piqûres de différentes espèces de moustiques. C'est ainsi qu'au cours du temps et après une phase de non-réactivité apparaissent successivement : 1) de l'hypersensibilité retardée; 2) de l'hypersensibilité immédiate et retardée; 3) une réaction de type immédiat; 4) et enfin un état d'anergie.

Plusieurs études ont démontré que la ou les molécules antigéniques sont d'origine salivaire; des études histochimiques assez poussées menées sur les glandes salivaires de *Aedes aegypti* ont révélé la présence d'un mucopolysaccharide, d'une glycoprotéine, d'une protéine acide et d'une mucine neutre. Ce mélange complexe semble ne contenir qu'une seule molécule capable d'induire une réaction cutanée.

Vu la brièveté des contacts entre le vertébré et le moustique et malgré la présence d'anticorps circulants spécifiques (notamment des IgE), ces réactions immunes ne confèrent aucune protection spécifique mais peuvent, au contraire, entraîner l'apparition d'une pathologie. En médecine vétérinaire, la gale d'été du cheval est une dermatite allergique chronique induite par la salive de certaines espèces de Culicoïdes.

Un cas un peu particulier est celui de *Melophagus ovinus*, parasite permanent du mouton. Les populations parasitaires présentent un cycle annuel avec un pic hivernal suivi d'une diminution printanière et de la persistance de quelques individus jusqu'à l'hiver suivant.

Il est maintenant établi qu'une résistance à la fois innée et acquise influence les populations parasitaires. La première repose probablement sur une plus grande aptitude des populations lymphocytaires T à répondre spécifiquement au cours d'une primo-infestation. La seconde, par contre, est un phénomène limité au site de la piqûre; l'inflammation chronique et en particulier l'intense vasoconstriction capillaire et l'accumulation périvasculaire d'éosinophiles, lymphocytes et

mastocytes pourraient entraver la prise du repas et provoquer la mort par inanition de l'insecte.

Contrairement à beaucoup d'insectes hématophages, *M. ovinus* prélève du sang directement par ponction des capillaires cutanés et, par conséquent, introduit peu ou pas de matériel antigénique au niveau de la peau. Ceci expliquerait pourquoi l'examen clinique ne permet en aucun cas de suspecter l'apparition de réactions d'hypersensibilité même après des périodes prolongées d'exposition. Ajoutons que l'induction par le parasite d'un état d'immunodépression plus ou moins marquée a été établie et pourrait constituer une explication alternative.

Diverses techniques ont permis de mettre en évidence des anticorps circulants mais il ne semble y avoir aucune corrélation entre leurs taux sériques et l'apparition de la résistance.

#### Anoploures ou poux piqueurs

De nombreuses similitudes existent entre les anoploures et *M. ovinus*. Ce sont tous des parasites permanents qui prélèvent régulièrement un repas sanguin et les réactions cutanées chez le bovin infesté par *Haematopinus eurysternus* sont semblables à celles décrites chez le mouton infesté par *M. ovinus*.

L'étude de l'infestation par *Polyplax serrata* chez la souris a beaucoup amélioré nos connaissances quant à l'intervention du système immunitaire et a permis de mettre en évidence les points suivants :

— chez les souris incapables de se gratter, la population parasitaire est contrôlée par le système immunitaire;

— l'histopathologie révèle un état d'hypersensibilité;

— l'aptitude des différentes souches de souris à répondre est très variable et chez certaines souches une relation existe entre la résistance au parasite et la réponse blastogénique spécifique des lymphocytes spléniques ou ganglionnaires cultivés *in vitro*;

— l'infestation par elle-même a un effet immunomodulateur plus ou moins marqué; la résistance acquise peut être totalement inhibée par l'emploi d'agents immunodépresseurs;

— la résistance a un caractère local comme l'ont démontré les allogreffes de peau de souris résistantes à des souris athymiques;

— les anticorps circulants ne jouent aucun rôle dans l'expression du phénomène.

### Siphonaptères ou puces

Ces insectes hématophages intermittents induisent comme les diptères des réactions d'hypersensibilité selon une séquence prévisible et les vertébrés soumis à des infestations massives et prolongées développent plus ou moins rapidement un état d'anergie.

Les sécrétions orales de la puce du chat, *Ctenocephalides felis*, ne contiennent pas de protéines mais une molécule d'un poids moléculaire inférieur à 10 000 daltons et qui doit se combiner au collagène du derme pour induire des réactions cutanées d'hypersensibilité. Cet haptène est sans doute un composant normal de la salive de la plupart des espèces de puces ce qui explique, sur le plan clinique, les très fortes réactions croisées entre *C. felis*, *C. canis* et *Pulex irritans*.

La dermatite par allergie aux piqûres de puces ou pulicose allergisante constitue à n'en pas douter l'une des affections dermatologiques les plus courantes chez le chien. Dans cette espèce, les réactions d'hypersensibilité retardée sont plutôt rares. Le rôle éventuel des basophiles qui semblent s'accumuler au niveau des lésions mériterait une étude poussée. Dans les cas sévères et lorsqu'un programme de lutte contre les puces est impraticable, la désensibilisation spécifique constitue le dernier recours; des résultats intéressants ont été obtenus par l'injection intradermique de la fraction hapténique combinée à l'alginate de sodium.

### AGENTS DE MYASES

Parmi les diptères agents de myases, on distingue des parasites obligés, hautement spécifiques d'un hôte déterminé et dont la migration tissulaire s'effectue sous forme larvaire et des parasites facultatifs qui ne migrent pas et se développent souvent au niveau des plaies chez plusieurs espèces animales.

Nous nous limiterons ici à une seule famille, celle des Hypodermatidés et en particulier aux deux espèces *Hypoderma lineatum* et *H. bovis*, agents d'une myase spécifique de l'espèce bovine (appelée hypodermose).

Le cycle débute lorsque les œufs déposés sur le poil par la mouche adulte éclosent et libèrent de petites larves qui vont pénétrer la peau intacte à l'aide d'enzymes et migrer par le tissu conjonctif vers les organes-cibles à savoir la sous-muqueuse de l'œsophage (*H. lineatum*) ou les tissus épido-

raux du canal vertébral (*H. bovis*). Au cours de la migration, la digestion extracorporelle des tissus est assurée par les enzymes digestives régurgitées par la larve et l'absorption des substances digérées s'effectue au travers de la cuticule. Ce premier stade parasitaire (L1) est strictement anaérobie. Les varrons par contre (stades 2 et 3) qui se forment dans l'hypoderme de la région dorsale vivent en aérobie et respirent par un pertuis cutané qui résulte de l'action enzymatique de la L1. Lorsque le varron a acquis la maturité nécessaire, il quitte la peau de l'hôte, tombe sur le sol, s'y transforme en chrysalide qui libérera l'adulte ailé un mois plus tard.

Les infestations successives par *H. lineatum* ou *H. bovis*, surtout si elles sont massives et répétées, induisent une résistance marquée et l'apparition d'anticorps circulants spécifiques. Il semble néanmoins n'y avoir aucune relation de cause à effet entre les deux événements. De même des réagines ont été détectées dans le sérum des animaux exposés aux antigènes larvaires; elles peuvent être à l'origine d'accidents de type anaphylactique suite à la rupture mécanique et accidentelle d'un varron mais un rôle protecteur ne leur a jamais été clairement attribué.

L'immunité cellulaire joue un rôle plus important; in vitro, la réponse blastogénique spécifique lymphocytaire varie en fonction des différentes étapes du cycle et est en relation directe avec le niveau de résistance de l'hôte. Chez les animaux résistants, les phases initiales et terminales s'accompagnent d'une mortalité élevée des larves L1 et ce sont les antigènes sécrétés par celles-ci qui induisent à ces moments particuliers du cycle une réponse blastogénique maximale, la production de MIF et des réactions d'hypersensibilité retardée. Chez les animaux neufs, aucune réponse spécifique n'apparaît avant la fin de la migration; ceci pourrait s'expliquer par l'activité immunodépressive de la L1 qui semble à l'heure actuelle bien établie.

La nature et l'origine des antigènes chez *Hypoderma* ont fait l'objet de nombreuses études. Trois protéines appelées hypodermine A, B et C et sécrétées par les larves de premier stade en migration jouent un rôle primordial dans les relations hôte-parasite. Ce sont toutes trois des sérines protéases qui ont été caractérisées aux plans biochimique et biologique.

L'hypodermine C est une collagénase puissante qui va permettre la lyse des tissus durant la phase migratoire. Contrairement aux collagénases d'origine bactérienne, l'hypodermine C n'active

pas la cascade du complément et est dépourvue d'activité inflammatoire. Son accumulation dans le tube digestif aveugle de la L1 et son élimination lors de la première mue larvaire au sein du tissu sous-cutané de l'hôte permettent une lyse du derme et de l'épiderme et font communiquer les varrons aérobies avec le milieu extérieur. Enfin, cette molécule a des propriétés antigéniques et constitue la source d'antigènes utilisée dans tous les immunodiagnostic (hémagglutination indirecte, électrophorèse et ELISA). La mise au point de ces techniques a eu de nombreuses applications : dépistage précoce des infestés lors de campagnes d'éradication, évaluation précoce de l'activité larvicide de certaines molécules, études épidémiologiques et physiopathologiques.

Les hypodermines A et B présentent une grande communauté de structure avec l'hypodermine C mais n'ont aucune activité physiologique commune avec cette dernière. Elles sont très peu antigéniques mais leur activité sur le système du complément (dégradation du composant C3) inhibe les processus inflammatoires et elles sont douées de propriétés immunodépressives. Ajoutons enfin que les propriétés antigéniques ou anaphylactoides de ces trois molécules sont à l'origine des accidents consécutifs à l'administration d'organophosphorés ou d'ivermectines en période hivernale.

Des essais de vaccination utilisant des extraits totaux de larves de premier stade ont donné des résultats modestes mais encourageants. A l'heure actuelle, un des thèmes prioritaires de recherche est la purification des antigènes larvaires d'importance fonctionnelle et la caractérisation chez l'hôte d'inhibiteurs chimiques ou biologiques des structures parasitaires anti-inflammatoires.

**BIBLIOGRAPHIE**

*Références générales*

ALLEN JR. Immunology, immunopathology and immunoprophylaxis of ticks and mite infestations. In : E.J.L Soulsby, Immune responses in parasitic infections : immunology,

immunopathology and immunoprophylaxis. Volume IV. Protozoa, arthropods and invertebrates, Boca Raton, CRC Press, 1987 : 141-174.

ASKENASE PW. Immunopathology of parasitic diseases : involvement of basophils and mast cells. Springer Semin Immunopathol, 1980, 2 : 417-422.

BARON RW, WEINTRAUB J. Immunological responses to parasitic arthropods. Parasitology Today, 1987, 3, 77-82.

BOULARD C, ARGENTE G, HILLION E. Hypodermose bovine : description et incidence économique. Point Vétérinaire, 1988, 20 : 17-30.

BROWN SJ. Immunology of acquired immunity to ticks. Parasitology Today, 1985, 1 : 166-171.

BROWN SJ, ASKENASE PW. Characterization of *Amblyomma americanum* derived salivary gland proteins for the elicitation of host immunity. In : JR Sauer, JA Hair. Morphology, physiology and behavioral biology of ticks, Chichester, Ellis Horwood, 1986 : 300-328.

NELSON WA. Other blood-sucking and myiasis-producing arthropods. In : E.J.L Soulsby. Immune responses in parasitic infections : immunology, immunopathology and immunoprophylaxis. Volume IV. Protozoa, arthropods and invertebrates, Boca Raton, CRC Press, 1987 : 175-209.

TARRY DW. Progress in warble fly eradication. Parasitology Today, 1986, 2 : 111-116.

VAN NESTE DJJ. Immunology of scabies. Parasitology Today, 1986 2 : 194-196.

WAKELIN D. Immunity to parasites, 1ère Ed., London, Edward Arnold, 1984, 165 pages.

WILLADSEN P. Immunity to ticks. Adv Parasitol, 1980, 18 : 293-313.

*Références*

1. ALLEN JR, KHALIL HM, WIKEL SK. Langerhans cells trap tick salivary gland antigens in tick resistant guinea pigs. J. Immunol, 1979, 122 : 563-565.

2. BROWN SJ, ASKENASE PW. Rejection of ticks from guinea pigs by anti-hapten-antibody mediated degranulation of basophils at cutaneous basophil hypersensitivity sites : role of mediators other than histamine. J Immunol, 1985, 134 : 1160-1165.

3. CHINERAY WA, AYLTEY-SMITH E. Histamine blocking agent in the salivary gland homogenate of the tick *Rhipicephalus sanguineus sanguineus*. Nature, 1977, 265 : 366-367.

4. MELLANBY K. The development of symptoms, parasitic infection and immunity in human scabies. Parasitology, 1944, 35 : 197-206

5. MELLANBY K. Man's reaction to mosquito bites. Nature, 1946, 158 : 554.

6. TRAGER WJ. Acquired immunity to ticks. J Parasitol, 1939, 25 : 57-81.

A. Govaerts

## IMMUNOLOGIE DE LA TRANSPLANTATION

La transplantation est le transfert d'un organe d'un individu à un autre avec rétablissement des connexions vasculaires du transplant, alors que la greffe concerne plutôt des cellules ou un tissu dont la vascularisation éventuelle n'est pas restaurée.

La transplantation et la greffe peuvent être xénogéniques (ou hétérologues) lorsque donneur et receveur appartiennent à des espèces animales différentes, allogéniques (ou homologues) lorsqu'il s'agit de sujets différents d'une même espèce, co-isogéniques quand ils ne diffèrent qu'à un seul locus d'histocompatibilité, syngéniques (ou isogéniques) lorsqu'ils proviennent d'une même lignée consanguine et sont donc génétiquement identiques; enfin, la greffe est autologue si le transfert a lieu au sein du même sujet (greffe de peau ou de moelle osseuse).

La transplantation d'organes et la greffe de tissus ne sont guère pratiquées, à titre thérapeutique, que dans l'espèce humaine. Leurs fondements immunologiques n'ont toutefois pu être étudiés et leur méthodologie mise au point et aussi

remarquablement réussie, que grâce à l'expérimentation animale menée principalement chez la souris et le rat mais aussi, pour les allotransplantations rénales, hépatiques et cardiaques, chez le chien et le porc. Il ne sera cependant question, dans ce chapitre, que d'allotransplantation et d'allogreffe chez l'homme.

La tolérance ou le rejet des allotransplants et des allogreffons est de nature strictement immunologique et dépend, en premier lieu, des antigènes d'histocompatibilité.

### ANTIGÈNES D'HISTOCOMPATIBILITÉ

Il est parfaitement établi que le principal système génétique impliqué est le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), représenté chez l'homme par le système HLA dont la description fait l'objet du chapitre 7. L'expérience

acquise en transplantation rénale depuis 30 ans montre une relation étroite entre la survie du transplant et le degré de compatibilité HLA entre le donneur (D) et le receveur (R). La figure 26-1 indique les pourcentages actuariels de survie des transplants rénaux au cours des 15 années qui suivent la transplantation, en fonction du degré d'apparentement D-R. On note qu'à 5 ans, la survie est de 88 p. cent pour des germains c'est-à-dire membres d'une même fratrie HLA-identiques, 77 p. cent pour des germains haplo-identiques et 56 p. cent lorsque D et R ne sont pas apparentés. Dans cette dernière catégorie, les résultats chez des malades préimmunisés (Fig. 26-2) atteignent 65 p. cent pour une identité portant sur 5 ou 6 des 6 antigènes définis par les loci A, B et DR, alors qu'ils ne sont que de 42 p. cent lorsque donneur et receveur diffèrent pour tous leurs antigènes HLA régis par ces trois loci principaux. On décèle, en outre, une hiérarchie parmi ces trois séries alléliques : la compatibilité au locus DR est la plus importante, alors qu'une incompatibilité au locus B et surtout A peut être tolérée. La figure 26-3 montre toutefois que lorsqu'on accepte 2 incompatibilités (en A et/ou B) et que l'identité DR est préservée, la survie du transplant à 5 ans est de 72 p. cent (contre 65 p. cent pour un même nombre d'incompatibilités portant sur les trois loci) mais qu'elle tombe à 52 p. cent lorsque seuls les antigènes DR sont identiques.

Le pronostic de la transplantation est ainsi directement lié à la compatibilité HLA entre donneur et receveur mais dépend aussi de la présence, assez fréquente, d'anticorps anti-HLA développés par le candidat receveur à l'occasion de traitements antérieurs (transfusions sanguines) ou à la suite d'immunisation fœtomaternelle chez les femmes multipares. Il est donc important de dépister de tels anticorps et, plus particulièrement, de rechercher s'il en est qui correspondent aux spécificités antigéniques du donneur. Aussi pratique-t-on toujours, avant toute transplantation d'organe, une « épreuve d'histocompatibilité » mettant en présence, *in vitro*, des lymphocytes du donneur disponible et du sérum du candidat receveur. En cas de cytotoxicité, on renoncera à la transplantation.

Dans l'insuffisance rénale chronique conduisant à la transplantation rénale, les transfusions sanguines sont souvent nécessaires pour corriger l'anémie : par leur apport de leucocytes et de plaquettes, elles induisent la formation d'anticorps HLA susceptibles de provoquer le rejet d'un transplant ultérieur. Des études approfondies ont toutefois montré que beaucoup de ces anticorps ne sont pas cytotoxiques mais plutôt protecteurs et que le pronostic de la transplantation, en présence de ces anticorps bloquants, est meilleur qu'en l'absence de tout anticorps. L'objectif est dès lors de provoquer l'apparition d'anticorps bloquants (essentiellement des IgM) et/ou de lymphocytes

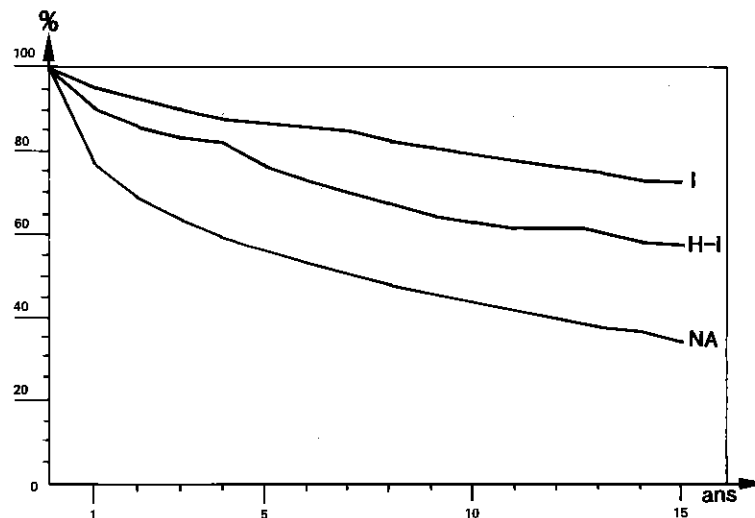


Figure 26-1 Pourcentage actuariel de survie de 12 250 transplants rénaux réunis par Francetransplant. I : HLA-identiques; H-I : haplo-identiques; NA : non apparentés. (D'après Bulletin de Francetransplant, décembre 1988, p. 17).

Figur  
réna  
série  
l :  
(D'a

Figur  
de ré  
présé  
les s  
(D'a

Ts p  
HLA  
préc  
n'ap  
cellu  
U  
sang

on est ainsi  
HLA entre  
aussi de la  
rps anti-HLA  
à l'occasion  
(s sanguines)  
maternelle chez  
important de  
ticulièrement,  
spondent aux  
. Aussi prati-  
ransplantation  
ompatibilité »  
mphocytes du  
du candidat  
renoncera à la

ue conduisant  
transfusions  
pour corriger  
ocytes et de  
on d'anticorps  
le rejet d'un  
profondies ont  
s anticorps ne  
protecteurs et  
a, en présence  
meilleur qu'en  
if est dès lors  
rps bloquants  
lymphocytes

plant.

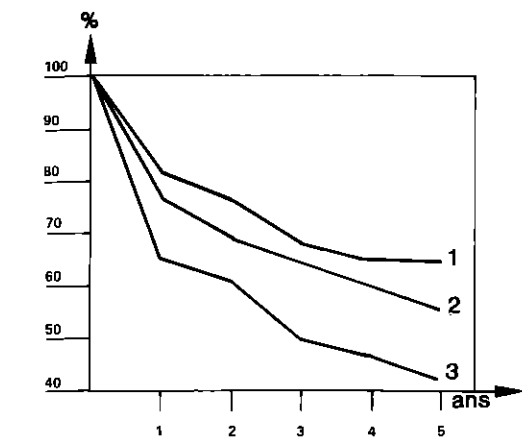


Figure 26-2 Pourcentage de survie de 2 313 transplants rénaux en fonction du nombre d'identités sur 6 antigènes des séries A, B et DR.  
1 : 5 ou 6; 2 : 1 à 4; 3 : 0 ident.  
(D'après Busson et al., *in* : Clinical Transplants, 1988).

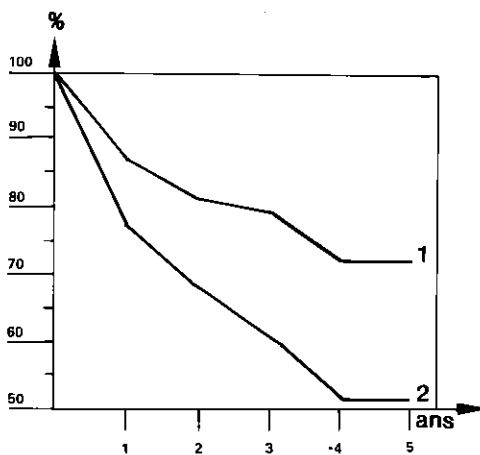


Figure 26-3 Pourcentage de survie de 136 transplants rénaux de receveurs préimmunisés, DR-identiques au donneur, mais présentant 2 (courbe 1) ou 4 (courbe 2) incompatibilités dans les séries HLA-A et B.  
(D'après Busson et al., *in* : Clinical Transplants, 1988).

Ts par un nombre limité de transfusions sanguines HLA compatibles réalisées au cours des semaines précédant la transplantation, en évitant que n'apparaissent des anticorps cytotoxiques pour les cellules du transplant.

Un autre système de marqueurs génétiques sanguins intervient en histocompatibilité : c'est le

système d'antigènes érythrocytaires ABO. La pratique de la transplantation rénale a, en effet, très vite montré que l'incompatibilité ABO provoquait, le plus souvent, un rejet aigu du transplant. La règle est donc désormais de ne réaliser que des transplantations isogroupes, les seules dérogations acceptables étant, pour des motifs de disponibilité des organes transplantables, l'attribution de reins O à des receveurs B et de reins A à des malades AB.

Le système Lewis a également été incriminé en tant que responsable d'incompatibilités mineures en transplantation mais ceci est insuffisamment objectivé pour justifier la prise en compte de ce système.

Enfin, les antigènes mineurs d'histocompatibilité, ne relevant pas du système HLA (voir chapitre 7) jouent certainement un rôle dans le rejet des allotransplants puisque le receveur d'un organe HLA-identique provenant d'un donneur non syngénique (autre qu'un germain monozygote) rejette lentement mais inéluctablement le transplant en l'absence d'un traitement immuno-dépresseur.

## ASPECTS MORPHOLOGIQUES ET FONCTIONNELS DU REJET

Un autogreffon cutané est déjà vascularisé 2 ou 3 jours après son implantation, et l'examen histologique en est pratiquement normal dès le quatrième ou cinquième jour. Un allogreffon se comporte tout d'abord de la même manière, mais vers le troisième ou quatrième jour, on observe un infiltrat lymphoplasmocytaire et de macrophages dans les zones périvasculaires, un début de nécrose au septième jour et un rejet complet avec cicatrisation fibreuse à partir du dixième. Les greffons secondaires issus d'un même donneur sont éliminés plus rapidement encore, parfois même avant toute revascularisation (greffe blanche).

Les allotransplants (de rein notamment) subissent une évolution comparable : infiltration par des cellules mononucléées d'aspect lymphoblastique et des macrophages, thromboses vasculaires, nécrose progressive de l'organe avec arrêt fonctionnel (anurie) autour du 14<sup>e</sup> jour chez le chien. Dans les rejets aigus, généralement liés à la présence d'anticorps cytotoxiques, l'anurie, l'agrégation plaquettaire intravasculaire avec

formation de thrombus et la nécrose tissulaire peuvent être immédiates.

Le diagnostic précoce du rejet est évidemment indispensable à l'ajustement du traitement immunodépresseur. L'élévation des concentrations sanguines d'urée et de créatinine, ainsi que la chute des clairances et du flux sanguin rénal sont des signes suffisamment précoces du rejet d'un transplant rénal; pour le cœur, ce seront les altérations de l'électrocardiogramme et la diminution du débit cardiaque; pour le foie, l'élévation des taux de bilirubine et de transaminases; pour le pancréas, l'augmentation de la glycémie; pour les poumons, la réduction de la saturation en oxygène de l'hémoglobine.

Le processus de rejet peut être assez bien contrôlé par un traitement immunodépresseur adéquat (voir plus loin); des « crises de rejet » surviennent toutefois périodiquement sous traitement: elles nécessitent l'adjonction immédiate d'immunodépresseurs complémentaires et/ou l'accroissement des doses médicamenteuses administrées.

## MÉCANISMES DU REJET

Le rejet des transplants et des greffons allogéniques fait intervenir des réactions immunes principalement cellulaires mais aussi humorales.

On sait que des lymphocytes T, cytotoxiques *in vitro* pour les cellules du transplant, apparaissent dans la circulation lymphatique et sanguine du receveur dès les premiers signes de rejet et avant que des anticorps cytotoxiques ne soient décelables. On les retrouve dans l'infiltrat cellulaire du transplant au moment du rejet: ce sont des lymphocytes T CD8, principalement cytotoxiques et spécifiques des antigènes de classe I de l'organe, bien que quelques-uns soient potentiellement suppresseurs; certains toutefois sont des lymphocytes CD4, reconnaissant les antigènes HLA de classe II des cellules présentatrices de l'antigène (CPA) et sécrétant des cytokines (IL-2, -3, -4, -5 et IFN $\gamma$ ) qui stimulent les lymphocytes Tc, T mémoires (Tm), B, NK et les CPA, et activent monocytes, macrophages et plaquettes.

Les lymphocytes du sujet transplanté s'avèrent aussi spécifiquement stimulables *in vitro*, après 5 à 7 jours de culture lymphocytaire mixte (CLM) avec des lymphocytes du donneur, irradiés ou traités par la mitomycine. Cette CLM génère des lymphocytes T cytotoxiques pour la population lymphocytaire sensibilisante, réalisant ainsi une

cytolyse comparable à celle induite *in vivo* par la transplantation. Il va sans dire que cette cytotoxicité (CML ou lymphocytotoxicité à médiation cellulaire) est strictement spécifique d'un ou des antigènes HLA du donneur; elle s'accompagne de l'apparition de lymphocytes mémoires.

Toutes les cellules du transplant ou du greffon expriment des antigènes HLA de classe I et constituent ainsi des cibles pour les lymphocytes Tc, alors que les antigènes de classe II ne sont présents que sur les lymphocytes B, monocytes, macrophages, cellules dendritiques, cellules de Langerhans de la peau et cellules de Küpffer du foie. Dans un transplant rénal, ce seraient les cellules dendritiques, les monocytes et les leucocytes « passagers », présents dans l'organe au moment de son prélèvement, qui induiraient la stimulation des lymphocytes T CD4 de l'hôte.

L'immunité humorale est également sollicitée par la greffe allogénique et divers anticorps sont régulièrement mis en évidence chez le receveur. Dans le rejet aigu du transplant ou du greffon cutané, survenant chez un sujet antérieurement immunisé, des anticorps cytotoxiques sont responsables des thromboses vasculaires précoces avec infarctus de l'organe ou absence d'irrigation sanguine du greffon (greffe blanche). Dans les cas de rejet plus progressif, des anticorps opsonisants peuvent déclencher une ADCC (cytolyse principalement par lymphocytes K de cellules-cibles recouvertes d'anticorps). Dans les rejets chroniques survenant malgré l'immunodépresseur, on observe souvent des dépôts d'Ig ou d'immunocomplexes. Par ailleurs, on a montré l'existence d'anticorps bloquants ou facilitants qui contribuent à la tolérance du greffon.

La part prise par chacune des deux formes d'immunité est donc variable et leurs effets sont le plus souvent synergiques; en outre, le traitement immunodépresseur estompe la symptomatologie qui pourrait être attribuée à l'une ou à l'autre. Il existe d'ailleurs, chez l'homme, de bons et de mauvais répondeurs, en relation avec le CMH et plus particulièrement avec l'antigène DRw6.

## RÉACTION DU GREFFON CONTRE L'HÔTE (GVHR)

C'est une réaction de rejet allogénique dans laquelle le greffon n'est pas rejeté par son hôte mais, bien au contraire, rejette celui-ci. Elle nécessite, pour se développer, que les cellules greffées soient immunocompétentes (lymphocytes

vivo par la  
ette cytotoxi-  
à médiation  
d'un ou des  
compagne de  
es.

u du greffon  
classe I et  
lymphocytes  
e II ne sont  
monocytes,  
cellules de  
Küpferr  
seraient les  
ytes et les  
ans l'organe  
induiraient la  
de l'hôte.

ent sollicitée  
anticorps sont  
le receveur.  
u du greffon  
ntérieurement  
sont respon-  
réococés avec  
d'irrigation  
Dans les cas  
s opsonisants  
lyse principa-  
cellules-cibles  
rejets chroni-  
pression, on  
d'immuncom-  
é l'existence  
s qui contri-

deux formes  
s effets sont le  
le traitement  
ptomatologie  
u à l'autre. Il  
le bons et de  
ec le CMH et  
ne DRw6.

N  
)

génique dans  
par son hôte  
celui-ci. Elle  
e les cellules  
(lymphocytes

de la moelle osseuse, de la rate, de ganglions lymphatiques ou de sang circulant), et que l'hôte soit immunologiquement incapable de rejeter les cellules greffées :

— parce que la greffe a lieu en période anté- ou périnatale lorsqu'il est encore immunologiquement immature;

— parce qu'il a été rendu spécifiquement tolérant par l'injection, au cours de son développement embryonnaire, de cellules syngéniques à celles du greffon (parabiose, gémellité dizygotique mais monovitelline...);

— parce que, hybride de première génération (ex. : CBA/C57B16 chez la souris), il reçoit des cellules lymphoïdes issues de l'une des lignées parentales (CBA par exemple);

— parce qu'il est soumis à un traitement immunodépresseur (cyclophosphamide, irradiation totale à dose subléthale...).

La GVHR se traduit par la prolifération rapide des cellules lymphoïdes greffées, mais aussi de cellules du receveur « recrutées » par les cytokines sécrétées. En expérimentation animale, un état cachectique s'installe progressivement (« maladie des avortons » ou « runt disease » chez la souris). Chez l'homme, la greffe de moelle osseuse, réalisée chez des malades le plus souvent atteints d'anémie aplastique sévère de leucémie aiguë ou myéloïde chronique et traités par chimiothérapie, respecte le plus rigoureusement possible les règles de la compatibilité HLA. Les cellules médullaires injectées sont préalablement traitées par des anticorps monoclonaux anti-lymphocytes T afin de réduire leur cytotoxicité pour l'hôte et celui-ci est maintenu sous traitement immunodépresseur. Les GVHR sont néanmoins fréquentes, se manifestant par de la fièvre, une anémie hémolytique avec ictère, une hépatosplénomégalie, de la diarrhée, une éruption cutanée avec nécrolyse épidermique, de l'alopecie, des troubles neurologiques et un déficit immunitaire sévère favorisant l'installation d'infections virales graves (à virus cytomégaliens (CMV) notamment) et de mycoses généralisées. D'autres complications sont la rechute de la leucémie initiale et la pneumonie interstielle.

## TRANSPLANTATIONS ET GREFFES ALLOGÉNIQUES

Organe pair, sujet à diverses maladies encore incurables, mais dont l'exérèse peut être correctement compensée, pendant plusieurs années

parfois, par un système d'épuration artificielle de substitution, le rein est l'objet de transplantations depuis une trentaine d'années. Plus de 200 000 malades ont ainsi été transplantés dans le monde et environ 60 000 d'entre eux étaient, en fin d'année 1988, porteurs d'un greffon fonctionnel. La très grande majorité des informations recueillies sur la transplantation allogénique chez l'homme l'a été sur des greffes rénales.

Près de 8 000 transplantations cardiaques ont été effectuées jusqu'à présent : l'absence d'un organe artificiel de remplacement et l'urgence habituelle de l'intervention font que les règles de la compatibilité HLA sont difficiles à respecter; elles semblent heureusement être moins importantes qu'en transplantation rénale.

Techniquement difficile mais actuellement bien maîtrisée, la transplantation hépatique (environ 2 000 dans le monde) fournit des résultats presque aussi satisfaisants que ceux du rein si l'on exclut les cas de néoplasie.

Les transplantations pulmonaires (et cardiopulmonaires), pancréatiques (dont les résultats demeurent moins bons), laryngées... se développent également mais leurs indications sont moins fréquentes. Il en est de même des greffes de cornée et de tissu nerveux central.

La greffe de moelle osseuse, enfin, est en pleine expansion : plus de 4 000 ont été réalisées en 1988, dont 3 000 environ pour des cas de leucémies (lymphoblastique et myéloïde aiguës, myéloïde chronique) et plus de 10 p. cent dans des anémies aplastiques.

## CHOIX DU DONNEUR ET DU RECEVEUR

La transplantation d'un rein prélevé chez un donneur vivant ne se justifiant plus qu'entre jumeaux monozygotes, la quasi-totalité des organes transplantés provient de sujets en état de coma dépassé (mort cérébrale). L'urgence du prélèvement dans de telles situations et la nécessité d'une compatibilité HLA aussi complète que possible entre donneur et receveur imposent de pouvoir choisir le receveur parmi un très grand nombre de candidats dont les caractéristiques génétiques (phénotypes HLA et ABO) et sérologiques sont connues. On estime à 10 000 environ le nombre nécessaire pour que la chance d'identité HLA dans les séries alléliques A, B et DR



atteigne 25 p. cent. Ces contraintes ont conduit à la création d'organisations régionales (Eurotransplant, Francetransplant, Skandiatransplant, U.K.transplant... en Europe, et aux Etats-Unis) qui recueillent toutes les informations utiles sur les malades en attente de transplantation et, dès qu'un donneur s'avère disponible, choisissent parmi eux le receveur le plus approprié. Actuellement, ces différentes listes d'attente comportent chacune 4 000 à 8 000 malades et sont immédiatement consultables par tous les centres de transplantation intéressés.

## TRAITEMENT DU REJET

Le traitement immunodépresseur, instauré lors de la transplantation, doit être poursuivi définitivement, quoiqu'un très petit nombre de sujets porteurs d'un transplante rénal parfaitement fonctionnel soient devenus tolérants et que leur traitement ait pu être suspendu sans dommage.

Le médicament immunodépresseur principal est la cyclosporine A (Cy A) : son usage a permis (en association avec l'azathioprine et la prednisone) d'améliorer de 15 p. cent environ le pronostic de

la transplantation rénale et de permettre les transplantations hépatiques, cardiaques et cardiopulmonaires ainsi que, avec un succès variable, les greffes de moelle osseuse entre sujets autres que germains HLA-identiques. D'autres médicaments lui sont associés : anticorps monoclonaux anti-CD3, FK 506... mais aussi globulines antilymphocytaires et irradiations lymphoïdes totale et régionale. Le mode d'action de ces immunodépresseurs est assez bien connu : celui de la Cy A, du FK 506 et des stéroïdes, notamment, est principalement lié à une inhibition de la production de cytokines (IL-2 et IFN- $\gamma$  pour la Cy A; IL-1, IL-2 et TNF pour les corticostéroïdes). Aussi leur associe-t-on, avec un succès croissant, des anticorps monoclonaux antirécepteurs de l'IL-2.

## BIBLIOGRAPHIE

- BUSSON M, HORS J, PREVOST P et al. Importance of HLA A, B and DR matching in presensitized kidney transplant recipients. *In* : P. Terasaki, Clinical Transplants 1988. Ed. UCLA Tissue Typing Laboratory. Los Angeles.
- MANDEL TE. Transplantation, 1988. *Immunology Today*, 1989, 10 : 1-3.
- VAN ROOD JJ et al. Transplantation. *In* : Current opinion in Immunology, 1989, 1, 6 : 1173-1236.

permettre les  
ques et cardio-  
accès variable,  
e sujets autres  
autres médica-  
monoclonaux  
globulines anti-  
phoïdes totale  
es immunodé-  
ui de la Cy A,  
otamment, est  
de la produc-  
pour la Cy A;  
rticostéroïdes).  
accès croissant,  
récepteurs de

rtance of HLA A.  
kidney transplant  
splants 1988. Ed.  
Angeles.  
munology Today,  
Current opinion in

N. Schaaf-Lafontaine, M. Baudrihaye, J. Boniver

## RÉSISTANCE ENVERS LES TUMEURS

Dans les cellules qui subissent la transformation néoplasique, de nombreuses fonctions cellulaires, et en particulier les mécanismes qui contrôlent la différenciation, sont modifiées. De ce fait, des changements phénotypiques de la surface cellulaire peuvent survenir. La cellule tumorale exprime alors sur sa membrane plasmique des glycoprotéines inhabituelles ne correspondant pas à la différenciation tissulaire normale. Son apparence s'en trouve modifiée et le système immunitaire perçoit alors cet événement comme une modification antigénique. Les réactions du système immunitaire envers les cellules tumorales s'observent à différents niveaux. Dans le sang des anticorps spécifiques de la tumeur sont décelés et une activité effectrice de cytotoxicité antitumorale est exprimée par les cellules. Des cellules du système immunitaire, lymphocytes et macrophages, infiltrent les lésions cancéreuses. Toutefois, dans ces situations, les réponses immunes dirigées contre les cellules tumorales ne créent pas d'immunité au sens strict du terme, c'est-à-dire de défense efficace.

### ANTIGÈNES DE TUMEUR

La question de la nature, voire de l'existence des antigènes tumoraux, est encore actuellement un grand sujet de controverse. La démonstration, maintes fois répétée, des réponses immunes antitumorales doit faire admettre que les éléments néoplasiques sont porteurs d'antigènes qui ne sont pas exprimés par les cellules normales correspondantes. Dans de nombreux cas toutefois, il n'est pas possible d'identifier ces antigènes et leur existence est alors incertaine.

Les événements cellulaires qui conduisent au cancer ne sont pas encore compris mais, que l'on envisage le concept de progression tumorale ou celui de l'origine clonale des tumeurs, le système immunitaire interviendrait dans le contrôle de leur développement.

Si celles-ci se développent à partir d'un seul clone et expriment des propriétés relativement stables, seules les cellules qui possèdent des antigènes de surface modifiés seront reconnues et

éliminées rapidement. Les cellules transformées qui ne portent pas de nouveaux immunogènes pourraient se multiplier.

Dans l'hypothèse de modifications progressives conduisant la cellule vers une étape maligne irréversible, le système immunitaire n'interviendrait qu'au moment où un changement d'antigénicité se manifeste.

Dans les systèmes expérimentaux qui utilisent des tumeurs transplantables, on a observé que les propriétés antigéniques diffèrent selon que l'on considère des tumeurs induites par un carcinogène chimique ou physique, ou des tumeurs associées à des infections virales.

### TUMEURS INDUITES PAR LES CARCINOGENÈS CHIMIQUES OU PHYSIQUES

Les premiers antigènes tumoraux furent décrits au cours de l'étude des sarcomes murins induits par le méthylcholanthrène (MCA) et transplantés chez des souris histocompatibles. Gross observa, en 1943, que certains de ces sarcomes sont des nodules qui régressent après quelques jours de croissance sous la peau. La réinjection de cellules tumorales identiques ne provoquait pas la croissance de nouveaux nodules chez ces souris; il en conclut qu'elles avaient acquis une résistance à la tumeur. Les tumeurs induites chez un rongeur par un carcinogène chimique ont une antigénicité à la fois propre à l'individu et au carcinogène, spécifique d'une tumeur en particulier et qui ne suscite que de très rares réactions croisées. Les antigènes des tumeurs induites par voie physique, UV ou irradiation X, se comportent de la même manière; ils possèdent une spécificité individuelle.

La nature de cette antigénicité n'est cependant pas encore connue. Elle pourrait survenir de différentes façons :

— apparition de structures membranaires absentes dans le tissu normal : elles seraient le résultat d'activation, de régression ou encore de mutation de gènes qui codent pour des composants de la membrane cellulaire. Certains de ces produits sont parfois exprimés au cours de la vie embryonnaire (antigènes oncofœtaux) mais non dans le tissu différencié de l'adulte;

— perte de structures membranaires présentes dans le tissu normal : l'expression d'isoantigènes est, par exemple, perdue dans des carcinomes pulmonaires.

### TUMEURS ASSOCIÉES AUX VIRUS

Des virus à ADN et des virus à ARN sont associés à certains processus d'oncogenèse. Un virus à ADN induit l'expression des mêmes antigènes dans toutes les cellules qu'il transforme, indépendamment du tissu et de l'espèce. Dans les tumeurs, des antigènes codés par le virus apparaissent également. Ces antigènes sont dits « associés à la tumeur » car ils sont tout à fait distincts des structures antigéniques propres au virus. Des antigènes oncofœtaux sont parfois également exprimés par ces tumeurs. Dans le cas des tumeurs induites par des virus à ARN, les cellules transformées expriment à la fois des antigènes de l'enveloppe virale ou des protéines du virus, et des antigènes de la surface cellulaire distincts des antigènes viraux et des produits du CMH. Ce sont ces antigènes de la tumeur qui sont la cible du rejet immunologique. Les anticorps dirigés contre les antigènes viraux sont sans effet dans le rejet; ils peuvent cependant protéger l'hôte contre l'infection virale.

Contrairement à la spécificité antigénique des tumeurs induites par les carcinogènes physiques ou chimiques, l'antigénicité des tumeurs induites par les virus suscite de nombreuses réactions immunologiques croisées.

Parmi les rétrovirus aviaires de type C, certains interagissent préférentiellement avec les cellules hématopoïétiques et peuvent transformer certains de ces éléments. Chez le poulet, l'infection par le virus de la leucose aviaire (LLV) provoque l'apparition d'un lymphome de type B, après une période de latence de plusieurs mois. La cellule-cible du virus a été identifiée; il s'agit d'une cellule de la bourse de Fabricius qui développe le lymphome et ses métastases envahissent d'autres organes. L'ablation de la bourse de Fabricius prévient l'apparition d'un lymphome.

D'autres virus, ceux des leucémies aiguës par exemple, ont pour cible des cellules de la moelle osseuse. Ces cellules appartiennent soit à la lignée érythroblastique, soit à la lignée granulocytaire ou à la lignée histiomonocytaire. Les cellules transformées par ces virus des leucémies aiguës se développent très rapidement et les oiseaux meurent quelques semaines après l'infection. L'infection virale par les rétrovirus n'atteint pas uniquement la cellule-cible transformée. Des cellules du système immunitaire subissent également les effets lytiques du virus. Il en résulte une aplasie de la bourse de Fabricius et du thymus par

## VIRUS

à ARN sont  
cogénèse. Un  
des mêmes  
il transforme,  
èce. Dans les  
e virus appa-  
nt dits « asso-  
à fait distincts  
au virus. Des  
is également  
le cas des  
N, les cellules  
s antigènes de  
du virus, et  
e distincts des  
CMH. Ce sont  
nt la cible du  
dirigés contre  
dans le rejet;  
l'hôte contre

antigénique des  
nes physiques  
meurs induites  
uses réactions

pe C, certains  
c les cellules  
ormer certains  
infection par le  
(V) provoque  
B, après une  
is. La cellule-  
s'agit d'une  
i développe le  
issent d'autres  
de Fabricius  
ne.

ies aiguës par  
s de la moelle  
soit à la lignée  
mulocytaire ou  
cellules trans-  
ies aiguës se  
les oiseaux  
s l'infection.  
s n'atteint pas  
formée. Des  
bissent égale-  
en résulte une  
du thymus par

exemple. Cependant, en dépit du fait que les cellules lymphoïdes qui survivent sont immunocompétentes et que les antigènes des virus aviaires sont immunogènes, un état d'immunodépression est souvent associé à ces infections virales. L'obtention de lignées cellulaires transformées par un de ces virus, le virus de la réticulo-endothéliose (REV), a permis l'étude de cette immunodépression. Des cellules suppressives inhibent la prolifération des cellules T cytotoxiques dirigées contre les antigènes viraux exprimés par les cellules transformées par le REV. Ce sont ces antigènes viraux associés à la cellule infectée ou transformée, plutôt que les virus, qui activeraient cette population splénique de cellules suppressives. En effet, des virus REV inactivés par une irradiation UV sont incapables d'induire cette activation. L'activation de ces cellules limite fortement la réponse immune à médiation cellulaire et, en l'absence d'une réponse précoce, la prolifération tumorale survient et tue rapidement l'hôte. A l'inverse, les foyers tumoraux ne se développent pas chez les oiseaux non immunodéprimés.

Le rétrovirus de la leucose féline (FeLV) a, en plus de ses propriétés leucémogènes, une activité hypoplasique sur les cellules de la lignée lymphoïde. La plupart des chats infectés par le FeLV meurent de maladies résultant de l'immunodépression plutôt que de maladies lymphoprolifératives. Ce rétrovirus est transmis horizontalement; les chats s'infectent généralement par la voie oronasale. Le virus se multiplie dans les lymphocytes des ganglions lymphatiques de la tête et du cou. A ce stade, l'infection peut être limitée par une réponse humorale adéquate. Dans le cas contraire, le virus gagne la moelle osseuse où il se multiplie dans toutes les cellules nucléées.

Les cellules transformées par le FeLV expriment un antigène spécifique ou FOCMA (Feline Oncornavirus Cell Membrane Antigen). Des anticorps sont produits spécifiquement contre cet antigène et peuvent neutraliser les cellules tumorales. Une corrélation positive peut être établie entre le taux de ces anticorps et la régression de la tumeur. Ceci est également vrai pour les tumeurs produites par le virus sarcomatogène félin (FeSV), issu d'une recombinaison spontanée du FeLV avec un oncogène cellulaire. Les cellules tumorales prolifèrent si ces anticorps ne sont pas produits ou en cas de déficience du complément. La formation d'immunocomplexes peut aussi contrarier la réaction antitumorale.

## TUMEURS SPONTANÉES

L'antigénicité des tumeurs spontanées est très mal connue et souvent irrégulière. De plus, toutes les cellules cancéreuses ne sont pas strictement identiques à cet égard, particulièrement si l'on compare la tumeur d'origine et ses différentes métastases.

Ces « variants » se distinguent par diverses propriétés biologiques et biochimiques mais aussi par une expression variable des structures moléculaires de la surface cellulaire, y compris des produits du CMH. La présence de ces variants pourrait s'expliquer en partie par les interactions hôte-tumeur. Le système immunitaire favoriserait la sélection de « variants » dans certaines situations, notamment lorsque les réactions en cours ne peuvent reconnaître ni éliminer les cellules qui portent des antigènes modifiés. L'immunité de l'hôte serait donc responsable de la modulation antigénique observée.

## MÉCANISMES EFFECTEURS DE L'IMMUNITÉ ANTITUMORALE

(Fig. 27-1 et 27-2)

Selon certaines observations, la résistance au développement d'une tumeur dépendrait essentiellement de la capacité de l'hôte à élaborer une réponse immune appropriée. Cependant, des souris athymiques « nues », déficientes en lymphocytes T, ne développent pas plus de tumeurs spontanées que les souris normales du même âge. Il faut donc envisager la participation d'autres mécanismes tels que la capacité de production d'interférons, l'activité NK et la participation des lymphocytes B dans l'immunosurveillance des tumeurs.

## RÉPONSE HUMORALE

Des anticorps spécifiques des antigènes exprimés sur les cellules cancéreuses ont été décelés dans le sérum de sujets porteurs de tumeurs. Ils peuvent provoquer la lyse des cellules tumorales par l'activation du complément. Ce mécanisme serait particulièrement efficace dans les lymphomes et les leucémies, mais non à

l'égard d'autres cancers. Si les anticorps produits contre les antigènes tumoraux ne participent pas directement à la résistance antitumorale de l'hôte, ils interviennent cependant au niveau des mécanismes d'opsonisation, de phagocytose et de cytotoxicité à médiation cellulaire de type ADCC (cytotoxicité dépendante des anticorps). Ils interfèrent également avec les propriétés d'adhérence aux cellules endothéliales des vaisseaux sanguins. Ce type d'interaction serait déterminant dans le processus de dissémination métastatique.

### RÉPONSE CELLULAIRE

Après la mise en évidence de l'antigénicité des sarcomes provoqués par le MCA chez la souris, on a montré par des expériences de transfert in vivo que les cellules lymphoïdes, et non le sérum de souris porteuses de tumeur, assuraient la protection spécifique de l'hôte. Plus tard, grâce à des études fonctionnelles in vitro et à des transferts sélectifs in vivo, on a défini la nature des sous-populations lymphocytaires impliquées dans la réponse. Le rôle prépondérant des lymphocytes T dans l'immunité vis-à-vis des tumeurs antigéniques transplantables est alors apparu. Toutes les sous-populations de lymphocytes ne possèdent cependant pas la propriété de protéger l'hôte de la croissance tumorale. On distingue les cellules effectrices de la réaction antitumorale et les cellules régulatrices. Parmi ces dernières, certaines peuvent induire la réponse immune (T-auxiliaires = Ta) et d'autres, au contraire, l'inhiber (T-suppresseurs = Ts).

La spécificité immunologique de la phase effectrice relève d'une sous-population de lymphocytes T cytotoxiques (Tc) qui ont un récepteur membranaire reconnaissant l'antigène spécifique en association avec les molécules de classe I du CMH. Les Tc proviennent de l'expansion clonale de cellules précurseurs non lytiques. Cette étape de différenciation nécessite la coopération des lymphocytes Th spécifiques qui fournissent les médiateurs solubles tels que l'interleukine 2 (IL-2). Après quelques jours, les Tc sont aptes à détruire les cellules tumorales porteuses de l'antigène spécifique et des molécules du CMH. Les lymphocytes Tc provoquent la lyse des cellules tumorales de la même manière qu'ils détruisent les cellules infectées par un virus ou encore les cellules étrangères d'un greffon. Un contact direct s'établit entre le lymphocyte Tc effecteur et sa cible. Cette liaison provoque dans

la cellule effectrice une réorganisation de l'appareil de Golgi et la formation de digitations cytoplasmiques entre les membranes des deux cellules. Des lésions membranaires et nucléaires apparaissent dans la cellule-cible avec fragmentation de l'ADN. Ce phénomène survient rapidement, en 3 à 16 heures à 37 °C.

Des Tc sont décelés in vivo dans le sang périphérique des patients et dans la rate et les ganglions des animaux porteurs de tumeurs transplantables ou induites. Le niveau d'activité cytotoxique peut être accru au cours d'une culture mixte de cellules lymphoïdes et tumorales (Mixed Lymphoid Tumor cells Culture, MLTC). In vitro, l'activité spécifique des Tc est dépendante de l'IL-2. Les Tc mémoires prélevés dans le sang ou les organes lymphoïdes sont restimulés in vitro en présence de cellules tumorales et d'IL-2. On a aussi réalisé le clonage de lymphocytes Tc antitumoraux spécifiques.

### RÔLE DE LA CYTOTOXICITÉ SPÉCIFIQUE ANTITUMORALE

In vivo, la réponse immune peut provoquer une destruction tissulaire semblable à celle observée au cours du rejet d'allogreffes ou des réactions auto-immunes. Cette destruction peut être spécifique de la tumeur mais la reconnaissance de l'antigène n'est pas toujours réalisée dans la phase effectrice.

### RÔLE DES CYTOKINES

Une caractéristique essentielle des cytokines produites au cours des interactions entre cellules immunocompétentes, est leur effet limité au voisinage des cellules productrices. On ne décèle ainsi que de très faibles activités IL-1, IL-2, interféron (IFN) dans le sang au cours d'une réponse immune. D'autre part, ces molécules n'agissent que sur les cellules qui expriment en surface le récepteur adéquat.

### RECRUTEMENT DES EFFECTEURS NON SPÉCIFIQUES

L'IFN produit par les lymphocytes activés par un antigène agit sur les macrophages et stimule

Figur

IL-1  
IL-2  
IL-3  
IL-4  
IL-5  
IL-6  
BCG  
BCD  
TDF  
IFN $\gamma$   
augm  
cellul  
TNF  
cellul  
ADC

tion de l'appa-  
de digitations  
ines des deux  
s et nucléaires  
avec fragmenta-  
survient rapi-  
C.  
dans le sang  
la rate et les  
tumeurs trans-  
l'activité cyto-  
d'une culture  
morales (Mixed  
LTC). In vitro,  
dépendante de  
dans le sang ou  
ulés in vitro en  
d'IL-2. On a  
mphocytes Tc

É  
LE

provoquer une  
celle observée  
des réactions  
peut être spéci-  
onnaissance de  
e dans la phase

des cytokines  
s entre cellules  
ffet limité au  
. On ne décèle  
és IL-1, IL-2,  
u cours d'une  
ces molécules  
i expriment en

TEURS

tes activés par  
ages et stimule

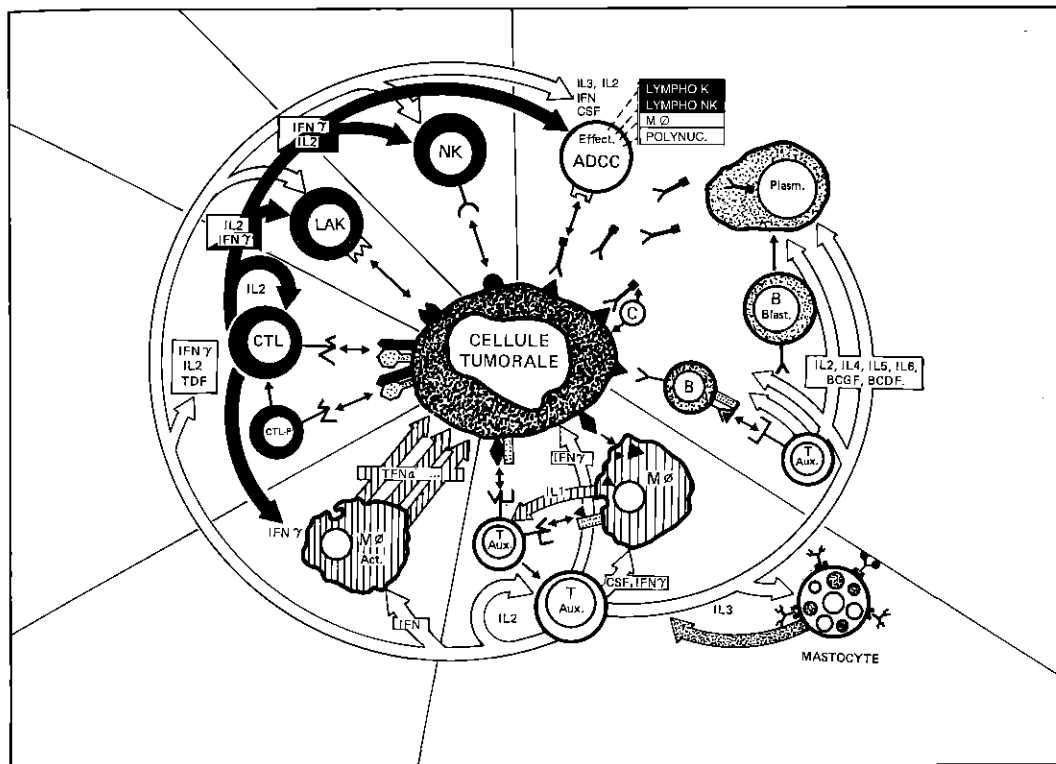
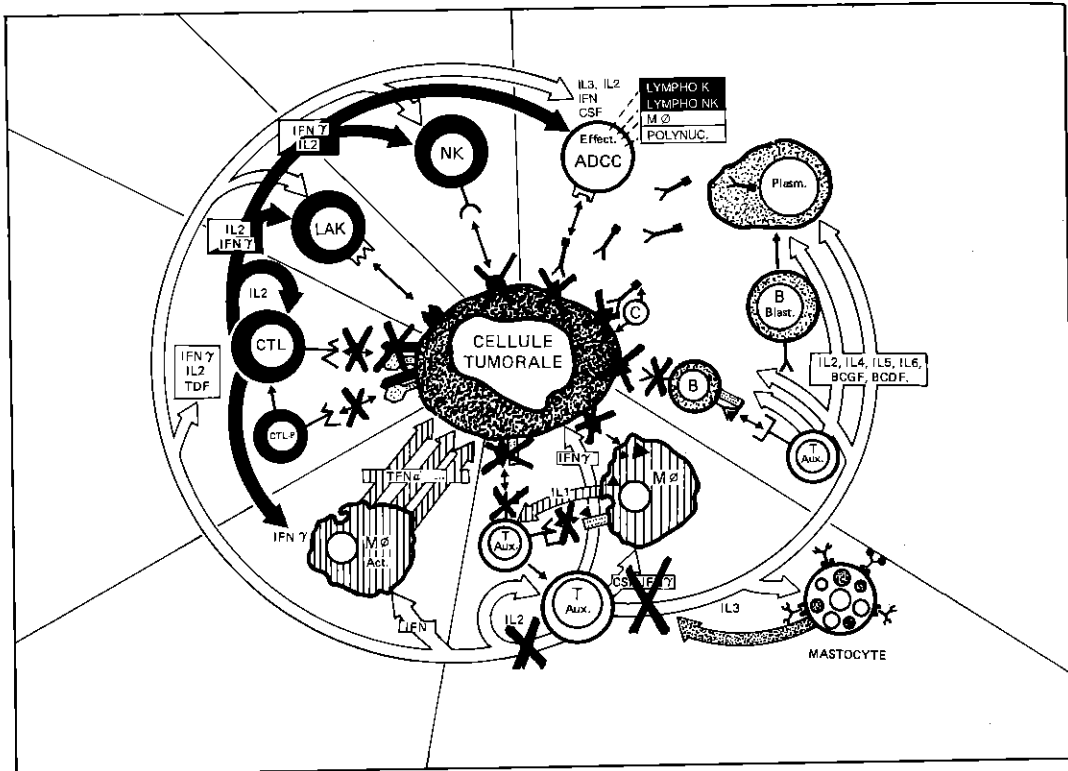


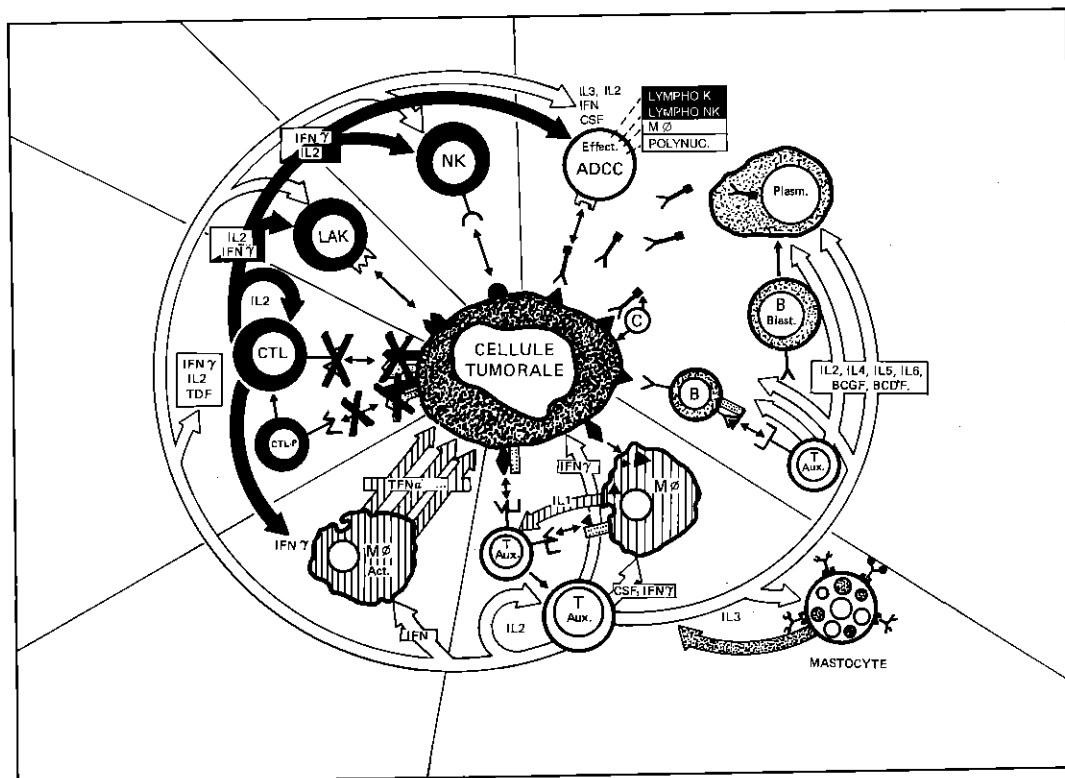
Figure 27-1 Interactions entre les cellules participant à la défense antitumorale.

- ⚡ Différentes molécules antigéniques.
- ⊕ Molécule de classe 1 du complexe majeur d'histocompatibilité.
- ⊞ Molécule de classe 2 du complexe majeur d'histocompatibilité.
- Y Anticorps.
- Y Récepteur de lymphocytes T.
- Y Récepteur de lymphocytes B.
- Y Récepteur de NK.
- Y Récepteur du fragment Fc d'immunoglobuline présent à la surface des cellules capables d'une activité ADCC.
- ⊙ Facteurs du complément.

IL-1 : Interleukine 1, facteur produit par le macrophage, il permet notamment l'activation des T auxiliaires.  
 IL-2 : Interleukine 2, facteur de croissance des CTL, des cellules NK, des cellules LAK et des lymphocytes B.  
 IL-3 : Interleukine 3, intervient dans la croissance et la différenciation des mastocytes.  
 IL-4 : Interleukine 4, intervient notamment dans la différenciation des T et la croissance des lymphocytes B.  
 IL-5 : Interleukine 5, notamment facteur de différenciation des lymphocytes B.  
 IL-6 : Interleukine 6, notamment facteur de différenciation des lymphocytes B et T.  
 BCGF : Facteur de croissance des lymphocytes B. L'IL-2 et l'IL-4 sont des exemples de BCGF.  
 BCDF : Facteur de différenciation des lymphocytes B. L'IL-5 et l'IL-6 sont des exemples de BCDF.  
 TDF : Facteur de différenciation des lymphocytes T. L'IFN $\gamma$  et l'IL-6 sont des exemples de TDF.  
 IFN $\gamma$  : Interféron  $\gamma$ . Ce facteur active (rend notamment cytotoxiques contre les cellules tumorales) les macrophages. Il peut augmenter l'expression des molécules de classes I et II du complexe majeur d'histocompatibilité à la surface des macrophages, des cellules tumorales et d'autres types cellulaires. Il peut aussi augmenter l'expression des antigènes associés aux cellules tumorales.  
 TNF : Facteur nécrasant des tumeurs, produit notamment par le macrophage activé, il est toxique pour une grande variété de cellules tumorales.  
 ADCC : Antibody Dependent Cell-mediated Cytotoxicity.



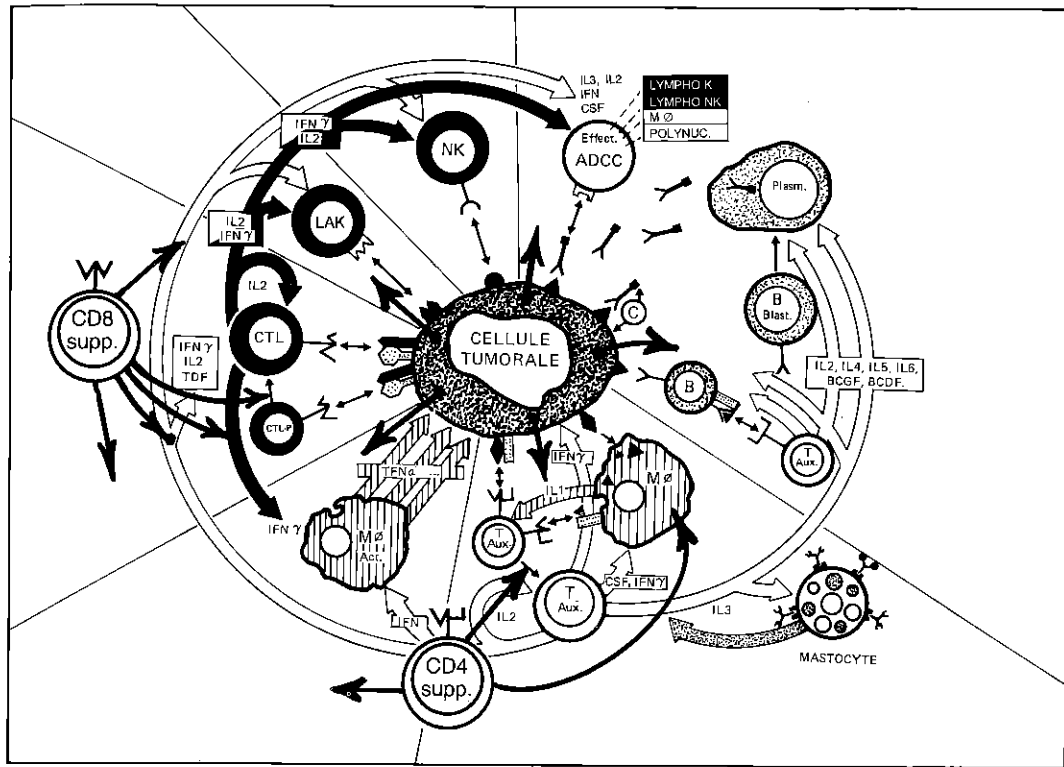
a



b

Figur  
a P  
abs  
b P  
app  
sim  
c P  
méc  
plus  
(Vo

leu  
tox  
nan  
non  
leu  
tum  
teu  
Ce  
enc  
tox  
cell



**Figure 27-2** Pourquoi les cellules tumorales échappent-elles aux mécanismes de défense ?

**a** Parce que l'antigène est peu ou pas accessible aux cellules responsables de la défense antitumorale (absence de l'antigène, absence des molécules de présentation); il en résulte une déficience au niveau de certaines facettes de la réponse antitumorale.

**b** Parce que, à la suite d'une réponse antitumorale efficace, des cellules tumorales ayant perdu certains antigènes peuvent apparaître et échapper aux mécanismes de défense, par exemple aux CTL spécifiques. Des cellules tumorales peuvent, de façon similaire, échapper à la réponse des T cytotoxiques ou à l'effet cytotoxique des macrophages.

**c** Parce que des effets suppresseurs peuvent intervenir :

- soit produits par les cellules tumorales elles-mêmes qui libèrent des facteurs susceptibles d'inhiber l'intervention de certains mécanismes de défense;
- soit produits par des populations T (CD8 et CD4) spécifiquement induites, capables d'inhiber l'intervention d'une ou de plusieurs populations lymphocytaires responsables de la défense antitumorale.

(Voir légende de la figure 27-1 pour la signification des symboles.)

leur métabolisme oxydatif et leur fonction cytotoxique antitumorale. Diverses cellules environnantes répondent à l'IFN par un accroissement du nombre de molécules de classe II du CMH sur leur membrane plasmique. Certaines cellules tumorales répondent en exprimant plus de récepteurs pour le facteur nécrosant des tumeurs (TNF). Ce produit des macrophages activés (TNF- $\alpha$ ), encore appelé cachectine, est une molécule cytotoxique ou cytostatique pour une grande variété de cellules tumorales. Toutes ne lui sont cependant

pas sensibles in vivo. La sensibilité des cellules aux effets toxiques du TNF serait directement liée à leur capacité de synthétiser le récepteur. Le TNF est également produit par les macrophages au cours des infections bactériennes. Une molécule très proche, le TNF- $\beta$ , est aussi synthétisée par les lymphocytes T stimulés. On pense actuellement que ces médiateurs non spécifiques de la réaction immunitaire à un antigène donné sont responsables de destructions tissulaires importantes et variées.



## IMMUNITÉ NATURELLE

La lyse non spécifique de cellules tumorales diverses peut également survenir après un contact avec d'autres types de cellules lymphoïdes à activité cytotoxique. Certaines d'entre elles paraissent capables de tuer directement les cellules néoplasiques; ce sont les « Natural Killer » (NK). D'autres, les « Killers » (K), lysent les cellules-cibles tumorales couvertes d'anticorps. Actuellement, la nature de la structure de reconnaissance présente sur la cellule-cible tumorale reste inconnue.

Certaines observations montrent qu'il s'agirait d'une glycoprotéine, produit d'un virus ou d'un oncogène. La lyse par les cellules NK est indépendante de l'expression des produits du CMH.

L'activité NK est modulable par l'IFN- $\gamma$  qui accroît la lyse des cellules-cibles tumorales. L'IL-2 amplifie très significativement l'activité NK.

## RÔLE DES CELLULES SUPPRESSIVES

En exposant des souris aux antigènes de tumeurs expérimentales, on induit très souvent chez ces animaux un état d'immunodépression. Celle-ci est parfois générale, c'est-à-dire qu'elle dépasse le cadre de la réponse antitumorale. Dans le cas des tumeurs induites par des carcinogènes chimiques, la diminution de la réactivité aux antigènes de la cellule tumorale est due à des lymphocytes T suppresseurs (Ts). Dans le cas des tumeurs induites par irradiation UV, les antigènes tumoraux provoquent généralement l'activation des lymphocytes Ta et, dans certaines circonstances, des lymphocytes Ts. L'induction prépondérante des Ta/Ts serait essentiellement liée à la nature ou au siège de la tumeur et des cellules présentatrices de l'antigène qui s'y trouvent. Ainsi, l'antigène tumoral qui entrerait en contact avec des Ts, et non des Ta, ne provoquerait que de faibles réactions effectrices spécifiques.

Les lymphocytes Ts sont capables de moduler la production d'anticorps mais aussi les réponses à médiation cellulaire. Certains Ts sont spécifiques

de l'antigène mais d'autres ne le sont pas. Des facteurs solubles produits par les Ts et en relation avec le CMH, ont la propriété d'inhiber les réponses immunes.

La fonction inhibitrice est parfois assurée par d'autres cellules que les lymphocytes; ce sont alors des macrophages activés. L'IFN, relargué par les lymphocytes Ta, active des macrophages qui, à leur tour, libèrent des prostaglandines de type PGE<sub>2</sub>; celles-ci peuvent inhiber les fonctions effectrices antitumorales des lymphocytes.

Les lymphocytes T activés agissent également comme cellules suppressives non spécifiques en consommant massivement l'IL-2 disponible. La quantité d'interleukine indispensable au développement et à la maturation des lymphocytes T cytotoxiques est dès lors insuffisante. La réponse effectrice spécifique de l'antigène ne se produit pas avec l'ampleur voulue et s'éteint très rapidement. L'inhibition de la fonction effectrice cytotoxique a été démontrée aussi bien dans les réponses immunes envers des antigènes conventionnels que des antigènes tumoraux. La suppression des réponses antitumorales peut également être obtenue par d'autres mécanismes tels que la formation de complexes antigène-anticorps.

En médecine humaine, de l'IL-2 homologue est actuellement utilisée à des fins thérapeutiques.

Les modalités d'intervention peuvent varier (administration directe de l'IL-2, stimulation in vitro de lymphocytes du patient à l'aide d'IL-2 et réinjection ultérieure) et permettent d'obtenir la régression de certaines tumeurs.

## BIBLIOGRAPHIE

- BALDWIN RW. Mechanism of resistance in cancer. Springer Seminars in Immunopathology, vol. 5, n° 2, Springer International, 1982.
- KLEIN G. Immunopathology of virally induced tumors. Springer Seminars in Immunopathology, vol. 5, n° 1, Springer International, 1982.
- REVIEW H, ORTALDO JR, LONGO DL. Human natural lymphocyte effector cells: definition, analysis of activity and clinical effectiveness. J Nat Cancer Institute, 1988, 80: 999.
- SRIVASTAVA PK, OLD LJ. Individually distinct transplantation antigens of chemically induced mouse tumors. Immunology Today, 1988, 9 (3): 78.
- TRADI G. Current approaches to the adoptive immunotherapy of cancer p459 in cancer metastases, 1988.

sont pas. Des  
et en relation  
d'inhiber les

is assurée par  
ytes; ce sont  
IFN, relargué  
macrophages  
aglandines de  
r les fonctions  
nocytes.

ent également  
spécifiques en  
disponible. La  
e au dévelop-  
ymphocytes T  
e. La réponse  
ne se produit  
eint très rapi-  
ion effectrice  
bien dans les  
gènes conven-  
x. La suppres-  
eut également  
nes tels que la  
anticorps.

homologue est  
érapeutiques.  
peuvent varier  
stimulation in  
aide d'IL-2 et  
nt d'obtenir la

# IMMUNOPATHOLOGIE

cancer. Springer  
2, Springer Inter-

induced tumors.  
y, vol. 5, n° 1,

Human natural  
analysis of activity  
stitute, 1988, 80.

duct transplantation  
nors. Immunology

ve immunotherapy  
1988.

O. Barta, V.-D. Barta

## RÉACTIONS D'HYPERSENSIBILITÉ

Les réactions d'hypersensibilité font partie intégrante des réactions immunes prises au sens large. Elles ne peuvent coexister qu'avec des réponses immunes secondaires, c'est-à-dire après que les lymphocytes aient été sensibilisés et/ou que des anticorps aient été produits, mais leur apparition n'est pas de règle.

Une réaction à un antigène est qualifiée d'immune si elle ne provoque pas de modifications pathologiques dans les tissus. Le terme d'hypersensibilité est réservé aux réactions envers un antigène (allergène) qui entraînent des modifications pathologiques soit au sein des tissus, soit de manière généralisée. Ces modifications peuvent être :

— temporaires, localisées ou généralisées, et résorbées par l'organisme sans conduire à des altérations durables des tissus;

— permanentes et localisées, provoquant une perte des fonctions du tissu intéressé;  
— permanentes et généralisées, entraînant la mort.

### CLASSIFICATION DES HYPERSENSIBILITÉS

La classification des hypersensibilités en usage actuellement a été introduite par Coombs et Gell et se base sur les mécanismes-clés responsables du développement des modifications pathologiques généralisées ou localisées (Tableau 28-1).

Tableau 28-1 Classification des réactions d'hypersensibilité.

Classification	Nom	Mécanisme *
Type I	Immédiate	IgE (ou IgG) (anticorps cytophiles) couplées à des mastocytes ou des basophiles + allergène
Type II	Cytotoxique	IgM ou IgG couplées à des antigènes autologues + complément ou cellules K
Type III	Immuno-complexes	IgM ou IgG couplées à l'antigène + complément
Type IV	A médiation cellulaire ou retardée	Activation des lymphocytes T + libération de lymphokines

\* Dans tous les cas, la présence d'un allergène (antigène) est obligatoire pour entamer une réaction d'hypersensibilité.

## TERMINOLOGIE DES HYPERSENSIBILITÉS

La terminologie des hypersensibilités s'est développée au fil du temps. Elle est quelquefois confuse et même parfois utilisée de façon incorrecte. Les termes d'allergie et d'hypersensibilité sont en général employés comme équivalents et désignent la réactivité d'un organisme à un

antigène (allergène), provoquant des troubles physiopathologiques avec des dommages temporaires ou permanents des tissus.

## DÉVELOPPEMENT DE L'HYPERSENSIBILITÉ

Chaque réaction d'hypersensibilité est précédée par une période de sensibilisation, pendant laquelle la réponse immune prend place, les cellules se sensibilisent et/ou les anticorps sont synthétisés (Fig. 28-1). Cette période peut durer de quelques jours à quelques années.

Une réaction d'hypersensibilité n'apparaît qu'après une exposition à une dose critique, généralement importante, de l'antigène contre lequel l'individu est sensibilisé. Si cet antigène est introduit par voie parentérale, la réaction d'hypersensibilité quel qu'en soit le type, va se manifester très rapidement. Si l'antigène est introduit dans le derme, la réaction se manifeste habituellement dans les 15 à 30 minutes s'il s'agit d'une réaction de type I, dans les 1 à 6 heures pour le type III, et dans les 24 à 72 heures pour le type IV. Les réactions de type II, qui impliquent parfois la participation d'antigènes du soi, se développent souvent de manière lente et chronique.

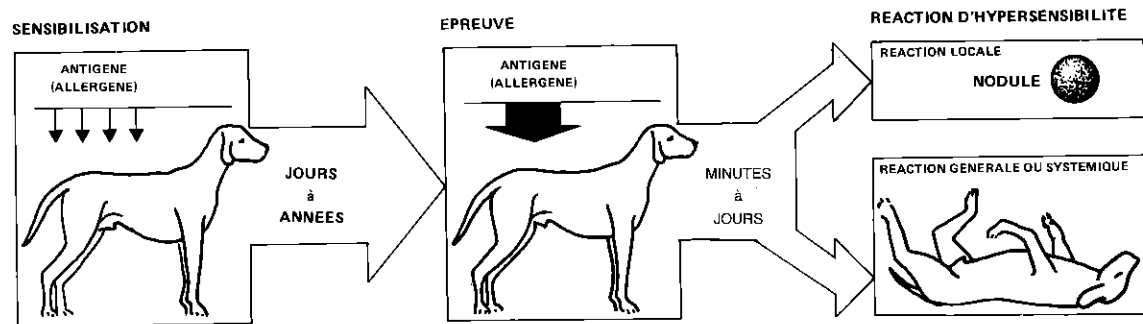


Figure 28-1 Développement d'une réaction d'hypersensibilité.

Avant de développer une réaction d'hypersensibilité l'animal doit être sensibilisé par l'exposition à de faibles doses de l'antigène (allergène), ce qui peut prendre des jours ou des années, puis exposé à une plus forte dose du même antigène (allergène). La réaction locale (par exemple intradermique) s'installe en quelques minutes, ou quelques heures, ou quelques jours, selon le type d'hypersensibilité concerné; la réaction générale s'installe en quelques minutes après l'administration parentérale de l'antigène (allergène).

des troubles  
phases tempo-

L'issue d'une réaction d'hypersensibilité peut aller d'une réaction locale très bénigne jusqu'au choc anaphylactique généralisé provoquant la mort.

D'un point de vue médical, il faut insister sur le fait qu'une réaction d'hypersensibilité apparaît rarement seule chez un individu. Le plus souvent

une combinaison variée des réactions de types I, III et IV se manifeste chez le même patient simultanément ou successivement. Cependant un type prédomine le plus souvent et c'est contre celui-ci que le traitement doit être dirigé.

Les chapitres suivants décrivent les différents types de réaction de manière plus détaillée.

est précédée  
on, pendant  
d place, les  
anticorps sont  
le peut durer  
es.  
é n'apparaît  
ose critique,  
igène contre  
t antigène est  
tion d'hyper-  
se manifester  
produit dans le  
habituellement  
l'une réaction  
le type III, et  
type IV. Les  
nt parfois la  
développent  
que.

PERSENSIBILITE



LE OU SYSTEMIQUE



ses de l'antigène  
gène (allergène).  
urs, selon le type  
ale de l'antigène

H. Bazin, O. Barta, V.-D. Barta

## **HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE I**

L'hypersensibilité de type I est due à des antigènes (souvent appelés, dans ce cas, allergènes) pouvant réagir avec des anticorps essentiellement d'isotype IgE et parfois de certains subisotypes d'IgG, fixés par leurs parties Fc sur la membrane de mastocytes ou de polynucléaires basophiles par l'intermédiaire de récepteurs spécifiques. La réaction antigène-anticorps est suivie d'une dégranulation de ces cellules avec relargage de médiateurs tels que la sérotonine ou l'histamine qui agissent sur la perméabilité des capillaires ou sur les fibres musculaires lisses.

La première observation du phénomène d'hypersensibilité immédiate ou de type I a été faite, en 1902, par Portier et Richet. Durant une croisière scientifique sur le yacht du prince Albert de Monaco, ces deux biologistes étudièrent, sur la suggestion du prince lui-même, les possibilités d'obtenir une protection immune contre la toxine de la physalie. Ils poursuivirent ce travail à Paris avec des extraits d'anémone de mer, n'ayant plus de physalie. Quelques chiens, dont l'infortuné (mais désormais célèbre) Neptune, ayant survécu

à une première injection d'extrait, furent réinoculés peu de temps après, avec de nouvelles doses du poison. Ils succombèrent quelques minutes après l'injection, administrée à de très faibles doses habituellement non mortelles. Le phénomène était contraire à l'immunité (prophylaxie) et ils l'appelèrent anaphylaxie (contraire de la phylaxie c'est-à-dire contraire de la protection). Charles Richet obtint le prix Nobel, en 1913, pour ses travaux sur l'anaphylaxie. Le rôle de facteur(s) sérique(s) dans l'étiologie des crises d'anaphylaxie fut démontré par les expériences de Prausnitz et Küstner en 1921 [16]. Ils réalisèrent la première expérience d'anaphylaxie cutanée passive : Prausnitz s'inocula dans le derme de la peau, un peu de sérum de son collègue (Küstner) allergique à des antigènes de poisson, puis 24 heures après, au même endroit, un extrait de poisson (en l'occurrence d'églefin), et vit apparaître très rapidement un érythème local, réalisant la première transmission passive d'une hypersensibilité de type I.

Riley et West découvrirent en 1952 que la

libération d'histamine à partir des mastocytes était l'événement-clé des réactions anaphylactiques. En 1967, d'une part Terry et Kimi Ishizaka et, d'autre part, Johansson et Bennich établirent que le facteur humoral responsable des manifestations de l'hypersensibilité de type I était une nouvelle classe d'immunoglobulines appelée IgE [7]. Les anticorps de classe IgE furent trouvés fortement cytotropiques pour les mastocytes. L'interaction

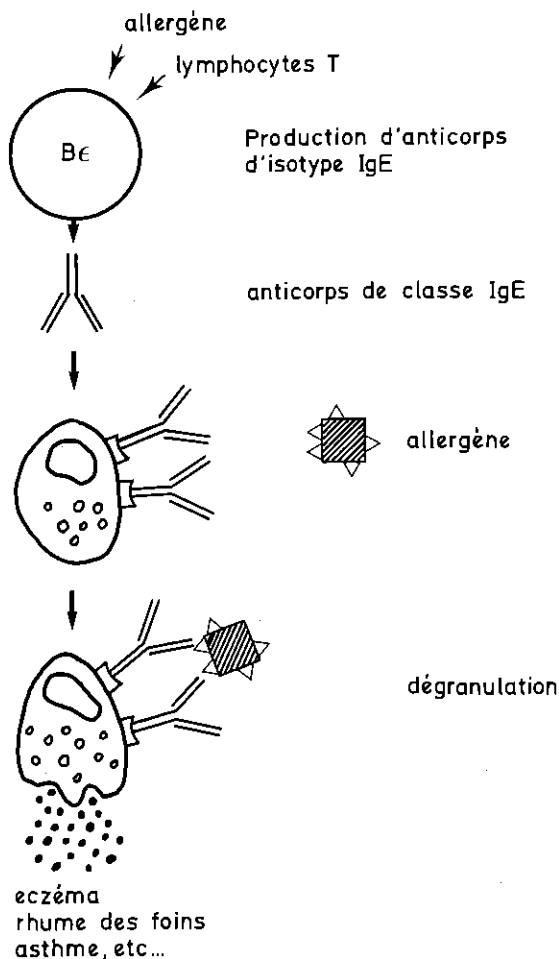


Figure 29-1 Schéma des mécanismes de l'hypersensibilité de type I.

L'allergène (antigène) stimule les lymphocytes Bε et, avec l'aide de lymphocytes T, les induit à synthétiser des anticorps IgE spécifiques de ses épitopes. Ces anticorps vont s'attacher sur les récepteurs à IgE des mastocytes ou des basophiles. L'interaction du même allergène avec ces anticorps conduit à la dégranulation de ces mastocytes/basophiles s'accompagnant du relargage des médiateurs de l'hypersensibilité de type I.

de ces anticorps liés aux mastocytes avec l'allergène se révéla le mécanisme de déclenchement du relargage par les mastocytes des médiateurs de l'hypersensibilité de type I (Fig. 29-1).

Les manifestations cliniques d'hypersensibilité résultant le plus souvent d'une combinaison de plusieurs types, étant donné que le contact d'un antigène entraîne généralement une sensibilisation multiple des lymphocytes de diverses sous-populations et la production d'anticorps de plusieurs isotypes. Dès lors, les symptômes cliniques sont complexes avec souvent la prédominance successive, dans le temps, de plusieurs types d'hypersensibilité. Ainsi, une injection intradermique d'un antigène produit fréquemment des réactions d'hypersensibilité successives de types I, III, puis IV.

La terminologie des hypersensibilités s'est développée au fil du temps. Elle est quelquefois confuse et même parfois utilisée de façon incorrecte.

Les termes d'allergie et d'hypersensibilité sont en général employés l'un pour l'autre et désignent la réactivité d'un organisme à un antigène (allergène) provoquant des troubles physiopathologiques avec des dommages temporaires ou permanents des tissus.

Le terme d'anaphylaxie signifie une réponse exagérée à un antigène se manifestant, dans sa forme aiguë ou suraiguë au cours des minutes qui suivent l'administration, par un choc dû à la libération d'histamine et d'autres substances vasoactives. La crise anaphylactique ne peut survenir que chez des sujets sensibilisés et possédant des anticorps cytotropiques sur leurs mastocytes/polynucléaires basophiles.

L'atopie est le caractère constitutif, souvent héréditaire, de certains sujets qui présentent des réactions d'hypersensibilité de type I pour des allergènes communs, rencontrés dans le milieu.

Les anticorps d'isotype IgE sont parfois appelés réagines.

Tous les types d'hypersensibilité requièrent une période de sensibilisation (pouvant durer des années), pendant laquelle le sujet est exposé à des doses répétées, souvent très faibles, d'allergène (antigène). Les réactions d'hypersensibilité apparaissent le plus souvent quand le sujet a été suffisamment sensibilisé et lors de l'exposition à une dose importante d'allergènes inoculés, ingérés ou inhalés. L'hypersensibilité de type I est également appelée hypersensibilité de type immédiat, la réaction apparaissant dans les minutes qui suivent l'exposition à l'antigène.

## ANTICORPS DE L'HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE I

### LES IgE

La dernière classe d'immunoglobulines a été découverte en 1967, par les Ishizaka d'une part et Johansson et Bennich, d'autre part. Les Ishizaka avaient montré que les anticorps responsables de l'activité réaginique (c'est-à-dire responsables de l'hypersensibilité de type I) ne faisaient pas partie des classes d'immunoglobulines connues à cette époque, c'est-à-dire les IgM, IgD, IgA et IgG. A la suite d'un travail d'une grande minutie, ils purent démontrer que les anticorps réaginqes faisaient partie d'une nouvelle classe d'immunoglobulines, les IgE. A peu près à la même époque, Johansson et Bennich démontrèrent qu'une protéine myélomateuse humaine (ND) ne pouvait être classée parmi les classes connues d'Ig et donc représentait un nouvel isotype. La comparaison des motifs antigéniques des IgE et de la protéine ND montra qu'il s'agissait d'une même et nouvelle classe d'immunoglobulines.

L'IgE est une glycoprotéine composée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères. L'IgE a un poids moléculaire de 196 000 daltons et est donc plus lourde que l'IgG. Elle contient environ 12 p. cent d'hydrates de carbone. Sa chaîne lourde comprend un domaine variable et 4 domaines constants. Les séquences en acides aminés des chaînes epsilon de l'homme, de la souris et du rat ont été déterminées. Les domaines Cε3 et Cε4 du rat et de la souris présentent une grande homologie qui peut expliquer les possibilités d'accrochage des IgE de souris aux récepteurs membranaires FcεR1 du rat et vice versa. Les chaînes epsilon possèdent un nombre élevé de ponts disulfures dont certains sont très sensibles à la réduction par le β<sub>2</sub>-mercaptoéthanol, se traduisant par une perte de fixation dans les tissus. L'attachement aux mastocytes se fait à l'aide de deux sites dans les régions Cε3 et Cε4 des chaînes lourdes. La concentration sérique de l'IgE est toujours très faible, exprimée en nanogrammes ou parfois en microgrammes par millilitre chez l'homme ou l'animal normal et au maximum en dixièmes de milligramme chez l'allergique ou le sujet parasité par des helminthes. La demi-vie de l'IgE sérique est toujours brève (en heures ou en jours : 12 heures chez la souris ou le rat, 2-4 jours chez l'homme). Par contre, lorsque l'IgE est fixée

dans les tissus, sa demi-vie est beaucoup plus longue (5-7 jours chez le rat; plusieurs semaines chez l'homme).

### ANTICORPS IgG HOMOCYTOTROPIQUES

Il existe dans certaines espèces (toutes ?) des anticorps de classe IgG qui sont capables de provoquer des réactions d'hypersensibilité de type I. Cependant, ils sont moins aptes à déclencher ces phénomènes que ceux de classe IgE, car leur affinité pour les récepteurs des mastocytes (ou des basophiles) est faible. Ce sont les IgG1 de la souris, les IgG2a du rat, certaines IgG de lapin, les IgG1 du cobaye, qui possèdent la plus haute avidité pour les récepteurs FcεR dans ces espèces. Chez l'homme, on discute toujours sur le rôle de la sous-classe des IgG4 qui pourraient se fixer sur les membranes des mastocytes. Il est possible que des sous-classes d'IgG jouent un rôle identique dans d'autres espèces animales.

### MISE EN ÉVIDENCE DES ANTICORPS CYTOTROPIQUES

**Le test de Prausnitz-Küstner ou test PK.** Le sérum à tester est injecté par voie intradermique chez un sujet normal de la même espèce. Vingt-quatre à 48 heures après, les anticorps de classe IgE étant fixés sur les récepteurs des mastocytes, on injecte l'antigène, par voie intradermique, à l'endroit même de la première injection. Une réaction positive se manifestera dans les minutes qui suivront, par un œdème cutané accompagné de rougeur. Ce test a surtout été employé dans l'espèce humaine.

**Le test d'anaphylaxie cutanée passive ou PCA (passive cutaneous anaphylaxis) d'Ovary** est réalisé en inoculant par voie intradermique des dilutions du sérum à tester à un animal normal de la même espèce. Vingt-quatre à 72 heures après, l'antigène (correspondant aux anticorps IgE à tester) est injecté par voie intraveineuse avec un colorant, comme le bleu d'Evans. L'antigène va diffuser rapidement dans les espaces extravasculaires où il pourra rencontrer des mastocytes. Le colorant, lui, se fixera sur l'albumine et restera dans le torrent circulatoire. En cas de réaction



d'hypersensibilité immédiate, c'est-à-dire si le sérum à tester contenait des anticorps réagins qui se sont fixés sur des mastocytes, ceux-ci vont se dégranuler sous l'action de l'antigène, la perméabilité vasculaire sera augmentée et l'albumine colorée va passer dans les espaces extravasculaires et former une tache bleue, à l'endroit même où les anticorps de classe IgE se sont fixés sur les mastocytes. La dilution maximale du sérum à tester, donnant une tache visible, sera considérée comme son titre en anticorps de classe IgE contre l'antigène testé. Ce test peut être utilisé pour mesurer les anticorps cytotropiques de classe IgG chez les rongeurs de laboratoire, en injectant l'antigène quelques heures (2 à 4 heures) après la sensibilisation. Dans ce cas, seuls les anticorps IgG sont attachés aux mastocytes-basophiles.

**Le test de Schultz-Dale.** Un fragment de muscle lisse provenant d'intestin, d'utérus, d'une bronche... d'un animal sensibilisé, est lavé et suspendu dans de l'eau physiologique. L'exposition de ce tissu à l'antigène spécifique conduit à la dégranulation des mastocytes du tissu et à sa contraction. Il est aussi possible de prélever un muscle lisse provenant d'un animal normal et de le sensibiliser en l'exposant à un sérum à tester, puis de continuer le test comme décrit précédemment.

**Les tests RIA (radioimmunoassay) ou ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay).** La disponibilité d'anticorps polyclonaux anti-IgE ou anti-IgG de diverses espèces permet la réalisation de tests radioimmunologiques RIA ou ELISA, très commodes et reproductibles. L'emploi d'anticorps monoclonaux de souris ou de rat anti-IgE et anti-sous-classe d'IgG de plusieurs espèces a largement amélioré la qualité de ces tests (voir chapitre 59).

## ATTACHEMENT DES ANTICORPS IgE (ET CERTAINS IgG) AUX MEMBRANES CELLULAIRES

### RÉCEPTEURS MEMBRANAIRES À HAUTE AFFINITÉ POUR LA PARTIE Fc DES IgE OU FcεR1

Les basophiles font partie des polynucléaires sanguins. Ces cellules possèdent des granules cytoplasmiques qui sont retrouvés en très grand nombre dans les mastocytes, cellules tissulaires relativement grandes (15-20 μ de diamètre), réparties dans les tissus conjonctifs. Les granules

**Tableau 29-I** Basophiles et mastocytes de différentes espèces animales.

	Basophiles (en p. cent des leucocytes)	Mastocytes
Homme	0,35-0,45	Nombreux
Rat	Très rares	Très nombreux surtout dans la cavité péritonéale
Souris		
Lapin	4-11	Rares
Bœuf	0,5-1	Très nombreux
Porc	2	Très nombreux
Chien	Très peu nombreux	Nombreux surtout dans le foie
Chat	Très peu nombreux	Très nombreux surtout dans les ganglions lymphatiques
Poule	1-3,6	Très nombreux

**Tableau 29-II** Caractéristiques des mastocytes de rongeurs.

Type	Localisation	Dépendance vis-à-vis de l'IL-3	Contenu des granules	Produits du métabolisme de l'acide arachidonique
Classique	Séieux et des tissus conjonctifs	Non	Héparine	Prostaglandines
Atypique	Muqueux	Oui	Sulfate de chondroïtine E	Leucotriènes C4, D4 et E4 <sup>a</sup> B4 (LT chimiotactique)

<sup>a</sup> Appelé autrefois Slow Reacting Substances of Anaphylaxis ou SRS-A.

Tableau 29-III Propriétés des deux types de récepteurs pour l'IgE [3].

	FcεR1	FcεR2
Répartition	Mastocytes Basophiles	Sous-populations de : macrophages, monocytes, éosinophiles, plaquettes, lymphocytes B
Nombre/cellule	De 10 <sup>4</sup> (basophiles) à 10 <sup>6</sup> (mastocytes)	De 10 <sup>3</sup> (plaquettes) à 5 × 10 <sup>5</sup> (macrophages)
Degré d'affinité	10 <sup>9</sup> M <sup>-1a</sup>	Pour les monomères IgE : +10 <sup>7</sup> M <sup>-1</sup> Pour les dimères IgE : +10 <sup>8</sup> M <sup>-1</sup>
Structure	Tétramère : 1 chaîne α 45 kd 1 chaîne β 33 kd 2 chaînes γ 9 kd	Dimère sensible à la trypsine : chaîne α 45-50 kd chaîne β 25-33 kd <sup>b</sup>
Antigénicité	Commune à tous les types cellulaires FcεR1+	Commune à tous les types cellulaires FcεR2+ <sup>c</sup>
Modulation	Inconnue	Expression augmentée par l'IgE
Activation cellulaire produite par	IgE agrégées/complexées <sup>d</sup>	IgE agrégées/complexées <sup>d</sup>
Conséquence de l'activation dépendante du FcεR	Libération des médiateurs	Sécrétion de différents médiateurs par les cellules inflammatoires. Régulation isotypique de la réponse à IgE par les facteurs liant l'IgE (lymphocytes)

<sup>a</sup> Constante d'équilibre.

<sup>b</sup> La chaîne β est probablement analogue à celle du Fcε sur les basophiles/mastocytes.

<sup>c</sup> Comme cela a été observé avec des anticorps polyclonaux ou monoclonaux anti-FcεR2, l'antigénicité se distingue de celle du FcεR1 sur les basophiles/mastocytes.

<sup>d</sup> Au minimum par un dimère.

de ces deux types cellulaires peuvent se colorer par le bleu de toluidine.

Le nombre de basophiles et de mastocytes est variable suivant les espèces animales sans que l'on en connaisse la raison (Tableau 29-I). L'origine de ces cellules est encore assez obscure. Les mastocytes des tissus conjonctifs ont leurs précurseurs dans le foie fœtal puis dans la moelle osseuse. Les mastocytes trouvés dans l'épithélium des muqueuses sont peut-être d'origine différente. L'augmentation du nombre de ces dernières cellules est très sensible aux stimulations provenant des lymphocytes T, beaucoup plus que celle des mastocytes ordinaires. On estime qu'il existe, au moins chez les rongeurs, deux types de mastocytes (Tableau 29-II).

L'attachement de molécules d'IgE sur les mastocytes (ou les basophiles) ne modifie pas la physiologie ni le devenir de ces cellules. L'accrochage se fait sur des récepteurs spécifiques situés dans la membrane cellulaire (voir Tableau 29-III). L'affinité des IgE pour les récepteurs des basophiles et des mastocytes est très élevée, avec une constante d'équilibre de l'ordre de 1 à 9 × 10<sup>9</sup> M<sup>-1</sup>.

### RÉCEPTEURS MEMBRANAIRES À BASSE AFFINITÉ POUR LA PARTIE Fc DES IgE OU FcεR2

Il existe un deuxième type de récepteurs pour l'IgE dont les caractéristiques sont données au tableau 29-III. Son rôle dans les phénomènes d'hypersensibilité immédiate est moins important que celui de type 1. Par contre, il intervient dans d'autres phénomènes comme celui de l'immunité antiparasitaire [2].

### PARTICULARITÉS ET CONTRÔLE DE LA RÉPONSE IMMUNE À IgE

Les réponses à IgE ont toujours montré des caractéristiques un peu particulières qui les ont fait distinguer très rapidement des autres réponses immunes. Tout d'abord, seuls certains individus semblent capables de les exprimer et dans des

conditions bien précises de contact avec l'antigène. De même, leur durée est assez exceptionnelle, parfois très longue, même en l'absence de stimulations antigéniques externes. Ces observations ont conduit à leur rechercher des mécanismes propres d'activation et de régulation.

### Antigènes ou allergènes

La nature des antigènes, encore appelés dans ce cas allergènes, est très importante. Jusqu'à présent, aucune caractéristique générale n'a pu être trouvée qui puisse indiquer, a priori, c'est-à-dire à la lecture de sa formule chimique, qu'une molécule sera ou non un bon allergène. Cependant, la plupart sinon tous les « bons » allergènes sont des protéines ou des polypeptides. Quand une substance est un allergène pour une espèce donnée, elle l'est le plus souvent pour les autres. Ainsi, l'ovalbumine est un bon allergène pour toutes les espèces testées, de même que les extraits helminthiques.

D'un point de vue pratique, si quelques allergènes ont été séquencés et sont parfaitement connus, la grande majorité d'entre eux l'est encore assez mal, même dans le cas d'allergènes très classiques comme la poussière de maison. Dans ce cas, l'allergène majeur s'appelle Der PI. Il est produit par l'acarien *Dermatophagoides pteronyssinus* et a été séquencé. C'est une glycoprotéine de 24 kd, qui peut être trouvée dans des formes isoélectriques multiples [4]. Les allergènes provenant des animaux sont encore mal caractérisés. Cependant, au tableau 29-IV figurent quelques données sur leur origine. Dans le cas du sérum de cheval, l'albumine serait le constituant majeur responsable des chocs anaphylactiques observés après son injection à des patients. Des

constituants d'origine ectodermique pourraient être à l'origine d'autres formes de sensibilisation. Il en est de même pour les allergènes d'origine bovine. Cependant, il ne faut pas oublier que la majorité des sensibilisations sont dues à des allergènes contaminants dont l'exemple le plus classique est celui des acariens vivant dans la laine ou dans les plumes avec lesquelles les literies sont confectionnées.

Les doses sensibilisantes d'allergène doivent être faibles, de l'ordre du microgramme pour les rongeurs. Les doses plus élevées ne semblent pas actives. Lors d'administrations répétées, il y a un effet cumulatif des doses antigéniques conduisant les receveurs à un état d'anergie.

Les antigènes du milieu qui induisent communément les réactions des sujets atopiques sont :

— *les antigènes inhalés*, comme les pollens, les spores de moisissures, les mites, les antigènes épidermiques humains et animaux;

— *les antigènes de l'alimentation*, tels que le lait, le poisson, l'œuf, les fruits, les noix, les additifs alimentaires...;

— *les antigènes injectés*, tels que les venins d'abeilles, de guêpes et de certaines araignées...;

— *les médicaments* employés dans le traitement de certaines maladies peuvent être ou devenir des antigènes provoquant des réactions anaphylactiques. Les exemples les plus classiques sont les dérivés de la pénicilline et les composés iodés...

Bien que les hypersensibilités de type I soient communément attribués à des agents non infectieux, on doit garder à l'esprit qu'à l'occasion de toute infection, une partie des anticorps synthétisés peut être de type cytotropique et ira s'accrocher aux mastocytes. Ce type d'hypersensibilité est, malgré tout, relativement rare : à la surface des muqueuses, des anticorps IgA peuvent bloquer l'entrée des antigènes. Dans le sang circulant, les anticorps IgM et IgG peuvent former des complexes immuns avec les agents infectieux avant qu'ils aient, dans la majorité des cas, interagi avec les IgE attachées aux mastocytes.

Les parasites et leurs produits métaboliques peuvent induire des réactions d'hypersensibilité de type I, quoique leur emploi dans les tests cutanés, indique que plusieurs types d'hypersensibilité interviennent le plus souvent, dans ces circonstances. Il est bien connu que les hommes et les animaux fortement parasités possèdent un nombre élevé de polynucléaires éosinophiles. Il a été démontré que ces cellules peuvent contribuer à l'immunité contre certains parasites (voir chapitre

**Tableau 29-IV** Origine des allergènes animaux les plus souvent impliqués dans l'hypersensibilité de type I chez l'homme [12].

	Cellules épithéliales	Sérum	Salive	Urines
Chat	+	+	+++	+
Chien	+++	+	+	
Cheval	+++	+		
Rat	+	+		+++
Souris	+	+		+++
Cobaye	+	+		+++

24). Les animaux et les hommes infestés par un ténia peuvent développer des troubles respiratoires et de l'urticaire. La rupture de la chrysalide du varron (*Hypoderma bovis*) peut produire la libération de fluide coelomique dans les tissus environnants ou même dans la circulation sanguine entraînant des crises d'anaphylaxie locale ou générale. Le syndrome de Sweet dû aux moustiques culicoïdes est aussi probablement une hypersensibilité de type I. Les réactions à *Demodex canis*, aux piqûres de puces et d'insectes sont par contre des réactions complexes faisant intervenir plusieurs types d'hypersensibilité.

### Adjuvants

Au moins chez les rongeurs de laboratoire, il est pratiquement impossible d'induire la synthèse d'anticorps de classe IgE sans adjuvant. Mais le plus classique de ceux-ci, l'adjuvant complet de Freund, n'est que peu ou pas efficace. Par contre, l'alun d'ammonium ou des bactéries *Bordetella pertussis* tuées sont d'excellents adjuvants des réponses immunes à IgE.

### Contrôle génétique

L'observation empirique a montré depuis longtemps que la tendance à développer des hypersensibilités de type I — l'« allergie » — se transmet génétiquement. Des exemples très caractéristiques de cette transmission ont été décrits dans la littérature depuis des siècles. Par exemple, Lesné et Richet [9] rapportent l'histoire d'une famille dont l'arrière-grand-père, né en 1775, était affligé d'une intolérance extrême aux œufs et aux crèmes, intolérance devenue proverbiale dans la famille. Pendant quatre générations, cette intolérance aux mêmes allergènes fut observée parmi les descendants de cet allergique. Cependant, ce n'est qu'en 1916, que Cooke et Vanderveer [5] publièrent la première étude démonstrative concernant une prédisposition familiale aux allergies. Ils trouvèrent que dans une population de 504 allergiques, 48,4 p. cent étaient issus de familles à antécédents allergiques. Les sujets à ascendants allergiques bilatéraux présentaient des réactions allergiques dès la naissance, ceux à ascendants allergiques unilatéraux les présentaient à la puberté et ceux sans ascendants allergiques ne les développaient que plus tard. Ces auteurs concluaient en proposant une hérédité contrôlée par un seul gène autosomal dominant. En fait, au

cours d'études ultérieures, cette hypothèse fut battue en brèche et un contrôle multigénique de l'hérédité est communément accepté [1]. Par sélection, on a constitué des familles de chiens allergiques, mais aucune loi simple de transmission génétique n'a pu être mise en évidence chez ces animaux.

La découverte de l'isotype d'immunoglobuline IgE puis des gènes dits de réponses immunes modifia profondément l'approche scientifique du problème. Il fut possible de démontrer que certaines réponses immunes à IgE étaient sous contrôle génétique lié au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Cependant, peu après, Levine [10, 11] montra qu'en réalité le contrôle génétique propre aux réponses immunes à IgE était peu lié au CMH et aux gènes des chaînes lourdes d'immunoglobulines, et même non entièrement spécifique de l'antigène, toutes données plus ou moins opposées à celles du contrôle génétique des réponses immunes classiques (voir chapitre 8).

Des particularités encore plus précises ont été constatées. Il existe une corrélation positive entre le taux sérique d'IgE et l'amplitude des réponses immunes à IgE aussi bien chez l'homme [13] que chez le rat [15]. Il faut cependant nuancer cette observation en rappelant que la concentration sérique d'IgE ne peut s'élever que sous l'influence de stimulations allergéniques. Un taux sérique élevé en IgE indique donc un sujet bon répondeur pour l'isotype IgE, la proposition inverse étant à ne prendre en considération qu'avec réserve. Enfin, l'hérédité du phénotype « concentration sérique en IgE » est mal connue. Elle pourrait, chez l'homme, dépendre d'un seul gène transmis de façon mendélienne, le caractère « concentration sérique basse en IgE » étant dominant.

### Phénomène de potentialisation

Les réponses immunes à IgE contre des antigènes non parasitaires peuvent être fortement augmentées à la suite d'une infection helminthique concomitante [14]. Différentes modalités concernant l'immunisation doivent être respectées pour observer le phénomène : la réponse à IgE doit immédiatement précéder l'infection parasitaire, l'augmentation de la réponse à IgE contre l'antigène non parasitaire ayant lieu au moment même de l'apparition des anticorps IgE contre les antigènes parasitaires. La mise au point de tests quantitatifs des immunoglobulines de rat a permis

de préciser que la potentialisation de la réponse IgE correspond à une augmentation du taux d'IgE sériques sans modification notable des taux d'immunoglobulines des autres isotypes [8]. Le phénomène est dépendant des lymphocytes T.

La manipulation des lymphocytes T dans les réponses immunes à IgE a permis d'identifier la classe des T suppresseurs : l'augmentation des réponses à IgE, due aux irradiations, a été découverte par Tada [17]. Il démontra que le phénomène était dû à une forte radiosensibilité des lymphocytes T suppresseurs.

### Mécanismes régulateurs de la réponse immune à IgE

Il est admis que les réponses immunes à IgE sont initiées au niveau cellulaire et moléculaire d'une manière identique à celle des autres isotypes. Cependant, les réponses à IgE n'apparaissent que chez certains sujets et sont normalement très brèves, étant soumises à une suppression très puissante, dont le phénomène de potentialisation a montré toute l'influence. Une autre caractéristique de ce type de réponse est leur thymodépendance marquée qui pourrait être même absolue.

La commutation préférentielle de lymphocytes B activés par un antigène semble se faire sous l'influence de plusieurs facteurs. Dans le cas de l'isotype IgE, les lymphocytes T auxiliaires et suppresseurs ainsi que les lymphocytes B eux-mêmes semblent intervenir.

L'interleukine 4 ou IL-4 est synthétisée par certains lymphocytes T activés (précisément les cellules T auxiliaires de la sous-classe 2 ou Ta-2). L'IL-4 a de nombreuses propriétés : elle induit la production d'IgE et d'IgG4 (homme), d'IgE et d'IgG1 (souris), diminue la synthèse d'IgG3 (souris), induit la synthèse de FcεR2 (CD23) et augmente l'expression d'antigènes de classe II du CMH.

L'interféron gamma ou IFN-γ (synthétisé par les lymphocytes T auxiliaires de type 1 ou Ta-1) inhibe l'action de l'IL-4 sur les lymphocytes B.

Ishizaka et son équipe ont aussi décrit un système de régulation des réponses immunes, propres à l'isotype IgE. Deux facteurs pouvant se lier spécifiquement à l'IgE et synthétisés par les lymphocytes T ont été décrits. Le facteur potentiateur de l'IgE et le facteur suppresseur de l'IgE auraient une structure polypeptidique commune, mais une partie carbohydratée différente qui

assurerait leur fonction biologique : le facteur potentiateur étant glycosilé, l'autre non.

Beaucoup d'inconnues subsistent encore dans cette description des mécanismes régulateurs de la synthèse de l'IgE, parmi lesquelles le rôle du FcεR2 dans sa forme liée à la membrane des lymphocytes B, ou libre dans le sang circulant.

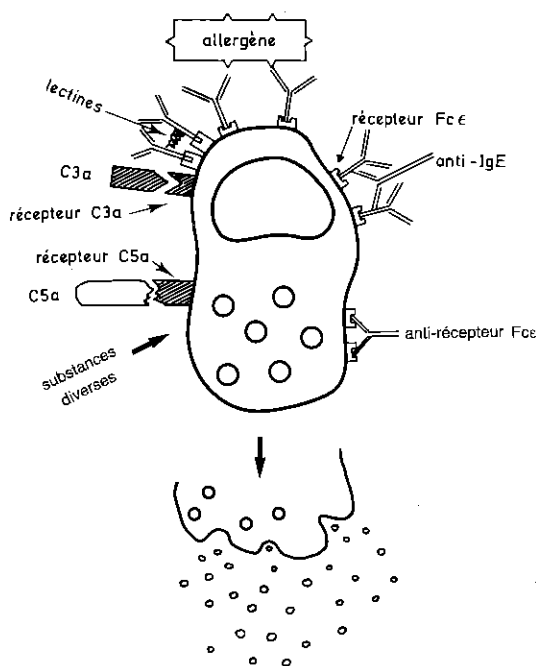
### Plasmocytes à IgE

Les plasmocytes à IgE sont principalement localisés dans les ganglions lymphatiques drainant les sources d'allergènes. Il est possible d'en rencontrer dans les muqueuses, par exemple intestinales, en cas d'allergies digestives ou d'helminthiases intestinales.

## MÉCANISMES DE DÉGRANULATION DES MASTOCYTES

Les mastocytes sont les basophiles des tissus, caractérisés par de larges granules basophiles et métachromatiques dans leur cytoplasme.

Divers agents pharmacologiques sont capables d'initier la sécrétion des mastocytes, par exocytose : quelques enzymes, des composés cationiques, des ionophores, des lectines, des polysaccharides... Cependant, le stimulus le plus physiologique pour la dégranulation des mastocytes dans les réactions allergiques est le pontage de molécules d'IgE par un antigène, permettant la liaison de deux récepteurs pour l'IgE (voir Fig. 29-1). Cette liaison peut également survenir par l'intermédiaire d'un anticorps anti-IgE ou même d'un anticorps antirécepteur pour l'IgE. Toutefois, le phénomène de dégranulation est nettement plus violent et rapide en cas de formation d'agrégats de récepteurs à IgE. Il y a 3 à  $6 \times 10^5$  sites de fixation pour des molécules d'IgE par mastocyte humain. L'interaction de l'antigène avec des molécules IgG attachées par des récepteurs spécifiques à la membrane des mastocytes stimule également la dégranulation, qui l'est aussi par les anaphylatoxines C3a et C5a agissant par des mécanismes indépendants de l'IgE. Elle peut être également obtenue par des substances comme la morphine, la codéine, la tubocurarine, l'ACTH (hormone adrénocorticotrope) ou la polymyxine B (un antibiotique). Un



**Figure 29-2** Dégranulation des mastocytes/basophiles. Cette dégranulation peut se réaliser sous l'effet d'interactions de l'allergène avec des anticorps attachés au FcεR1, par des anticorps anti-IgE, par des lectines pouvant s'attacher à la partie Fc des IgE, par des anticorps anti-FcεR1, par des anaphylotoxines (C3a et C5a) ou enfin, par certaines substances comme la codéine, la morphine, l'ACTH synthétique, la polymyxine B, etc.

schéma de l'activation des mastocytes et de leur dégranulation est présenté à la figure 29-2. Le calcium joue un rôle crucial dans cette dégranulation. La dégranulation du mastocyte n'entraîne pas sa mort.

Les médiateurs de l'hypersensibilité de type I relargués des granules de mastocytes de rat sont repris au tableau 29-V.

**MÉDIATEURS PRÉFORMÉS**

Les médiateurs préformés sont relargués dans les phases précoces de la réaction. Les effets biologiques de l'histamine apparaissent grâce à l'entremise de deux récepteurs présents sur de nombreuses cellules : l'interaction de l'histamine avec le récepteur H1 produit une dilatation veineuse, une contraction des muscles lisses des bronches et de l'intestin, l'accroissement de la perméabilité capillaire, la stimulation des extré-

mités sensorielles des nerfs, l'accroissement de la sécrétion des glandes à mucus bronchiques et un chimiotactisme pour les neutrophiles et les éosinophiles. L'interaction de l'histamine avec le récepteur H2 provoque un accroissement de la sécrétion acide dans l'estomac, une modification du rythme cardiaque avec affaiblissement de son tonus musculaire, une vasodilatation musculaire, une inhibition du relargage des granules basophiles, une inhibition de la cytotoxicité des lymphocytes T et une inhibition de l'activation des neutrophiles.

La sérotonine (5-hydroxytryptamine) est localisée dans les cellules (chromaffines) du tractus gastro-intestinal, dans les plaquettes sanguines et les mastocytes. Durant les réactions d'hypersensibilité, elle est relarguée par les mastocytes et les plaquettes agrégées. De plus, les mastocytes activés relarguent le facteur d'activation des plaquettes (Platelet Activating Factor ou PAF), dérivé lipidique qui stimule les plaquettes à libérer de la sérotonine indépendamment de leur état d'agrégation. La sérotonine induit des contractions des muscles lisses et la disjonction des cellules endothéliales des veinules provoquant de l'œdème tissulaire.

Le facteur chimiotactique des éosinophiles (ECF) fait également partie des médiateurs préformés.

Le facteur chimiotactique des neutrophiles (NCF) a été isolé à partir de mastocytes séreux de rats et de patients asthmatiques ou présentant d'autres états d'hypersensibilité de type I. Il attire les neutrophiles et, à un moindre degré, les éosinophiles mais pas les monocytes.

Plusieurs protéases neutres et des exoglycosidases ont été décrites dans les mastocytes du rat et de l'homme, notamment la chymase, la tryptase, la bêta-hexosamidase, la bêta-glucuronidase et l'arylsulfatase. Cette dernière neutralise les leucotriènes (SRS-A) en se fixant à eux. La peroxydase, présente dans les granules des mastocytes, peut jouer un rôle important dans l'activation des leucotriènes et des autres métabolites de l'acide arachidonique.

L'héparine, dans les granules des mastocytes, lie les médiateurs préformés déjà mentionnés, à l'aide d'interactions ioniques en réduisant leur solubilité, leur diffusion et leur activité. Après dégranulation, la majorité de l'héparine reste associée à la membrane des cellules et est lentement relarguée avec les enzymes neutres. Elle agit comme un anticoagulant et un facteur anticomplémentaire.

Tableau 29-V Médiateurs des réactions d'hypersensibilité de type I produits par les mastocytes de rat [6].

Médiateurs	Propriétés physicochimiques	Fonction	Inhibition-inactivation
Histamine	$\beta$ -imidazolyléthylamine PM : 111	Contracte les muscles lisses Accroît la perméabilité vasculaire Stimule les lymphocytes T sup- presseurs Augmente ou inhibe le chimiotac- tisme Stimule la sécrétion de mucus	Histaminase Méthyltransférase d'histamine
Sérotinine	5-hydroxytryptamine (5-HT) PM : 176	Contracte les muscles lisses Accroît la perméabilité vasculaire	Oxydase monoamine
Facteurs chimiotactiques des éosinophiles (ECF)	Tétrapeptides acides hydrophobes PM : 360-390	Chimiotactisme et désactivation des éosinophiles	Carboxypeptidases
Facteurs chimiotactiques de poids moléculaire intermédiaire des éosinophiles	Peptides PM : 1 500-3 000	Chimiotactisme et désactivation des éosinophiles	Protéases neutres
Facteurs chimiotactiques des neutrophiles (NCF)	Protéine neutre PM : >750 000	Chimiotactisme et désactivation des neutrophiles	Protéases neutres
Chymase	Protéine basique PM : 25 000	Protéolyse chymotrypsique	5-HT héparine
N-acétyl- $\beta$ -glucosaminidase	Glycoprotéine PM : 150 000	Clivage des protéoglycans et glycoprotéines	Inconnu
$\beta$ -glucuronidase	Glycoprotéine PM : 57-60 000	Clivage des protéoglycans et glycoprotéines	Inconnu
Arylsulphatase A	Glycoprotéine	Sulphhydrolase	Inconnu
Superoxyde dismutase	Protéine PM : 32 000	Génération de superoxydes	Inconnu
Peroxydase	Protéine PM : 180 000	Peroxydation des lipides	Inconnu
Héparine	Protéoglycan acide PM : 750 000	Anticoagulant, inhibition du complément, inhibition de la chymase	Héparinase

### MÉDIATEURS NÉOFORMÉS

Les prostaglandines sont des produits dérivés de l'acide arachidonique sous l'action de la cyclo-oxygénase. L'activation dépendante de l'IgE des mastocytes génère des quantités importantes de PGD<sub>2</sub> (prostaglandine D<sub>2</sub>) et PGI<sub>2</sub> (prostacycline). La PGD<sub>2</sub> provoque la contraction des muscles lisses des bronches. Toutes deux inhibent l'agrégation plaquettaire. La prostaglandine F<sub>2a</sub> et la thromboxane A<sub>2</sub> font se contracter les muscles lisses des bronches et stimulent la sécrétion de mucus, cependant que le PGE<sub>2</sub> provoque le relâchement des muscles lisses des bronches et accroît la perméabilité capillaire.

Les leucotriènes sont des produits de la voie de

la lipo-oxygénase de l'acide arachidonique. Il est maintenant accepté que la SRS-A (Slow Reacting Substance of Anaphylaxis) fait partie des leucotriènes, un groupe de médiateurs lipidiques. Les leucotriènes, à l'inverse de l'histamine, ont un effet préférentiel de contraction sur les muscles lisses périphériques plutôt que centraux. Ils sont la cause de vasoconstrictions coronaires et microvasculaires, de vasodilatations artérielles systémiques, de l'accroissement de la perméabilité vasculaire et de la stimulation de la sécrétion de mucus bronchique. Le leucotriène B<sub>4</sub> et l'acide hydroxy-icosatétranoïque (5-HETE) sont principalement des promoteurs de chimiotactisme et d'activation pour les neutrophiles et les éosinophiles.

## MODULATION DU RELARGAGE DES MÉDIATEURS DES MASTOCYTES

Les événements qui succèdent à l'activation des mastocytes après le pontage des molécules d'IgE par l'allergène spécifique incluent : l'activation de surface des cellules, des événements intracellulaires préalables à la sécrétion, le relargage des médiateurs préformés, la génération de nouveaux médiateurs, les réponses des cellules-cibles et l'inactivation des médiateurs.

L'activation de la surface cellulaire peut être évitée par l'élimination de l'allergène, par exemple, par son attachement à une autre classe d'anticorps non cytotoxique. La production de ces anticorps est un des principes de la désensibilisation par des injections répétées d'antigènes. L'activation de mastocytes peut aussi être inhibée par la compétition de molécules d'IgE d'autres spécificités, présentes à la surface des cellules, car les IgE spécifiques doivent se trouver à une distance permettant leur pontage par une molécule d'allergène.

Quelques agents qui augmentent le taux d'AMP cyclique inhibent également le relargage des médiateurs : agonistes bêta-adrénérique, prostaglandine E<sub>2</sub>, histamine et méthyl-xanthines. Cependant, tous les agents qui augmentent l'AMP cyclique n'inhibent pas nécessairement le relargage des médiateurs des mastocytes.

Les médiateurs primaires, histamine, sérotonine, facteurs peptidiques chimiotactiques et l'arylsulfatase A sont rapidement relargués. Les autres enzymes et l'héparine sont relargués plus lentement et restent assez longtemps associés aux granules ou à la membrane cellulaire.

La génération de médiateurs secondaires, les produits de l'acide arachidonique, dépendent pour une large part de la participation d'autres cellules qui amplifient leur production.

Les médiateurs primaires et secondaires ont des interactions complexes au niveau des cellules-cibles : les leucotriènes augmentent considérablement la réponse des muscles lisses à l'histamine et aux prostaglandines; l'histamine et les prostaglandines D<sub>2</sub> augmentent l'infiltration des tissus par les neutrophiles sollicités par le facteur chimiotactique des neutrophiles (NCF) et le leucotriène B<sub>4</sub>; l'histamine supprime la sécrétion de lymphokines par les lymphocytes T, et supprime le chimiotactisme des éosinophiles en agissant sur

les récepteurs H<sub>2</sub>, mais l'augmente en agissant sur les récepteurs H<sub>1</sub>.

L'inactivation et la dégradation des médiateurs sont principalement dues aux éosinophiles dont les granules contiennent : une diamine oxydase (une histaminase), la phospholipase D (un inactivateur du facteur activateur des plaquettes), l'arylsulfatase (un modulateur de l'action pharmacologique des substances à réaction lente) et la peroxydase (un inactivateur des leucotriènes).

## CONSÉQUENCES DE LA DÉGRANULATION

Les conséquences pharmacologiques principales du relargage des médiateurs de l'hypersensibilité de type I sont : une contraction des muscles lisses des gros vaisseaux et des bronches, une diminution de la pression sanguine intracapillaire avec une augmentation de leur perméabilité aux liquides et aux cellules, un chimiotactisme pour les neutrophiles et les éosinophiles; toutes conduisent à la réaction d'induration et d'inflammation dans les poumons, à une dyspnée, ou au niveau intestinal, à un accroissement du péristaltisme. D'un point de vue clinique, à la suite de l'administration d'allergène, le relargage de médiateurs conduit à une diminution de la pression sanguine, des nausées, des vomissements, une syncope et éventuellement à la mort en cas de choc anaphylactique systémique.

## MALADIES ASSOCIÉES À L'HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE I

Les maladies les plus communément associées à l'atopie sont : la conjonctivite et la rhinite allergique, l'asthme extrinsèque, l'eczéma et l'urticaire. La forme la plus sévère est le choc anaphylactique qui suit généralement l'administration parentérale d'un antigène par un médecin, un vétérinaire ou par une piqûre d'insecte. Une réaction faisant suite à une ingestion alimentaire atteint rarement une telle ampleur, mais peut survenir.

Les chocs anaphylactiques et un grand nombre



de réactions atopiques résultent très probablement d'une combinaison de plusieurs facteurs parmi lesquels ceux de l'hypersensibilité de type I dominant, mais ne sont pas toujours les seuls responsables des manifestations cliniques.

Chez l'animal atopique, les symptômes cliniques peuvent évoluer avec le temps, d'une manifestation allergique à une autre.

Le diagnostic des maladies atopiques est basé sur l'anamnèse, des tests épicutanés ou « Prick tests », la numération des éosinophiles et des tests de provocation. S'ils sont disponibles, des tests de laboratoire tels que le « radioallergosorbent assay » ou RAST pour les IgE ou les IgG spécifiques (la sous-classe pouvant être responsable de manifestations d'hypersensibilité de type I) et la mesure du taux sérique d'IgE peuvent aider à établir le diagnostic.

L'anamnèse, retracée soigneusement, suffit le plus souvent à poser un diagnostic d'hypersensibilité de type I (immédiate). Le point important est le temps écoulé entre l'exposition à l'antigène et l'apparition des symptômes cliniques qui, dans l'hypersensibilité de type I, se situe entre 15 et 30 minutes. Le test épicutané est réalisé en piquant la surface de la peau et en appliquant une petite quantité de l'antigène suspect. L'induration et la rougeur au site d'injection indiquent une réaction positive. Ce test est meilleur marché que le RAST et très rapide. Le RAST détecte les anticorps spécifiques circulants de classe IgE, dont la concentration est supposée être proportionnelle à celle des anticorps IgE liés aux mastocytes. La détermination des anticorps IgE chez les animaux domestiques n'est pas commercialement disponible et les taux sériques d'IgE sont souvent élevés à la suite de parasitoses plutôt que d'allergies. La localisation des principales maladies allergiques varie selon les espèces et dépend, dans une large mesure, de la localisation préférentielle des mastocytes.

## INTERVENTIONS SUR L'HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE I

### PRÉVENTION

Elle est basée sur l'éviction de l'antigène, car il n'y a pas de symptôme clinique quand il n'y a pas d'exposition à l'antigène spécifique. Elle peut par

exemple être obtenue par le transfert de l'animal dans un milieu exempt d'allergène.

### HYPOSENSIBILISATION

Elle se pratique par des injections sous-cutanées de doses croissantes (avec des doses de départ très faibles) de l'allergène en vue de stimuler le développement de lymphocytes T suppresseurs pour les IgE et donc, de décroître la production d'IgE et/ou d'accroître la quantité d'anticorps non cytotoxiques de classes IgG, IgM ou IgA afin que l'allergène soit capté par les anticorps avant d'arriver jusqu'aux mastocytes couverts d'IgE. Le mécanisme exact de l'hyposensibilisation reste inconnu. L'hyposensibilisation donne des résultats variables associés à des risques réels. Une issue fatale peut survenir après une seule injection antigénique !

### PHARMACOLOGIE

Le traitement pharmacologique est généralement le plus indiqué dans les maladies atopiques et l'hypersensibilité de type I.

Les antihistaminiques sont inoculés par voie intramusculaire ou intraveineuse, dans les traitements d'urgence des réactions générales, et localement dans les rhinites ou les conjonctivites, mais pas dans l'asthme. Ils sont relativement efficaces chez le chien mais peu chez les animaux herbivores. Les antihistaminiques de 3<sup>e</sup> génération n'induisent de somnolence que dans à peu près 10 p. cent des cas.

Les corticoïdes par voie orale (en général de la prednisolone) sont employés dans le traitement de l'asthme, ou inhalés localement dans le cas des corticoïdes actifs (béclométhasone ou bêta-méthasone) pour le traitement de l'asthme et de la rhinite allergique.

Le cromoglycate de sodium prévient la dégranulation des mastocytes due aux anticorps IgE, sans effet secondaire important. Il est souvent moins efficace que les stéroïdes locaux, mais utilisé à titre prophylactique, il est très utile dans de nombreux asthmes allergiques. De même, l'oxatomide inhibe la dégranulation mastocytaire mais interfère aussi avec les récepteurs adrénérgiques.

L'adrénaline est le premier traitement de l'anaphylaxie. Elle produit une stimulation cardiaque,

un relâchement bronchique, l'inhibition des contractions des muscles lisses de l'intestin. Elle est administrée par voie sous-cutanée ou intramusculaire dans les cas d'urgence.

Les bêta<sub>2</sub>-agonistes (c'est-à-dire l'isoproterenol) assurent une dilatation bronchique sans vasoconstriction. Ils sont administrés par aérosol ou oralement dans les traitements de l'asthme.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

- AUGUST JR. The intradermal test as a diagnostic aid for canine atopic diseases. *J Am Vet Med Assoc*, 1982, 18 : 164-171.
- CHARPIN J. Allergologie. Paris, Flammarion Médecine Sciences, 2<sup>e</sup> Edition, 1986, 1 034 pages.
- DAVIS LE. Hypersensitivity reactions induced by antimicrobial drugs. *J Am Vet Med Assoc*, 1984, 185 : 1131-1136.
- EYRE P. Pharmacological aspects of hypersensitivity in domestic animals : a review. *Vet Res Comm*, 1980, 4 : 83-98.
- FRICK OL, BROOKS DL. Immunoglobulin E antibodies to pollens augmented in dogs by virus vaccines. *Am J Vet Res*, 1983, 44 : 440-445.
- ISHIZAKA K. Regulation of the IgE antibody response. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1989, 88 : 8-13.
- KIM TH, LEE CS. Distribution of the mast cells in the parenchymal organs of cattle, horse, pigs, and dogs and xylazine-induced mast cell degranulation in the dog. *Korean J Vet Res*, 1985, 25 : 113-124.
- LEWIS KA, AUSTEN KF, DRAZEN JM et al. Slow reacting substance of anaphylaxis : Identification of leukotrienes C1 and D from human and rat sources. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 1980, 77 : 3710-3714.
- MONERET-VAUTRIN DA, ANDRÉ CL. Immunopathologie de l'allergie alimentaire et fausses allergies alimentaires. Paris, Masson, 1983, 266 pages.
- MORROW AN, QUINN PJ, BAKER KP. Allergic skin reactions in the horse : response to intradermal challenge with fractionated culicoides. *J Vet Med*, 1986, 33 : 508-517.
- NESBITT GH. Canine allergic inhalant dermatitis : a review of 230 cases. *J Am Vet Med Assoc*, 1978, 172 : 55-60.
- PERRIN LF. Allergologie pratique. Paris, Masson, 1984, 203 pages.
- PETERS JF, HIRSHMAN CA, MALLEY A. The Basenji-greyhound dog model of asthma : leukocyte histamine release, serum IgE and airway response to inhaled antigen. *J Immunol* 1982, 129 : 1245-1249.
- SCOTT DW. Observations on canine atopy. *J Am Anim Hosp Assoc*, 1981, 17 : 91-100.
- WHITE SD. Food hypersensitivity in 30 dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 1986, 188 : 695-698.
- WILKIE BN. Allergic respiratory disease. *Adv Vet Sci Comp Med*, 1982, 26 : 233-261.

WILLEMSE A, NOORDZIJ A, RUTTEN PMG et al. Induction of non-IgE anaphylactic antibodies in dogs. *Clin Exp Immunol*, 1985, 59 : 351-358.

### Références

- BLACK PL, MARSH DG. Genetic control of the immune response in man to highly purified pollen allergens. *In* : MK Bach, M Dekker, Immediate Hypersensitivity - Modern Concepts and Developments, New York, 1978, 73-100.
- CAPRON A, DESSAIN JP, CAPRON M et al. Specific IgE antibodies in immune adherence of normal macrophages to *Schistosoma mansoni* schistosomules. *Nature (London)*, 1975, 253 : 474-475.
- CAPRON A, DESSAIN JP, CAPRON M et al. From parasites to allergy : a second receptor for IgE. *Immunol Today*, 1986, 7 : 15-18.
- CHAPMAN MD, PLATTS-MILL TAE. Purification and characterization of the major allergen from *Dermatophagoideis pteromyssinus*-antigen P1. *J Immunol*, 1980, 125 : 587-592.
- COOKE RA, VANDER VEER A. Human sensitization. *J Immunol*, 1916, 1 : 216-224.
- HOLBORROW EJ, REEVES WG. Immunology in Medicine. A comprehensive guide to clinical immunology. 2nd Ed, New York (USA), Grune and Stratton Inc., 1983, 676 pages.
- ISHIZAKA K. Twenty years with IgE : from the identification of IgE to regulatory factors for the IgE response. *J Immunol*, 1985, 135 : I-X.
- JARRETT EEE, BAZIN H. Elevation of total serum IgE in rats following helminth parasite infection. *Nature (London)*, 1974, 251 : 613.
- LESNE E, RICHEL C. L'anaphylaxie alimentaire aux œufs. *Arch Med Enfants (Paris)*, 1913, 16 : 80-82.
- LEVINE BK. Relationship to disease susceptibility. *In* : Mac Dewitt, Landy, Genetic control of immune responsiveness. New York, Academic Press, 1972, 201.
- LEVINE BB, VAZ NM. Effect of combinations of inbred strain, antigen and antigen dose on immune responsiveness and reagent production in the mouse. A potential mouse model for immune aspects of human atopic allergy. *Int Archs All Appl Immunol*, 1970, 39 : 156-171.
- MALLART A, MASSART V, TONNEL AB. Les allergènes d'origine animale. *Allergie et Immunologie*, 1986, 18 : 22-28.
- MARSH DG. Allergy : a model for studying the genetic of human immune response. *In* : Johansson, Strandberg, Uvnas, Molecular and Biological Aspects of the Acute Allergic Reaction, New York, Plenum Press, 1976 : 23-57.
- ORR TSC, BLAIR AMJN. Potentiated reagent response to egg albumin and conalbumin in *Nippostrongylus brasiliensis* infected rats. *Life Sci*, 1969, 8 : 1073-1074.
- PAUWELS R, BAZIN H, PLATTEAU B et al. Relation between total serum IgE levels and IgE antibody production in rats. *Int Archs All Appl Immunol*, 1979, 58 : 351-357.
- PRAUSNITZ C, KUSTNER M. Studien über die Überempfindlichkeit. *Zentralblatt Bakteriologie*, 1921, 86 : 160-189.
- TADA T. Regulation of reaginic antibody formation in animals. *Prog Allergy*, 1975, 19 : 122-194.

R. Johnson

## ***HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE II***

### **EFFECTEURS DE L'HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE II**

La destruction de certaines cellules ou de certains tissus par les réactions d'hypersensibilité de type II est la conséquence de la production ou de l'acquisition d'anticorps spécifiques dirigés contre des antigènes exposés à leur surface. Cependant, en dehors de différences intervenant dues à la spécificité de ces anticorps, les mécanismes responsables des dommages infligés sont fondamentalement identiques dans toutes les réactions de type II et sont le reflet des fonctions normales des anticorps, du complément et de diverses cellules effectrices.

#### **ANTICORPS**

Dans les réactions d'hypersensibilité de type II, les anticorps servent d'intermédiaires entre les

cellules qui portent les antigènes et les mécanismes effecteurs. La capacité des anticorps à interagir est liée à la présence, sur les cellules effectrices, de récepteurs pour le C1q et pour le fragment Fc des Ig. Cette propriété dépend de la classe des anticorps et est normalement restreinte aux IgG et IgM.

Les anticorps IgG, selon leur sous-classe, activent la cascade du complément et possèdent des sites de liaison avec le récepteur Fc correspondant des cellules effectrices. Les anticorps IgM n'interagissent pas avec les cellules effectrices, à qui le récepteur approprié fait défaut, mais étant pentamériques, elles activent très facilement la cascade du complément et peuvent agglutiner les cellules qui portent les antigènes.

#### **COMPLÉMENT**

Le complément participe à la destruction des cellules-cibles par son activité lytique et par l'augmentation de la phagocytose. La lyse cellu-

laire est produite par la voie classique et la formation du complexe lytique à la surface de la cellule-cible.

L'augmentation de la phagocytose, ou de l'adhérence immune, est la conséquence de l'activation du C3 par la voie classique ou la voie alterne. C3b et ses produits plus stables, iC3b et C3d, se lient à la surface de la cellule-cible dont ils provoquent la phagocytose par leur interaction avec les récepteurs du complément CR1 et CR3 présents à la surface des macrophages et des neutrophiles. Cet effet est potentialisé lorsque les cellules effectrices s'attachent à la fois par leurs récepteurs C3b et Fc. Ce double stimulus augmente considérablement l'activité phagocytaire des cellules effectrices.

### CELLULES EFFECTRICES

Les principales cellules effectrices dans les réactions d'hypersensibilité de type II sont les cellules de la lignée monocyte-macrophage et les polynucléaires qui possèdent des récepteurs Fc et C3b (Tableau 30-I). L'interaction de ces récepteurs avec des anticorps liés et le composant C3b du complément sur des cellules de plus petite taille, comme les érythrocytes, entraîne la destruction de la cellule-cible par phagocytose. Les cellules de plus grande taille où les surfaces tissulaires qui ne peuvent être ingérées sont endommagées par le processus d'exocytose, par lequel les cellules phagocytaires libèrent le contenu destructeur de leurs lysosomes et de leurs granules à l'endroit de la surface-cible.

Un mécanisme additionnel de destruction cellulaire, plus précisément la cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC), peut opérer à l'égard de cellules qui résistent à la phagocytose, et chez lesquelles les quantités d'anticorps ou de C3b liés ne suffisent pas à

promouvoir la phagocytose. Les cellules effectrices sont de grands lymphocytes granulés (cellules NK ou K), certains monocytes, des macrophages et des neutrophiles qui toutes possèdent certains récepteurs Fc qui autorisent le contact entre la cible et les cellules effectrices. Des molécules membranolytiques, qui comprennent la perforine et la cytolysine, sont émises au départ des granules des cellules effectrices dans l'espace intercellulaire, où elles produisent des lésions sous forme de pores au niveau de la membrane plasmique de la cellule-cible, qui entraînent la lyse de celle-ci.

### DESCRIPTION DE LA RÉACTION

Les principales caractéristiques des réactions d'hypersensibilité de type II sont succinctement reprises dans la figure 30-1. La liaison des anticorps aux déterminants antigéniques spécifiques de la surface cellulaire (immunocomplexes) révèle des sites au niveau de leur région Fc qui permettent l'interaction avec des effecteurs non spécifiques. Agissant comme des opsonines, les anticorps IgG liés appellent l'attaque phagocytaire de la cellule-cible par des macrophages et des neutrophiles qui possèdent des récepteurs Fc. Les anticorps IgG liés peuvent également interagir avec des cellules NK et certaines cellules myéloïdes, provoquant la lyse de la cellule (ADCC).

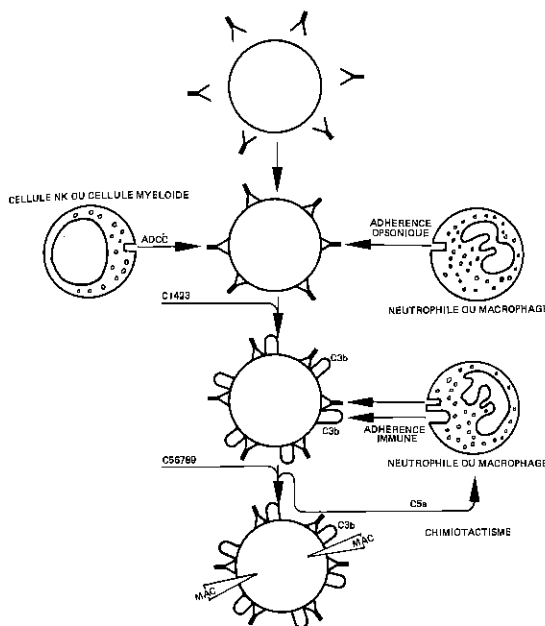
L'attaque de la cellule-cible est intensifiée si les anticorps IgG et IgM liés activent la cascade du complément par la voie classique. Ceci peut entraîner ou non la lyse cellulaire selon la sensibilité de la cellule visée. L'activation de C3 au cours de cette séquence d'événements permet le dépôt de C3b à la surface cellulaire, qui, par adhésion immune, promeut la phagocytose de la

Tableau 30-I Propriétés des cellules effectrices dans l'hypersensibilité de type II.

Cellule effectrice	Récepteur Fc	Récepteur C3b	Activité phagocytaire	Activité lytique		Exocytose
				Cellule-cible nucléée	Cellule-cible non nucléée	
Monocyte/macrophage	++	++	++	++	+++	±
Polynucléaire neutrophile	+++	++	+++	±	++++	+++
Cellule NK	++	-	-	+++	-	-

cellules effec-  
granulés (cel-  
nocytes, des  
i toutes possè-  
autorisent le  
es effectrices.  
qui compren-  
sont émises au  
ffectrices dans  
roduisent des  
niveau de la  
ule-cible, qui

des réactions  
succinctement  
a liaison des  
niques spécifi-  
uncomplexes)  
région Fc qui  
effecteurs non  
opsonines, les  
e phagocytaire  
phages et des  
pteurs Fc. Les  
ment interagir  
cellules myé-  
llule (ADCC).  
ntensifiée si les  
la cascade du  
ue. Ceci peut  
laire selon la  
activation de C3  
ements permet  
laire, qui, par  
gocytose de la



**Figure 30-1** Diagramme schématisant la réaction d'hypersensibilité de type II. L'anticorps lié à l'antigène sur la surface cellulaire et agissant seul peut entraîner la destruction cellulaire par phagocytose ou par cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC). L'activation de la cascade du complément peut provoquer non seulement la lyse cellulaire, mais augmenter l'interaction avec les cellules phagocytaires par adhérence immune.

cellule-cible par des macrophages et des polynu-  
cléaires qui possèdent des récepteurs pour le C3b.  
Ces mécanismes liés au C3b sont amplifiés par la  
production subséquente de C3b par le biais du  
circuit d'amplification de la voie alterne. Dans les  
tissus, le C5a participe à la réaction par l'attrac-  
tion de cellules effectrices, d'autres cellules  
inflammatoires, et en induisant une inflammation  
aiguë.

Il faut remarquer que cette description com-  
prend l'ensemble des différents mécanismes  
possibles de dommages et de destruction cellu-  
laires par l'hypersensibilité de type II. L'interven-  
tion ou non de l'un quelconque de ces méca-  
nismes dans des circonstances données dépend de  
l'endroit où sont localisés les cellules et les  
tissus-cibles et de leur sensibilité respective. En  
règle générale, les cellules nucléées (autres que  
certains globules rouges) résistent mieux que les  
érythrocytes et les plaquettes.

## MALADIES LIÉES À L'HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE II

### MALADIES AUTO-IMMUNES

Le déroulement de l'auto-immunité (chapitre  
35) s'accompagne fréquemment de la production  
d'autoanticorps, dont certains sont à l'origine de  
lésions cellulaires ou tissulaires en participant à  
des réactions d'hypersensibilité de type II. Dans  
l'anémie hémolytique auto-immune et dans le  
lupus érythémateux systémique, des érythrocytes  
qui portent des autoanticorps IgG liés à leurs  
antigènes de surface (probablement des antigènes  
de groupe sanguin), sont éliminés par des cellules  
phagocytaires dans le foie et la rate (hémolyse  
extravasculaire).

L'anémie se développe plus rapidement quand  
les anticorps IgM et IgG agglutinant ou fixant le  
complément provoquent une hémolyse intravascu-  
laire. Les anticorps et le C3b sur les érythrocytes  
peuvent être détectés à l'aide de réactifs approp-  
riés dans un test de Coombs (test direct à  
l'antiglobuline).

Des autoanticorps dirigés contre d'autres  
cellules circulantes provoquent la destruction cel-  
lulaire de la même manière, mais avec d'autres  
conséquences. La thrombocytopénie d'origine  
immune conduit à des défauts de coagulation  
sanguine, avec apparition de pétéchies ou d'hé-  
morragies ecchymotiques, alors que la destruction  
des neutrophiles dans la neutropénie d'origine  
immune rend l'animal plus sensible aux infections  
bactériennes.

Le rôle de l'hypersensibilité de type II dans  
certaines maladies auto-immunes tissulaires a  
également été démontré. La glomérulonéphrite  
sévère observée en cas de maladie de Goodpasture  
chez l'homme est causée par des autoanticorps  
dirigés contre une glycoprotéine de la membrane  
basale du glomérule, et une maladie similaire a  
été décrite chez trois chevaux. Des études récentes  
ont montré comment, dans le pemphigus, les  
anticorps sont à l'origine de la détérioration de la  
substance intercellulaire de l'épiderme qui conduit  
à l'altération de la peau.

Un autre exemple est celui de la myasthénie  
grave observée chez l'homme, le chien et le chat,  
où des anticorps dirigés contre des récepteurs de  
l'acétylcholine au niveau des jonctions neuromus-  
culaires, entrent en compétition avec l'acétyl-  
choline, bloquant ainsi la transmission neuromus-

Exocytose

±  
+++  
-

culaire. Ils peuvent également agir en synergie avec le complément pour endommager les récepteurs et la membrane post-synaptique.

La présence d'autoanticorps induit parfois une réaction de stimulation plutôt qu'une réaction cytotoxique. Ainsi, dans la maladie de Graves (thyrotoxicose chez l'homme), la liaison des anticorps aux récepteurs de l'hormone stimulant la thyroïde (thyroid stimulating hormone, TSH) situés au niveau des cellules thyroïdiennes, simule l'action de l'hormone et en conséquence stimule les cellules à produire et à libérer des hormones thyroïdiennes en excès.

Certains considèrent que cette réaction constitue un type distinct de réaction d'hypersensibilité.

### ANÉMIES ET CYTOPÉNIES INDUITES PAR LES RÉACTIONS MÉDICAMENTEUSES ET CERTAINES INFECTIONS

Aussi connues sous le nom d'anémies et de cytopénies auto-immunes secondaires, les réactions qui font intervenir des médicaments sont assez fréquentes. Elles surviennent soit par la production d'anticorps dirigés contre les médicaments ou leurs métabolites, soit à la suite d'altérations des membranes cellulaires par le médicament. Dans la première situation, les cellules peuvent être détruites comme « spectatrices innocentes » de l'adsorption des immun-complexes anticorps-médicament circulants à leur surface et de l'activation de la cascade du complément. Si le médicament est directement adsorbé sur la cellule, sa liaison ultérieure à un anticorps spécifique aura le même effet. Les anémies hémolytiques de ce type comprennent celles provoquées par l'usage de la pénicilline, de la quinine, de l'acide aminosalicylique et nombre d'autres substances, alors que la réponse immune aux sulfonamides, à la phénylbutazone et d'autres, affectent les plaquettes et les neutrophiles. Les réactions provoquées par la modification de la membrane cellulaire, par exemple par le méthyl dopa, diffèrent par le fait que les anticorps ne sont pas spécifiques du médicament impliqué mais bien d'antigènes de la surface cellulaire, normaux ou modifiés.

Beaucoup d'agents responsables de maladies infectieuses ou leurs produits peuvent s'adsorber à des érythrocytes de la même façon que le font des médicaments, provoquant la destruction cellulaire

par l'entremise d'anticorps dirigés contre l'antigène de l'agent infectant ou infestant. On trouve de pareils exemples en cas d'anémie infectieuse équine (Rétrovirose), de maladie aléoutienne (Parvovirose, voir chapitre 52), de babésiose, d'anaplasmose, et par les lipopolysaccharides de *Salmonella sp.*

### RÉACTIONS TRANSFUSIONNELLES

La transfusion de sang à un receveur qui possède des anticorps circulants dirigés contre les érythrocytes du donneur peut précipiter l'apparition d'une réaction transfusionnelle immédiate et souvent sévère qui résulte de la lyse intravasculaire des cellules du donneur et traduit une réaction d'hypersensibilité de type II. Les effets d'une hémolyse massive et de l'activation de la cascade du complément se manifestent par des tremblements, une sensation de faiblesse, de la dyspnée, un choc circulatoire, de l'hémoglobinurie et une coagulation intravasculaire disséminée.

De pareilles réactions surviennent à la suite de la sensibilisation préalable du receveur aux antigènes de groupe sanguin du donneur (voir chapitre 48). Dans ce contexte, les antigènes les plus importants appartiennent aux groupes ABO, Rh, Kell et Duffy chez l'homme, aux systèmes A, F et J pour le bétail, aux systèmes A et Q chez le cheval, A chez le porc et le chien, AB chez le chat. La sensibilisation survient le plus souvent à la suite de transfusions sanguines incompatibles ou de greffes de tissu et, dans certaines espèces, du fait de l'utilisation de vaccins d'origine sanguine. Les antigènes de groupe sanguin, qui diffèrent de ceux de l'hôte, sont reconnus comme étrangers et induisent une réponse immune. Si cette réponse est la conséquence d'une transfusion sanguine, la réponse humorale qui en résulte provoque, 3 à 10 jours plus tard, une réaction transfusionnelle retardée et moins sévère.

Chez l'homme, et moins fréquemment chez les animaux, l'hypersensibilité peut aussi être naturelle, provoquant une réaction sévère lors d'une première transfusion. Dans ce cas, l'hémolyse est tributaire de l'existence d'alloanticorps naturels (isohémagglutinines) dirigés contre les antigènes majeurs de groupe sanguin qui lui font défaut. Par exemple, les chiens A négatifs peuvent posséder (cela n'est pas de règle) naturellement des anticorps anti-A et les bovins J négatifs possèdent

dirigés contre  
infestant. On  
cas d'anémie  
de maladie  
apitre 52), de  
lipopolysac-

## NELLES

receveur qui  
dirigés contre les  
épiter l'appari-  
immédiate et  
se intravascu-  
traduit une  
II. Les effets  
activation de la  
estent par des  
faiblesse, de la  
l'hémoglobi-  
culaire dissé-

nt à la suite de  
receveur aux  
donneur (voir  
s antigènes les  
groupes ABO,  
ux systèmes A,  
A et Q chez le  
n, AB chez le  
plus souvent à  
incompatibles  
taines espèces,  
cins d'origine  
e sanguin, qui  
connus comme  
e immune. Si  
une transfusion  
qui en résulte  
, une réaction  
sévère.  
nment chez les  
ussi être natu-  
ère lors d'une  
l'hémolyse est  
icorps naturels  
e les antigènes  
ont défaut. Par  
uvent posséder  
ment des anti-  
atifs possèdent

souvent des anticorps anti-J naturels. Chez l'homme, le sujet négatif pour un antigène A ou B du système ABO possède obligatoirement des isohémagglutinines dirigées contre cet antigène.

Ces anticorps appartiennent souvent à la classe des IgM et leur présence résulte de l'exposition naturelle à des déterminants antigéniques similaires ou identiques retrouvés chez des micro-organismes entériques ou autres (voir chapitre 2). Des anticorps dirigés contre des antigènes mineurs de groupe sanguin, peuvent également être produits naturellement, mais ils provoquent en règle générale des accidents de transfusion moins dramatiques.

Les accidents transfusionnels peuvent être prévenus par la recherche préalable chez le receveur d'éventuels anticorps capables de réagir avec les érythrocytes du donneur (épreuve de compatibilité et/ou dépistage systématique des anticorps irréguliers).

## MALADIE HÉMOLYTIQUE DU NOUVEAU-NÉ

La maladie hémolytique du nouveau-né résulte de la présence, dans la circulation sanguine de la mère, d'anticorps correspondant à des antigènes érythrocytaires du fœtus. Ces anticorps peuvent avoir été induits par le passage préalable d'érythrocytes fœtaux (comportant des antigènes hérités du père et étrangers à la mère) dans la circulation maternelle (c'est le cas de la maladie Rhésus dans l'espèce humaine) ou être consécutifs à une immunisation maternelle indépendante de la gravité (par transfusions sanguines, vaccinations, ... antérieures de la mère).

Les anticorps maternels pénètrent dans la circulation sanguine du fœtus par voie transplacentaire ou, occasionnellement et dans certaines espèces animales, dans le sang du nouveau-né à partir du colostrum. Ils y provoquent une anémie hémolytique le plus souvent sévère et parfois mortelle.

Dans l'espèce humaine, la maladie hémolytique du nouveau-né la plus fréquente est imputable au système érythrocytaire Rhésus (voir chapitre 48). La mère étant Rhésus négative (rr ou cde/cde), si le père est homozygote D (R1/R2 par exemple) le risque d'incompatibilité est de 100 p. cent, s'il est hétérozygote (R1/r par ex.) le risque est de 50 p. cent. Les anticorps n'apparaissent qu'après la première grossesse car ils sont induits par le passage d'érythrocytes fœtaux dans la circulation

sanguine maternelle lors du décollement du placenta en fin d'accouchement. La maladie n'apparaît donc qu'à partir de la deuxième grossesse incompatible et s'aggrave lors des suivantes. Chez la multipare immunisée, les anticorps IgG traversent le placenta et provoquent une hémolyse avec érythroblastose fœtale, ictère, lésions cérébrales, anasarque fœtoplacentaire et mort du fœtus in utero. La prévention de la maladie Rhésus est extrêmement efficace et consiste à injecter à la mère, dans les 24 heures d'un premier accouchement incompatible, des Ig anti-D qui détruisent les érythrocytes fœtaux et empêchent ainsi toute immunisation.

Le deuxième mécanisme d'immunisation maternelle est illustré par la maladie hémolytique du nouveau-né dans le système ABO. Une incompatibilité fœtomaternelle dans ce système ne présente généralement pas d'inconvénient car les anticorps naturels anti-A ou anti-B sont des IgM qui ne traversent pas le placenta. Mais si la mère a été préalablement immunisée (par une transfusion incompatible notamment) elle possèdera des anticorps IgG qui, traversant le placenta, sont susceptibles de provoquer la maladie dès la première grossesse.

La maladie hémolytique du nouveau-né a été décrite chez la plupart des mammifères domestiques mais elle affecte principalement les muletons et les poulains de pur sang pour lesquels l'incidence atteint respectivement 10 p. cent et 1 p. cent. L'immunisation de la mère est consécutive au passage d'érythrocytes fœtaux dans sa circulation sanguine peu avant l'accouchement ou lors de celui-ci. Chez le chien et le chat, elle résulte souvent aussi d'une ou de plusieurs transfusions sanguines incompatibles et, pour le bétail, de l'utilisation de vaccins dérivés du sang et destinés à la prévention de la babésiose et de l'anaplasmose. Chez le poulain, le premier né, comme dans la maladie Rhésus, ne sera pas atteint; les anticorps maternels qui sont transmis par le colostrum ne seront dangereux que pour les poulains suivants de même groupe sanguin que le premier; la réexposition de la jument aux érythrocytes incompatibles lors de chaque parturition augmentera la réponse en anticorps spécifiques.

Les animaux nouveau-nés naissent en parfait état et ne développent des signes cliniques que 12 à 24 heures après la première ingestion de colostrum. Quand l'hémolyse se produit, ils montrent une faiblesse progressive, de la pâleur,

et peuvent présenter de l'ictère et de l'hémoglobi-nurie.

Le diagnostic peut habituellement être posé sur la base des signes cliniques, mais la confirmation vient en testant les érythrocytes du nouveau-né pour l'autoagglutination et la lyse après addition de complément, par un test antiglobulinique direct, ou par épreuve croisée avec le sérum de la mère. Le traitement implique de changer la source de lait pendant 72 heures et, si nécessaire, de transfuser des globules rouges soigneusement lavés en provenance de la mère ou d'un donneur compatible.

La maladie peut être prévenue en sélectionnant avant la monte, un étalon dont le groupe sanguin est compatible avec celui de la jument. Lorsque pour des raisons d'anamnèse on a de bonnes raisons de redouter un accident, ou si le sérum de la jument en fin de gestation réagit avec les antigènes les plus communément impliqués (Aa, Qa, R et S), on peut recourir dès la naissance à une autre source de colostrum que celui provenant de la mère.

## MODES D'INTERVENTION

Actuellement, la thérapeutique des maladies auto-immunes, y compris celles qui impliquent l'intervention de l'hypersensibilité du type II, consiste à corriger les troubles cliniques et à utiliser des médicaments immunodépresseurs afin de contrôler les réponses immunes anormales. Une thérapeutique plus sûre et plus efficace

requiert des méthodes plus spécifiques de manipulation de la réponse immune, et une meilleure compréhension des mécanismes qui sous-tendent la perte de la tolérance au soi.

Avec l'utilisation croissante de la transfusion sanguine et de la transplantation en médecine vétérinaire, les risques d'accidents de transfusion et de maladie hémolytique du nouveau-né vont augmenter. Heureusement, on peut prévenir ces deux types d'accident par une sélection appropriée du donneur et du receveur. Pour que cette approche réussisse pleinement, une caractérisation plus complète des systèmes de groupe sanguin sera nécessaire dans certaines espèces et les épreuves de compatibilité devront être améliorées et standardisées.

## BIBLIOGRAPHIE

- BECHT JL. Neonatal isoerythrolysis in the foal. Part I. Background, blood group antigens and pathogenesis. *Comp Cont Ed Pract Vet*, 1983, 5 : 591-599.
- BELL K. The blood groups of domestic mammals. In : NS Agar, PG Board. *Red blood cells of domestic mammals*. Elsevier Science Publications, Amsterdam, 1983.
- BULL RW. Antigens, graft rejections and transfusions. *J Am Vet Med Assn*, 1982, 181 : 1115-1119.
- HALLIWELL REW, GORMAN NT. *Veterinary Clinical Immunology*. WB Saunders, Philadelphia, 1989.
- JAIN NC. *Schalm's Veterinary Hematology*. 4th ed. Lea and Febiger, Philadelphia, 1986.
- LACHMANN P, PETERS DK. *Clinical aspects of immunology*, 4th ed., Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1982.
- MILGROM F, ABEYOUNIS CJ, ALBINI B. *Antibodies : protective, destructive and regulatory role*. Karger, Basel, 1985.
- ROITT I, BROSTOFF J, MALE. *Immunology*. CV Mosby, St Louis, 1985.



ues de manipu-  
une meilleure  
si sous-tendent

la transfusion  
en médecine  
de transfusion  
nouveau-né vont  
t prévenir ces  
tion appropriée  
our que cette  
caractérisation  
groupe sanguin  
espèces et les  
être améliorées

the foal. Part I.  
athogenesis. Comp

mammals. In : NS  
omestic mammals.  
m, 1983.

ransfusions. J Am

ry Clinical Immu-  
89.

. 4th ed. Lea and

s of immunology,  
s, Oxford, 1982.

B. Antibodies :  
le. Karger, Basel,

y. CV Mosby, St

O. Barta, V.-D. Barta

## ***HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE III***

En 1903, Arthus observa que si une première injection sous-cutanée à un lapin d'un antigène soluble comme le sérum de cheval entraîne un érythème passager, les injections suivantes du même antigène provoquent un œdème inflammatoire local dur et persistant qui évolue en escarre nécrotique. Ce phénomène d'Arthus est le prototype d'une réaction locale d'hypersensibilité semi-retardée de type III et doit être distingué du phénomène de Schwartzman, non immunologique, dans lequel l'injection intradermique à un lapin d'un filtrat de culture bactérienne donne lieu à une réaction hémorragique locale lors de l'injection intraveineuse, 24 heures plus tard, du même ou éventuellement d'un autre filtrat bactérien.

Dans l'hypersensibilité de type III, les antigènes induisent la formation d'anticorps IgG ou IgM formant avec eux des complexes antigènes-anticorps ou immuncomplexes (IC) susceptibles d'activer le complément et de provoquer l'agrégation plaquettaire et la libération

d'amines vasoactives responsables des lésions inflammatoires.

### **BIOLOGIE DES IMMUNCOMPLEXES (IC)**

Lors de sa liaison à l'antigène, la molécule d'anticorps se déplie et sa portion Fc devient accessible au fragment C1q du complément, amorçant ainsi l'activation de ce dernier par la voie classique. En excès d'antigène, les immuncomplexes sont solubles, peu activateurs du complément et n'attirent guère les phagocytes. Leur dépôt dans les tissus, par contre, y provoque des lésions et stimule l'activation du complément et le chimiotactisme.

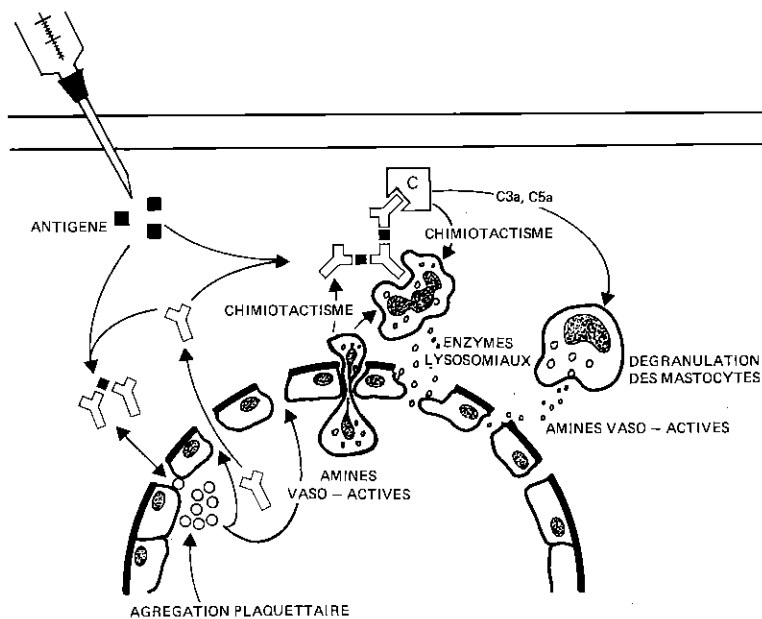
L'accroissement progressif de la concentration en anticorps conduit en effet au point d'équivalence où les IC sont insolubles, activent optimale-

ment le complément et sont phagocytés. Les anticorps de faible affinité donnent surtout des IC solubles.

### DÉVELOPPEMENT DE LA RÉACTION DE TYPE III

Lors de leur phagocytose des IC, les monocytes et les polynucléaires libèrent leurs enzymes lysosomiaux dans les tissus voisins, en causant divers dommages (Fig. 31-1 et 31-2). On observe des lésions artériolaires avec agrégation leucoplaquettaire, thromboses, hémorragies et nécrose des parois capillaires. Ces lésions tissulaires apparaissent 1 à 6 heures après l'injection locale déclenchante; lorsque l'antigène est administré par voie parentérale, une réaction générale survient quelques minutes plus tard et peut même être fatale. Le développement de ces réactions d'hypersensibilité de type III nécessite, bien évidemment, une immunisation préalable, acquise 7 à 15 jours plus tôt après une première administration de l'antigène.

La *maladie sérique* est le prototype de la réaction générale d'hypersensibilité de type III; elle survenait, autrefois, assez fréquemment après l'administration de sérum hétérologue à usage thérapeutique (sérum de cheval antidiphtérique ou antitétanique, sérum antivenimeux, etc.). L'injection de doses importantes de ces protéines (aujourd'hui remplacées par des gammaglobulines allogéniques) provoquait parfois, entre le 7<sup>e</sup> et le 15<sup>e</sup> jour du traitement, de la fièvre, des adénopathies douloureuses, des myalgies, des arthralgies, de l'urticaire, de l'albuminurie, une splénomégalie. Cette phase initiale correspondait à la présence d'immunocomplexes solubles en excès d'antigène (Fig. 31-3), fixant le complément et provoquant un œdème local et une augmentation de la perméabilité vasculaire. L'accroissement de la production d'anticorps conduisait bientôt au point d'équivalence et les IC, insolubles, étaient plus facilement éliminés par le tissu réticulo-endothélial, non sans toutefois former des dépôts intravasculaires et notamment glomérulaires. Les analyses biologiques montraient la présence d'anticorps fixant le complément, une hyperleucocytose avec éosinophilie, une protéinurie avec hématurie microscopique. Ces accidents sont maintenant exceptionnels.



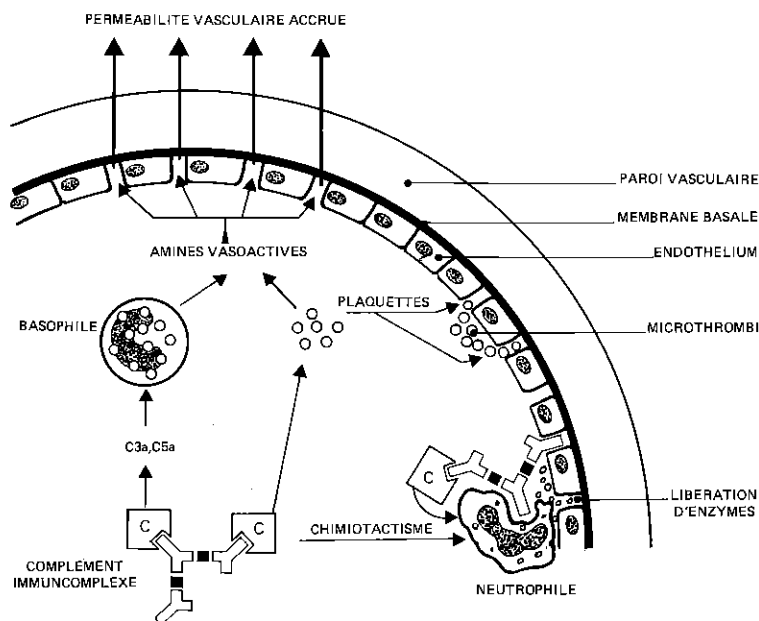
**Figure 31-1** Le phénomène d'Arthus. L'injection d'antigènes provoque l'aggrégation des plaquettes et la libération d'amines vasoactives, ce qui augmente le passage des anticorps à partir des vaisseaux. Des immunocomplexes se forment avec l'antigène injecté, la cascade du complément est activée, les neutrophiles sont attirés et les mastocytes dégranulés par l'action des anaphylatoxines (C3a, C5a).

Figur  
form  
plex  
Les  
l'acti  
ment  
quen  
libéra  
baso  
bocy

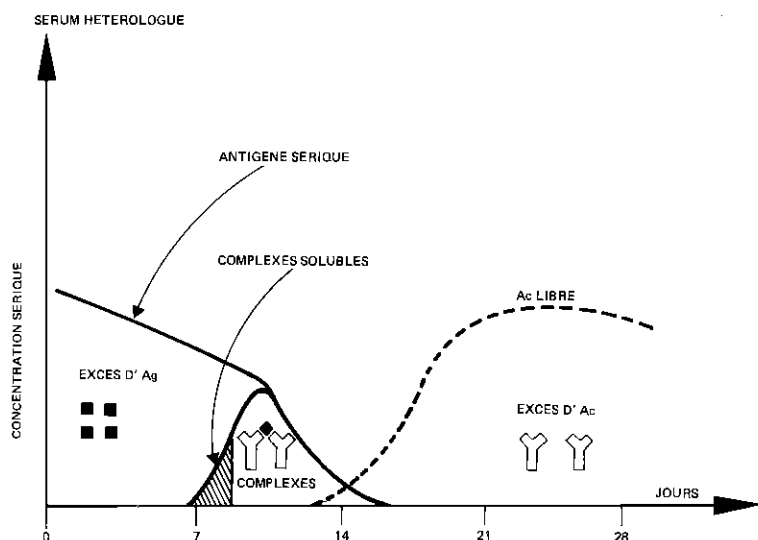
CONCENTRATION SÉRIQUE

PA  
L'  
T  
lopp

prototype de la  
 té de type III;  
 quemment après  
 logue à usage  
 idiptérique ou  
 etc.). L'injec-  
 otéines (aujour-  
 obulines allogé-  
 le 7<sup>e</sup> et le 15<sup>e</sup>  
 es adénopathies  
 arthralgies, de  
 splénomégalie.  
 à la présence  
 excès d'antigène  
 et provoquant  
 entation de la  
 ssement de la  
 oientôt au point  
 es, étaient plus  
 issu réticulo-  
 mer des dépôts  
 mérulaires. Les  
 t la présence  
 ne hyperleuco-  
 protéinurie avec  
 accidents sont



**Figure 31-2** Conséquences de la formation ou du dépôt d'immunocomplexes dans les vaisseaux sanguins. Les immunocomplexes déclenchent l'activation de la cascade du complément et attirent les neutrophiles, provoquent l'agrégation plaquettaire et la libération d'amines vasoactives par les basophiles et les plaquettes (thrombocytes).



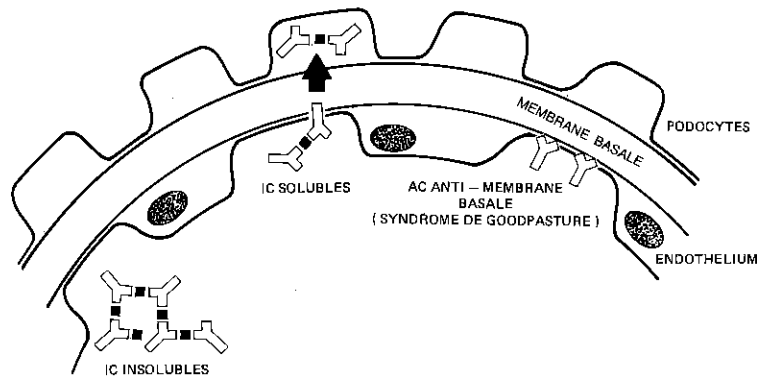
**Figure 31-3** Les immunocomplexes dans la maladie sérique. Les immunocomplexes deviennent décelables après l'apparition des anticorps. Les premiers immunocomplexes formés en excès d'antigène sont solubles.

énomène d'Arthus.  
 gènes provoquent  
 quettes et la libéra-  
 ctives, ce qui aug-  
 s anticorps à partir  
 immunocomplexes  
 antigène injecté, la  
 ent est activée, les  
 attirés et les  
 s par l'action des  
 a, C5a).

### PATHOLOGIE ASSOCIÉE À L'HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE III

Très diversifiée, cette pathologie peut se développer à la suite de vaccinations, d'infections

chroniques ou de maladies auto-immunes. Lorsqu'une quantité importante d'antigène pénètre dans l'organisme, sa persistance dans les tissus peut être telle qu'un contact ultérieur n'est plus nécessaire : la réaction d'hypersensibilité est déclenchée par le reliquat d'antigène demeurant après immunisation. De même, dans les infections



**Figure 31-4** Dépôt d'immunoglobulines et d'immunocomplexes au niveau des glomérules rénaux. Des immunocomplexes de grande taille (IC) et des autoanticorps dirigés contre la membrane basale du glomérule se déposent sur les cellules endothéliales, les immunocomplexes de petite taille se retrouvent au niveau du versant épithélial de la membrane basale du glomérule.

chroniques, l'antigène est présent de manière prolongée et entretient l'hypersensibilité. Les IC solubles, faiblement phagocytés, sont principalement localisés dans les glomérules rénaux, la chambre antérieure de l'œil et les articulations. Ils peuvent aussi s'observer dans les vaisseaux capillaires et dans l'endocarde.

La *glomérulonéphrite* est souvent la conséquence d'une hypersensibilité de type III comportant le dépôt d'IC sur la membrane basale glomérulaire. Elle n'est pas rare chez l'homme et a été décrite dans toutes les espèces animales domestiques, en particulier chez le porc. Une autre variété de glomérulonéphrite est représentée par le syndrome de Goodpasture résultant d'une auto-immunisation dirigée contre la membrane basale des glomérules (hypersensibilité de type II). Dans la glomérulonéphrite aiguë de type III, on trouve des dépôts d'immunocomplexes solubles sur le versant épithélial de la membrane basale (glomérulonéphrite extramembraneuse, notamment dans le lupus érythémateux disséminé, à autoanticorps) ou d'IC insolubles endovasculaires (Fig. 31-4). Ces dépôts entravent la filtration glomérulaire et provoquent une réaction inflammatoire responsable d'une albuminurie qui peut évoluer en protéinurie comportant aussi des globulines sériques, et même en hématurie.

Chez la souris, l'incidence de la glomérulonéphrite est plus élevée chez les animaux présentant un déficit fonctionnel des macrophages et chez ceux formant des anticorps de faible affinité. Chez l'homme et les animaux, les déficits en certains facteurs du complément et de nombreuses

infections bactériennes et virales (particulièrement lors d'infections simultanées) favorisent le développement de la glomérulonéphrite aiguë (Tableau 31-I).

Lors de nombreuses infections aiguës survenant dans diverses espèces animales, la présence d'IC solubles au niveau des glomérules rénaux provoque une protéinurie transitoire : il pourrait s'agir d'un incident physiologique, néanmoins susceptible de conduire à une maladie chronique. On ignore encore les mécanismes d'élimination des dépôts dont les IC ne se retrouvent guère dans le cytoplasme des cellules phagocytaires mésangiales mais plutôt entre les cellules. La macula densa, qui est une portion du tube contourné distal située au contact de l'artère afférente du glomérule, pourrait contribuer à l'élimination de ces IC dans l'urine du tube contourné. Les lésions glomérulaires disparaissent rapidement après l'élimination des IC; cependant, en cas d'infections chroniques avec persistance de l'antigène responsable, les lésions s'aggravent progressivement.

La protéinurie massive conduit à des troubles de la pression osmotique du plasma, avec apparition d'œdèmes et d'ascite, hypersécrétion d'hormone antidiurétique et rétention de sodium. Les altérations de la filtration rénale entraînent l'élévation des concentrations sanguines en urée et en créatinine. Le diagnostic repose sur l'examen microscopique des urines, le dosage quantitatif et qualitatif de la protéinurie, le dosage du complément sérique et la recherche par immunofluorescence des dépôts d'IgG (ou parfois d'IgA ou d'IgM) et de C3 au niveau de la membrane basale

**Tableau 31-I** Facteurs responsables d'une réaction d'hypersensibilité de type III

Agent	Lésions principales
<b>Bactéries</b>	
Corynebactéries	Glomérulonéphrite
<i>Erysipelothrix insidiosa</i> ( <i>E. rhusiopathiae</i> )	Arthrite
Entérocoques	Endocardite bactérienne subaiguë
<i>Mycobacterium johnei</i> (paratuberculose)	Conjonctivite sévère
<i>Mycobacterium leprae</i>	Glomérulonéphrite
<i>Neisseria meningitidis</i>	Glomérulonéphrite
<i>Salmonella typhi</i>	Glomérulonéphrite
<i>Staphylococcus aureus</i>	Dermatite, glomérulonéphrite, endocardite
<i>Streptococci sp.</i>	Glomérulonéphrite
<i>Streptococcus equi</i>	Purpura, arthrite
<b>Virus</b>	
Peste porcine africaine	Glomérulonéphrite
Maladie aléoutienne des mustélidés	Glomérulonéphrite, artérite
Infection par le virus BVD/MD	Glomérulonéphrite
Hépatite contagieuse canine	Uvéite, glomérulonéphrite
Anémie infectieuse équine	Glomérulonéphrite, anémie
Artérite virale équine	Artérite
Leucose féline	Glomérulonéphrite
Péritonite infectieuse féline	Péritonite, glomérulonéphrite
Peste porcine classique	Glomérulonéphrite
<b>Mycoses</b>	
<i>Blastomyces dermatidis</i>	Uvéite
<i>Micropolyspora faeni</i>	Pneumonie
<b>Leptospirose</b>	
<i>Leptospiriosa interrogans</i>	Uvéite sévère
<b>Parasites</b>	
<i>Dirofilaria immitis</i>	Glomérulonéphrite
<i>Toxoplasma gondii</i>	Uvéite
<b>Antisérums</b>	
Antisérum hétérologue	Glomérulonéphrite
<b>Maladies auto-immunes</b>	
Lupus érythémateux disséminé	Glomérulonéphrite, arthrite

glomérulaire. La recherche des IC circulants peut être utile mais n'est pas un reflet exact des dépôts tissulaires. Le traitement sera, autant que possible, causal et fera appel aux agents immunodépresseurs dans les cas de maladies auto-immunes (ex. : lupus érythémateux).

L'uvéite est, chez l'animal, une conséquence assez fréquente de la formation d'IC circulants; elle survient principalement après une vaccination ou une infection par l'adénovirus I du chien (hépatite contagieuse canine) mais aussi dans d'autres maladies chroniques telles que la toxoplasmose, la leptospirose, des infections mycotiques... L'inflammation de l'œil résulte du dépôt d'IC dans la chambre antérieure avec activation du complément, accumulation de polynucléaires qui libèrent des enzymes lysosomiaux endommageant la cornée qui s'opacifie. L'ophtalmie des leptospiroses équines est également une réaction de type III (fluxion périodique).

Parmi les nombreuses formes d'arthrites, la polyarthrite rhumatoïde est une affection polyarticulaire inflammatoire chronique dans laquelle des IC IgM anti-IgG (appelés facteur rhumatoïde) se déposent au niveau des synoviales et circulent dans le sang.

Les pneumonies et alvéolites pulmonaires dites allergiques sont aussi des réactions d'hypersensibilité de type III survenant chez l'homme, le cheval et les bovins lors de l'inhalation répétée d'antigènes (spores de *Micropolyspora faeni*, actinomycètes divers...) contenus dans le foin moisi. Les anticorps élaborés forment des IC avec les antigènes correspondants et provoquent l'apparition d'une symptomatologie respiratoire assez caractéristique. D'autres pneumopathies de mécanisme semblable revêtent, chez l'homme, un caractère professionnel (fermiers, fromagers, éleveurs d'oiseaux...; ex. : la maladie des amateurs de pigeons).

Enfin, certaines artérites pourraient relever d'une hypersensibilité de type III : l'artérite virale équine, la maladie aléoutienne du vison et, éventuellement, la périartérite noueuse connue chez l'homme et décrite aussi chez le porc, le chien et le chat.

J.-P. Revillard

## HYPERSENSIBILITÉ DE TYPE IV

Le type IV des réactions d'hypersensibilité de la classification de Gell et Coombs est défini comme une réaction inflammatoire spécifique d'un antigène, mettant en jeu les seuls lymphocytes T en l'absence d'anticorps, et caractérisée par une accumulation de cellules mononucléées (lymphocytes et macrophages) au site de la réaction.

La première description peut en être attribuée à Jenner qui a rapporté, en 1801, des réactions cutanées à l'injection de vaccine chez les sujets ayant déjà contracté la variole. Le phénomène de Koch (1890), observé lors d'une seconde injection de bacille tuberculeux (BK) chez le cobaye, associe une réaction inflammatoire à une infection d'extension limitée. La même réaction inflammatoire pouvait être obtenue par un filtrat chauffé de culture bactérienne contenant la tuberculine (antigènes du BK). Cette *réaction tuberculinique* fut appliquée par Mantoux dès 1910 au dépistage de l'infection tuberculeuse.

La découverte du transfert adoptif de cette forme d'hypersensibilité par des lymphocytes

vivants issus du péritoine, des ganglions ou de la rate de donneurs sensibilisés (Landsteiner et Chase, 1942) devait permettre de rassembler sous le nom d'*immunité* ou d'*hypersensibilité à médiation cellulaire*, l'ensemble des réactions d'immunité ou d'hypersensibilité spécifiques d'antigène et transmissibles à un receveur non immunisé, par les lymphocytes et non par les anticorps du sérum. Ultérieurement il fut démontré que ces réactions étaient induites par l'interaction spécifique de lymphocytes T (par l'intermédiaire de leurs récepteurs hétérodimériques  $\alpha/\beta$ ) avec l'antigène présenté sous forme de peptides associés aux antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) à la membrane de cellules présentant l'antigène. Deux sous-populations de lymphocytes T mûrs pouvaient assurer cette fonction. L'une, de phénotype  $CD4^+$ , interagit avec les antigènes de classe II du CMH et l'autre,  $CD8^+$ , interagit avec les antigènes de classe I.

Cette conception uniciste, qui répond à la définition de l'hypersensibilité de type IV, doit être aujourd'hui nuancée du fait de l'hétérogénéité

des modèles expérimentaux ou pathologiques et de leurs aspects histologiques, de la diversité des cellules T impliquées dans l'induction et l'expression de ces réactions, et de la pluralité des cytokines produites au cours de ces réactions.

## MODÈLES DE L'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE (HR)

L'HR peut être induite par une infection spontanée ou expérimentale, bactérienne, virale, mycosique ou parasitaire, ou bien par un vaccin vivant atténué. Le modèle le plus classique est l'hypersensibilité tuberculique, induite par l'infection tuberculeuse ou chez l'homme par le vaccin BCG (Bacille de Calmette et Guérin, souche atténuée de *Mycobacterium bovis*). Cette hypersensibilité est spécifique des antigènes protéiques de la tuberculine contenus dans son dérivé protéique purifié (PPD). Les agents infectieux induisent une HR spécifique vis-à-vis de leurs antigènes protéiques. Si certains polysaccharides provoquent une réponse immune mettant en jeu des cellules T spécifiques (ex. : mannane de la paroi de *Candida albicans*), il n'est pas certain qu'ils induisent une HR et les aspects moléculaires des interactions entre cellules T et polysaccharides ne sont pas connus actuellement.

Une HR peut être induite vis-à-vis de protéines purifiées, par l'injection intradermique répétée de faibles doses (de l'ordre du microgramme) de protéines natives ou dénaturées, modifiées par la fixation de groupements hapténiques ou sous forme de complexes en léger excès d'anticorps. Ces procédés induisent une réaction appelée hypersensibilité cutanée à basophiles ou réaction de Jones et Mote, caractérisée par la présence de polynucléaires basophiles dans l'infiltrat inflammatoire. Elle disparaît lorsque le titre d'anticorps circulants s'élève.

L'HR vis-à-vis d'antigènes protéiques peut être induite par immunisation par voie sous-cutanée sous forme d'émulsion dans l'adjuvant complet de Freund qui associe une huile minérale, un agent tensioactif et du bacille de Koch tué (souche HR37). L'adjuvant complet peut être remplacé par diverses substances d'origine bactérienne telles que le muramyl dipeptide. L'injection de certaines protéines tissulaires ou de leurs peptides mélangés

à l'adjuvant complet de Freund peut induire une maladie auto-immune expérimentale. La maladie peut faire l'objet d'un transfert adoptif par les lymphocytes T du donneur. Un exemple typique est celui de l'encéphalomyélite allergique expérimentale induite par la protéine basique de la myéline ou le peptide encéphalitogène, comme ce pouvait être le cas avec les premiers vaccins antirabiques.

Des dermatites allergiques de contact, ou hypersensibilités de contact, peuvent être obtenues par application de substances sensibilisantes comme le chlorure de picryle (trinitrochlorobenzène), le dinitrochlorobenzène (DNFB), le dinitrofluorobenzène (DNFB) ou l'oxazolone. Ces substances sont introduites par voie percutanée ou injectées avec de l'adjuvant complet de Freund ou sous forme d'haptènes fixés sur les membranes cellulaires. Le test est effectué 15 jours plus tard par application percutanée de l'allergène, à une concentration non irritante. Ces hypersensibilités de contact sont très fréquentes en pathologie. Elles peuvent être induites par de nombreuses substances naturelles ou synthétiques : métaux (chromates, nickel, beryllium), formol, caoutchouc, résines, cosmétiques, médicaments ou substances végétales (penta-décylcatéchols du sumac vénéneux ou « poison ivy », chêne vénéneux, primevère, etc.).

Le rejet d'une allogreffe de peau s'accompagne chez le receveur d'une HR vis-à-vis des antigènes d'histocompatibilité du donneur (réaction de Brent et Medawar), témoignant de l'analogie des mécanismes du rejet d'allogreffe et de l'hypersensibilité à médiation cellulaire.

## ÉTAPES DE L'INDUCTION DE L'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE ET MÉCANISMES DE L'IMMUNISATION

L'étape essentielle de l'immunisation conduisant à une HR est la présentation de l'antigène par une cellule spécialisée à un lymphocyte T CD4<sup>+</sup>. Cette interaction induit, au sein du ganglion lymphatique, l'activation puis l'expansion clonale des lymphocytes T et leur différenciation en cellules T circulantes, susceptibles elles-mêmes d'être activées au contact de l'antigène localisé dans un tissu.

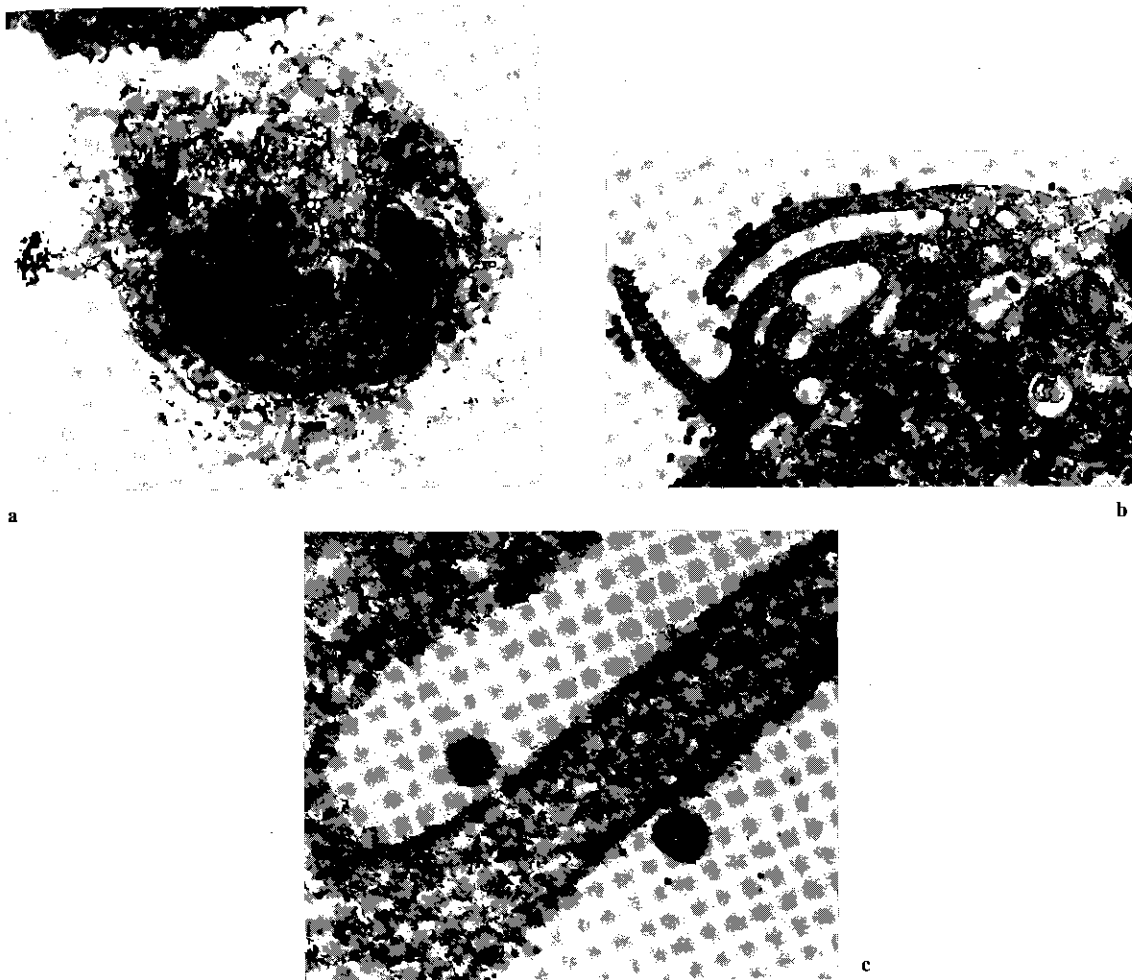
Fig  
Ob  
im  
l'in  
réa  
Mé  
a)  
b)  
c)

ta  
La  
de  
sé  
pr  
pl  
fil  
pa

ut induire une  
e. La maladie  
doptif par les  
emple typique  
rgique expéri-  
basique de la  
ene, comme ce  
miers vaccins

act, ou hyper-  
e obtenues par  
ntes comme le  
obenzène), le  
dinitrofluoro-  
Ces substances  
e ou injectées  
eund ou sous  
embranes cellu-  
s plus tard par  
gène, à une  
ypersensibilités  
en pathologie.  
le nombreuses  
ques : métaux  
ormol, caout-  
dicaments ou  
lcatéchols du  
ivy », chène

s'accompagne  
s des antigènes  
action de Brent  
ogie des méca-  
ypersensibilité



**Figure 32-1** Cellule de Langerhans de l'épiderme humain.

Observation en microscopie électronique à transmission après dissociation des cellules de l'épiderme en présence de trypsine, et immunomarquage en suspension cellulaire à l'aide d'anticorps monoclonaux : anti-CD1 couplé à des granules d'or de 40 nm par l'intermédiaire d'un anticorps anti-Ig de souris et anti-HLA-DR directement couplé à des granules de 5 nm (préparation et clichés réalisés par D. Schmitt, J.-P. Revillard, L'hypersensibilité retardée. In : J.F. Bach, Immunologie, 3<sup>e</sup> éd., Paris, Flammarion Médecine Sciences, 1986).

a) Cellule entière (×9 800).

b) Détail montrant la présence de granules de Birbeck et le marquage par les 2 anticorps (×48 000).

c) Les deux types de granules sont localisés sur des sites différents de la membrane plasmique (×210 000).

Au niveau de l'épiderme, la fonction de présentation de l'antigène est dévolue aux cellules de Langerhans. D'origine mésenchymateuse, issues de la moelle osseuse, ces cellules sont caractérisées par leur morphologie dendritique et la présence de granules de Birbeck dans leur cytoplasme (Fig. 32-1). Elles forment une sorte de filet tangentiel comportant 460 à 1 000 cellules par mm<sup>2</sup>. Elles expriment des antigènes de classe

II du CMH, ainsi que les antigènes CD1 chez l'homme et Thy-1 chez la souris. Le derme contient en outre des cellules « indéterminées » non dendritiques, ayant une forte densité membranaire d'antigènes de classe II et les mêmes capacités de présentation de l'antigène que les cellules de Langerhans. Ces dernières, après avoir capté l'antigène, pénètrent dans le derme, migrent vers le ganglion lymphatique régional et se



localisent dans le cortex profond (zone paracorticale) où elles constituent les cellules interdigitantes.

La nature exacte des cellules présentant l'antigène après immunisation par voie sous-cutanée ou à partir d'un foyer infectieux tissulaire n'est pas connue. Les monocytes et certains macrophages, comme les lymphocytes B et d'autres cellules exprimant les antigènes de classe II du CMH, pourraient assurer cette fonction mais ne se trouvent pas *in vivo* dans les localisations anatomiques qui assurent la meilleure interaction avec un grand nombre de cellules T. Or celle-ci est indispensable puisque la proportion des lymphocytes T reconnaissant l'antigène avant immunisation est de l'ordre de  $10^{-4}$  à  $10^{-5}$ . Ce sont donc très probablement les cellules dendritiques (cellules interdigitantes) qui assurent cette fonction.

Les cellules présentant l'antigène internalisent par endocytose les antigènes protéiques, les dégradent et associent les peptides qui en dérivent aux antigènes de classe II du CMH. Les substances induisant une hypersensibilité de contact se lient aux résidus lysine ou cystéine des antigènes de classe II ou bien à des protéines endogènes dont les peptides seront associés à ces antigènes du CMH. Ces antigènes sont présentés à des cellules T CD4<sup>+</sup> qui, dans la plupart des modèles d'HR, sont seules capables d'assurer le transfert adoptif de ce type de réaction. Cependant, dans certains modèles de dermite de contact, le transfert est assuré par des cellules T CD8<sup>+</sup> qui interagissent avec des antigènes de classe I du CMH. On ne sait pas si ces cellules CD8<sup>+</sup> suffisent à induire l'immunisation, ou bien si elles se développent comme dans le cas de la réaction d'allogreffe, grâce aux lymphokines libérées par des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> activés à leur contact.

Dans les 48 heures qui suivent l'immunisation, le ganglion lymphatique régional augmente de volume par accumulation de lymphocytes T dans le cortex profond, à la faveur d'une augmentation du passage hémolympatique à travers les veinules post-capillaires et d'une diminution du débit cellulaire dans le vaisseau lymphatique efférent. Puis les cellules T activées se transforment en lymphoblastes qui se multiplient avec un intervalle intermitotique de 12 heures environ. Vers le 7<sup>e</sup> jour ces blastes retournent en phase G0 avec une morphologie de petits lymphocytes et quittent le ganglion pour gagner la circulation hémolympatique. A partir de ce stade la réaction d'HR peut être obtenue par introduction de

l'antigène dans différents tissus. Cette phase d'induction de l'HR permet donc au système immunitaire de multiplier par un facteur de  $10^2$  à  $10^3$  le nombre de lymphocytes T reconnaissant l'immunogène.

## EXPRESSION DE L'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

L'injection intradermique de 0,1 ou 0,2 µg de tuberculine PPD (soit 5 ou 10 unités) chez un sujet sensibilisé à la suite d'une vaccination par le BCG entraîne un érythème et une induration qui débutent vers la 12<sup>e</sup> heure, augmentent pour atteindre un maximum entre 24 et 72 heures puis diminuent progressivement (Fig. 32-2). Les diamètres du nodule sont mesurés en mm et parfois notés en « + » (un signe + pour 4 mm). Les réactions intenses peuvent s'accompagner d'une nécrose centrale avec phlyctène ou ulcération. L'antigène peut être introduit par bague, appliqué par voie percutanée (patch test) ou par scarification (scratch test, cuti-réaction).

La cinétique lente de la réaction justifie le terme de « retardée » et la distingue des hypersensibilités immédiates (type I) ou semi-retardée (type III, réaction d'Arthus). Cependant il existe des composantes lentes dans ces deux types

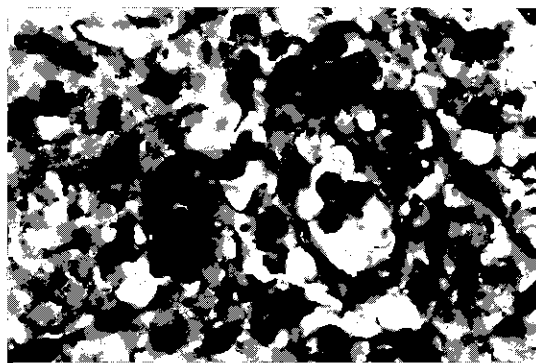


Figure 32-2 Réaction cutanée d'HR à la tuberculine chez l'homme : accumulation de lymphocytes et de macrophages autour d'un capillaire du derme.

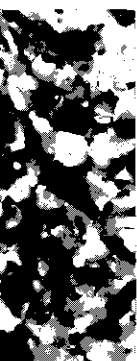
Noter les modifications de la paroi capillaire, l'adhérence et la diapédèse des cellules mononucléées, le contact étroit entre lymphocytes et macrophages, l'ébauche de fusion de certains macrophages (1<sup>er</sup> stade de la formation de cellules géantes). Coloration HES, ×500 (cliché S. Colon. J.-P. Revillard, L'hypersensibilité retardée. In : J.F. Bach, Immunologie, 3<sup>e</sup> éd., Paris, Flammarion Médecine-Sciences, 1986).

Cette phase  
au système  
eur de 10<sup>2</sup> à  
econnaisant

ARDÉE

ou 0,2 µg de  
és) chez un  
nation par le  
duraction qui  
entent pour  
2 heures puis  
32-2). Les  
en mm et  
pour 4 mm).  
accompagner  
ne ou ulcéré  
t par bague,  
test) ou par  
on).

n justifie le  
les hypersen-  
semi-retardée  
tant il existe  
deux types



tuberculine chez  
de macrophages

l'adhérence et la  
tact étroit entre  
sion de certains  
cellules géantes).  
J.-P. Revillard,  
Immunologie,  
s, 1986).

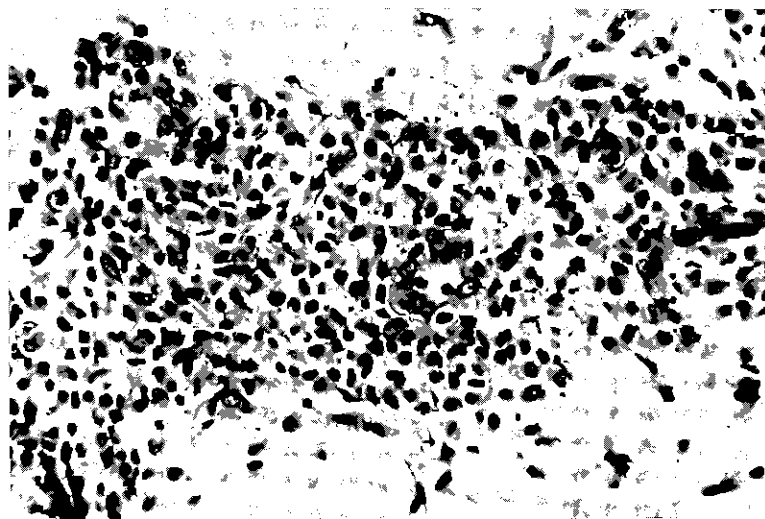


Figure 32-3 Hypersensibilité de contact chez l'homme.

Infiltrat de cellules mononucléées dans le derme. Coloration HES, ×250 (cliché C. Hermier et B. Chouvet. J.-P. Revillard, L'hypersensibilité retardée. In : J.F. Bach, Immunologie, 3<sup>e</sup> éd., Paris, Flammarion Médecine-Sciences, 1986).

d'hypersensibilité qui peuvent en outre être associées à l'HR dans certaines situations expérimentales ou pathologiques.

L'examen microscopique d'une réaction d'HR à la 48<sup>e</sup> heure révèle un infiltrat de cellules mononucléées dans la plupart des espèces animales, sauf chez la souris où les polynucléaires, toujours présents dans la réaction, peuvent être prédominants. L'infiltrat est constitué pour environ 50 p. cent de macrophages, issus des monocytes sanguins, et pour 50 p. cent de lymphocytes avec une prédominance de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> et une moindre proportion de lymphocytes CD8<sup>+</sup> ou CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>-</sup>, CD8<sup>-</sup> et de cellules B ou de plasmocytes. Ces cellules peuvent être localisées principalement autour des veinules. Dans les dermatites de contact les cellules de Langerhans de l'épiderme sont entourées d'une couronne de lymphocytes CD4<sup>+</sup> dès la 3<sup>e</sup> heure suivant l'application de l'antigène (Fig. 32-3). Ultérieurement le nombre des cellules de Langerhans diminue dans l'épiderme et augmente dans le derme. Il n'est pas rare d'observer des phénomènes de cytotoxicité avec apoptose du noyau.

Lorsque l'antigène ne peut pas être éliminé, il y a formation d'un *granulome* composé de macrophages activés prenant l'aspect de cellules épithélioïdes et susceptibles de fusionner en syncytium. Les autres cellules sont des fibroblastes, des lymphocytes, plasmocytes et polynucléaires en proportions variables. Les fibroblastes prolifèrent et synthétisent différents types de

collagène à l'origine d'une fibrose, reflet d'un équilibre dynamique entre synthèse et dégradation. Ces granulomes peuvent être induits par des substances non immunogènes (talc, amiante, silice) ou par des agents infectieux provoquant une HR : BCG, mycobactéries, *Corynebacterium parvum*, œufs de *Schistosoma mansoni*, ecchinoscoque alvéolaire. Le même type de lésion s'observe dans des maladies inflammatoires chroniques chez l'homme telles que la sarcoïdose ou la maladie de Crohn.

L'introduction de l'antigène dans l'organisme ayant une HR peut donner lieu à des réactions générales : fièvre, choc, diminution du nombre de monocytes circulants par adhérence aux cellules endothéliales des vaisseaux. Ces réactions sont dues à la libération de cytokines consécutive à l'activation initiale des lymphocytes T spécifiques de l'antigène et à l'activation secondaire des monocytes et des cellules endothéliales. Ces modèles expérimentaux correspondent à de nombreuses situations pathologiques dont les plus typiques sont la fièvre de l'infection tuberculeuse et de nombreuses infections à parasites intracellulaires facultatifs ou encore les lésions cérébrales du paludisme chez l'enfant caractérisées par des thromboses vasculaires par accumulation de macrophages. Ces signes ou ces lésions peuvent être reproduits par injection de certaines cytokines (IL-1, TNF-α, IL-6).

Enfin, l'injection d'antigène chez un sujet ayant une HR peut déclencher des réactions focales à

distance du site d'introduction de l'antigène, kératite, érythème conjonctival, arthrite, adénite, réactions inflammatoires au niveau de tissus où se trouvait l'antigène et où s'accumulent des lymphocytes T.

## TRANSFERT DE L'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

L'HR peut être transmise par injection intraveineuse ou intrapéritonéale de lymphocytes T d'un donneur sensibilisé à un receveur histocompatible de la même espèce. L'injection intradermique de  $10^6$  à  $10^7$  lymphocytes sensibilisés mélangés à l'antigène chez le cobaye fait apparaître un érythème et un nodule 4 à 6 heures après l'injection, ce qui montre que le délai d'apparition de la réaction est dû essentiellement au temps de migration des lymphocytes circulants spécifiques de l'antigène vers les cellules présentant l'antigène dans la peau. Si l'on marque les cellules du donneur et que l'on analyse les coupes histologiques de la réaction obtenue après transfert adoptif chez le receveur, on constate que 5 à 7 p. cent seulement des cellules mononucléées de l'infiltrat sont marquées, les autres provenant du receveur non sensibilisé. Comme le pourcentage de cellules T reconnaissant cet antigène parmi les lymphocytes du donneur est au plus de l'ordre de 1 à 5 p. cent, on conclut de ces expériences qu'un nombre infime de cellules T spécifiques suffit à initier la réaction d'HR, l'essentiel de l'infiltrat étant formé de cellules qui ne réagissent pas avec l'antigène.

Le transfert adoptif d'HR ne peut être assuré que si donneur et receveur ont en commun au moins un antigène de classe II du CMH. Le transfert est alors assuré par des lymphocytes T  $CD4^+$ . Exceptionnellement le transfert peut être assuré entre animaux ne partageant qu'une identité au niveau d'un antigène de classe I du CMH; les lymphocytes T  $CD8^+$  sont alors impliqués. Un ensemble de travaux chez l'homme et chez le cobaye a suggéré la possibilité d'un transfert d'HR par un facteur dialysable obtenu par traitement à la désoxyribonucléase de lymphocytes soumis à plusieurs cycles de congélation-décongélation. Ce facteur décrit par Lawrence, appelé facteur de transfert, n'a pas été complètement

caractérisé quant à sa structure (association de peptides et d'ARN) et la spécificité antigénique de ce transfert a été discutée, bien que ces dialysats leucocytaires aient donné lieu à des effets thérapeutiques positifs dans certaines affections avec déficit de l'HR.

## RÔLE DES CYTOKINES DANS L'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

Au stade de l'immunisation, l'interaction entre lymphocytes T et cellule présentant l'antigène met en jeu des molécules d'adhésion (CD4 et antigène de classe II du CMH, LFA-1 et ICAM...) et la synthèse de cytokines. Dès la phase G1 du cycle cellulaire, les lymphocytes T activés libèrent de l'IL-2 et de l'IFN- $\gamma$ . L'IL-2, après liaison à son récepteur, permet l'entrée en phase S/G2 des lymphocytes T activés, l'activation des lymphocytes adjacents et la stimulation de la synthèse d'IL-1 et de TNF- $\alpha$  par la cellule présentant l'antigène. L'IL-1 agit comme deuxième signal amplifiant l'activation des cellules T par l'intermédiaire de la protéine kinase C. L'IFN- $\gamma$  augmente l'expression des antigènes du CMH sur la cellule présentant l'antigène.

Au stade de l'expression de l'HR, la présentation de l'antigène peut être assurée par différents types de cellules exprimant des antigènes de classe II du CMH (cellules endothéliales, macrophages/monocytes, synoviocytes, entérocytes, cellules de Langerhans, etc.). Une rétroaction positive analogue à celle de l'immunisation fait alors intervenir IL-2 et IFN- $\gamma$  d'une part, IL-1, TNF- $\alpha$  et IL-6 d'autre part. En outre les cellules T activées produisent un ensemble de lymphokines dont certaines ont été clonées (IL-2, IL-4, IFN- $\gamma$ , GM-CSF) et d'autres partiellement purifiées et décrites par leurs effets biologiques : facteurs chimiotactiques pour les macrophages (MCF), les polynucléaires neutrophiles (NCF), basophiles (BCF) ou éosinophiles (ECF), les fibroblastes (FCF), facteurs d'inhibition de la migration des macrophages (MIF) ou des leucocytes (LIF), facteurs d'activation des macrophages (MAF) ou des ostéoclastes (OAF), facteurs induisant une réaction inflammatoire cutanée (SRF), une augmentation de perméabilité capillaire (VPP) ou une accumulation de lym-

phocytes dans le ganglion lymphatique (LNAF). L'étude des lymphokines obtenues par la méthode de l'ADN recombinant montre qu'une même molécule a des effets pléiotropiques, de sorte qu'il est vraisemblable que différentes activités biologiques décrites sous le nom de « facteurs » soient dues à une même molécule. Par ailleurs les lymphokines déclenchent des actions en cascade, induisant la production de cytokines par les cellules qu'elles activent.

Parmi les cytokines de structure moléculaire connue, la plus importante dans la réaction d'HR est probablement l'IFN- $\gamma$  qui active les macrophages et permet la lyse de micro-organismes intracellulaires en stimulant la production de dérivés réduits de l'oxygène, biologiquement actifs dans la bactéricidie. Les TNF- $\alpha$  et  $\beta$  produits par les lymphocytes T et surtout le TNF- $\alpha$  produit par les monocytes/macrophages sont des cytokines cytotoxiques responsables d'apoptose des cellules-cibles, d'adhésion des monocytes à l'endothélium vasculaire et de stimulation des fibroblastes.

Certains médiateurs produits par les cellules accessoires ont un effet inhibiteur de l'HR au stade de l'induction ou de l'expression de la réaction, en particulier des dérivés lipidiques : prostaglandine PGE<sub>2</sub>, leucotriène LTB<sub>4</sub>, PAF acéther. La PGE<sub>2</sub> produite par les monocytes/macrophages activés, ou par les fibroblastes stimulés par l'IL-1, est un puissant inhibiteur de l'activation des cellules T, par action directe sur son récepteur membranaire induisant une élévation de l'AMP cyclique intracellulaire et par action indirecte en stimulant des cellules suppressives. Tous les médiateurs et les agents pharmacologiques qui augmentent le taux intracellulaire d'AMP cyclique dans les lymphocytes T sont inhibiteurs de la réaction.

## RÉGULATION ET MODULATION PHARMACOLOGIQUE DE L'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

Plusieurs modèles expérimentaux démontrent la possibilité d'inhiber l'HR au stade de son induction ou de son expression. L'administration orale de tri- ou dinitrochlorobenzène induit chez le cobaye une tolérance spécifique vis-à-vis de ces

haptènes qui ne peuvent plus induire une hypersensibilité de contact (phénomène de Schulzberger et Chase). Ce modèle de tolérance orale met en jeu des cellules suppressives de l'induction de l'HR dans le ganglion lymphatique. La tolérance peut être rompue par l'injection de lymphocytes T d'un donneur sensibilisé.

L'administration d'antigène protéique par voie intraveineuse, ou bien mélangé à un adjuvant incomplet, empêche le développement ultérieur d'une HR lors de l'injection du même antigène en adjuvant complet de Freund (phénomène de *dévi-ation immune* ou de facilitation active). L'injection de doses massives d'antigène chez l'animal ayant une HR entraîne une désensibilisation pendant quelques jours accompagnée d'un érythème généralisé.

Une suppression spécifique de l'HR peut être obtenue par *immunisation anti-idiotypique*, selon la méthode décrite par Cohen dans le modèle de l'encéphalomyélite allergique expérimentale. Le principe consiste à obtenir des clones de cellules T spécifiques de l'antigène (peptide encéphalotogène) et à immuniser le receveur syngénique à l'aide de ces cellules T inactivées. Le même principe a été appliqué expérimentalement à la réaction d'allogreffe et son mécanisme rend compte de l'effet bénéfique des transfusions sanguines avant transplantation sur la survie du greffon.

L'HR peut être augmentée chez la souris et le cobaye par un prétraitement à la cyclophosphamide à dose faible (20 mg/kg). Elle est supprimée au stade de l'induction et de l'expression par l'administration de corticostéroïdes qui inhibent la synthèse d'IL-1 et de TNF- $\alpha$  ou de cyclosporine qui bloque la synthèse d'IL-2, d'IL-4 et d'IFN- $\gamma$  ainsi que celle du récepteur (CD25, p55) de l'IL-2. Une HR induite avant traitement réapparaît spontanément après l'arrêt de ces médicaments. En outre l'HR est supprimée par l'irradiation  $\gamma$  ou X (irradiation corporelle ou lymphoïde totale) ou par l'administration d'anticorps antilymphocytaires (anticorps polyclonaux, anticorps monoclonaux anti-CD3, CD4, CD25). La récupération après arrêt du traitement est alors lente, souvent incomplète.

L'HR est supprimée dans de nombreux états pathologiques associés à un déficit de l'HR ou une *anergie* : carence protéique et calorique, infections virales (ex. : rougeole, rubéole, mononucléose infectieuse, hépatite et surtout infections par HIV-1 et HIV-2) et certaines formes d'infections bactériennes ou parasitaires (ex. : lèpre

lépromateuse, tuberculose aréactive, paludisme, candidose cutanéomuqueuse chronique, leishmaniose viscérale, etc.). Dans un grand nombre de maladies infectieuses, un déficit initial de l'HR rend compte de l'incapacité de l'organisme à éliminer l'agent infectieux, ce qui aboutit à une infection prolongée ou chronique avec taux élevés d'anticorps et de complexes immuns.

## EXPLORATION DE L'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

In vivo, l'HR peut être démontrée par la réaction cutanée après injection intradermique de l'antigène ou scarification. Une réaction positive correspond en général à la présence de l'antigène dans l'organisme, mais n'indique pas une infection évolutive. La recherche d'un déficit de l'HR est réalisée par intradermoréactions avec une série d'antigènes vis-à-vis desquels la population témoin a des réactions positives (Multitest®). L'induction d'une dermite de contact au DNCB et l'intradermoréaction à la phytohémagglutinine peuvent aussi être utilisées pour démontrer un déficit de l'HR.

L'exploration in vitro par le test de transformation lymphoblastique ou la mesure de la production de lymphokines (MIF, LIF, IL-2, IFN- $\gamma$ ) après stimulation par un antigène spécifique, est décrite dans le chapitre 60. La mesure la plus précise est la culture de cellules T en présence d'antigène et de cellules autologues irradiées présentant l'antigène selon la méthode des dilutions limites, qui permet de calculer la proportion de colonies T spécifiques d'antigène issues de la

population cellulaire étudiée. Cette méthode permet en outre de détecter la présence de cellules suppressives.

La recherche d'un processus d'HR en immunopathologie repose sur l'examen histologique et immunohistochimique révélant l'infiltrat de cellules mononucléées ou le granulome, avec absence de dépôts d'anticorps et de complément. La démonstration de lymphocytes T activés peut être faite en double marquage (CD4 et CD8 d'une part, CD25, antigènes de classe II du CMH ou autres marqueurs d'activation d'autre part) sur des suspensions cellulaires obtenues par lavage bronchoalvéolaire ou ponction-aspiration à l'aiguille fine. Le dosage de la forme soluble du récepteur d'IL-2 (CD25) dans le sérum reflète l'activation des cellules T in vivo et celui de la néoptérine dans le sérum ou les urines rend compte de l'activation des macrophages par l'IFN- $\gamma$ .

## BIBLIOGRAPHIE

- DWEYER JM. Anergy. The mysterious loss of immunological energy. *Prog Allergy*, 1984, 35 : 15.
- KIRKPATRICK CH, GREENBERG LE, PETERSEN EA. Transfer factor. In : E Pick, Lymphokines, vol. 8, New York, Academic Press, 1983, p. 1.
- LESSOF MH. Allergy : immunological and clinical aspects. Chichester, Wiley, 1984.
- REVILLARD JP, WIERZBICKI N. Immune disorders and opportunistic infections. Suresnes, Fondation Franco-Allemande, 1989, 347 p.
- REVILLARD JP, WIERZBICKI N. Tissue fibrosis : immune cells and mediators. Vol. 3, Suresnes, Fondation Franco-Allemande, 1987, 260 p.
- REVILLARD JP. L'hypersensibilité retardée. In : JF Bach, Immunologie, 3<sup>e</sup> éd., Paris, Flammarion Médecine-Sciences, 1986, pp. 471-496.
- THIVOLET J, SCHMITT D. The Langerhans cell. INSERM John Libbey Eurotext, 1988, 492 p.
- WEBB DR, PIERCE CW, COHEN S. Molecular basis of lymphokine action. Clifton, The Human Press, 1987, 481 p.

Cette méthode  
ence de cellules

R en immuno-  
histologique et  
l'infiltrat de  
anulome, avec  
e complément.  
T activés peut  
t et CD8 d'une  
I du CMH ou  
re part) sur des  
r lavage bron-  
on à l'aiguille  
e du récepteur  
ète l'activation  
e la néoptérine  
nd compte de  
l'IFN- $\gamma$ .

of immunological

SEN EA. Transfer  
l. 8, New York,

d clinical aspects.

orders and opportu-  
Franco-Allemande,

sis : immune cells  
ation Franco-Alle-

e. In : JF Bach,  
marion Médecine-

ell. INSERM John

molecular basis of  
nan Press, 1987,

J. Boniver

## RELATION ENTRE LA RÉPONSE IMMUNE ET LA RÉACTION INFLAMMATOIRE

L'inflammation est la réaction de l'organisme contre des agressions. Elle fait appel à trois composantes principales qui se manifestent localement :

- une augmentation du flux sanguin;
- un accroissement de la perméabilité vasculaire, dû essentiellement à une rétraction des cellules endothéliales permettant le passage de macromolécules du courant sanguin vers les tissus interstitiels;
- une migration de cellules sanguines : polynucléaires et, dans une moindre mesure, monocytes vers le territoire lésé.

L'inflammation n'est pas nécessairement liée à une réaction immune, bien au contraire. Elle est le processus de défense habituel et non spécifique lors de toute agression, que celle-ci soit due à un traumatisme, à un phénomène ischémique nécrosant ou à une infection. Elle est alors déclenchée par l'activation de certaines protéines plasmatiques, appartenant au système des kinines, à celui de la coagulation ou à celui du complément. Cette activation résulte des effets directs des agents

agresseurs sur ces protéines, ou de leurs conséquences (matériel nécrotique).

La réaction inflammatoire, quelle que soit sa cause initiale, peut prendre différents aspects, qui se modifient secondairement selon la nature de l'agent agresseur. On distinguera :

- les inflammations aiguës qui sont généralement exsudatives. Selon les quantités respectives de liquide, de protéines et de cellules s'accumulant dans la zone lésionnelle, elles se répartissent en forme séreuse, sérofibrineuse, fibrineuse, à polynucléaires ou purulente;
- les inflammations chroniques qui consistent essentiellement en une accumulation de cellules mononucléées (lymphocytes, macrophages et plasmocytes); dans certains cas elles s'accompagnent de la formation de granulomes.

Ces réactions inflammatoires s'accompagnent souvent de lésions tissulaires importantes, pouvant conduire à la nécrose. Celle-ci peut prendre divers aspects; selon la nature de l'agent agresseur et la nature des mécanismes de défense mis en place elle sera purulente, caséuse ou fibrinoïde. En

conséquence, le territoire lésé ne pourra atteindre la *restitutio ad integrum*, mais sera le siège d'un processus de cicatrisation qui réduit de façon plus ou moins importante la fonction de l'organe.

Toutes ces réactions inflammatoires font également partie des mécanismes effecteurs principaux de la réponse immune spécifique, qui se comporte comme une ultime ligne de défense contre les agresseurs.

Ainsi, les réactions d'hypersensibilité décrites dans les chapitres précédents s'accompagnent-elles de phénomènes inflammatoires que nous rappellerons très brièvement.

Dans les réactions de type I, l'inflammation est due essentiellement à la libération par les mastocytes et les basophiles de médiateurs préformés (histamine ...) et d'éicosanoïdes. Cette inflammation aiguë se caractérise principalement par une vasodilatation associée à une augmentation de la perméabilité vasculaire, à une accumulation de liquide dans le milieu interstitiel (œdème) et, dans une moindre mesure, à une migration de cellules sanguines, dont en particulier des polynucléaires éosinophiles. Généralement, il n'y a pas de destruction tissulaire significative et dès lors pas de séquelle cicatricielle.

Dans les réactions de type II et III, la fixation des IgG ou des IgM sur les structures antigéniques aboutit à l'activation de la voie principale du complément et du système de coagulation. Dans la phase aiguë des réactions, on constate des phénomènes inflammatoires très intenses, s'accompagnant d'une vasodilatation et d'une augmentation de la perméabilité vasculaire, et dès lors un passage accru de protéines plasmatiques, y compris le fibrinogène, une accumulation de polynucléaires neutrophiles, la formation de microthrombus, puis finalement une nécrose fibrinoïde de la zone lésionnelle. Les vaisseaux sanguins sont très souvent, mais non exclusivement, le site de ces réactions.

Ultérieurement, les lésions prennent un aspect chronique, car des macrophages, lymphocytes et plasmocytes remplacent les polynucléaires. Enfin, des phénomènes de cicatrisation se produisent.

Les caractères de la réaction inflammatoire dans l'hypersensibilité de type IV sont très différents. Le site lésionnel est le siège d'une infiltration par des cellules mononucléées, lymphocytes, macrophages et plasmocytes. Lorsqu'elles persis-

tent et sont exacerbées, ces réactions de type IV aboutissent à la formation de granulomes composés de cellules histiocytaires, dont l'aspect morphologique est particulier (cellules épithélioïdes et cellules multinucléées de Langhans). En fait, ces réactions inflammatoires résultent de la libération de diverses lymphokines (Macrophage activating factor, dont l'interféron gamma, Macrophage inhibiting factor) par des lymphocytes T auxiliaires à la suite à la présentation des antigènes à ces cellules. Très souvent, ce type de réaction survient lorsque les antigènes sont cellulaires, soit parce que les agents infectieux sont intracellulaires (virus, mycobactéries, champignons), soit parce qu'il s'agit de parasites. La résistance de ces agresseurs aux mécanismes de défense, active la réaction de type IV, ce qui aboutit à la formation de granulomes, et à l'extension des lésions. Celles-ci, qu'elles soient ou non le siège d'une nécrose, sont ultérieurement remplacées par un tissu cicatriciel.

À côté des effets locaux, au niveau du site lésionnel où se trouve l'antigène, les réactions inflammatoires s'accompagnent fréquemment d'effets systémiques : fièvre, leucocytose et augmentation de diverses protéines sériques.

La fièvre observée au cours des réactions inflammatoires paraît consécutive à la production d'interleukine 1 par les macrophages activés. Cette cytokine induit à son tour la production de prostaglandines PGE<sub>2</sub>, qui agissent sur les centres hypothalamiques contrôlant la température. La stimulation du système nerveux sympathique, la vasoconstriction des vaisseaux cutanés et la diminution de la déperdition de chaleur engendrent alors la fièvre.

La leucocytose, et en particulier la polynucléose neutrophile, est fréquemment observée au cours des réactions inflammatoires. Elle résulte d'un passage accru des polynucléaires de la moelle hématopoïétique vers le sang et, si l'inflammation est importante et prolongée, d'une augmentation de la granulopoïèse médullaire, liée sans doute à la production de facteurs de croissance par les cellules inflammatoires.

À noter que l'accroissement du nombre des polynucléaires se voit surtout dans les infections à germes pyogènes, tandis que les infections virales s'accompagnent souvent de lymphocytose et les allergies (réactions de type I) d'une éosinophilie.

ns de type IV  
granulomes  
dont l'aspect  
cellules épithé-  
Langhans). En  
résultent de la  
(Macrophage  
éron gamma,  
ar des lym-  
a présentation  
uvent, ce type  
antigènes sont  
nts infectieux  
ctéries, cham-  
parasites. La  
mécanismes de  
e IV, ce qui  
ulomes, et à  
qu'elles soient  
ultérieurement

niveau du site  
les réactions  
fréquemment  
cytose et aug-  
riques.  
des réactions  
la production  
ages activés.  
production de  
sur les centres  
mpérature. La  
ymphatique, la  
nés et la dimi-  
ur engendrent

er la polynu-  
nt observée au  
s. Elle résulte  
éléaires de la  
ng et, si l'in-  
longée, d'une  
édullaire, liée  
eurs de crois-  
res.

u nombre des  
es infections à  
fections virales  
ocytose et les  
e éosinophilie.

F. Coignoul

## MODIFICATIONS PATHOLOGIQUES NON TUMORALES DES ORGANES LYMPHOÏDES

Les lésions du système immunitaire les plus fréquemment rencontrées chez les animaux domestiques sont la tuméfaction des ganglions explorables et la modification de l'image hématologique.

La mise en évidence ou la découverte fortuite d'une adénopathie, c'est-à-dire d'un processus pathologique au niveau d'un ou de plusieurs ganglions, doit être interprétée différemment selon qu'il s'agit d'un processus trouvant son origine dans le ganglion (adénopathie idiopathique) ou d'un processus ayant débuté dans un territoire dont il assure le drainage (adénopathie symptomatique).

Les adénopathies idiopathiques sont souvent des néoplasies du tissu lymphoïde, tandis que les adénopathies symptomatiques sont fréquemment d'origine inflammatoire.

L'altération de l'image sanguine qui accompagne les maladies du système immunitaire inté-

resse principalement les lymphocytes et la lignée myéloïde.

Les lésions des organes lymphoïdes peuvent être classées selon leur nature ou selon leur localisation. En se basant sur leur nature, on distingue les lésions régressives, de type hypoplasique ou atrophique, les lésions inflammatoires aiguës et chroniques et les lésions hyperplasiques parmi lesquelles sont classés les néoplasmes.

Ces derniers étant traités ailleurs, ce chapitre est essentiellement consacré aux lésions régressives et inflammatoires. Il convient de distinguer selon leur localisation les lésions qui intéressent les organes lymphoïdes primaires (thymus, bourse de Fabricius et équivalent bursal), les organes lymphoïdes secondaires (rate, ganglions et tissu lymphoïde des muqueuses) ou l'ensemble du tissu lymphoïde y compris la moelle osseuse et le sang : ces dernières auront la répercussion la plus nette sur l'image hématologique.



## ALTÉRATIONS RÉGRESSIVES

Elles se caractérisent par une réduction de la masse du tissu lymphoïde et peuvent être congénitales ou acquises.

### ORGANES LYMPHOÏDES PRIMAIRES

Les déficits congénitaux sont décrits en détail dans le chapitre relatif aux déficits immunitaires [37]; nous ne les examinerons donc pas ici.

L'atrophie secondaire, acquise, du thymus s'observe dans un grand nombre d'états pathologiques. Elle est associée à une sensibilité génétique à la déficience en zinc chez le bétail « Black Pied » élevé au Danemark, à une prédisposition génétique de certaines souches de dogues de Weimar, à des infections et à des intoxications systémiques; elle est consécutive parfois à l'administration excessive de certains médicaments radiomimétiques ou de cortisone. Dans ses premiers stades, l'atrophie thymique se caractérise par une augmentation de la taille de l'organe, en raison de la prolifération des cellules réticulées et épithéliales de la zone médullaire. Les corpuscules de Hassall deviennent volumineux et se chargent de débris nécrotiques et d'éosinophiles; la diminution de taille n'intervient que dans les stades ultérieurs, par appauvrissement progressif des follicules (Fig. 34-1).

Parmi les lésions d'atrophie thymique les plus remarquables, on peut citer celles de l'avorton

lors d'avortements dus à l'Herpesvirus équin de type 1, la maladie de Carré chez le chien et la panleucopénie infectieuse du chat. Chez le poulain, les lésions macroscopiques peuvent ne pas être évidentes et l'image macroscopique se caractérise par une lymphocytolyse sous-capsulaire avec présence d'œdème et de restes de noyaux cellulaires dans le cortex. Chez le chat, l'atrophie thymique est habituellement plus nette au point que l'organe peut ne plus être macroscopiquement visible. A l'examen histopathologique, la raréfaction des cellules est extrême, avec dans chaque lobule une ou deux couches seulement de lymphocytes sous la capsule et quelques lymphoblastes en zone médullaire noyés dans un stroma abondant.

La *bourse de Fabricius* subit une évolution quelque peu différente de celle du thymus. Bien que les follicules lymphoïdes qui la composent aient un développement maximum à la naissance, l'involution post-natale de la bourse de Fabricius est obscurcie en raison de sa double fonction d'organe lymphoïde primaire et secondaire. En effet, la bourse de Fabricius est en contact, par l'épithélium intestinal, avec la flore du tube digestif vis-à-vis de laquelle elle réagit par la production de lymphocytes B spécifiques.

Le cas le plus net d'atrophie de la bourse de Fabricius est associé à la maladie de Gumboro.

### ORGANES LYMPHOÏDES SECONDAIRES

L'hypoplasie de la rate et des ganglions est une notion quelque peu relative chez les animaux, en

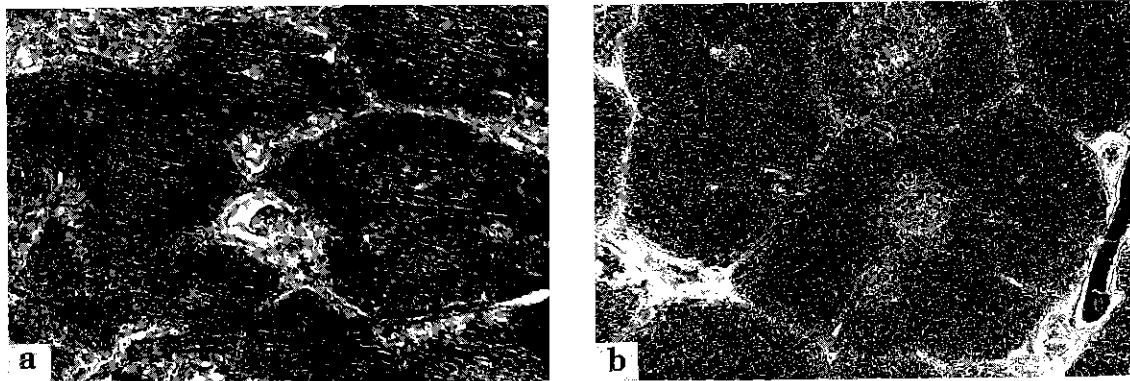


Figure 34-1 a) Atrophie thymique, veau de 3 semaines. Remarquer, en particulier, la minceur de la zone corticale.  
b) Thymus normal.

dehors de pathologies évidentes comme la déficience congénitale complète. En effet, les veaux et les poulains possèdent des ganglions bien développés à la naissance tandis que les animaux nidicoles, comme le chaton et le chiot naissent avec des ganglions dont les follicules sont mal différenciés, pauvres en lymphocytes et sans limite nette entre la zone corticale et la médullaire. De plus, dans toutes les espèces, les ganglions drainant les masses musculaires ont à l'état normal un aspect peu réactif en regard de ceux qui drainent les surfaces de l'appareil respiratoire et du tube digestif. La taille de la rate varie fortement chez le chien, le chat et le cheval où elle peut stocker jusqu'à 30 p. cent des globules rouges sanguins et les libérer massivement en cas de stimulation sympathique. A l'inverse, la rate de l'homme et des lagomorphes se caractérise par la prédominance de la pulpe blanche, une relative rareté des trabécules et des fibres musculaires lisses ce qui limite sa capacité d'extension. La rate des ruminants et du porc a une structure intermédiaire entre le type réservoir et le type réactif.

Les *ganglions lymphatiques* présentent des lésions d'hypoplasie lors de processus affectant les lymphocytes B ou les lymphocytes T, puisque les deux populations y sont normalement présentes.

L'image microscopique est particulièrement éloquent dans les immunodéficiences congénitales : déficit immunitaire complet (DIC) ou limité aux lymphocytes B (voir chapitre 37).

Mais l'atrophie des ganglions lymphatiques s'observe aussi chez les animaux séniles, surtout le chien, le chat et les primates, ainsi que lors de cachexie chez la chèvre et le mouton. La réduction de taille et l'aspect œdémateux des organes lymphoïdes sont visibles macroscopiquement, ainsi que la pigmentation brune anormale de la partie centrale. Au microscope, le pigment de type lipofuscine est visible dans les macrophages de la zone médullaire. Certaines maladies chroniques débilitantes exerçant une stimulation persistante sur des organes lymphoïdes peuvent entraîner une atrophie ganglionnaire. C'est particulièrement le cas de la trypanosomiase bovine et de l'anémie infectieuse équine. Dans ce type d'atrophie, les lésions sont essentiellement localisées aux zones paracorticales du ganglion tandis que les follicules gardent un aspect relativement normal.

L'hypoplasie de la *rate* est une rareté et ne s'observe pas sans atteinte concomitante des

ganglions. La seule lésion congénitale de cet organe qui mérite d'être retenue est la présence de rates accessoires et, chez le porc et le veau, la duplication de la rate.

L'atrophie du tissu splénique est souvent à mettre en relation avec la compression du parenchyme pendant un temps prolongé. Lors de stase chronique, l'organe peut se fibroser et prendre un aspect rétracté, chagriné et irrégulier. Souvent, la capsule se couvre d'incrustations jaunâtres de calcium et de fer (sidérosclérose) et le parenchyme est composé de nodules atrophiques de pulpe blanche et de larges dépôts d'hémossidérine, à la fois dans les macrophages et incrustés sur les fibres du tissu conjonctif. Les dépôts d'amyloïde, qui s'observent occasionnellement dans la rate (rate « sagou ») peuvent être également responsables de l'atrophie du parenchyme splénique.

## PROCESSUS INFLAMMATOIRES

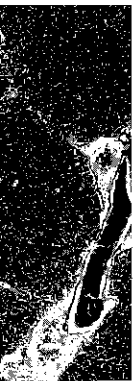
En présence d'un antigène, la rate et les ganglions lymphatiques subissent des modifications morphologiques particulières. Cette réaction physiologique, surtout évidente au niveau des ganglions, s'apparente à la réaction inflammatoire dont elle se distingue cependant à plusieurs égards. Il convient donc de préciser où se situe la séparation entre les deux.

## ORGANES LYMPHOÏDES PRIMAIRES

Ils présentent la caractéristique importante de ne pas être influencés par les antigènes présents dans le sang ou la lymphe. Au niveau du thymus, la principale zone proliférative des lymphocytes se situe dans le cortex dont les vaisseaux sanguins sont imperméables et coiffés de cellules réticulées, d'origine endodermique. Cette structure constitue la « barrière hématothymique » qui empêche le passage de cellules ou de molécules de grande taille à partir de l'appareil circulatoire. Dans la médullaire, la perméabilité est plus grande mais reste sélective, grâce aux veinules post-capillaires qui règlent le passage des lymphocytes T vers le sang.

L'inflammation du thymus ou thymite est rarement spécifique. Elle se rencontre lors de

ions est une  
animaux, en



ne corticale.

processus septiques dans la cavité thoracique et le médiastin (thymomédiastinite) ainsi que, associée à l'atrophie, dans les atteintes virales. La moelle osseuse hématopoïétique, qui produit les précurseurs des thymocytes et les lymphocytes B est également protégée de l'action stimulante des antigènes par une barrière fonctionnelle.

### ORGANES LYMPHOÏDES SECONDAIRES

Les ganglions lymphatiques peuvent être tuméfiés, c'est-à-dire augmentés de volume, lors de lésions situées dans le territoire dont ils assurent le drainage (Fig. 34-2). C'est à l'examen microscopique du tissu ganglionnaire que se révèle le mieux la nature du processus causal : globules rouges libres ou phagocytés lors d'hémorragie, micrométastases lors de cancer, neutrophiles lors d'inflammation aiguë, mélanine lors de dermatose chronique et lipides chez les bovins en lactation.

Dans l'adénite (inflammation ganglionnaire) aiguë, on note une tuméfaction molle, diffuse et régulière du ganglion qui, à l'incision, est rouge avec une surface de section humide et luisante; à l'examen histologique, on trouve des polynucléaires neutrophiles. Quand l'inflammation siège en dehors du ganglion, ces neutrophiles se localisent essentiellement dans les sinus sous-capsulaires et corticaux. Si l'infection est hématogène et que l'agent infectieux est présent dans le ganglion, comme c'est le cas lors de septicémies

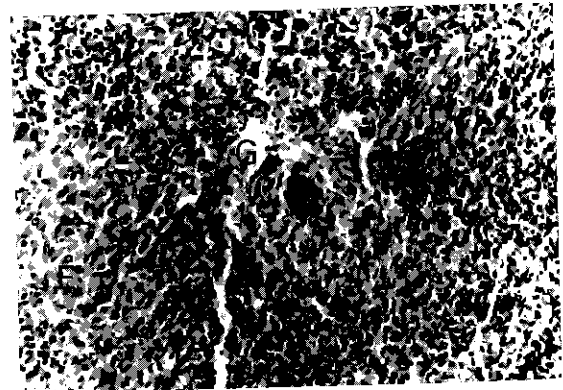
ou d'embolisation bactérienne, les foyers de polynucléaires neutrophiles sont localisés dans le cortex ganglionnaire proprement dit; ils peuvent même évoluer en micro-abcès lorsque le germe en cause est une bactérie pyogène.

Les adénites chroniques ne sont pas rares lorsque l'agent responsable persiste longtemps dans le ganglion et y exerce un rôle irritant. Les bactéries intracellulaires telles que les mycobactériacées ou les brucella induisent une réaction chronique caractérisée par de la nécrose, une abondance de macrophages et de lymphocytes avec formation d'une capsule fibreuse. Cette inflammation granulomateuse est associée aux réponses immunes cellulaires. Les larves de plusieurs espèces parasitaires peuvent s'enkyster dans les ganglions et y déterminer des lésions nodulaires chroniques. C'est le cas des strongles du cheval, des douves du bovin et des œsophagostomum du mouton. Chez le chien atteint de gale démodectique, les parasites peuvent se retrouver dans les ganglions superficiels par suite de la rupture des follicules pileux.

La rate est particulièrement sensible aux antigènes amenés par le sang. La tuméfaction de la rate peut traduire un processus infectieux généralisé en dehors de toute lésion tumorale. Une rate volumineuse et congestive indique ainsi un processus inflammatoire aigu ou une simple congestion passive. Dans ce dernier cas, l'incision de l'organe provoque l'écoulement d'une grande quantité de sang tandis qu'en cas de splénite aiguë, seul un peu de sang s'en échappe et l'organe garde un aspect turgescent. La réponse



**Figure 34-2** Ganglion du chat. Formation de larges follicules lymphoïdes secondaires dans le cortex et hyperplasie de la médulla lors de stimulations antigéniques dans le territoire drainé par le ganglion.

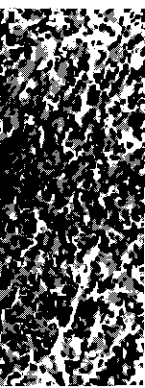


**Figure 34-3** Splénite évolutive granulomateuse multifocale. Tuberculose généralisée chez un cobaye. Remarquer le nodule inflammatoire caractérisé par des cellules géantes de type Langhans (G) et des cellules épithélioïdes (E) d'origine monocyttaire.

es foyers de  
alisés dans le  
t; ils peuvent  
e le germe en

nt pas rares  
te longtemps  
e irritant. Les  
es mycobacté-  
une réaction  
nécrose, une  
lymphocytes  
preuse. Cette  
associée aux  
es larves de  
ent s'enkyster  
r des lésions  
des strongles  
es œsophagos-  
atteint de gale  
t se retrouver  
r suite de la

sensible aux  
améfaction de  
us infectieux  
umorale. Une  
ique ainsi un  
une simple  
cas, l'incision  
d'une grande  
s de splénite  
a échappe et  
. La réponse



seuse multifocale.  
marquer le nodule  
géantes de type  
s (E) d'origine

de la rate aux antigènes se caractérise par une prolifération des follicules lymphoïdes et des cordons de Billroth. Cependant, en raison de la masse de sang qui y circule, elle peut être le siège d'altérations régressives lors de toxémie ou de septicémie suraiguë. Dans ces situations, on observe une nécrose des follicules lymphoïdes avec caryolyse et apparition d'un exsudat fibrineux dans les centres germinatifs.

Les séquelles d'infection et donc les inflammations chroniques de la rate ne sont pas très fréquentes. On les trouve dans la tuberculose (Fig. 34-3), lors de formation d'abcès enkystés à la suite d'une pyémie à *Corynebacterium pyogenes* et lors de minéralisation post-nécrotique des follicules lymphoïdes après toxi-septicémie aiguë.

## IMAGE HÉMATOLOGIQUE

Il est souvent malaisé de poser un diagnostic précis sur la base d'un examen sanguin, sauf dans les cas de leucémies qui s'accompagnent de modifications hématologiques caractéristiques.

Les *granulocytes* répondent surtout aux infections mais aussi à certaines maladies immunologiques. C'est le cas de la neutropénie cyclique du chien collie gris où une chute du nombre des neutrophiles se manifeste régulièrement tous les 10-11 jours. La maladie s'accompagne d'une atrophie diffuse du tissu lymphoïde intéressant à la fois les ganglions, la rate et le cortex thymique. La nature cyclique du phénomène semble être la conséquence de la variation du nombre de lymphocytes T suppresseurs spécifiques. Les polynucléaires éosinophiles sont plus étroitement dépendants de la régulation immunitaire que les neutrophiles. Leur cinétique est liée à des lym-

phokines produites par les lymphocytes T et, après un passage fugace dans le sang, ils se localisent principalement au niveau des surfaces corporelles (peau, intestin et poumons) où ils interviennent dans l'hypersensibilité immédiate (type I) conjointement aux basophiles et aux mastocytes.

Les *monocytes* sanguins sont les précurseurs des macrophages et leur passage dans le sang se termine par une prolifération dans les tissus au bout d'une vingtaine d'heures. Dans toutes les espèces animales domestiques, les corticostéroïdes entraînent une monocytopenie transitoire sauf chez le chien où ils provoquent une monocytose. Chez ce dernier, une monocytose persistante doit aussi évoquer une anémie hémolytique auto-immune.

Le nombre de lymphocytes sanguins varie lors du stress : les corticostéroïdes libérés induisent une lymphopénie transitoire et il en est de même dans la plupart des maladies virales ayant un tropisme pour les cellules sanguines. C'est le cas notamment des parvovirose canine et féline et de la maladie de Carré.

Une lymphocytose s'observe dans la réponse aux infections chroniques et, de manière transitoire, lors de la libération d'adrénaline (réaction de peur chez le chat).

## BIBLIOGRAPHIE

- GORMAN NT, WERNER LL. Immune mediated diseases of the dog and cat. Br Vet J, 1986, 142 : 395-402, 403-410, 491-497.
- OSBURN BI, MCLACHLAN NJ, TERREL TG. Ontogeny of the immune system. Amer J Vet Res, 1982, 181 : 1049-1052.
- RIGG MW. Evaluation of foals for immune deficiency disorders. Vet Clin North Amer, 1987, 3 (3) : 515-528.
- TRUFFA-BACHI P, LECLERC C. Comment les cellules coopèrent pour défendre l'organisme. La Recherche, 1986, 177 : 702-717.

C. Carnaud

## MALADIES AUTO-IMMUNES

Le système immunitaire a semble-t-il pour fonction essentielle le rejet de substances étrangères : agents infectieux, cellules tumorales, tissus allogéniques. En contrepartie, les clones lymphocytaires susceptibles de reconnaître des substances sont éliminés ou réprimés de sorte que, dans les conditions normales, on n'observe pas de réaction auto-immune. Il arrive cependant qu'à la suite d'une sollicitation anormale ou d'un défaut de régulation du système immunitaire, des manifestations pathologiques apparaissent, dirigées contre des antigènes du soi et mettant en jeu les médiateurs classiques de l'immunité : anticorps, cellules T, cytokines. Les maladies auto-immunes sont, en fait, loin d'être exceptionnelles, que ce soit en clinique humaine ou vétérinaire. On considère qu'elles représentent chez l'homme la troisième cause de morbidité derrière les maladies cardiovasculaires et les cancers.

La recherche expérimentale sur l'auto-immunité s'est orientée autour de trois grands axes : les mécanismes effecteurs impliqués dans la pathogénie des maladies auto-immunes, les circons-

tances qui concourent à la rupture de tolérance au soi, les approches thérapeutiques. Avant d'établir un bilan des connaissances, il convient d'abord de passer en revue les principales maladies expérimentales servant de modèle à l'étude des phénomènes d'auto-immunité.

### MODÈLES EXPÉRIMENTAUX

Les maladies auto-immunes expérimentales peuvent être classées en deux catégories selon qu'elles sont induites par auto-immunisation ou qu'elles se développent spontanément.

#### MALADIES INDUITES PAR AUTO-IMMUNISATION

Un très grand nombre de maladies auto-immunes peuvent être déclenchées chez l'animal

Tableau 35-I Maladies expérimentales induites.

Modèle	Equivalent clinique	Antigène	Espèce sensible
Thyroïdite allergique expérimentale	Thyroïdite d'Hashimoto	Thyroglobuline	Lapin, cobaye, rat, souris (H-2 <sup>k</sup> )
Encéphalomyélite allergique expérimentale	Sclérose en plaques	Protéine basique de la myéline	Cobaye, rat, souris (SJL, PL/J)
Myasthénie allergique expérimentale	Myasthénie	Récepteur de l'acétylcholine	Lapin, rat, souris (H-2 <sup>b</sup> )
Arthrite à adjuvant	Polyarthrite	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Rat Lewis
Arthrite à collagène	Polyarthrite	Collagène de type II	Rat Wistar, souris (DBA/1)
Uvéite	Uvéite	Antigène de rétine bovine	Cobaye, rat Lewis
Orchite allergique	Orchite Stérilité masculine	Extrait testiculaire ou de sperme	Cobaye, rat, souris
Néphrite d'Heymann	Néphrite glomérulaire ou tubulaire	Extrait membrane basale	Rat
Néphrite mercurielle	Glomérulonéphrite	Chlorure de Hg (sans adjuvant)	Rat (BN)
Anémie hémolytique auto-immune	Anémie hémolytique	Erythrocytes de rat (sans adjuvant)	Souris (SJL)

de laboratoire par l'injection d'un autoantigène ou d'un extrait d'organe autologue associé à un adjuvant, généralement l'adjuvant complet de Freund (Tableau 35-I). Les manifestations histologiques puis cliniques surviennent dans les 2 à 3 semaines qui suivent l'immunisation. La nature et l'intensité de ces manifestations varient en fonction de l'autoantigène injecté et de l'animal utilisé. A ces manifestations cliniques sont associés des signes d'auto-immunité à la fois humorale et cellulaire : autoanticorps, hypersensibilité retardée, prolifération de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> in vitro.

Deux modèles de maladies auto-immunes induites ont été particulièrement bien étudiés, en raison de leur similitude avec des maladies observées en clinique : l'encéphalomyélite allergique expérimentale (EAE), modèle de la sclérose en plaques et la thyroïdite allergique expérimentale (TAE), modèle de la thyroïdite d'Hashimoto. L'EAE est déclenchée par l'injection de protéine basique constitutive de la myéline; d'un poids moléculaire de 18 000 cette protéine a été purifiée, séquencée et l'on connaît les séquences peptidiques immunogènes. L'EAE se caractérise par des accès de paralysie plus ou moins généralisée, pouvant dans certains cas entraîner la mort de l'animal et par d'importantes altérations histologiques de la substance blanche : infiltration de cellules inflammatoires mononucléées, et lésions de démyélinisation. Les signes immunologiques

sont davantage de nature cellulaire qu'humorale : hypersensibilité in vivo et prolifération T in vitro à la protéine basique ou à son peptide immunodominant. Les sujets qui guérissent deviennent résistants à une réimmunisation par la protéine basique.

La TAE est induite par la thyroglobuline. Les signes cliniques sont relativement frustes; en revanche, la thyroïde est le siège d'importantes lésions histologiques s'apparentant à celles de la thyroïdite d'Hashimoto chez l'homme. On observe un infiltrat abondant, majoritairement composé de lymphocytes T et B et organisé sous forme de centres germinatifs. Le processus s'accompagne parfois de lésions destructrices pouvant aller jusqu'à une déstructuration de la glande. Les signes immunologiques sont de nature humorale et cellulaire : présence d'autoanticorps et de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> antithyroglobuline. On a également mis en évidence la présence de cellules T CD8<sup>+</sup> cytotoxiques spécifiquement dirigées contre les thyrocytes.

#### MALADIES SPONTANÉES

On dispose aujourd'hui d'un petit nombre de souches expérimentales développant spontanément des manifestations auto-immunes. Ces souches

Tableau 35-II Maladies spontanées.

Souche	Equivalent clinique	Manifestations pathologiques	Signes immunologiques
NZB	Lupus, anémie hémolytique	Glomérulonéphrite, anémie, splénomégalie	Ig sér. +++, Ac anti-ADN, anti-thymoc., anti-éryth.
BxW	Lupus	Glomérulonéphrite	Ig sér. +++, Ac anti-ADN
MRL/1	Lupus, Sjögren, polyarthrite	Néphrite, syalite, artérite, arthrite, adénopathies	Ig sér. +++, Ac anti-ADN, anti-protéines nucléaires
BXSB	Lupus	Néphrite, arthrite, hyperplasie lymphoïde	id.
Rat BB	Diabète type I	Insulite, diabète, thyroïdite	Infiltration T + B, Ac anti-îlots, Ac anti-insuline
Souris NOD	Diabète type I, Sjögren	Id. + sialite	id.
Poulet obèse	Thyroïdite d'Hashimoto	Thyroïdite	Ac anti-thyroglobuline
Rat Buffalo	id.	id.	id.

ont été obtenues par sélection génétique à partir d'animaux chez qui ces anomalies étaient apparues fortuitement (Tableau 35-II).

La plus ancienne est la souche de souris New-Zealand Black (NZB) isolée en 1958 par Bielschowsky à la suite d'une mutation et reproduisant une forme typique de lupus. Le croisement de la NZB avec la New-Zealand White (NZW) a donné naissance à un hybride, la B/W qui présente les formes néphrologiques graves du lupus humain. Deux autres souches, la MRL/1 et la BXSB ont été isolées par Murphy et Roths en 1979. La première a été sélectionnée sur la base d'une mutation à caractère lymphoprolifératif. La seconde est née du croisement entre la lignée C57BL/6 et la lignée SB/LE qui présentaient chacune des anomalies auto-immunes relativement bénignes. Une cinquième souche lupique a été sélectionnée par Monier à partir de souris Swiss présentant un taux élevé d'anticorps antinucléaires.

Toutes ces souris présentent, à des degrés divers, les principales anomalies humorales caractéristiques du lupus : une activation polyclonale des lymphocytes B, une élévation du taux des immunoglobulines sériques, une sécrétion d'autoanticorps : anticorps anti-ADN, antinucléoprotéines, antihistones, antiérythrocytes, antilymphocytes. Les principales manifestations cliniques conduisant à la mort prématurée des animaux sont la glomérulonéphrite chez les souris B/W, MRL/1, BXSB et l'anémie hémolytique chez les NZB.

La MRL/1 et la BXSB présentent en outre des manifestations lymphoprolifératives non malignes, ainsi que des lésions d'artérite et de polyarthrite rhumatoïde. Des manifestations auto-immunes cellulaires sont observées dans les glandes salivaires de souris MRL/1; ces anomalies rappellent celles du syndrome de Sjögren en clinique humaine. De nombreuses anomalies fonctionnelles des lymphocytes T sont également observées, en particulier : une résistance à la tolérance induite par des antigènes thymo-dépendants, une diminution des fonctions suppressives induites par les mitogènes T, une atrophie de l'épithélium thymique associée à un effondrement de la sécrétion d'hormone thymique, une hyperactivité des précurseurs T cytotoxiques. L'ensemble de ces anomalies reflète probablement un déséquilibre entre les lymphocytes T auxiliaires et les lymphocytes T suppresseurs.

Deux modèles de diabète auto-immun insulino-dépendant ont été sélectionnés, le rat BB et la souris NOD. Les manifestations cliniques et histopathologiques sont très proches de celles observées dans le diabète humain. La maladie débute par une insulite qui envahit peu à peu les îlots de Langerhans et détruit sélectivement les cellules  $\beta$  productrices d'insuline. L'infiltrat inflammatoire est composé en majorité de lymphocytes T  $CD4^+$  et  $CD8^+$ , associés à quelques lymphocytes B et monocytes. Le diabète clinique se déclare vers l'âge de 6 mois et touche de façon prépondérante les femelles.

## PATHOGÉNIE DES MALADIES AUTO-IMMUNES

Les expériences de transfert consistant à déclencher chez un animal sain, une maladie auto-immune par injection d'anticorps ou de lymphocytes prélevés chez un animal malade ont permis de mieux comprendre le rôle respectif de l'immunité humorale (autoanticorps) et cellulaire (lymphocytes T) dans les phénomènes d'auto-immunité.

### RÔLE DES AUTOANTICORPS

Les expériences de transfert ont montré que les autoanticorps n'avaient un rôle pathogène que dans un nombre limité de maladies expérimentales, essentiellement la myasthénie, l'anémie hémolytique et l'orchite allergique. Les tentatives de transmission d'autres maladies auto-immunes spécifiques d'organe, comme la TAE et l'EAE, se sont le plus souvent soldées par des échecs. La sécrétion d'autoanticorps ne représente donc dans ces maladies qu'un phénomène secondaire dû au recrutement de lymphocytes B par des lymphocytes T auxiliaires autoréactifs seuls responsables de la maladie.

Quoiqu'ils soient incapables de transférer la maladie à des souris saines, les autoanticorps de souris lupiques sont à l'origine des principales manifestations pathologiques. Les localisations rénales, articulaires et vasculaires du lupus sont en effet provoquées par le dépôt de complexes immuns. On a longuement débattu pour savoir si les autoanticorps de souris lupiques étaient intrinsèquement plus pathogènes que les autoanticorps naturels induits chez des souris non auto-immunes par un activateur polyclonal comme le LPS (lipopolysaccharide bactérien). En effet, les souris lupiques présentent de nombreux signes donnant à penser que la production d'autoanticorps ne serait pas tant l'effet d'une réponse spécifique à tels ou tels autoantigènes que le résultat d'une hyperactivation polyclonale. Néanmoins il existe des différences marquées entre les autoanticorps de souris lupiques et ceux de souris non auto-immunes. Les premiers sont en majorité des IgG et des IgA alors que les seconds sont principalement des IgM. En outre la caractérisation des séquences des gènes codant pour les parties variables révèle dans les

premiers un nombre élevé de mutations somatiques alors que les seconds restent proches des séquences germinales. L'accumulation de mutations dans les gènes des anticorps de souris lupiques suggère l'existence d'une pression de sélection exercée par des autoantigènes définis et conduisant à une production d'anticorps de haute affinité.

### RÔLE DES LYMPHOCYTES T

Les expériences de transfert ont permis de mettre en évidence le rôle pathogène des lymphocytes T dans un nombre important de maladies auto-immunes expérimentales. Ainsi, l'injection de lymphocytes T auxiliaires CD4<sup>+</sup> provenant de la rate ou des ganglions d'animaux malades provoque inmanquablement les manifestations cliniques et histopathologiques de l'EAE, de la TAE, de l'arthrite à adjuvant ou du diabète auto-immun spontané. Bien plus, l'EAE, la TAE et l'arthrite à adjuvant sont également transférables par des lignées et des clones de lymphocytes T CD4<sup>+</sup> prélevés chez des animaux auto-immunisés et cultivés *in vitro* en présence d'un autoantigène tel que : protéine basique, thyroglobuline ou *Mycobacterium*.

Les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> jouent probablement un rôle central dans la pathogénie des maladies auto-immunes par leur capacité à mobiliser des lymphocytes CD8<sup>+</sup> cytotoxiques et à coopérer avec eux, à activer des cellules tueuses (macrophages, cellules NK), ou encore à coopérer avec des lymphocytes B producteurs d'autoanticorps cytotoxiques. Des expériences chez la souris NOD ont clairement mis en évidence une synergie entre lymphocytes CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> dans le transfert du diabète auto-immun. En revanche, elles ont aussi montré que les lymphocytes B n'étaient pas nécessairement impliqués dans la phase effective de la maladie.

Le rôle des cytokines produites par les lymphocytes CD4<sup>+</sup> ou par les macrophages activés fait actuellement l'objet de nombreux travaux. L'interleukine 1 (IL-1), le facteur nécrosant des tumeurs (TNF) alpha et bêta ainsi que l'interféron (IFN) gamma exercent un effet cytopathogène direct sur les organes-cibles et amplifient l'activité cytotoxique des macrophages activés et des cellules NK. Argument supplémentaire en faveur du rôle des cytokines, on a récemment montré que l'introduction d'un transgène codant pour l'IFN gamma dans les cellules  $\beta$  d'îlots de Langerhans



tations somati-  
nt proches des  
ation de muta-  
souris lupiques  
n de sélection  
is et conduisant  
aute affinité.

T  
ont permis de  
gène des lym-  
ant de maladies  
nsi, l'injection  
+ provenant de  
maux malades  
manifestations  
l'EAE, de la  
ou du diabète  
EAE, la TAE  
ement transfé-  
lones de lym-  
des animaux  
ro en présence  
téine basique,

t probablement  
e des maladies  
mobiliser des  
et à coopérer  
tueuses (ma-  
ore à coopérer  
urs d'autoanti-  
s chez la souris  
ce une synergie  
dans le trans-  
revanche, elles  
tes B n'étaient  
la phase effec-

s par les lym-  
phages activés  
breux travaux.  
nécrosant des  
que l'interféron  
cytopathogène  
lifiant l'activité  
activés et des  
taire en faveur  
ent montré que  
ant pour l'IFN  
de Langerhans

provoquait un diabète insulino-dépendant dû à la libération locale de cette lymphokine et à la formation d'un infiltrat inflammatoire.

## TOLÉRANCE AU SOI ET CIRCONSTANCES DE RUPTURE

Pour rendre compte de la tolérance au soi du système immunitaire, les immunologistes invoquent deux modalités de contrôle, l'une centrale, responsable de la sélection négative des clones fortement autoréactifs, l'autre périphérique, conduisant à une paralysie fonctionnelle des lymphocytes T ou B ayant échappé à la première sélection et néanmoins susceptibles de réagir à des autoantigènes. La rupture de tolérance au soi et l'émergence d'une maladie auto-immune résulte donc ou bien d'un défaut de sélection négative par exemple au stade de la différenciation intrathymique, ou bien d'une levée des mécanismes d'inhibition périphériques.

### DÉFAUT DE TOLÉRANCE CENTRAL

La théorie de la sélection clonale du répertoire, formulée par la première fois par Burnett et confirmée dans de nombreux modèles expérimentaux, suppose l'élimination des clones autoréactifs durant l'ontogenèse du système immunitaire, notamment dans le thymus pour les lymphocytes T. Il s'ensuit que si certains autoantigènes sont absents du thymus soit parce qu'ils n'y sont pas exprimés, soit parce qu'ils n'y sont pas importés en quantité suffisante (expression différée au cours du développement ou protection par une barrière anatomique), les clones T correspondants ne seront pas rendus tolérants et pourront gagner la périphérie. Que ces autoantigènes viennent à être ultérieurement exprimés ou accidentellement libérés et on observera une vigoureuse réponse auto-immune. Un certain nombre de situations cliniques et expérimentales vont dans le sens de cette hypothèse (orchite allergique, uvéite traumatique). Tout récemment, les travaux du groupe de Hanahan sur des lignées de souris transgéniques porteuses d'une construction associant le gène transformant du virus SV40 au

promoteur du gène de l'insuline ont montré que la tolérance à l'antigène T du virus SV40 dépendait du moment où il était exprimé au cours de l'ontogenèse. Dans les lignées de souris où il est exprimé précocement, il induit une tolérance comme un antigène du soi; en revanche, dans les lignées où il est exprimé plus tardivement, c'est-à-dire après la naissance, il induit une forte réponse immune.

D'autres données semblent suggérer que ce n'est pas tant l'absence d'autoantigène qui permettrait aux clones autoréactifs d'échapper à la sélection intrathymique que leur présentation inadéquate, par les molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Certaines associations entre autoantigènes et molécules de classe II seraient moins tolérogènes que d'autres. Ainsi, on a récemment décelé dans les molécules de classe II de la souris NOD et des patients diabétiques, des anomalies de séquence peptidique identiques. Il se pourrait que ces anomalies modifient la présentation des antigènes de cellules  $\beta$  d'îlots de Langerhans et soient donc responsables d'un défaut de tolérance des clones autoréactifs.

### DÉRÉGULATION PÉRIPHÉRIQUE

De nombreux arguments expérimentaux montrent cependant qu'une proportion importante de clones autoréactifs échappe à la sélection négative et parvient à un stade de maturité fonctionnelle. Ces clones sont donc nécessairement soumis à des contrôles inhibiteurs qui les maintiennent dans un état d'anergie. Parmi les mécanismes théoriquement capables d'inhiber l'activation de ces clones, on peut citer : 1) la concentration limitante de l'autoantigène à l'état circulant, 2) l'absence sur un grand nombre de tissus, de molécules du CMH de classes II indispensables à la présentation des autoantigènes, 3) l'incapacité de ces mêmes tissus à fournir les signaux (cofacteurs de stimulation, cytokines) nécessaires à l'activation lymphocytaire, 4) enfin, la présence de cellules régulatrices ou suppressives (par exemple les lymphocytes T suppresseurs) capables de bloquer spécifiquement les clones T autoréactifs ou les lymphocytes B producteurs d'autoanticorps. La rupture de tolérance peut donc survenir chaque fois que l'un de ces facteurs est perturbé. L'irruption massive dans la circulation d'un autoantigène vrai ou d'un agent

étranger infectieux ou médicamenteux possédant des déterminants antigéniques identiques à ceux d'un autoantigène peut déclencher une réaction auto-immune. De même, l'expression induite par interféron gamma de molécules présentatrices de classe II, ou l'accumulation dans un site donné de cellules inflammatoires présentatrices d'antigène (macrophages, monocytes) capables de fournir les signaux antigéniques et moléculaires nécessaires à l'activation lymphocytaire T sont autant de facteurs susceptibles d'initier une réponse auto-immune. Enfin, on a souvent, au cours de ces dernières années, avancé l'hypothèse d'une défaillance de cellules régulatrices, notamment les lymphocytes T suppresseurs, défaillance qui pourrait être due soit à un défaut de différenciation fonctionnelle de ces cellules (anomalies intrathymiques de la souris NZB par exemple) soit à une perturbation de l'état d'équilibre issu des interactions idiotypiques entre récepteurs à l'antigène des lymphocytes T ou entre récepteurs T et immunoglobulines de surface des lymphocytes B (hypothèse du réseau idiotypique de Jerne).

### AUTRES FACTEURS

A côté de ces paramètres directement associées à l'ontogénèse et au fonctionnement du système immunitaire, d'autres facteurs d'origine génétique ou environnementale favorisent l'émergence de maladies auto-immunes. Ainsi, l'étude de la ségrégation génétique des anomalies immunitaires chez la souris lupique NZB a mis en évidence une multiplicité de gènes (6 au moins), les uns intervenant de façon spécifique dans la production d'un autoanticorps donné (anti-ADN, anti-lymphocyte, anti-IgG), les autres responsables de l'activation polyclonale de l'ensemble de la population des lymphocytes B, indépendamment de toute spécificité antigénique. De même chez les souris lupiques MRL/1 ou BXSB, des gènes spécifiques (gène 1pr dans le cas de la MRL, gène exprimé sur le chromosome Y chez la BXSB) sont directement associés aux formes graves de la maladie. Un contrôle polygénique, impliquant au moins trois gènes récessifs a de même été mis en évidence chez le rat BB et la souris diabétique NOD. Deux de ces gènes, indépendants du CMH, sont nécessaires à l'expression de l'insulite et aux manifestations cliniques du diabète.

Joue également un rôle non-négligeable dans l'apparition et la gravité de certaines maladies auto-immunes, tout un ensemble de facteurs envi-

ronnementaux parmi lesquels les hormones sexuelles stéroïdiennes. On connaît depuis longtemps les différences marquées d'incidence du lupus chez la femme et chez l'homme. Ces différences s'observent également chez les souris NZB, les femelles faisant une maladie plus précoce et plus grave que les mâles. Il en est de même de la souris NOD femelle plus sensible au diabète que le mâle. Le fait que ces différences puissent être partiellement compensées par la castration, l'ovariectomie ou l'administration d'hormones montre bien que ces manifestations sont sous contrôle endocrinien et on peut imaginer que ces hormones agissent sur le système immunitaire, par le biais de récepteurs spécifiques exprimés à la surface de certaines sous-populations lymphocytaires.

### NOUVELLES APPROCHES THÉRAPEUTIQUES

L'un des objectifs essentiels des recherches en auto-immunité, c'est la conception de nouvelles stratégies thérapeutiques à la fois efficaces et mieux ciblées que celles mises en œuvre actuellement. L'immunointervention peut se réaliser à plusieurs niveaux : au niveau des agents effecteurs de l'immunité, à celui des mécanismes de régulation, ou encore à celui de l'émergence du répertoire auto-immun.

### PHASE EFFECTRICE

La cyclosporine A est l'agent immunodépresseur qui semble donner les résultats les plus encourageants. Elle a été testée dans la quasi-totalité des modèles expérimentaux spontanés ou induits de maladies auto-immunes avec semble-t-il de bons résultats. Ce médicament fait l'objet d'essais cliniques chez l'homme, notamment dans le diabète insulino-dépendant où il induit des rémissions à l'insuline significativement plus importantes que dans la population de patients témoins.

Les anticorps monoclonaux dirigés contre des structures lymphocytaires précises (molécules d'adhésion, récepteurs à l'antigène, récepteurs de lymphokines) ou contre des cytokines elles-mêmes, représentent un autre arsenal thérapeutique de choix pour le traitement des maladies

autoimmunes. Les anticorps monoclonaux seuls ou couplés à des toxines sont en effet capables d'éliminer ou de bloquer l'activité fonctionnelle d'une sous-population lymphocytaire avec une remarquable spécificité et une non moins grande efficacité. Leur utilisation est cependant limitée dans le temps du fait de l'apparition rapide chez le receveur, d'anticorps endogènes capables de neutraliser les anticorps thérapeutiques. On trouvera dans le tableau 35-III les principaux anticorps monoclonaux testés avec succès dans les maladies auto-immunes. Comme on peut le voir, les anticorps anti-CD4 se sont révélés efficaces dans un grand nombre de ces maladies, qu'elles soient spontanées ou induites, qu'elles mettent en jeu une réponse de type humoral comme le lupus ou la myasthénie, ou une réponse de type cellulaire comme l'EAE ou le diabète. L'utilisation d'anticorps anticytokines ou antirécepteurs de cytokines n'en est encore qu'à ses débuts, mais semble également prometteuse. L'effet préventif des anticorps anti-IFN gamma sur l'évolution du lupus de la souris B/W semble suggérer de façon indirecte, que les antigènes de classe II sont impliqués dans la genèse des anomalies auto-immunes des animaux lupiques.

### INTERVENTION SUR LA RÉGULATION PÉRIPHÉRIQUE

Diverses stratégies ont été envisagées pour tenter d'inhiber l'activation de clones lymphocytaires autoréactifs. L'une d'elles consiste à injecter des anticorps monoclonaux anti-classe II afin de bloquer la présentation des autoantigènes aux lymphocytes T CD4<sup>+</sup>. Des résultats prometteurs ont ainsi été obtenus dans des affections autoimmunes comme le diabète de la souris NOD ou du rat BB (Tableau 35-III). Ces anticorps

**Tableau 35-III** Anticorps monoclonaux testés avec succès dans les maladies expérimentales.

Spécificité	Modèle expérimental
Anti-CD3	EAE
Anti-CD4	EAE, myasthénie, lupus NZB, diabète NOD
Anti-récepteur IL-2	Diabète NOD, BB, lupus NZB
Anti-IFN gamma	Lupus B/W, diabète NOD
Anti-CMH classe II	EAE, myasthénie, lupus NZB, diabète BB et NOD

semblent agir non seulement en bloquant la reconnaissance des peptides autologues sur les cellules présentant l'antigène, mais aussi en favorisant l'émergence d'une sous-population de cellules T suppressives.

Une seconde stratégie consiste à inhiber les lymphocytes autoréactifs T ou B par le biais d'une immunisation anti-idiotypique dirigée contre l'idiotype du récepteur à l'antigène du lymphocyte T ou de l'immunoglobuline de surface de la cellule B. Naturellement cette approche n'aura de chances d'aboutir qu'à condition qu'il existe un idiotype récurrent commun à la majorité des clones T ou B réactifs contre un autoantigène donné et que la suppression de cet idiotype ne fasse pas apparaître de clones porteurs d'idiotypes nouveaux. Des tentatives pour inhiber la synthèse d'autoanticorps anti-ADN par immunisation à l'aide d'anticorps monoclonaux de même spécificité et porteurs d'un idiotype public, n'ont pas donné jusqu'à présent de résultats réellement probants. En revanche, l'immunisation anti-idiotypique contre des récepteurs à l'antigène de lignées T autoréactives et pathogènes est très encourageante. Ainsi, l'inoculation à des rats, de clones T anti-protéine basique, anti-*Mycobacterium* ou anti-thyroglobuline sous une forme atténuée (irradiation ou fixation à la glutaraldéhyde) donne à ces animaux une résistance accrue à la réinoculation de ces mêmes clones sous une forme pathogène ou à l'induction primaire de la maladie par l'autoantigène. Cette protection est spécifique pour une maladie donnée et semble être due à l'émergence de lymphocytes T CD8<sup>+</sup> endogènes dirigés contre les récepteurs à l'antigène des clones T CD4<sup>+</sup> inducteurs de la maladie. Le succès de cette démarche originale tient certainement à la diversité restreinte des idiotypes exprimés par ces clones et à leur stabilité génétique.

### INTERVENTION SUR LE RÉPERTOIRE AUTO-IMMUN

Des études récentes sur le réarrangement des gènes codant pour le récepteur à l'antigène des clones T anti-protéine basique ont précisément montré que la quasi-totalité de ces clones utilisait le même gène variable V<sub>β</sub> pour exprimer la chaîne β du récepteur, en l'occurrence le gène V<sub>β8</sub>. L'existence d'anticorps monoclonaux spécifiques du produit du gène V<sub>β8</sub> permet d'envisager l'élimi-

nation spécifique de tous les clones  $V_{\beta 8+}$ . Très sélective, cette élimination n'affecte qu'environ 10 p. cent du répertoire T total. Deux séries de travaux menées parallèlement dans deux laboratoires ont confirmé la possibilité d'inhiber spécifiquement l'induction de l'EAE à l'aide d'anticorps anti- $V_{\beta}$ . Des recherches sont en cours dans de nombreux laboratoires pour tenter de déterminer s'il existe également un choix restreint de gènes  $V_{\beta}$  ou  $V_{\alpha}$  dans d'autres modèles de maladies autoimmunes comme l'arthrite rhumatoïde ou le diabète insulino-dépendant.

On peut également chercher à introduire des modifications de répertoire au niveau de la sélection intra-thymique afin de favoriser l'élimination des clones dotés d'un pouvoir pathogène potentiel. Ainsi les modifications du répertoire, provoquées à la naissance par l'injection de cellules hématopoïétiques tolérogènes histo-incompatibles, sont suivies d'une baisse significative de l'incidence du diabète chez la souris NOD. De même, l'introduction d'un transgène codant pour une molécule du CMH de classe II, la molécule IE qui n'est pas normalement exprimée chez la souris NOD, protège ces animaux du diabète, probablement en provoquant la sélection négative de clones T réagissant à la fois contre ces molécules d'histocompatibilité artificiellement introduites et contre les autoantigènes pancréatiques. Même si ces approches sont difficilement envisageables en clinique humaine, elles ouvrent néanmoins de nouvelles perspectives thérapeutiques. Ainsi on peut imaginer que l'induction de tolérance par des peptides correspondant à des sites antigéniques précis, permettra de créer des trous sélectifs dans le répertoire T et d'éliminer ainsi des clones indésirables.

## CONCLUSION

Si des progrès significatifs ont été accomplis dans la compréhension des maladies autoimmunes, de nombreuses questions restent cependant encore sans réponse. Ainsi, la nature exacte de l'autoantigène reste encore mal élucidée dans la plupart des manifestations spontanées

cliniques ou expérimentales. L'expression par transfection de banques de gènes clonés suivie du criblage par anticorps monoclonaux ou clones T devrait permettre d'avancer rapidement dans ce domaine. Un autre vaste sujet d'étude, important à la fois pour l'épidémiologie et la pathogénie, concerne la génétique des affections auto-immunes. Nous avons vu que les gènes codés par le CMH jouent un rôle crucial dans le contrôle de la réponse auto-immune et la sélection du répertoire, mais d'autres gènes sont également impliqués dans la sévérité des lésions. Ces gènes devront être cartographiés avec précision et fonctionnellement caractérisés. Enfin, les mécanismes de sélection et de régulation du répertoire, représentent un pôle majeur d'intérêt aussi bien pour les immunopathologistes que pour les immunologistes fondamentaux. Les progrès semblent aller très vite dans ce domaine, notamment grâce à l'obtention de réactifs monoclonaux très performants comme les anticorps anti-régions variables du récepteur T ou les souris transgéniques exprimant constitutivement un récepteur T. Nous devrions rapidement être à même de comprendre comment s'effectue la sélection du répertoire T et B, comment les clones autoréactifs sont éliminés ou anergisés, pour quelles raisons enfin, dans certaines souches de souris ou de rats, ces mécanismes s'avèrent être défectueux.

Toutes ces données devraient logiquement déboucher sur des stratégies thérapeutiques radicalement nouvelles. La vaccination anti-idiotypique, les anticorps anti- $V_{\beta}$ , les peptides tolérogènes préfigurent les traitements de demain.

## BIBLIOGRAPHIE

- BACH JF. Immunologie, 1986, Flammarion Médecine-Sciences.
- BOREL JF, GUNN HC. Cyclosporine as a new approach to therapy of autoimmune diseases. In: RS Schwartz, NR Rose. Autoimmunity: Experimental and clinical aspects, Annals of the New York Academy of Sciences, Vol. 475, 1986, p. 307.
- COHEN IR. Regulation of the autoimmune disease, physiological and therapeutic. Immunol Rev 1986, 94: 5.
- HEBER-KATZ E, ACHA-ORBEA H. The V-region disease hypothesis. Immunol Today 1989, 10: 164.
- MERCIER P, ROCHEMAN M. Les maladies auto-immunes. Biofutur 1989, 85: 27.

pression par  
nés suivie du  
ou clones T  
ment dans ce  
de, important  
a pathogénie,  
ctions auto-  
gènes codés  
ns le contrôle  
sélection du  
nt également  
s. Ces gènes  
ision et fonc-  
s mécanismes  
ertoire, repré-  
ssi bien pour  
es immunolo-  
emblent aller  
ment grâce à  
k très perfor-  
ons variables  
niques expri-  
ur T. Nous  
e comprendre  
épertoire T et  
sont éliminés  
enfin, dans  
de rats, ces  
ts.

logiquement  
tiques radica-  
i-idiotypique,  
s tolérrogènes  
in.

ion Médecine-  
new approach to  
S Schwartz, NR  
clinical aspects,  
ences, Vol. 475,

disease, physiolo-  
5, 94 : 5.  
-region disease  
64.  
; auto-immunes.

# TUMEURS DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

## INTRODUCTION

A.-L. Parodi

Pour le pathologiste, soucieux de classifications morphologiques établies sur les caractères phénotypiques des cellules tumorales, le terme

« tumeurs du système immunitaire » n'est pas le meilleur. Il lui préfère celui de « tumeurs des organes (ou des tissus) hémolympopoïétiques » qui regroupe toutes les affections néoplasiques malignes (ou hémopathies malignes) résultant de la transformation des cellules du sang et de la lympho ou de leurs précurseurs (Tableau 36-1). Au sein de ce vaste groupe nosologique, les tumeurs du système immunitaire, *stricto sensu*,

Tableau 36-1 Classification des hémopathies malignes.

Lignée d'origine	Hématosarcomes	Leucémies
Lymphoïde	Lymphosarcomes (lymphomes malins) Plasmocytome (myélome)	Lymphoïdes
Histiomonocytaire	Histiocytose maligne	Monocytaire Myélomonocytaire
Granulocytaire	(Sarcome myélocytaire) = Chlorome	Myéloïdes Erythroleucémie, réticulo-endothéliose
Erythrocytaire		Myélose érythémique, polycythemia vera
Mégacaryocytaire		Myélose mégacaryocytaire
Mastocyte	(Mastocytome)	à mastocytes

**Tableau 36-II** Importance des différentes catégories de tumeurs des tissus hémolymphopoiétiques chez l'animal et chez l'homme (d'après G. Theilen, 1980, modifié).

Tumeurs	Importance
Non lymphoïdes	Rares dans toutes les espèces (à l'exception de la poule, de certaines souches de souris et de l'homme)
Lymphoïdes	Fréquentes chez les oiseaux et les mammifères; connues chez les poissons, amphibiens et reptiles

Par exemple, chez le chien 99 p. cent des tumeurs des organes hémolymphopoiétiques sont de nature lymphoïde.

**Tableau 36-III** Prévalence des lymphomes malins, pour 100 000 individus, chez les mammifères domestiques et l'homme (d'après G. Theilen, 1980).

Chat	Chien	Bovin	Porc	Cheval	Homme
100	25	15	4	2	6

sont celles qui dérivent des cellules lymphoïdes : leucémies lymphoïdes et lymphosarcomes ou lymphomes malins ou leucoses lymphoïdes. Sans doute, pour être parfaitement rigoureux, faudrait-il leur adjoindre les tumeurs des cellules présentatrices de l'antigène, dérivant du macrophage et de ses homologues (histiocytose maligne et leucémie monocyttaire), et de la cellule interdigitée et de ses homologues (cellules de Langerhans) ainsi que de la cellule folliculaire dendritique.

Ce dernier groupe, pour des raisons aisément compréhensibles, est encore mal délimité et incomplètement exploré.

Les tumeurs des cellules lymphoïdes méritent une attention particulière, autant par leur fréquence au sein du règne animal (Tableaux 36-II et 36-III) et leurs remarquables analogies entre les différentes espèces affectées, tant du point de vue cytologique qu'étiologique, que pour les séduisantes relations conceptuelles qu'elles permettent entre lignées normales et néoplasiques.

### COMMUNAUTÉS INTERSPÉCIFIQUES DES LYMPHOMES MALINS ET DES LEUCÉMIES LYMPHOÏDES

Les deux dernières décennies ont été caractérisées par l'identification de marqueurs spécifiques des sous-populations lymphocytaires, facilitant la

compréhension de la structure des organes lymphoïdes et des interrelations cellulaires qui s'y développent. Ces méthodes ont conduit à une révision de la classification des tumeurs lymphoïdes et à l'adoption, après les classifications de Lukes et Collins [5] et de Lennert, dite classification de Kiel [3], de celle proposée par le National Cancer Institute (NCI) et connue sous le nom de Working Formulation [6].

La mise en évidence chez la plupart des espèces animales domestiques ou de laboratoire, de compartiments lymphocytaires homologues, a trouvé son prolongement logique et attendu, dans les remarquables équivalences que l'on peut établir entre les différents types de lymphomes malins qui s'observent dans ces espèces. C'est ainsi que nous avons pu démontrer ces homologies en appliquant la classification de Lennert (Tableau 36-IV) aux lymphomes malins des bovins et du chien [7, 8, 9]. Elles ont également été décrites chez la souris [10]. Ces classifications impliquent qu'un lymphome malin résulte du blocage de la différenciation cellulaire et de l'accumulation des cellules lymphoïdes arrêtées à ce stade de leur évolution. Ce concept est en accord avec le

**Tableau 36-IV** Classification de Kiel des lymphomes malins (LM) non hodgkiniens (d'après K. Lennert, 1975).

#### LM de faible malignité

##### LM lymphocytaires :

- leucémie lymphoïde chronique à lymphocytes B
- leucémie lymphoïde chronique à lymphocytes T
- mycosis fongoïde et syndrome de Sézary

##### LM lymphoplasmocytaire/lymphoplasmocytoïde (immunocytome)

##### LM plasmocytaire (plasmocytome extramédullaire)

##### LM centrocytaire

##### LM centroblastique/centrocytaire :

- folliculaire
- folliculaire et diffus
- diffus

#### LM de grande malignité

##### LM centroblastiques :

- pure (ou monomorphe)
- mixte (ou polymorphe)

##### LM lymphoblastiques :

- LM lymphoblastique B, type Burkitt et autres
- LM lymphoblastique T, type à noyau convolué et autres non classés

##### LM immunoblastiques :

- avec différenciation plasmoblastique/plasmocytaire (B)
- sans différenciation plasmoblastique/plasmocytaire (B ou T)

organes lymphoïdes qui s'y conduit à une tumeur lymphoïde. Les classifications de cette dite classification par le National Cancer Institute sous le nom de

part des espèces lymphoïdes, de laboratoire, de homologues, a attendu, dans ce que l'on peut dire de lymphomes et de lymphomes et de lymphomes. C'est des homologues de l'immunoglobuline (Tableau 1) des bovins et du porc ont été décrites. Elles impliquent un blocage de la maturation des cellules à un stade de leur développement avec le

lymphomes malins (Tableau 1, 1975).

cytes B  
cytes T  
lymphoïde (immunoglobuline)  
cellulaire)

autres lymphocytes  
isolés et autres non

macrocytaire (B)  
microcytaire (B ou T)

caractère monomorphe (à des degrés près) de la population cellulaire tumorale, considérée comme un clone. Ce blocage peut se produire à n'importe quel stade de la différenciation cellulaire, qu'il s'agisse de cellules lymphoïdes B ou T ou, probablement, nulles.

### COMMUNAUTÉ ÉTIOLOGIQUE : LES VIRUS LEUCÉMOGÈNES

L'un des caractères communs aux tumeurs lymphoïdes est leur étiologie. Bien que lymphomes et leucémies puissent être provoqués par des agents physiques (radiations) ou chimiques, nombreux sont ceux qui sont d'étiologie virale. Inaugurée par Ellerman et Bang (1908) avec la mise en évidence du caractère transmissible, par un agent ultrafiltrable, d'une leucémie aviaire, la longue galerie des virus leucémogènes s'est complétée, il y a quelques années, par la mise en évidence chez l'homme, dans certains lymphomes malins, de rétrovirus appelés HTLV (Human T-Leukemia Virus) et HIV (Human Immunodeficiency Virus) agent du syndrome d'immunodépression acquise de l'homme (SIDA).

La grande majorité des agents viraux leucémogènes appartiennent à la famille des *Retroviridae*, sous-famille de *Oncornaviridae*, de type C notamment. Une autre famille virale est impliquée dans l'étiologie de certaines tumeurs lymphoïdes de l'homme (lymphome de Burkitt) et de l'animal (maladie de Marek de la poule, lymphome du singe à *Herpesvirus saimiri* et *ateles*) : il s'agit des *Herpesviridae*. L'un et l'autre de ces groupes feront l'objet de développements particuliers dans ce chapitre. Quelques points importants, communs à bon nombre des lymphomes et leucémies viro-induits, méritent d'être soulignés car ils renforcent encore la cohésion que l'on constate entre ces différentes tumeurs.

L'un d'eux est la notion de spécificité virale. Cette spécificité est relative à l'espèce sensible et, au sein de l'espèce, peut l'être à une souche ou à un groupe d'individus.

### L'HÔTE INTERVIENT DANS LA LEUCÉMOGÈNESE VIRALE

La spécificité d'espèce est généralement très étroite; elle peut être débordée par l'infection expérimentale comme le montre, par exemple, le

pouvoir leucémogène élevé du virus leucémogène bovin (BLV) pour le mouton et accessoirement la chèvre.

Cette spécificité peut se resserrer pour devenir propre à l'individu ou à la souche, témoignant des interrelations qui existent entre le patrimoine génétique de l'hôte et le génome viral.

Les modèles murins nous enseignent que cette influence génétique peut s'exercer au moins dans deux directions : certains gènes de l'hôte exercent leur influence sur un stade particulier de la séquence des événements moléculaires qui vont conduire à l'émergence de la cellule tumorale (c'est le cas du gène Fv-1, dont l'allèle Fv-1n est indispensable au développement de la leucémie de la souris AKR, chez laquelle il permet le développement du pouvoir infectieux d'un virus endogène écotope). D'autres gènes conditionnent l'aptitude de l'hôte à développer une défense immunitaire conduisant à l'élimination de la cellule transformée (c'est le cas de la séquence chromosomique H-2 porteuse de certains gènes capables de renforcer la réponse immune aux antigènes viraux portés par les cellules du lymphome) [4].

Sans doute de tels systèmes sont-ils loin d'être démontrés dans toutes les espèces, mais on connaît l'importance des facteurs génétiques dans les leucémies aviaires, la réceptivité aux sous-groupes A et B du virus leucémogène aviaire (ALV) étant contrôlée par un seul gène autosomal [1]. La grande disproportion qui existe généralement entre la prévalence de l'infection par un virus leucémogène et celle des tumeurs — comme c'est le cas chez les bovins avec un taux inférieur à 1 p. cent — ainsi que les éventuelles guérisons spontanées de l'infection virale — comme on le constate chez environ la moitié des chats infectés par le virus leucémogène félin (FeLV) — sont autant d'indices révélateurs de l'importance des facteurs génétiques dans la leucémogénèse induite par le virus.

### LE VIRUS LEUCÉMOGÈNE IMPOSE LE PHÉNOTYPE DE LA TUMEUR

La spécificité des virus leucémogènes va encore se manifester, en général, par le type de tumeur qu'ils provoquent, celui-ci résultant aussi de la lignée cellulaire réceptive. Ce fait est important car il établit une preuve indirecte du rôle du génome viral sur la transformation cellulaire. Le typage phénotypique des tumeurs lymphoïdes, charpente de la plupart des classifications

**Tableau 36-V** Phénotype cellulaire des tumeurs lymphoïdes viro-induites.

Espèce	Agent viral	Type cellulaire tumoral
<i>Retroviridae</i>		
Poule	ALV	B
Souris	MFR-MuLV	B
	AKR-MuLV	(et non B, non T) T
Chat	FeLV	T (et B)
Bovin, ovin	BLV	B
Gibbon	GaLV	?
Homme	HTLV	T
<i>Herpesviridae</i>		
Poule	MDV	T
Lapin	<i>H. saimiri</i>	T
Marmouset et autres singes	<i>H. saimiri</i>	T
	<i>H. ateles</i>	T
Homme	EBV	B

modernes et notamment de celle de Kiel, a confirmé ce fait (Tableau 36-V).

### MULTIPLICITÉ DES MÉCANISMES DE LA LEUCÉMOGÈNESE

Les mécanismes moléculaires de la leucémogénèse induite par les virus demeurent incomplètement connus. Parmi les rétrovirus leucémogènes, on distingue les virus à action leucémogène aiguë et ceux à action leucémogène chronique. Les premiers possèdent des gènes de transformation — ou oncogènes — dont il sera question plus loin : ils induisent une tumeur après une période de latence brève, de quelques semaines à quelques mois. A l'inverse, les virus leucémogènes à action chronique ne possèdent pas ces gènes de transformation et induisent une leucémie après plusieurs mois, voire plusieurs années.

La plupart des tumeurs lymphoïdes virales qui surviennent spontanément chez l'animal sont provoquées par des virus leucémogènes transmis horizontalement et à action chronique.

Leur pouvoir oncogène pourrait résulter de l'activation d'un oncogène cellulaire présent dans la cellule hôte et à proximité duquel le provirus vient s'intégrer (c'est le cas du virus leucémogène

aviaire ALV, venant s'intégrer près d'un *c-myc* dont il induit l'expression). Ce mécanisme a reçu le nom de promotion par insertion ou vers l'aval (« *downstream-promotion* »). Il n'a pas encore été démontré pour les virus de mammifères, bien qu'un accroissement de l'expression de *c-myc* ait été observé dans les cellules leucémiques induites chez la vache par le BLV et qu'un réarrangement du même oncogène ait été retrouvé dans plusieurs cas de lymphosarcomes thymiques du chat associés au FeLV [2].

Des observations récentes faites sur le HTLV ont montré qu'une activation à distance du site d'intégration du provirus ou transactivation pouvait être le mécanisme responsable de la transformation.

### TOUTES LES TUMEURS LYMPHOÏDES SONT-ELLES D'ÉTIOLOGIE VIRALE ?

Les remarquables communautés que l'on constate entre les hémopathies lymphoïdes malignes, faites d'homologies morphologiques et d'analogies étiologiques, conduisent à s'interroger sur la similitude de leurs origines. La réponse est certainement négative puisque, notamment chez la souris, l'on sait induire des leucémies par irradiation — encore que ces manipulations aient fait apparaître des virus leucémogènes comme le RadLV — de même que par application de cancérogènes chimiques. Il n'en est pas moins vrai que les récentes acquisitions obtenues dans le domaine des rétrovirus leucémogènes chez l'homme, montrent que la liste des tumeurs lymphoïdes d'étiologie virale n'est pas close.

Quelques exemples, puisés dans la pathologie animale, sont révélateurs de la complexité de certaines situations dans ce domaine. Le cas des lymphosarcomes du chat, non associés au FeLV, est particulièrement surprenant [2]. Observés chez des animaux généralement âgés, dans un environnement épidémiologique d'infection endémique par le FeLV, ils ne contiennent pas de virus, mais celui-ci peut être réactivé à partir de la moelle hématopoïétique dans 80 p. cent des cas. Le FeLV pourrait ainsi induire des lymphosarcomes qui seraient dépourvus de virus. S'agit-il de l'état défectif d'une sous-population de la souche de FeLV infectieuse ? (cette situation se retrouve avec des souches de virus aviaire ALV et la souche Abelson de MuLV).



On peut toutefois supposer qu'une réponse immunitaire particulièrement efficace détruit le virus et les cellules qui le produisent, ne laissant subsister que des cellules transformées non productrices. Aucune réponse définitive n'est encore apportée à cette intéressante situation qui pourrait largement déborder le cas du FeLV.

Remarquablement cohérent en dépit de la multiplicité des entités pathologiques qui le constituent, le domaine des hémopathies lymphoïdes malignes est probablement le plus riche de la pathologie tumorale. On peut s'interroger sur l'origine de cette étonnante richesse. Un élément de réponse pourrait venir de la grande vulnérabilité d'une population cellulaire, les cellules lymphoïdes, qui, par ses fonctions, est en état de constante activation, de déplacement, de multiplication surtout, offrant sans cesse une cible idéale à l'agression virale.

## ONCOGÈNES

J. Ghysdael

Les rétrovirus sont les agents étiologiques de diverses tumeurs (carcinomes, sarcomes, leucémies) dans de nombreuses espèces animales. Parmi ces virus, certains se caractérisent par des propriétés hautement tumorigènes et la capacité de transformer morphologiquement plusieurs types cellulaires en culture. Ces propriétés résultent de la présence, au sein de leur génome, d'un gène spécifique ou oncogène viral. Les oncogènes viraux ont été acquis, lors du cycle répliatif des rétrovirus, par transduction de fragments de gènes cellulaires normaux (proto-oncogènes). Le cycle répliatif de ces virus inclut, en effet, la rétrotranscription de leur ARN génomique en un ADN double brin et l'intégration de cet ADN dans un chromosome de la cellule-hôte. L'intégration de l'ADN proviral à proximité d'un proto-oncogène cellulaire provoque l'expression incontrôlée de ce gène et, occasionnellement, son incorporation comme composant propre du génome viral.

Une quarantaine d'oncogènes viraux et de proto-oncogènes cellulaires ont été identifiés à ce jour. Les mécanismes moléculaires impliqués dans le mode d'action des oncogènes commencent à se préciser grâce, d'une part, à l'identification des fonctions biochimiques des produits de ces

gènes et, d'autre part, à la mise en évidence du rôle physiologique d'au moins certains proto-oncogènes cellulaires. Il apparaît en effet de plus en plus clairement que les produits des oncogènes viraux agissent en détournant certaines voies biochimiques centrales impliquées dans le contrôle de l'activité cellulaire.

Bien que la plupart des cancers humains ne soient associés à aucune étiologie rétrovirale, les anomalies chromosomiques qui caractérisent certains d'entre eux affectent l'expression des mêmes proto-oncogènes que ceux ayant donné naissance aux oncogènes rétroviraux.

## ONCOGÈNES DES RÉTROVIRUS

La première démonstration expérimentale de l'existence d'un oncogène rétroviral a été apportée par l'analyse génétique de la cellule transformée par le virus du sarcome de Rous (RSV) et la démonstration que l'expression de l'oncogène *v-src* de ce virus était seule responsable de ses propriétés oncogènes. Le développement des techniques de biologie moléculaire a permis une accélération rapide dans l'identification de nouveaux oncogènes et la démonstration que l'expression de ces gènes est à la fois nécessaire et suffisante à l'initiation et au maintien de la transformation néoplasique [12]. Alors que la plupart des rétrovirus hautement oncogènes ne possèdent qu'un seul oncogène, trois isolats de rétrovirus obtenus chez la poule se sont révélés porter deux oncogènes. L'analyse des propriétés biologiques de virus mutés pour l'un ou l'autre de ces gènes a clairement démontré que les propriétés transformantes et le potentiel tumorigène de ces virus résultaient d'un effet synergique des deux oncogènes. Ainsi, alors que l'expression de l'oncogène *v-erb-B* du virus de l'érythroblastose aviaire (AEV) est suffisante à l'induction et au maintien de la transformation érythroleucémique, l'expression de l'oncogène *v-erb-A* est responsable du blocage total de la différenciation de ces cellules en érythrocytes [15]. De même, la prolifération des cellules myéloïdes transformées par l'oncogène *v-myc* requiert la présence d'un facteur de croissance spécifique de la lignée myélomonocytaire de la poule. La coexpression d'oncogènes portant l'information génétique de protéines-kinases induit la sécrétion de ce facteur par les cellules transformées et l'établissement d'une boucle autocrine [17]. La notion de coopé-

ration entre oncogènes dans l'établissement du phénotype transformé n'est pas limitée à la transformation des cellules hématopoïétiques et joue probablement un rôle central dans le développement de la plupart des tumeurs.

### PROTO-ONCOGÈNES CELLULAIRES

L'origine phylogénique des oncogènes rétroviraux est restée obscure jusqu'à la découverte de séquences homologues au gène *v-src* du RSV dans le génome des oiseaux et des mammifères [25]. Il est clair, actuellement, que tous les oncogènes rétroviraux connus possèdent des séquences homologues dans l'ADN de tous les eucaryotes supérieurs. Ces séquences homologues ont les caractéristiques de gènes cellulaires normaux (proto-oncogènes) telles qu'une localisation chromosomique précise et une transmission mendélienne, un arrangement en exons/introns et leur expression en protéines dont les rôles physiologiques commencent à être clarifiés.

La croissance, les processus de différenciation et les activités métaboliques des cellules des organismes supérieurs sont sous la dépendance de signaux de type hormonal. La fixation de divers ligands extracellulaires (hormones, facteurs de croissance, inhibiteurs de la croissance, facteurs de différenciation...) à leur récepteur transmembranaire induit une série d'événements précoces dans la membrane plasmique et l'espace périmembranaire. Ces événements résultent dans une large mesure du couplage des récepteurs activés, par l'intermédiaire de protéines membranaires de type G [16], à des systèmes générateurs de seconds messagers intracellulaires (adénylate-cyclase/cAMP; guanylate-cyclase/cGMP; phosphatidylinositol-phosphohydrolase/diacylglycerol et inositol-phosphates...). Ces seconds messagers induisent à leur tour l'activation de voies biochimiques à action pléiotropique (cAMP/activation des protéines-kinases dépendantes du cAMP; diacylglycérol/activation des protéines-kinases C; IP3/mobilisation du  $Ca^{++}$  intracellulaire...). L'activation de ces voies permet l'amplification et la diversification du signal hormonal initial dans l'ensemble de la cellule — y compris le noyau — pour aboutir aux réponses terminales spécifiques du stimulus initial (par exemple, sécrétion, synthèse de l'ADN/division cellulaire, induction/répression de l'activité de gènes). D'autres ligands extracellulaires hydrophobes (hormones stéroïdes,

vitamine D<sub>3</sub>, hormones thyroïdiennes) se lient à des récepteurs nucléaires qui activent ou répriment directement la transcription de gènes spécifiques dans les tissus-cibles.

Il a été démontré que les produits de traduction de plusieurs proto-oncogènes cellulaires participent directement à ces voies de signalisation intracellulaires. Ainsi, on sait actuellement que plusieurs proto-oncogènes cellulaires portent l'information génétique de facteurs extracellulaires solubles agissant soit comme facteurs de croissance (par exemple, le proto-oncogène *c-sis* code pour la chaîne B du PDGF), soit comme déterminant du développement embryonnaire (par exemple, le proto-oncogène *c-int1* est homologue au gène *Wingless* de la *Drosophile*). D'autres proto-oncogènes portent l'information génétique de récepteurs de facteurs polypeptidiques de croissance/différenciation. Ainsi, il a été démontré que les proto-oncogènes *c-erb-B-1* et *c-fms* codent pour les récepteurs transmembranaires de l'EGF et du CSF, respectivement. Une homologie structurale très importante existe entre les produits de *c-erb-B-1* et *c-fms* et les récepteurs transmembranaires d'autres ligands extracellulaires comme le PDGF, l'insuline et les IGF-1/IGF-2. Cette homologie est également fonctionnelle puisque la fixation de leur ligand respectif au domaine extracellulaire de ces récepteurs stimule l'activité tyrosine-protéine-kinase de leur domaine intracellulaire. Alors que l'activité tyrosine-protéine-kinase de ces récepteurs est strictement dépendante de la fixation de leur ligand respectif, leurs versions oncogènes ont acquis, par mutation, une activité kinase constitutive.

Les produits des proto-oncogènes de la famille *ras* sont des protéines associées à la membrane plasmique capables de lier et d'hydrolyser le GTP, propriétés biochimiques similaires à celles des protéines de type G. Les couplages effectivement réalisés par les protéines *c-ras* restent à identifier. Les versions oncogènes des protéines *c-ras* ont acquis, par mutation, une activité GTPase réduite [23] et donc, en toute hypothèse, une efficacité couplante anormale.

Une conséquence de l'activation de divers récepteurs transmembranaires à la suite de la liaison de leur ligand est l'induction de la transcription de gènes spécifiques. Certains de ces gènes sont des proto-oncogènes (par exemple, *c-myc*, *c-myb*, *c-fos*, *c-jun*) portant l'information génétique de protéines nucléaires [13, 18, 26]. Bien que le rôle physiologique de la plupart de ces proto-oncogènes reste à définir, des résultats

récents ont montré que certains d'entre eux étaient impliqués dans la régulation de l'activité transcriptionnelle de gènes spécifiques. Ainsi, le produit du proto-oncogène *c-jun* est probablement identique au facteur de transcription AP1 [14], facteur impliqué dans l'induction de la transcription génique par les promoteurs tumoraux dérivés des esters de phorbol. D'autre part, le produit de traduction du proto-oncogène *c-erb-A* est un facteur de transcription dont l'activité est dépendante de la liaison des hormones thyroïdiennes L-T3 et thyroxine [24]. Les événements impliqués dans la conversion de ces proto-oncogènes en oncogènes sont multiples et impliquent des dérégulations de leur expression (transcriptionnelle et post-transcriptionnelle) et des modifications de l'activité de leur produit. En outre, des anti-oncogènes ont été reconnus; ils jouent certainement un rôle important dans la régulation des oncogènes.

#### IMPLICATION DES ONCOGÈNES CELLULAIRES DANS LE DÉVELOPPEMENT DES TUMEURS HUMAINES

On admet généralement que la progression tumorale est un phénomène à étapes multiples. De nombreux arguments expérimentaux indiquent qu'au moins certaines de ces étapes pourraient correspondre à l'activation d'oncogènes cellulaires distincts.

L'utilisation des techniques de transfert de gènes a montré que l'introduction de l'ADN extrait de tumeurs humaines solides ou d'origine hématopoïétique dans certaines lignées cellulaires était capable d'induire la transformation morphologique de ces cellules. Cette approche et d'autres ont permis de démontrer que 15 à 20 p. cent des tumeurs humaines possèdent une version oncogénique d'un des proto-oncogènes de la famille *ras*.

D'autres observations indiquent que des tumeurs spécifiques montrent une amplification du nombre de copies et une augmentation de l'expression d'un oncogène déterminé. Ainsi, le proto-oncogène *N-myc* semble être fréquemment amplifié dans les neuroblastomes, particulièrement aux stades terminaux de ces tumeurs, tandis que l'amplification du proto-oncogène *c-erb-B-2*

apparaît comme un facteur pronostic de l'évolution des carcinomes mammaires.

Il a été démontré que des translocations chromosomiques caractéristiques de certaines tumeurs affectent l'activité des proto-oncogènes. Ainsi, dans les leucémies myéloïdes chroniques, l'extrémité distale du bras le plus long du chromosome 9 est transposée sur le chromosome 22 qui a lui-même subi une délétion de son segment distal. La translocation réciproque qui en résulte 22q<sup>-</sup> est appelée le chromosome Philadelphie. Elle altère la structure du proto-oncogène *c-abl* [19]. Elle entraîne même une augmentation considérable de l'activité tyrosine-kinase de la protéine *c-abl* ainsi modifiée [21]. De même, dans les lymphomes de Burkitt, la position normale du proto-oncogène *c-myc* sur le chromosome 8 est modifiée par translocation dans le locus des chaînes lourdes [t(8;14)] ou légères [t(8;22);t(8;2)] des immunoglobulines [20]. La conséquence de cette translocation est la désorganisation du contrôle normal de l'expression du gène *myc*. En effet, alors que dans les lymphocytes B normaux l'expression de *c-myc* n'est induite à un haut niveau que lors de la transition G0 → G1 du cycle cellulaire, l'expression de *c-myc* dans les lymphomes de Burkitt est élevée de manière permanente. Un mécanisme comparable d'activation de *c-myc* a été retrouvé dans les plasmocytomes de la souris BALB/c et dans les immunocytomes de rats Louvain (cf. infra, Gammopathies monoclonales). La création de souris transgéniques exprimant *c-myc* de manière non régulée a permis de démontrer que l'expression constitutive de *c-myc*, bien qu'insuffisante à elle seule à l'induction de tumeurs lymphoïdes de type B, provoque une expansion polyclonale de cellules préleucémiques [22]. Un ou plusieurs autres événements dont la nature reste à définir seraient alors requis pour permettre, au sein de cette population, l'émergence d'un clone tumoral.

Les événements moléculaires observés dans le développement des tumeurs à étiologie non rétrovirale semblent donc impliquer l'activation d'oncogènes du même « réservoir » de gènes que ceux qui interviennent dans la genèse des oncogènes rétroviraux. Le mode d'action de ces oncogènes réside dans l'utilisation dérégulée de voies biochimiques dans lesquelles les proto-oncogènes cellulaires ont un rôle direct et dont la mise en œuvre est contrôlée, dans les cellules normales, par des signaux de type hormonaux.

## GAMMAPATHIES MONOCLONALES

H. Bazin, C. Thiriart

Les tumeurs de la lignée lymphocytaire B englobent des proliférations cellulaires à des stades de différenciation très divers. Certains de ces cancers concernent des lymphocytes B mûrs, des lymphoblastes ou même des plasmocytes. Toutes ces cellules, capables de synthétiser des immunoglobulines peuvent, au cours d'un développement tumoral, synthétiser de très grandes quantités d'immunoglobulines dites monoclonales ou protéines myélomateuses, ou encore paraprotéines. On distingue classiquement d'une part les tumeurs localisées, comme les lymphomes B et les plasmocytomes et, d'autre part, les tumeurs diffuses comme le myélome multiple ou la macroglobulinémie. Par esprit de synthèse, on regroupe les tumeurs non sécrétantes avec celles, sécrétantes, ayant des caractères plus ou moins identiques. Ce chapitre ne considérera que les désordres prolifératifs de la lignée lymphocytaire B accompagnés, au moins dans certains cas, d'une production importante d'immunoglobulines monoclonales.

### MYÉLOME MULTIPLE

#### Généralités

Le myélome multiple, appelé encore maladie de Kahler chez l'homme, est caractérisé par une prolifération lymphocytaire B ou plasmocytaire maligne localisée à la moelle osseuse. Elle a également été décrite chez le chien, le chat, le cheval, le porc, la vache et le lapin.

L'appellation reflète bien la pathologie particulière de ce type de tumeur qui atteint la plupart des os participant à l'hématopoïèse et des organes très variés tels le foie, la rate, les ganglions, les reins et, moins fréquemment, les poumons, les glandes surrénales, le pancréas et la prostate.

Le myélome multiple atteint surtout des individus d'âge mûr et des animaux adultes ou âgés. Chez le chien, où la maladie a été souvent diagnostiquée, l'âge moyen des animaux atteints est de 9 ans. Il ne semble pas y avoir de prédisposition nette, ni de race, ni de sexe.

Cette affection étant caractérisée par une symptomatologie imprécise et peu spécifique, sa faible fréquence apparente dans les populations canine et féline pourrait être le reflet de la difficulté du diagnostic.

#### Etiologie

L'étiologie du myélome multiple spontané est inconnue. L'hypothèse d'une étiologie virale a été avancée. On a aussi beaucoup parlé de prédispositions génétiques. Il est également possible que des phénomènes d'immunostimulation chronique puissent provoquer la prolifération d'un seul ou d'un nombre limité de clones de cellules donnant ainsi lieu à l'éclosion de tumeurs à plasmocytes. Cela se vérifie chez l'homme pour lequel l'incidence des myélomes multiples est inversement proportionnelle au niveau de vie. On a pu diagnostiquer des gammopathies monoclonales associées à des atteintes dermatologiques chroniques chez le chien, telles que pyodermites et séborrhées et à la péritonite infectieuse chez le chat.

#### Symptomatologie clinique chez le chien et le chat

Il est difficile de dégager un tableau clinique précis de la maladie tant ses manifestations sont nombreuses et variées [29, 31]. Celles-ci dépendent en effet de la localisation des tumeurs, du degré de destruction des structures normales, de l'intensité de production de l'immunoglobuline monoclonale, de ses propriétés physicochimiques, de son interaction avec les autres protéines sériques et enfin de la durée du processus malin.

Les animaux souffrant de myélome multiple développent habituellement des symptômes généraux tels que fatigue, dépression, perte de poids plus ou moins intense. Des symptômes digestifs tels qu'anorexie, vomissements, diarrhée avec méléna sont fréquents. La palpation révèle des ganglions soit de taille normale, soit légèrement hypertrophiés et la présence d'une ou plusieurs masses tumorales à localisations variées et dépressibles. Parfois, on observe de l'ascite contenant de nombreux plasmocytes à différents stades de différenciation.

Les animaux atteints de myélome présentent souvent une sensibilité accrue aux infections secondaires, due à l'émission, par les plasmocytes tumoraux, d'un facteur inhibiteur bloquant la prolifération des lymphocytes B normaux. En

par une symptomatique, sa faible prévalence canine et la difficulté du

spontané est la cause virale a été de prédisposable que des lésions chroniques puissent seul ou d'un seul donnant ainsi des érythrocytes. Cela explique l'incidence élevée de ce tumeur, souvent diagnostiquée par des examens associés à des anomalies chez le chien, diarrhées et à la

tableau clinique des manifestations sont les mêmes que celles-ci dépendent des tumeurs, de formes normales, de l'immunoglobuline sérique, des tests biochimiques, des autres protéines sériques processus malin. Le myélome multiple présente des symptômes généraux : perte de poids, troubles digestifs, diarrhée avec hématurie, on révèle des anomalies dans le sang, soit légèrement anémie ou plusieurs anomalies et dépression contenant de nombreux stades de

me présentent aux infections, les plasmocytes bloquant la réponse normale. En

outre, l'envahissement massif de la moelle osseuse par les cellules malignes peut provoquer une granulocytopenie expliquant aussi cette manifestation clinique.

On peut également observer une parésie, une paralysie et même, dans certains cas, une paraplégie. Ces symptômes locomoteurs sont rarement signalés chez le chat.

Toutes ces manifestations cliniques doivent être attribuées à l'envahissement de la moelle osseuse par les cellules malignes. On observe surtout des lésions des os du crâne, des côtes, du bassin, des parties proximales de l'humérus et du fémur et aussi, chez le chien, de la colonne vertébrale principalement dans sa portion lombaire.

Une anémie est régulièrement constatée. Les patients présentent souvent un tableau de diathèse hémorragique avec pétéchies, saignements divers (épistaxis, hémorragies gastro-intestinales, etc.) et temps de saignement prolongé. Polyurie, polydypsie, déshydratation sont fréquemment signalés chez le chien et le chat.

L'étude du sérum et des urines permet souvent de mettre en évidence la présence d'immunoglobuline complète [30] ou de fragments d'immunoglobuline, souvent associée à un déficit en immunoglobulines polyclonales normales.

L'immunoglobuline anormale est le plus souvent de classe IgG ou IgA, rarement IgM et exceptionnellement IgD ou IgE chez l'homme. Chez le chien, les myélomes à IgA sont beaucoup plus fréquents que ceux à IgG. Chez le chat, l'inverse est vrai. Chez certains sujets atteints, seule la chaîne légère de l'immunoglobuline est synthétisée. Elle passe sans difficulté le filtre rénal et est excrétée sous forme de protéine de Bence-Jones dans les urines, soit à l'état de monomère ou plus fréquemment sous forme de dimère. Sa concentration sanguine est très faible car son élimination rénale est rapide. On la retrouve dans à peu près 30 p. cent des cas de myélome canin. Elle est beaucoup moins fréquente chez le chat.

La biopsie osseuse est un élément important du diagnostic. Elle est préférable à une simple aspiration qui ne met pas en évidence d'éventuels amas de cellules tumorales. La présence de plus de 5 à 10 p. cent de plasmocytes tumoraux dans l'échantillon examiné associée aux autres éléments diagnostiques permet un diagnostic de certitude. Dans certains cas avancés, ce pourcentage peut atteindre 99 p. cent et la structure normale de la moelle n'est plus observée. Dans environ 20 p. cent des cas, aucune immunoglo-

buline anormale n'est produite. Ces myélomes sont appelés non sécrétants.

Le pronostic du myélome multiple est mauvais. En effet, le processus tumoral a tendance à s'étendre, entreprenant de plus en plus gravement les divers organes et interférant fortement avec leurs fonctions.

Chez le chien, la rémission moyenne est de 12 mois. Les myélomes félines semblent réfractaires à tout traitement.

### MACROGLOBULINÉMIE DE WALDENSTRÖM

La macroglobulinémie de Waldenström, ainsi nommée chez l'homme, est une entité clinique dans laquelle on assiste à la production massive d'une protéine monoclonale d'isotype IgM. Plusieurs cas de macroglobulinémie ont été décrits chez le chien. Un cas seulement a pu être diagnostiqué chez le chat. Cette entité n'a pas été décrite dans les autres espèces.

La frontière entre la macroglobulinémie de Waldenström et certaines leucémies lymphoïdes chroniques accompagnées d'une hyperproduction d'immunoglobulines sériques, souvent IgG parfois IgA ou IgM n'est pas clairement définie. En fait, dans les deux cas, il s'agit d'une prolifération lymphocytaire B plus ou moins polymorphe, sans arrêt de maturation. Une prolifération avec une forte hyperlymphocytose à caractère plutôt monomorphe et synthétisant peu d'IgM sera classée dans les leucémies lymphoïdes chroniques. Par contre, une prolifération à lymphocytose faible ou modérée, polymorphe associée à une forte hypermacroglobulinémie sera décrite comme une maladie de Waldenström. Toutes deux sont monoclonales et affectent principalement les organismes âgés. Un syndrome d'hyperviscosité sanguine est souvent associé à cette maladie, due à des taux extrêmement élevés d'IgM sérique.

L'urine contient des protéines de Bence-Jones dans environ la moitié des cas.

### LYMPHOMES ET PLASMOCYTOMES

Formes localisées ganglionnaires d'hémopathies malignes, les lymphomes portent souvent des marqueurs de lymphocytes B. Des formes très différenciées ainsi que des proliférations purement plasmocytaires se rencontrent chez l'homme et

chez l'animal. Trois modèles ont été particulièrement étudiés : le lymphome de Burkitt, le plasmocytome de la souris BALB/c et l'immunocytome des rats Louvain.

## Tumeurs

### *Lymphome de Burkitt*

Cette maladie peut être classée en variété africaine et variété euro-américaine. Elle affecte les lymphocytes B, du stade pré-B à celui de lymphocytes B mûrs. La variété africaine est associée étroitement au virus d'Epstein-Barr et à des stimulations antigéniques chroniques (infections ou paludisme) (voir plus loin).

### *Plasmocytome de la souris BALB/c*

Il existe chez la souris une incidence spontanée (environ 1 p. cent) de plasmocytome ou tumeur à plasmocytes, sécrétant des immunoglobulines monoclonales, dans la majorité des cas, chez les vieilles souris de souche C3H. Les tumeurs de ce type ont été utilisées, comme la 5563 qui sécrète une IgG2a monoclonale. Beaucoup plus intéressante, a été la découverte de Potter [32] montrant qu'il était possible d'induire des plasmocytomes chez la souris BALB/c, par injection d'huile minérale (non cancérigène) dans la cavité péritonéale de jeunes animaux. L'incidence est variable et peut aller jusqu'à environ 70 p. cent des animaux injectés.

### *Immunocytome des rats Louvain*

La souche de rats Louvain est capable de produire spontanément des immunocytomes (ou encore plasmocytomes) sécrétant des immunoglobulines. Ils apparaissent en très grande majorité dans le ganglion iléocœcal, à partir de l'âge de 8 mois. Cette incidence est d'environ 30 p. cent chez les mâles et de 15 p. cent chez les femelles [27].

### *Etiologie des lymphomes de Burkitt et des lymphomes associés*

Les tumeurs de Burkitt possèdent toutes une translocation réciproque impliquant un oncogène, le *c-myc*, et un chromosome ayant un gène de structure des immunoglobulines (chaînes lourdes ou légères kappa ou lambda). Des translocations très similaires ont été retrouvées dans les plasmocytomes des souris BALB/c et les immunocytomes des rats Louvain [28]. Il en résulte, dans

tous les cas, une activation de l'oncogène *c-myc* par les gènes d'immunoglobulines.

Ceci n'est cependant pas l'unique mécanisme de la cancérogenèse qui implique d'autres facteurs comme une stimulation antigénique répétée : paludisme ou infections chroniques, dans le cas des lymphomes de Burkitt et granulomes inflammatoires dus à l'injection d'huile minérale, dans celui des plasmocytomes des souris BALB/c.

## Immunoglobulines monoclonales synthétisées par les myélomes humains ou les plasmocytomes (immunocytomes) de rongeurs

Les protéines synthétisées en grande quantité dans le sérum des porteurs de telles tumeurs ont été une source très intéressante d'immunoglobulines.

Les isotypes IgD et IgE ainsi que les sous-classes d'IgA et d'IgG humaines ont été découverts grâce à ces protéines. Le modèle souris a été extrêmement utilisé dans les études de structure des gènes d'immunoglobulines. Le modèle rat a fourni les premières IgD et IgE monoclonales animales permettant des études expérimentales sur les rôles de ces isotypes. Ces deux modèles ont également procuré des lignées de fusion permettant l'obtention d'hybridomes et d'anticorps monoclonaux de souris et de rat.

## INFECTIONS PAR RETROVIRIDAE ONCOGÈNES

### INTRODUCTION

D. Portetelle, M. Mammerickx, A. Burny

La découverte de virus associés à des maladies néoplasiques chez l'homme et les animaux dépend de techniques expérimentales relativement complexes.

La méthode la plus directe et la plus rapide, mais qui n'est applicable que chez les animaux, est de transmettre la maladie, à partir de matériel tumoral à des animaux d'expérience, réceptifs à la maladie.

C'est ainsi que, dès 1908, fut découvert un des rétrovirus responsables de leucémie chez la poule. Par la suite, d'autres rétrovirus furent découverts; ils sont associés à des leucémies chez la poule, la souris, le chat et le bovin. Plus récemment furent isolés des rétrovirus dans des cas de leucémies humaines, ainsi que des virus de primates proches de ceux de l'homme.

Les virus de leucémie de la poule, de la souris et du chat se rencontrent à l'état de particules libres chez les animaux infectés; leur infectivité est dès lors facile à démontrer tant in vivo que dans un système approprié de culture de cellules in vitro.

Par contre, le virus de la leucémie bovine (BLV-Bovine Leukemia Virus, 1969) et les virus T-lymphotropes humains (HTLV-I, 1980 et HTLV-II, 1982) n'existent pas à l'état de particules libres dans le sang ou les tissus des individus infectés.

### RÉTROVIROSES AVIAIRES : COMPLEXE LEUCOSES-SARCOMES DE LA POULE ET RÉTICULO-ENDOTHÉLIOSE DU DINDON

A.-L. Parodi

Le groupe des virus du complexe leucoses-sarcomes aviaires comprend des virus de la famille des *Retroviridae*, responsables d'une grande variété de tumeurs de la poule domestique et d'autres espèces de gallinacés (Tableau 36-VI).

Tableau 36-VI Tumeurs de la poule et du dindon induites par des *Oncornavirinae*.

#### Poule domestique

Leucose lymphoïde  
Leucose érythroblastique (érythroblastose)  
Leucose myéloïde (myéloblastose, myélocytomatose)  
Sarcome des tissus conjonctifs  
Endothéliome (hémangiosarcome)  
Néphroblastome  
Hépatocarcinome  
Ostéopétrose

#### Dindon

Leucose lymphoïde  
Maladie lymphoproliférative  
Réticulo-endothéliose

Le plus largement distribué dans la population aviaire est l'agent de la leucose lymphoïde (Lymphoïd Leukosis Virus ou LLV). Il intervient comme virus auxiliaire vis-à-vis de virus défectifs (sarcomatogènes notamment) du groupe.

La réceptivité des poulets au LLV ainsi que leur état de résistance au développement d'une leucose après l'infection ont fait l'objet de travaux importants qui ont établi le rôle de facteurs génétiques, épidémiologiques et immunologiques dans l'aboutissement de l'infection.

Chez la poule, la sensibilité au virus LLV est sous la dépendance de facteurs génétiques. Elle dépend d'un gène autosomal de sensibilité dominant, situé au locus tv (pour tumor virus). On distingue un tva pour le sous-groupe A du virus et un tvb pour le sous-groupe B.

L'infection par le LLV peut être épigénétique (infection de l'œuf et de l'embryon) ou horizontale (notamment pour le poussin nouvellement éclos). L'infection épigénétique induit un état de tolérance immune et s'accompagne donc d'une virémie persistante.

L'infection horizontale est suivie d'une brève virémie accompagnée, dès les semaines suivantes, de l'apparition d'anticorps neutralisants. Ainsi, en fonction de la conjonction de ces facteurs, trois classes d'animaux adultes sont reconnues :

- les oiseaux non infectés : ils ne sont pas virémiques ( $V^-$ ) et n'ont pas d'anticorps ( $A^-$ );
- les oiseaux infectés congénitaux et tolérants ( $V^+$ ,  $A^-$ );
- les oiseaux infectés après l'éclosion ( $V^+$ ,  $A^+$ ).

Dans les élevages de poules, la majorité des adultes  $V^- A^-$  sont génétiquement résistants à l'infection et donc homozygotes pour le gène de résistance, récessif, au locus tv.

Les poulets issus d'adultes  $V^+ A^-$  développent fréquemment une leucose et leur descendance est lourdement infectée; elle formera la catégorie  $V^+ A^+$ . Les oiseaux de cette dernière catégorie sont majoritaires dans les élevages infectés. Dans leur descendance une proportion variable d'individus sera infectée épigénétiquement et tous auront des anticorps d'origine maternelle.

Seulement 1 à 2 p. cent des poulets infectés développeront une leucose. Ceci conduit à évoquer d'autres facteurs de résistance à la maladie, contrôlant le développement de la tumeur. Ces facteurs doivent être recherchés dans la constitution génétique des individus, dans le mode d'infection, l'âge auquel elle survient, ainsi que dans le statut immunitaire des oiseaux.

Un individu génétiquement sensible au virus infectant, aura un risque d'autant plus bas de développer une leucose :

— qu'il possède des anticorps d'origine maternelle;

— qu'il est infecté à un âge plus avancé (ce fait étant probablement en relation avec une meilleure aptitude à répondre immunologiquement);

— que la dose infectante de virus est faible.

Enfin, une immunosurveillance antitumorale est suspectée. Elle agirait sur les cellules infectées par le LLV ou encore sur des néoantigènes de membrane apparus sur les cellules lymphoïdes transformées.

Chez le dindon, l'agent responsable de la réticulo-endothéliose (Reticulo-Endotheliosis Virus ou REV) est un virus défectif; il nécessite pour sa multiplication un virus auxiliaire responsable d'une leucose lymphoïde dans cette espèce. Il existe, en outre, chez le dindon, une affection néoplasique lymphoïde, appelée maladie lymphoproliférative.

Ces virus sont moins bien connus que les virus de la poule. On sait qu'une transmission épigénétique ou horizontale est possible; cette dernière est associée à un état de tolérance immunitaire si elle survient dès l'éclosion.

#### RÉTROVIROSES DU CHAT : LA LEUCOSE FÉLINE ET LE SYNDROME D'IMMUNODÉPRESSION ACQUISE FÉLINE (SIDAF)

A.-L. Parodi

Parmi les espèces animales infectées par des rétrovirus pathogènes, le chat occupe une place tout à fait remarquable en raison d'affections multiples, tumorales ou non, induites par certains de ces virus (Tableau 36-VII).

#### Virus leucémogène félin (Feline Leukemia Virus ou FeLV)

Virus exogène du chat, ce rétrovirus a été initialement isolé de lymphosarcomes. Il s'agit d'un oncornavirus (virus oncogène à ARN) qui s'est avéré, depuis, être à l'origine de plusieurs types d'hémopathies malignes et de cancers

Tableau 36-VII *Retroviridae* félins.

<i>Oncornavirinae</i>	
RD 114	Endogène, xénotrope non pathogène
FeLV	Virus leucémogène félin, exogène, pathogène
Type A	Ecotrope; isolé de tous les chats infectés par le FeLV
Type B	Amphotrope; isolé de 50 p. cent des chats infectés par le FeLV
Type C	Amphotrope; rare (<1 p. cent)
Provirus FeLV-myc recombinant	Défectif
Séquences FeLV endogène	Défectif généralement type C
FeSV	Recombinant FeLV-oncogènes cellulaires
<i>Spumavirinae</i>	
FeSFV	Virus syncytial
<i>Lentivirinae</i>	
FTLV-FIV	Virus T-lymphotrope félin Virus de l'immunodéficience féline

divers, mais aussi d'anémies graves (Tableau 36-VIII) et surtout, en raison de sa fréquence, d'un syndrome d'immunodépression acquis (SIDAF).

L'infection virale est suivie d'une virémie transitoire qui va évoluer vers une infection productive persistante, ou vers une infection latente, ou encore vers la guérison.

Cette évolution est extrêmement variable selon les conditions de vie des animaux (Tableau 36-IX).

Elle semble, en grande partie, déterminée par l'âge auquel survient l'infection et par son caractère unique ou répétitif. L'état immunitaire de l'animal intervient également notamment par le développement d'anticorps neutralisants spécifiques d'un antigène glycoprotéique (gp 70) de l'enveloppe virale.

L'état d'immunodépression qui résulte de l'infection persistante, expose l'animal à de nombreuses infections et infestations ubiquistes (Tableau 36-X). Il est la conséquence d'anomalies des mécanismes de l'immunité cellulaire, humorale et non spécifique (Tableau 36-XI).

Certaines de ces déficiences sont directement liées à un antigène polypeptidique de l'enveloppe virale (p 15 E).

Une autre facette de la réponse immune au cours de l'infection par le FeLV a été décrite. Il s'agit d'une réponse humorale à un néoantigène



Tableau 36-VIII Pathologie induite par le FeLV.

Cellules et organes-cibles	Maladies prolifératives ou néoplasiques	Maladies dégénératives ou blastopéniques
Lymphocytes	Lymphosarcome	Atrophie thymique Lymphopénie SIDAF (FAIDS)
Cellules médullaires :		
C. mésenchymateuse	Réticulo-endothéliose	Pancytopénie
Erythroblaste	Myélose érythrocytaire	Erythroblastose
Myéloblaste	Erythroleucémie	Erythroblastopénie
Mégacaryocyte	L. myéloïde L. mégacaryocytaire	Myéloblastopénie Thrombocytopénie
Fibroblaste	Myélofibrose	
Ostéoblaste	Ostéosclérose médullaire Ostéochondromatose	
Rein		Glomérulonéphrite à immun-complexes
Fœtus		Avortements, résorptions
Fibroblastes	Fibrosarcomes multicentriques	

Tableau 36-IX Variabilité de l'épidémiologie de l'infection par le FeLV, selon le mode de vie des chats (d'après O. Jarrett [33]).

*Chats libres de sortir (généralement isolés)*

Taux d'infection	: 50 p. cent
Virémiques persistants	: 1 p. cent
Incidence des leucoses	: 0,05 p. cent

*Chats vivant dans un local clos (en colonies)*

Taux d'infection	: 80 p. cent
Virémiques persistants	: 40 p. cent
Incidence des leucoses	: 10 p. cent (maladies intercurrentes nombreuses)

présent à la surface des cellules infectées par le FeLV. Cet antigène ou FOCMA (Feline Oncornavirus Cell Membrane Antigen) serait un véritable néoantigène tumoral, comme semble l'indiquer la relation qui existe entre la réponse immune envers lui et l'absence de développement des tumeurs.

L'ensemble de ces considérations a conduit à imaginer une prophylaxie médicale de l'infection par le FeLV, basée sur l'obtention de vaccins

Tableau 36-X Affections associées au syndrome d'immuno-dépression acquis (SIDAF) du chat.

Lymphadénopathies
Pneumonies
Toxoplasmose
Hémobartonellose
Cryptococcose
Cryptosporidiose
Lésions cutanées
Infections virales : herpès et calicivirus
péritonite infectieuse

Tableau 36-XI Eléments de la déficience immunitaire induite par le FeLV.

*Immunité cellulaire*

- Lymphopénie
- Diminution numérique et fonctionnelle des lymphocytes T (réponse à IL-2)
- Accroissement numérique relatif des T-suppresseurs
- Diminution de la production de l'IL-2
- Activité réduite de la blastogenèse lymphocytaire
- Suppression des cellules NK
- Anergie cutanée

*Immunité humorale*

- Réponse immune diminuée aux GR du mouton et aux antigènes polypeptidiques synthétiques

*Immunité non spécifique*

- Dysfonctionnement des granulocytes neutrophiles
- Suppression de la production d'interféron gamma
- Hypocomplémentémie (immunocomplexes circulants)

possédant les antigènes gp 70 (anticorps neutralisants) et FOCMA (anticorps antitumoraux) et bien évidemment dépourvus de l'antigène p 15 E. Un vaccin inactivé et un autre obtenu par recombinaison génétique sont déjà proposés.

**Virus T-lymphotrope félin (FITL) ou virus immunodéficientaire félin (FIV)**

Un autre rétrovirus du chat a été isolé [34]. Il s'agit d'un *Lentivirinae* qui se manifeste par des infections opportunistes rebelles (gingivites, plaies cutanées, entérites). Il est encore imparfaitement connu, mais semble largement répandu dans la population féline (20 p. cent des chats malades en France). Son pouvoir immunodépresseur est démontré.

## LEUCÉMIE BOVINE

D. Portetelle, M. Mammerickx, A. Burny

Le virus BLV (Bovine Leukemia Virus) est l'agent étiologique de la maladie néoplasique la plus fréquente de l'espèce bovine; il s'agit d'une hémopathie lymphoïde encore appelée lymphome malin ou lymphosarcome [35, 36, 37].

L'infection naturelle a pu être observée également chez le mouton, le capybara, le buffle d'eau, les croisements bovin-zébu. L'infection expérimentale sans transformation néoplasique a été également démontrée chez le porc, le singe rhésus, le chimpanzé, le lapin et la chèvre où trois cas de tumeurs seulement ont été signalés.

Le virus BLV est un rétrovirus exogène à l'espèce qu'il infecte. Structuralement et fonctionnellement, il est apparenté aux virus T-lymphotropes humains isolés plus tardivement (HTLV-I et HTLV-II) : les séquences nucléotidiques indiquent qu'ils dérivent d'un ancêtre commun.

Une particularité commune à ces trois virus naturellement transmissibles est, qu'outre les gènes de structure, ils possèdent une région X située entre le gène d'enveloppe (env) et la longue séquence terminale répétée (LTR 3').

Cette région contient plusieurs cadres de lecture qui se superposent et dont l'un, X<sub>BL-1</sub>, code pour une protéine de transactivation de 34 000 daltons, capable d'augmenter le niveau d'expression des gènes placés sous la dépendance du promoteur viral [53] et probablement aussi le niveau d'expression de gènes cellulaires [36].

### Caractères généraux de la pathologie induite par le virus BLV

La pathologie de la maladie induite par le virus BLV chez le bovin se caractérise principalement par :

— l'absence d'une véritable virémie. Le provirus intégré est activé quand les cellules infectées sont cultivées *in vitro*, sans doute à l'abri de facteurs plasmatiques inhibiteurs [51], et grâce à une production de lymphokine(s) par des lymphocytes T [39];

— une longue période de latence (infection asymptomatique) pendant laquelle le seul signe de l'infection est la présence d'anticorps dirigés contre les protéines virales, principalement la

glycoprotéine d'enveloppe gp 51 (51 000 daltons) et la protéine majeure interne p 24 (24 000 daltons). Malgré leur titre élevé et leur pouvoir neutralisant *in vitro*, les anticorps anti-BLV ne peuvent bloquer l'apparition de la tumeur maligne;

— une phase de lymphocytose persistante qui n'apparaît que chez certains individus (10 à 30 p. cent), se caractérisant par l'accroissement parfois très important du nombre de lymphocytes circulants. Ceux-ci portent en surface des marqueurs de cellules B (chaîne  $\mu$ ) et de cellules T (CD5) [40]. De telles cellules sont normalement présentes en très faible proportion dans le sang circulant d'un animal adulte non infecté par BLV et sont généralement impliquées dans des maladies auto-immunes [41]. Une fraction seulement de ces lymphocytes ( $\pm 30$  p. cent) sont porteurs d'une information provirale;

— une phase tumorale atteignant seulement 0,1 à 10 p. cent des bovins infectés et la totalité des moutons infectés, au cours de la durée de vie normale de ces animaux.

Les cellules tumorales possèdent un antigène spécifique tumeur-associé; il existe une réaction croisée des anticorps monoclonaux spécifiques de tumeur avec des antigènes de tissus normaux du fœtus bovin [47]; cet antigène s'exprime également dans de nombreuses cellules dès l'installation de l'infection par BLV.

Les tumeurs sont toujours issues d'une cellule lymphoïde de type B. Les cellules tumorales possèdent toujours une copie du provirus BLV, complète ou partielle, intégrée au même endroit de leur génome pour toutes les cellules de la tumeur, et présentent de nombreuses anomalies chromosomiques. L'intégration du provirus n'est pas préférentielle pour un locus génétique particulier, et son expression n'est pas nécessaire au maintien des signes cliniques de la maladie.

Cet état latent du provirus présent dans des cellules tumorales n'est en général pas dû à une altération de structure : le provirus unique et complet d'une tumeur de mouton n'exprimant pas d'antigènes viraux est capable, une fois cloné et transfecté dans des fibroblastes, de s'exprimer à nouveau et de produire des particules virales susceptibles d'infecter expérimentalement un animal [52].

L'interruption momentanée de la synthèse d'un répresseur cellulaire, à un stade du cycle de division cellulaire ou à une étape de différenciation lymphocytaire, permettrait l'expression transitoire des antigènes viraux et expliquerait la

stimulation permanente du système immunitaire des animaux infectés par les antigènes viraux.

### Aspects immunologiques de l'infection par le virus BLV

Les sécrétions et le sang constituent les véhicules de l'infection.

La transmission est en grande partie iatrogène et liée aux pratiques zootechniques ou vétérinaires; les insectes piqueurs-suceurs jouent peut-être aussi un rôle [46].

Le sang d'un animal où abondent les lymphocytes infectés et capables d'exprimer le BLV est plus infectieux qu'un sang pauvre en lymphocytes porteurs de l'information virale [43].

La vitesse d'apparition des signes cliniques de l'infection expérimentale chez le mouton est directement proportionnelle à la dose de matériel infectieux administrée et reflète la probabilité plus grande d'infection des cellules-cibles à l'origine des tumeurs [44].

Quoique la glycoprotéine d'enveloppe gp 30 du BLV (30 kd) possède une séquence homologue à une région immunodépressive observée dans les protéines d'enveloppe transmembranaires d'autres rétrovirus, aucun effet immunodépresseur lié à la présence du BLV n'a pu être mis en évidence expérimentalement [38] ou observé cliniquement [45]; par contre, des lapins infectés expérimentalement souffrent de leucopénie et montrent des symptômes d'immunodéficience.

Le titre en anticorps anti-BLV croît pendant la progression de la maladie, parallèlement au niveau de lymphocytose observé chez les animaux et atteint des valeurs très élevées à la mort de l'animal en phase tumorale [45]; un pléomorphisme est observé dans la réponse humorale contre les antigènes viraux et dans la réactivité des isotypes [42].

Le diagnostic de l'infection est avant tout basé sur la recherche d'anticorps dirigés contre la gp 51 du virus : les anticorps monoclonaux jouent un rôle prépondérant pour la mise en évidence de variants BLV [48] et pour remplacer le test classique d'immunodiffusion par des tests ELISA indirects ou de compétition [49].

La vaccination contre le virus BLV doit tenir compte de la présence de variants [48] et constitue une alternative intéressante dans les méthodes de prévention, là où la maladie se révèle endémique. L'antigène gp 51 apparaît comme la cible idéale pour la mise au point d'un vaccin spécifique

contre le virus BLV. Toutefois d'autres antigènes viraux ne sont pas à écarter a priori.

### Conclusion

Il n'est pas encore possible d'établir un modèle susceptible d'expliquer entièrement les mécanismes de leucémogénèse par le BLV et l'incapacité du système immunitaire à combattre la maladie, une fois l'infection établie.

Il existe un équilibre subtil entre une série d'interactions intracellulaires et intercellulaires, où interviennent, de façon ponctuelle au moins, les antigènes viraux gp 51, gp 30, p 24..., la protéine transactivante p 34, une ou plusieurs lymphokines, des facteurs d'inhibition plasmatisques et intracellulaires, des cellules lymphoïdes porteuses du marqueur cellulaire CD5 et des cellules porteuses d'un antigène tumeur-associé.

La constitution génétique des individus, probablement corrélée à la présence d'haplotypes bien particuliers, joue également un rôle dans l'évolution de la maladie.

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de préparations antigéniques susceptibles d'induire une bonne réponse immune humorale et cellulaire contre le rétrovirus BLV.

## TUMEURS DU SYSTÈME IMMUNITAIRE DUES À DES VIRUS HERPÈS

### L. Cauchy

Les virus herpès peuvent provoquer des tumeurs du système immunitaire. Chez les oiseaux, le virus herpès de la maladie de Marek produit des tumeurs lymphoïdes dans plusieurs espèces et, chez les mammifères, un petit nombre de virus herpès sont reconnus comme oncogènes pour les cellules immunitaires.

### MALADIE DE MAREK DES OISEAUX

Initialement décrite par Marek en 1907 comme une polynévrite, elle consiste en l'infiltration des nerfs et d'autres tissus par des cellules lym-

phoïdes. Répandue dans le monde entier, c'est une maladie contagieuse due à un virus herpès isolé en 1967. Elle est fréquemment mortelle pour les jeunes adultes et les reproducteurs dans tous les élevages non vaccinés.

### Description de la maladie

Dans les conditions naturelles, la maladie clinique ne s'observe pas avant la huitième semaine, alors que, expérimentalement, elle peut tuer les poulets dès 4 semaines. Dans un troupeau, elle n'apparaît parfois qu'à 20 ou 24 semaines ou même plus tard encore.

Dans la forme dite *classique*, les premiers signes sont des troubles de la locomotion dus à l'invasion lymphocytaire des nerfs périphériques des pattes; ces troubles s'aggravent progressivement pour aboutir à la mort en 10 ou 15 jours. Quelques rares sujets peuvent guérir de troubles plus discrets.

Dans la forme *aiguë*, les premiers signes consistent en une paresse musculaire sans paralysie et une décoloration de la crête qui passent inaperçues. La mort survient rapidement. Cette forme correspond au développement rapide de tumeurs lymphoïdes.

Une maladie décrite comme une paralysie transitoire qui dure quelques jours a été rapprochée de la maladie de Marek, tandis qu'une forme cutanée appelé « skin leucosis » n'est décelable qu'à l'abattoir. Ces deux aspects sont attribués à une manifestation d'hypersensibilité.

Les lésions anatomiques et microscopiques sont facilement observables (Fig. 36-1). Les nerfs des pattes, des ailes, du système autonome sont hypertrophiés de façon irrégulière. Le foie, la rate, les gonades, le ventricule succenturié, les reins sont hypertrophiés et plus blancs. Le poumon est compact et jaunâtre. Des tumeurs blanches sont observées dans les muscles pectoraux, les cavités orbitales, la bourse de Fabricius. On n'observe que très rarement des tumeurs du cerveau. Dans la paralysie transitoire, les nerfs périphériques sont hypertrophiés, gris et mous. La forme cutanée apparaît à l'abattage après la plumaison, comme des boutons en relief centrés sur tous les follicules plumeux hémorragiques.

L'histologie fait apparaître une hétérogénéité des tumeurs, en particulier dans la forme nerveuse classique. De nombreuses cellules mononucléées de la série lymphocytaire sont disséminées parmi



Figure 36-1 Coq mort de maladie de Marek. Nombreux organes atteints par les tumeurs : poumon (p), testicule droit (td) et gauche (tg), bourse de Fabricius (bf).

les cellules normales des organes qu'elles comprennent jusqu'à les faire disparaître. Plusieurs types cellulaires sont représentés : lymphoblastes, petits lymphocytes, grandes cellules hyperbasophiles, plasmocytes (Fig. 36-2). Cette hétérogénéité suggère une nature *inflammatoire* malgré l'absence de cellules polynucléées. Dans les formes aiguës où l'homogénéité est beaucoup plus grande, presque toutes les cellules sont lymphoblastiques, ce qui confirme la nature *tumorale* des lésions.

L'immunohistochimie, utilisant des anticorps spécifiques des cellules T et B, a démontré que dans les lésions des nerfs, la plupart des lymphocytes sont de type T. Dans les formes aiguës des lésions viscérales (foie, gonades), il y a toujours des cellules T, mais on trouve une quantité notable (20 à 40 p. cent) de cellules B. D'autres cellules mononucléées ne sont pas marquées par les anticorps T ou B.

La mise en culture de cellules issues des tumeurs a permis d'isoler des lignées permanentes de cellules lymphoblastiques de type T, ce qui permet d'assimiler les tumeurs de la maladie de

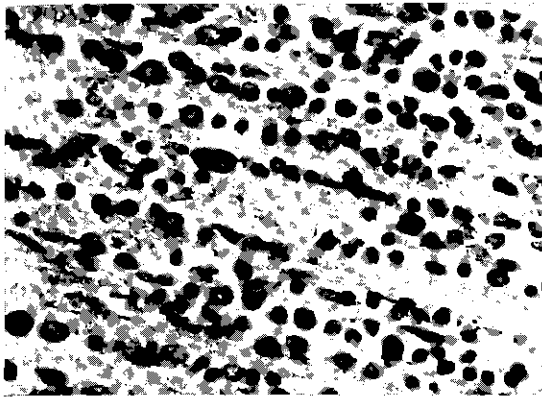


Figure 36-2 Coupe histologique de nerf sciatique tumoral. Les travées longitudinales de fibres nerveuses sont infiltrées par de nombreuses cellules mononucléées de types divers.

Marek à des lymphomes de type T. Néanmoins, on peut penser que d'autres cellules tumorales n'ont pas pu être établies en lignées permanentes comme les lymphocytes T.

La plupart des lignées lymphoblastoïdes portent un antigène de surface différent des antigènes T, embryonnaires et viraux, et qui n'est pas habituellement présent sur les lymphocytes normaux. Cet antigène a été considéré comme caractéristique de la tumeur (Marek Associated Tumor Surface Antigen - MATSA), bien qu'il ait été récemment reconnu sur un petit nombre de lymphocytes. Son expression dépend du cycle cellulaire.

A côté de ces lésions prolifératives, l'examen histologique a montré l'atrophie prématurée ou temporaire de certains tissus hématopoïétiques : moelle osseuse, bourse de Fabricius, thymus.

### Virus herpès

Il est sans aucun doute le seul agent responsable de la maladie de Marek. Plusieurs isolats ont été étudiés en fonction de leur pouvoir pathogène. L'un d'eux, issu du dindon (HVT), est particulièrement important puisqu'il est non pathogène pour le poulet et qu'il sert de vaccin.

Le virus herpès est toujours retrouvé dans les lymphocytes du sang et dans les cellules épithéliales de la peau des oiseaux infectés. Sa morphologie est caractéristique du genre virus herpès. Il est revêtu d'une large enveloppe dans les cellules de la peau; sous cette forme, il est extrêmement résistant dans le milieu extérieur. Dans les cellules

lymphoïdes infectées, le virus intégré est facilement détruit lors de la mort cellulaire. La biologie moléculaire de l'ADN viral a montré une analogie entre le virus du dindon (HVT) et les souches sauvages.

De nombreuses molécules peptidiques sont codées par le virus, en particulier celles qui composent les antigènes A et B.

Le virus herpès est cultivable in vitro sur des fibroblastes embryonnaires et des cellules rénales, mais les souches sauvages peuvent exiger une longue adaptation. Au cours des passages in vitro, les virus pathogènes peuvent s'atténuer.

### Pathogénie de la maladie de Marek

La multiplication du virus dans l'organisme n'est pas encore bien connue. La contagion naturelle se fait au niveau des voies respiratoires, par les particules issues de la peau. Expérimentalement, toutes les voies de contamination sont efficaces. Après les 4 premiers jours qui suivent l'infection de poussins, le virus est présent dans les lymphocytes du sang et des organes lymphoïdes sous sa forme intégrée, puis dans les cellules de la peau, les cellules rénales et les cellules de Schwann des nerfs. Il a été montré que les premiers lymphocytes infectés étaient ceux de la bourse de Fabricius avant l'infection des cellules du thymus et des autres organes lymphoïdes. La production virale est permanente et elle persiste toute la vie de l'individu, quelle que soit l'évolution des tumeurs. L'état de latence peut être aboli par l'effet d'immunodépresseurs.

La transformation tumorale est encore mal comprise : elle est en effet très difficile à observer dans les organes lymphoïdes. Dans les autres organes, les nerfs par exemple, elle est masquée par les microlésions accompagnant la multiplication du virus. L'intégration du virus dans le génome cellulaire ne conduit d'ailleurs pas toujours à une transformation de nature tumorale.

Les études cinétiques sur des groupes d'animaux ont montré que la formation de tumeurs histologiquement prouvées n'est pas immédiate mais dépend de la riposte immune. L'intervention d'agents immunodépresseurs peut accélérer l'évolution des tumeurs.

### Protection conférée par les réponses immunes

Les anticorps suscités par l'infection virale ont peu d'effets, tant sur la persistance du virus que

sur le développement des tumeurs. Les anticorps maternels transmis au poussin par le vitellus retardent l'infection naturelle dans les premiers jours de la vie mais n'augmentent pas la résistance à la progression des tumeurs. La présence des anticorps anti-MATSA suscités par les cellules tumorales est encore controversée.

La réponse cellulaire a été largement étudiée par diverses méthodes : ablation du thymus ou de la bourse de Fabricius, échange d'organes, échange de cellules, immunodépression par la cyclophosphamide, exploration *in vitro* des fonctions cellulaires (stimulation blastique non spécifique de lymphocytes, cytotoxicité, activité des cellules NK et des macrophages, teneur en complément, aptitude aux réponses humorales non spécifiques, hormones thymiques, lymphokines, hypersensibilité, expression des gènes d'histocompatibilité). Les modèles utilisés sont des oiseaux résistants aux tumeurs comparés aux oiseaux sensibles. La difficulté majeure consiste dans l'obligation d'infecter les oiseaux avec un virus herpès pathogène, dont la multiplication n'est pas maîtrisable malgré des essais utilisant des substances anti-virus herpès. Toutefois, les résultats ont démontré l'influence du thymus et celle d'un facteur génétique lié au complexe majeur d'histocompatibilité.

### Immunopathologie

L'action principale du virus s'exerce sur les organes et les fonctions immunes. L'injection de lymphocytes provenant d'animaux non infectés, histocompatibles ou non, peut restaurer partiellement l'immunité et rétablir une certaine résistance aux tumeurs. Au niveau de la peau, l'expression de la maladie dite « skin leucosis » s'explique par une réaction d'hypersensibilité à la multiplication du virus dans la gaine de l'épithélium du follicule plumeux. Au niveau des nerfs, une infection mesurée provoque une démyélinisation par destruction des cellules de Schwann. Des anticorps antimyéline sont détectés et les complexes immuns attirent des populations lymphocytaires porteuses du virus intégré, capables d'étendre les lésions et d'augmenter les chances de transformation tumorale.

### Résistance

La résistance a été observée dans différentes lignées de poulets soumis à la contagion.

Elle s'applique uniquement au phénomène tumoral et non à l'infection virale puisque tous les animaux, résistants ou sensibles, peuvent héberger le virus. Elle peut être spontanée ou acquise.

La *résistance spontanée* au développement des tumeurs lymphoïdes est dépendante du patrimoine génétique des poulets. Des lignées résistantes et sensibles ont été sélectionnées. En particulier l'un des allèles du complexe majeur d'histocompatibilité (B21) est associé à une forte résistance, à l'état homozygote. Dans une autre lignée présentant l'allèle B2, deux sous-populations ont pu être sélectionnées pour la résistance et la sensibilité respectivement. Les connaissances actuelles des fonctions liées au complexe majeur d'histocompatibilité chez le poulet ne sont pas encore suffisantes pour orienter vers celle des fonctions immunes qui est responsable de la progression ou de la régression des tumeurs. Une sélection des élevages effectuée sur ces bases pourrait ultérieurement aboutir à une augmentation de la résistance.

La *résistance acquise* a été démontrée en 1969 par l'injection de souches peu virulentes ou atténuées. Une dose vaccinale appropriée, injectée le premier jour après l'éclosion, protège pratiquement tous les oiseaux pendant leur « vie économique ». Comme pour la résistance spontanée, la résistance acquise ne s'adresse pas à l'infection virale qui est peu modifiée; les mécanismes de cette résistance sont d'ailleurs mal connus (interférence virale, anticorps neutralisant l'infection, stimulation de cellules cytotoxiques, etc.). L'efficacité de la vaccination est généralement très bonne mais on a décrit quelques résultats décevants attribués, lorsque la qualité du vaccin n'est pas en cause, à l'infection sauvage précoce, à l'action immunodépressive d'un autre virus passager, ou à l'existence de souches locales très pathogènes. De nouveaux types de vaccination sont actuellement à l'étude.

### TUMEURS DES PRIMATES À VIRUS HERPÈS

#### Lymphome de Burkitt de l'homme

En 1964, le virus herpès d'Epstein-Barr (EB) fut isolé à partir des lymphoblastes du lymphome de Burkitt observé chez des enfants africains en zones chaudes et humides subsahariennes. Le virus EB était alors considéré comme l'agent de la

phénomène que tous les ent héberger acquise.

opement des patrimoine résistances et particulier l'un incompatibilité résistance, à lignée présentes ont pu être la sensibilité actuelles des histocompatibilité encore suffisantes fonctions progression ou sélection des trait ultérieurement de la résis-

rée en 1969 virulentes ou ée, injectée ge pratique- vie écono- spontanée, la à l'infection canismes de connus (inter- l'infection, etc.). L'effi- lement très résultats déce- vaccin n'est précoce, à autre virus locales très vaccination

mononucléose infectieuse. Cette découverte a conduit à rechercher les virus herpès dans les tumeurs lymphoïdes animales et à étudier dans l'espèce humaine les mécanismes de l'infection et de la transformation maligne des lymphocytes. Une forme voisine, un cancer du nasopharynx, a été décrite en Asie.

L'infection est précoce et elle persiste toute la vie sous une forme latente, indépendamment de la formation de tumeurs. Toutefois, il existe des cas de lymphome de Burkitt où le virus n'est pas présent. L'association avec la malaria est incriminée sans qu'une confirmation décisive ait pu être apportée.

L'analyse cytogénétique des cellules B infectées a mis en évidence des translocations chromosomales t(8,14) ou t(8,22) ou t(8,2) qui transfèrent l'oncogène cellulaire *c-myc* à proximité immédiate de l'un des trois loci qui régulent la synthèse des immunoglobulines. La translocation la plus fréquente (70 p. cent des cas) déplace *c-myc* du bras long du chromosome 8 (8q-) vers la portion du bras long du chromosome 14 (14q+) qui porte les gènes assurant la synthèse des chaînes lourdes des Ig. Les translocations t(8q+,2p-) et t(8q+,22q-) transfèrent *c-myc* à côté des gènes contrôlant la synthèse respectivement des chaînes légères kappa et lambda des Ig. Les stades les plus immatures (pré-B 0 et pré-B 1A) sont rencontrés exclusivement dans les lignées cellulaires qui sont positives pour le virus EB et qui expriment le récepteur CR2/virus EB. Les substances anti-virus herpès qui bloquent la multiplication virale ne suppriment pas la possibilité de transformation.

L'influence des facteurs de milieu et de la génétique de l'hôte sur la transformation maligne des cellules infectées a attribué un rôle de facteur de risque au virus EB. La lutte contre cette tumeur pourrait donc être facilitée par une vaccination appropriée contre le virus herpès.

### Virus herpès des singes

Une famille de virus herpès montre des propriétés oncogènes chez les primates : le virus herpès Saimiri en est le plus connu. Ce virus ne provoque aucune lésion chez son hôte habituel, le singe *Saimiri sciurus*. Mais il déclenche des maladies lymphoïdes, des leucémies ou des lymphomes hépatiques, ganglionnaires, spléniques ou thymiques chez d'autres singes des genres *Aotus*, *Cebus*, *Ateles*. Les lésions anatomiques et

histologiques sont diverses, de type réticulaire ou lymphoblastique. Le lapin est très sensible à ce virus et meurt avec des lésions prolifératives de type lymphoréticulaire. La majorité des cellules tumorales est de type T. Le virus se multiplie aisément dans divers types cellulaires, le plus souvent sous sa forme intégrée. Il peut transformer in vitro les lymphocytes du singe *Aotus*. Ces particularités du pouvoir pathogène sont d'un grand intérêt pour les études sur la transformation tumorale des cellules du système immunitaire.

### BIBLIOGRAPHIE

#### Références générales

##### — Rétroviroses aviaires

BIGGS PM. The biology of avian leukosis. In : Leukemias, lymphosarcomas and papillomas : comparative aspects. PA Bachman ed., Taylor and Francis, Ltd London, 1980, pp. 233-246.

CRITTENDEN LB, PURCHASE HG, SOLOMON JJ et al. Genetic control of susceptibility to the avian leukosis complex. 1. The leukosis-sarcoma virus group. Poultry Sci, 1972, 51 : 242-261.

MCDUGALL JS, BIGGS PM, SHILLETO RW, MILNE BS. Lymphoproliferative disease of turkeys. II. Experimental transmission and aetiology. Avian Pathol, 1978, 7 : 141-155.

PAUL PS, POMEROY KA, SARMA PS et al. Naturally occurring reticuloendotheliosis transmission in turkeys. J Natl Cancer Inst, 1976, 56 : 419-422.

ROBINSON HL. Inheritance and expression of chicken genes that are related to avian leukosis sarcoma virus genes. Curr Top Microbiol Immunol, 1978, 83 : 1-36.

SPENCER JL, CRITTENDEN LB, BURMESTER BR et al. Lymphoid leukosis = interrelations among virus infections in hens, eggs, embryos and chicks. Avian Dis, 1977, 21 : 331-345.

##### — Rétroviroses du chat

BESMER P. Acute transforming Feline Retrovirus. In : Current Topics in Microbiology and Immunology, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 1983, 107 : 1-27.

HARDY WD Jr. Feline Retrovirus. In : G Klein, Advance in Viral Oncology, Raven Press, New York, 1985, 5 : 1-84.

HARDY WD, ESSEX M, MCCLELLAND AJ. Feline Leukemia virus. In : Developments in Cancer Res, vol. 4, Elsevier/North Holland Ed., New York, Amsterdam, Oxford, 1980, 552 pages.

NEIL JC, ONIONS DE. Feline Leukemia virus : Molecular and pathogenesis. Anticancer Res, 1985, 5 : 49-64.

PARODI AL. La leucose féline : développements récents sur l'étiologie et l'immunoprévention de la maladie. Comp Immun Microb Infect Dis, 1978, 1 : 21-30.

ROJKO JL, OLSEN RG. The immunobiology of the feline leukemia virus. Vet Immun Immunopath, 1984, 6 : 107-165.

YAMAMOTO JK, PEDERSEN NC, THEILEN GH. A comparison of feline leukemia-virus and the T-cell lymphotropic virus. P Am Ass Ca, 1988, 461.

— *Tumeurs du système immunitaire dues à des herpèsvirus*

- BIGGS PM. A discussion on the classification of the avian leukosis complex and fowl paralysis. *Brit Vet J*, 1961, *117* : 326-339.
- BUSCAGIA C, CALNEK BW, SCHAT KA. Effect of immunocompetence on the establishment and maintenance of latency with Marek's disease. Cornell University. *Am Assoc Avian Pathol Kennet Square*, 1988, *69* : 1067-1077.
- CAUCHY L, COUDERT F. La maladie de Marek. *Rev Sc Tech Off Int Epiz*, 1986, *5* : 1011-1024.
- MAZELLA O, CAUCHY L, COUDERT F, RICHARD J. Chicken thymocyte-specific antigens identified by monoclonal antibodies : characterization and distribution in normal tissues and in tumoral tissues from Marek's disease chicken. *Hybridoma* 1986, *5* : 319-328.
- MCCOLL KA, CALNEK BW et al. Expression of a putative-associated surface antigen on normal versus Marek's disease virus. *J Natl Cancer Inst*, 1987, *79* : 991.
- PAYNE LN. Marek's disease. Scientific basis and methods of control. M. Nijhoff, Boston, 1985.
- WITTER RL. New serotype 2 and attenuated serotype 1 Marek's disease vaccine viruses : comparative efficacy. *Avian Dis*, 1987, *31* : 752-765.

Références

- BIGGS PM. The biology of avian Leukosis. In : PA Bachmann, Leukemias, lymphomas and papillomas : Comparative aspects. London, Taylor and Francis, 1980, pp. 233-246.
- ESSEX M. Feline Leukemia and Sarcoma viruses. In : G Klein, *Viral Oncology*, New York, Raven Press, 1986, pp. 205-229.
- LENNERT K. Malignant lymphomas other than Hodgkin's disease. Berlin-Heidelberg, New York, Springer-Verlag, 1978, 883 pages.
- LILLY F, MAYER A. Genetic aspects of Murine C-type viruses and the hosts in Oncogenesis. In : G Klein, *Viral Oncology*, New York, Raven Press, 1980, pp. 89-108.
- LUKES RJ, COLLINS RD. Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer*, 1974, *34* : 1488-1503.
- NATIONAL CANCER INSTITUTE. Sponsored study of classifications of non-Hodgkin's Lymphomas : summary and description of a working formulation for clinical usage. The non-Hodgkin's lymphomas pathologic classification. *Cancer*, 1982, *49* : 2112-2135.
- PARODI AL, MIALOT M, CRESPEAU F et al. Attempt for a new cytological and cyto-immunological classification of bovine malignant lymphoma. In : O Straub, 4th Intern. Symp. Bovine Leukosis, ECSC, EEC, EAEC, Brussels-Luxembourg, 1982, pp. 561-571.
- PARODI AL. Pathology of enzootic Bovine Leukosis. Comparison with the sporadic form. In : A Burny and M Mammerickx, *Enzootic Bovine Leukosis and Bovine Leukemia virus*. M. Nijhoff publ. Boston, 1987, pp. 16-49.
- PARODI AL, DARGENT F, CRESPEAU F. Histological classification of Canine malignant lymphomas. *J Vet Med A*, 1988, *35* : 178-192.
- PATTENGALE PK, TAYLOR CR. Experimental models of lymphoproliferative disease : The Mouse as a model for human non-Hodgkin's lymphomas and related leukemias. *Am J Pathol*, 1983, *113* : 237-265.
- THEILEN G. Comparative aspects of natural occurring leukemias and lymphomas in Man and Animals in relation to causation, control and prevention : a synopsis. In : PA Bachman, *Leukemias, lymphomas and papillomas : comparative aspects*. Taylor and Francis, Ltd. London, 1980, pp. 253-263.

— *Oncogènes*

- BISHOP JM. Cellular oncogenes and retroviruses. *Ann Rev Biochem*, 1983, *52* : 301-354.
- BLANCHARD JM, PEICHACZYK M, DANI C et al. *c-myc* gene is transcribed at high rate in Go-arrested fibroblasts and is post-transcriptionally regulated in response to growth factors. *Nature*, 1985, *317* : 443-445.
- BOHMANN D, BOS TJ, ADMON A et al. Human proto-oncogene *c-jun* encodes a DNA binding protein with structural and functional properties of transcription factor AP1. *Science*, 1987, *238* : 1386-1392.
- FRYKBERG L, PALMIERI S, BEUG H et al. Transforming capacities of avian erythroblastosis virus mutants deleted in the *erbA* or *erbB* oncogenes. *Cell*, 1987, *32* : 227-228.
- GILMAN A. G proteins and dual control of adenylate cyclase. *Cell*, 1984, *36* : 577-579.
- GRAF T, WEIZSAECKER F, GRIESER S et al. *v-mil* induces autocrine growth and enhanced tumorigenicity in *v-myc*-transformed avian macrophages. *Cell*, 1986, *45* : 357-364.
- GREENBERG ME, ZIFF E. Stimulation of 3T3 cells induces transcription of the *c-fos* proto-oncogene. *Nature*, 1984, *311* : 433-438.
- HEISTERKAMP N, STEPHENSON JR, GROFFEN J et al. Localization of the *c-abl* oncogene adjacent to a translocation break point in chronic myelocytic leukaemia. *Nature*, 1983, *306* : 239-242.
- KLEIN G. The role of gene dosage and genetic transposition in carcinogenesis. *Nature*, 1981, *294* : 313-318.
- KONOPKA JB, WATANABE SM, WITTE ON. An alteration of the human *c-abl* protein in K562 leukemia cells unmasks associated tyrosine kinase activity. *Cell*, 1984, *37* : 1035-1042.
- LANGDON W, HARRIS AW, CORY S et al. The *c-myc* oncogene perturbs B lymphocyte development in *Em-c-myc* transgenic mice. *Cell*, 1986, *47* : 11-18.
- MCGRATH JP, CAPON DJ, GOEDEL DV et al. Comparative properties of normal and activated *ras* p21 protein. *Nature*, 1984, *310* : 644-649.
- SAP J, MUNOZ A, DAMM K et al. The *c-erbA* protein is a high-affinity receptor for thyroid hormone. *Nature*, 1986, *324* : 635-640.
- STEHELIN D, VARMUS H, BISHOP JM et al. DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature*, 1976, *260* : 170-173.
- TREISMAN R. Identification of a protein-binding site that mediates transcriptional response of the *c-fos* gene to serum factors. *Cell*, 1986, *46* : 567-574.

— *Gammapathies monoclonales*

- BAZIN H, DECKERS C, BECKERS A et al. Transplantable immunoglobulin secreting tumors in rats. I. General features in LOU/Wsl strain rat immunocytomas and their monoclonal proteins. *Int J Cancer*, 1972, *10* : 568-580.
- BAZIN H, PEAR WS, SUMEGI J. Louvain rat immunocytomas. *Adv Cancer Res*, 1987, *50* : 279-310.
- BUBLOT M, THIRIART C, GRAUWELS M et al. Myélome multiple à IgG compliqué du syndrome d'hyperviscosité chez un chien. *Ann Med Vet*, 1985, *129* : 555-564.



- ...nopsis. In : PA  
...l papillomas :  
...Ltd, London,
- ...ruses. Ann Rev  
...C et al. *c-myc*  
...sted fibroblasts  
...n response to  
...445.  
...Human proto-  
...g protein with  
...scription factor
- ...Transforming  
...mutants deleted  
...32 : 227-228.  
...l of adenylate
- ...*v-mil* induces  
...icity in *v-myc*-  
...1986, 45 : 357-
- ...3 cells induces  
...Nature, 1984,
- ...OFFEN J et al.  
...t to a transloca-  
...aemia. Nature,
- ...etic transposi-  
... : 313-318.  
...f. An alteration  
...leukemia cells  
...y. Cell, 1984,
- ...al. The *c-myc*  
...ment in Eμ-*c*-  
...-18.  
...l. Comparative  
...p21 protein.
- ...bA protein is a  
...Nature, 1986,
- ...l. DNA related  
...oma viruses is  
..., 1976, 260 :
- ...inding site that  
...*c-fos* gene to
- ...Transplantable  
...s. I. General  
...omas and their  
...10 : 568-580.  
...rat immunocy-  
...-310.  
...t al. Myélome  
...hyperviscosité  
...9 : 555-564.
30. GROULADE J, MOREL P, CREYSSSEL R et al. Un cas de paraglobulinémie chez le chien. Bull Acad Vet France, 1959, 6 : 354-356.
31. MATUS RE, LEIFER CE, MAC EWEN EG et al. Prognostic factors for multiple myeloma in the dog. JAVMA, 1986, 188 : 1288-1292.
32. POTTER M. Immunoglobulin producing tumors and myeloma proteins of mice. Physiol Rev, 1972, 52 : 631-719.
- *Rétroviruses du chat*
33. JARRETT O. Factors influencing the epidemiology of leukaemia in cats. In : Leukemias, lymphomas and papillomas : comparative aspects, PA Bachman, Taylor et Francis, Ltd, London, 1980 : 227-232.
34. PEDERSEN NC, HO WE, BROWN ML et al. Isolation of a T-lymphotropic virus from domestic cats with an immunodeficiency-like syndrome. Science, 1987, 359 : 790-793.
- *Leucémie bovine*
35. BURNY A, BRUCK C, CHANTRENNE H et al. Bovine Leukemia Virus : molecular biology and epidemiology. In : G Klein, Virla Oncology, New York, Raven Press, 1980 : 231-289.
36. BURNY A, CLEUTER Y, KETTMANN R et al. Bovine leukaemia : facts and hypotheses derived from the study of an infectious cancer. Cancer Surveys, 1987, 6 : 139-159.
37. BURNY A, MAMMERICKX M. Enzootic bovine leukosis and bovine leukemia virus. Boston, Martinus Nijhoff Publishing, 1987, 283 pages.
38. COCKERELL G, PARODI AL, LEVY D. Immunocompetence of sheep experimentally infected with bovine leukemia virus. Vet Immunol Immunopathol, 1986, 13 : 189-202.
39. CORNIL I, DELON P, PARODI AL et al. T-B cooperation for bovine leukemia virus expression in ovine lymphocytes. Leukemia, 1988, 2 : 313-317.
40. DEPELCHIN A, LETESSON JJ, LOSTRIE-TRUSSART N et al. Bovine leukemia virus (BLV)-infected B cells express the CD5 T-cell marker. Immunol Lett, 1989, 20 : 69-76.
41. HAYAKAWA K, HARDY R. Normal autoimmune and malignant CD5+ B cells : the LY-1 lineage. Ann Rev Immunol, 1988, 6 : 197-218.
42. HEENEY J, VALLI V, MONTESANTI J. Alterations in humoral response to bovine leukemia virus antigen in cattle with lymphoma. J Gen Virol, 1988, 69 : 659-666.
43. MAMMERICKX M, PORTETELLE D, DE CLERCQ K et al. Experimental transmission of enzootic bovine leukosis to cattle, sheep and goats : infectious doses of blood and incubation period of the disease. Leuk Res, 1987, 11 : 353-358.
44. MAMMERICKX M, PALM R, PORTETELLE D et al. Experimental transmission of enzootic bovine leukosis to sheep : latency period of the tumoral disease. Leukemia, 1988, 2 : 103-107.
45. MAMMERICKX M, ANTOINE O, BURNY A et al. Etude des relations entre l'infection par le BLV (Bovine Leukemia Virus), la lymphocytose persistante et les infections par d'autres agents infectieux dans un troupeau de bovins. Ann Med Vet, 1989, 133 : 515-524.
46. MANET G, GUILBERT X, ROUX A et al. Natural mode of horizontal transmission of Bovine Leukemia Virus (BLV) : the potential role of Tabanides. Vet Immunol Immunopathol, sous presse.
47. OKADA K, SAKAGUCHI I, NUMAKUNAI S et al. Existence of antigens cross-linking to tumor associated antigens of enzootic bovine leukosis in normal tissues of the bovine fetus. Jpn J Vet Sci, 1987, 49 : 373-377.
48. PORTETELLE D, COUEZ D, BRUCK C et al. Antigenic variants of Bovine Leukemia Virus (BLV) are defined by amino acid substitutions in the NH2 part of the envelope glycoprotein gp 51. Virology, 1989, 169 : 27-33.
49. PORTETELLE D, MAMMERICKX M, BURNY A. Use of two monoclonal antibodies in an ELISA test for the detection of antibodies to Bovine Leukemia Virus envelope glycoprotein gp 51. J Virol Meth, 1989, 23 : 211-222.
50. REINACHER M, THURMOND MC, ONUMA M et al. Immunohistological demonstration of virus and tumor associated antigens in tissues in experimental and spontaneous bovine leukemia virus (BLV) infection. Vet Immunol Immunopathol, 1988, BLV special issue, sous presse.
51. TAKAMATSU H, INUMARU S, NAKAJIMA H. Inhibition of in vitro immunocyte function by sera from cattle with bovine leukosis. Vet Immunol Immunopathol, 1988, 18 : 349-359.
52. VAN DEN BROEKE A, CLEUTER Y, CHEN G et al. Even transcriptionally competent proviruses are silent in Bovine Leukemia Virus-induced sheep tumor cells. Proc Natl Acad Sci USA, 1988, 85 : 9263-9267.
53. WILLEMS L, GEGONNE A, CHEN G et al. The bovine leukemia virus p34 is a transactivator protein. Embo J, 1987, 6 : 3385-3389.

A. Govaerts, O. Barta, V.-D. Barta

## DÉFICITS IMMUNITAIRES

Les déficits immunitaires ou immunodéficiences sont des syndromes résultant d'une réduction ou d'une absence de riposte immune, cellulaire et/ou humorale, aux antigènes étrangers. Ils s'accompagnent fréquemment d'une réduction de la tolérance aux autoantigènes et ainsi de l'apparition de syndromes auto-immuns.

Ils constituent une pathologie importante et variée tant chez l'homme que dans de nombreuses espèces animales et présentent un tableau clinique assez comparable dans les différentes espèces concernées (Tableau 37-I).

De nombreux déficits immunitaires, en général bien individualisés, sont congénitaux, presque toujours autosomiques récessifs ou liés au sexe. L'analyse génétique, dans les familles atteintes, tiendra compte de ces modes de transmission. Il conviendra aussi d'y être particulièrement attentif dans les élevages intensifs où les interventions et les manipulations génétiques telles que l'insémination artificielle, la fécondation in vitro, la superovulation, l'implantation ou le clonage

Tableau 37-I Pathologie associée aux déficits immunitaires.

### *Associations habituelles*

- Infections récurrentes
- Infections chroniques
- Infections par agents infectieux inhabituels (non ou peu pathogènes pour des sujets normaux)
- Infections post-vaccinales
- Inefficacité du traitement anti-infectieux
- Maladie du greffon contre l'hôte après transfusions sanguines

### *Associations fréquentes*

- Infections respiratoires et digestives dès la fin du sevrage
- Diarrhée chronique
- Infections cutanées répétées
- Ostéomyélite chronique
- Lymphadénopathies
- Hépatosplénomégalie
- Troubles de la croissance ou de la pilosité
- Thrombocytopénie et eczéma
- Albinisme partiel ou complet

d'embryons, risquent de propager des tares génétiques non diagnostiquées.

## DÉFICITS CONGÉNITAUX OU PRIMAIRES

Ils peuvent être complets, affectant aussi bien l'immunité humorale que cellulaire, ou ne concerner que l'une de ces réponses immunes.

### DÉFICITS IMMUNITAIRES COMPLETS

L'absence de cellules-souches, précurseurs des lignées lymphoïdes et myéloïdes est responsable des très rares cas de dysgénésie réticulaire et d'alymplocytose. Aucun traitement n'est efficace et la mort survient très vite après la naissance.

Le déficit immunitaire complet sévère (DICS) ou immunodéficiência combinée sévère (SCID : Severe combined immunodeficiency), peut résulter de plusieurs anomalies génétiques qui affectent le développement précoce, dans la moelle osseuse, des cellules lymphoïdes pré-T et pré-B, et s'accompagner de divers déficits enzymatiques spécifiques.

Dans l'espèce humaine, on distingue une forme autosomique récessive (environ 40 p. cent des cas) et une forme liée au sexe dans laquelle le gène responsable a été localisé en Xq11-13.

La forme autosomique récessive, également connue chez le cheval (particulièrement de race arabe), a été rapportée chez le chien et est suspectée dans d'autres espèces. Elle est due, chez l'homme, à l'absence d'une protéine de régulation du promoteur d'un gène de classe II du CMH ou, dans environ 30 p. cent des cas, à l'absence d'adénosine déaminase (ADA) dont la synthèse dépend du chromosome 20. L'ADA métabolise l'adénosine et la déoxy-adénosine en inosine et déoxy-inosine. En son absence, les deux nucléosides sont phosphorylés par les lymphocytes, bloquant la ribonucléotide-réductase et la synthèse d'ADN. Le déficit sévère des immunités cellulaire et humorale qui en résulte est très grave; beaucoup plus que ne l'est celui consécutif à l'absence (plus rare) d'un autre enzyme, la purine nucléoside phosphorylase, qui n'affecte que les lymphocytes T et l'immunité cellulaire.

Le tableau clinique, dès la disparition des anticorps maternels du nouveau-né (2 à 3 mois chez l'enfant, 3 à 8 semaines chez le poulain) comporte des infections répétées des voies respiratoires et digestives :

— infections bronchopulmonaires aiguës à *Pseudomonas aeruginosa*, *Pneumocystis carinii*...; diarrhée chronique à *Salmonella*, *Escherichia coli* ou staphylocoques, moniliase généralisée, viroses aiguës... chez le nourrisson;

— infections graves par des germes habituellement saprophytes, des virus ubiquistes (adénovirus) ou non et des parasites qui, chez le poulain normal, ne sont pas pathogènes. L'administration attentive de colostrum et la propreté de l'environnement retardent le développement de ces infections, mais sans les empêcher, et l'évolution est toujours mortelle.

Le diagnostic biologique repose sur :

— l'agammaglobulinémie (ou l'hypogammaglobulinémie sévère) avec absence d'anticorps naturels et immuns (chez le poulain, le taux des IgG d'origine colostrale peut parfois demeurer assez élevé pendant quelques semaines et rendre le diagnostic plus difficile);

— une lymphopénie profonde : les quelques cellules lymphoïdes ont un aspect lymphoblastique, il n'y a pas de lymphocytes T et on observe de rares lymphocytes B à des stades variables de maturation incomplète;

— une aplasie lymphoplasmocytaire de la moelle osseuse, un thymus et des ganglions lymphatiques atrophiques;

— la négativité des tests d'hypersensibilité retardée et la parfaite tolérance des greffons allogéniques;

— l'absence, in vitro, de riposte lymphoblastique à la stimulation par des mitogènes.

Le traitement du poulain est inexistant et tous les sujets atteints meurent avant 18 mois. Chez les enfants présentant un déficit en ADA, la transfusion sanguine répétée a donné quelques bons résultats dus à l'apport de l'enzyme par les globules rouges. Dans les autres formes, la greffe de moelle osseuse d'un germain HLA-identique pour les antigènes du CMH et la greffe de thymus sont indiquées, outre le traitement antibiotique des infections graves et le maintien en enceintes stériles.

### DÉFICITS DE L'IMMUNITÉ HUMORALE

Ils consistent en la réduction de la concentration ou l'absence totale d'une ou plusieurs classes d'immunoglobulines. Dans l'espèce humaine, on décrit l'agammaglobulinémie liée au sexe (ou maladie de Bruton), les hypogammaglobulinémies transitoire de l'enfant et tardive primaire, les

es aiguës à  
*Cystis cari-*  
*ella*, *Esche-*  
*liase* généra-  
 trisson;  
 es habituelle-  
 stes (adéno-  
 ez le poulain  
 ministration  
 de l'environ-  
 de ces infec-  
 évolution est

sur :  
 hypogamma-  
 d'anticorps  
 le taux des  
 is demeurer  
 nes et rendre

les quelques  
 lymphoblas-  
 et on observe  
 variables de

itaire de la  
 es ganglions

persensibilité  
 des greffons

lymphoblas-  
 gènes.

istant et tous  
 ois. Chez les  
 A, la transfu-  
 quelques bons  
 yme par les  
 nes, la greffe  
 LA-identique  
 fe de thymus  
 ibiotique des  
 en enceintes

## TUMORALE

concentration  
 ieurs classes  
 humaine, on  
 au sexe (ou  
 globulinémies  
 primaire, les

déficits sélectifs en IgA, en IgM, en IgG, ou en IgA et IgG avec hyper-IgM.

Chez les animaux, l'agammaglobulinémie complète est rare. Elle a été décrite chez le cheval et la poule, et est suspectée dans d'autres espèces. Les manifestations cliniques consistent en infections respiratoires, digestives, cutanées ou articulaires chez le poulain âgé de 2 à 6 mois; les sujets atteints meurent tous avant d'atteindre 18 mois. Les IgA et IgM sont habituellement absentes et la concentration d'IgG et d'IgG(T) demeure basse alors que la lymphocytose est normale ainsi que la réponse aux mitogènes T. Il n'y a cependant pas ou guère de lymphocytes B porteurs d'Ig de surface et les zones B-dépendantes des ganglions lymphatiques et de la rate sont atrophiques.

Chez l'homme, l'agammaglobulinémie est liée au chromosome X et régie par un gène situé en Xq21-22. Elle n'affecte que les garçons, dès l'âge de 3 à 4 mois, et consiste en une grande sensibilité aux infections bactériennes mais non virales, occasionnant des sinusites, bronchites, pneumonies... répétées ainsi que des méningites, septicémies, arthrites à mycoplasmes, entérites à *Lambli*... fréquentes. La concentration sanguine des Ig est inférieure à 5 p. cent de la valeur normale mais la lymphocytose est normale malgré l'absence de lymphocytes B. Les tests d'hypersensibilité retardée sont normaux et le rejet des greffons allogéniques s'effectue normalement. Pendant l'adolescence, ces sujets développent souvent des syndromes auto-immuns ou immunoprolifératifs. Le traitement consiste en l'injection, régulièrement répétée, d'immunoglobulines et en l'administration d'antibiotiques appropriés en cas de nécessité. La vaccination par virus vivants est formellement contre-indiquée.

L'hypogammaglobulinémie transitoire de l'enfant résulte d'une synthèse tardive par celui-ci d'IgG et d'IgA qui doivent normalement compenser la disparition progressive des Ig maternelles. Un état d'hypogammaglobulinémie temporaire s'installe (seules les IgM sont présentes à concentration normale) qu'il importe de ne pas confondre avec une maladie de Bruton car l'abstention thérapeutique est souhaitable.

L'hypogammaglobulinémie qui survient parfois chez l'adulte tient à une quasi-disparition précoce des lymphocytes B s'accompagnant d'hypo-IgG, hypo-IgM et d'absence d'IgA. Les infections pyogènes sont de plus en plus fréquentes, accompagnées de malabsorption digestive, et on observe

souvent une anémie hémolytique auto-immune et un carcinome gastrique.

Les déficits sélectifs en Ig sont nombreux et ont été reconnus dans plusieurs espèces.

Le déficit en IgG peut, chez l'homme, consister en l'absence complète d'une sous-classe; lorsqu'il s'agit des IgG1 les infections bactériennes sont fréquentes et sévères.

Chez le poulet, une réduction progressive des IgG dès le 50<sup>e</sup> jour après l'éclosion, partiellement compensée par une augmentation de l'IgM, est à mettre en rapport avec une infection virale. Une déficience sélective en IgG2 a été décrite dans une race de bétail danois, se traduisant par une forte incidence de pneumonie et de mammite gangreneuse dans les cas d'absence totale d'IgG.

Un déficit profond en IgM a été rapporté chez l'homme et le cheval, incriminé chez le chien et suspecté dans d'autres espèces. Les symptômes les plus révélateurs sont, chez le cheval, une pneumonie sévère, de l'arthrite, de l'entérite... qui s'avèrent le plus souvent mortelles avant l'âge de 10 mois. Dans les cas chroniques, la croissance du poulain est lente, entrecoupée d'infections répétées, et la mort survient dans la deuxième année. La concentration sérique des IgM est inférieure à 0,15 mg/ml, les IgG, IgA et la lymphocytose sont normales et les lymphocytes B expriment des IgM de surface.

Le déficit sélectif en IgA n'est pas rare (2 p. mille) dans l'espèce humaine, il est présent dans 80 p. cent des cas d'ataxie-télangiectasie et peut même être découvert chez des sujets cliniquement normaux. La symptomatologie est essentiellement faite de diarrhée chronique, de malabsorption et d'infections trachéobronchiques récurrentes. La lymphocytose est normale mais on ne trouve pas de plasmocytes à IgA; le taux sérique d'IgA est nul ou inférieur à 0,01 mg/ml. Dans les cas de déficit total, il est fréquent que les transfusions sanguines ou l'administration thérapeutique de l'Ig manquante fasse apparaître des anticorps anti-IgA.

Le déficit isolé en IgA a été reconnu chez le chien et le poulet hypothyroïdien. Les signes cliniques chez le chien Shar-pei sont principalement respiratoires (infections à *Bordetella bronchiseptica* et Parainfluenza canin) et cutanés. Les chiens de berger allemands atteints sont très sensibles aux entérites chroniques et aux parasitoses intestinales (*Giardia intestinalis*). Le diagnostic repose sur le dosage des IgA dans le sérum. La maladie est due à l'absence de

lymphocytes B producteurs d'IgA, qui pourrait être due au défaut de la commutation isotypique assurant normalement la synthèse d'IgA au cours de l'embryogenèse.

L'immunodéficience liée au sexe avec *hyper-IgM* consiste, chez les jeunes garçons uniquement, en une réduction importante de la concentration sérique en IgA et IgG, partiellement compensée par une augmentation des IgM et souvent des IgD. Le gène anormal est situé en Xq24-27; la cause serait aussi une absence de commutation isotypique des IgM en IgG puis IgA. La sensibilité aux infections, diverses manifestations auto-immunes et un risque accru de cancérisation (plasmocytome à IgM,...) sont les principales complications.

### DÉFICITS DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE

Ils sont bien connus chez l'homme et certains ont été décrits chez le chien et les bovins.

L'**aplasie thymique congénitale** (ou syndrome de Di George dans l'espèce humaine) résulte d'un défaut de l'embryogenèse des 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> poches endodermiques pharyngées donnant lieu à une aplasie du thymus et des parathyroïdes. Les conséquences en sont, pour le nouveau-né, une grande sensibilité aux viroses et aux mycoses ainsi qu'une tétanie néonatale constante. On ne trouve pas de lymphocytes T dans le sang ni dans les organes lymphoïdes secondaires. Les tests habituels de mesure de l'hypersensibilité retardée sont négatifs et le sujet tolère parfaitement les greffons allogéniques. Par contre, immunoglobulines et anticorps sont en concentrations normales, n'empêchant toutefois pas une sensibilité accrue aux infections virales, mycotiques et parasitaires.

Une situation similaire d'hypoplasie thymique congénitale a été décrite chez les chiens consanguins de Weimar sous le nom de nanisme immunodéficient. On observe une atrophie considérable du cortex thymique, une absence de lymphocytes T dans les zones thymodépendantes de la rate et des ganglions lymphatiques et un défaut d'hormone de croissance. Les symptômes apparaissent chez le chiot à l'âge de 6 ou 7 semaines et consistent en insuffisance pondérale, léthargie et infections persistantes conduisant inévitablement à la mort. Cette évolution peut cependant être enrayée par l'administration de thymosine et d'hormone de croissance. Le diag-

nostic fera appel aux tests habituels d'appréciation de l'hypersensibilité retardée et à la numération des lymphocytes T.

Le **syndrome de Nezelof**, autosomique récessif, associe chez l'enfant une aplasie thymique, une lymphopénie grave et une atrophie des organes lymphoïdes secondaires, à un nombre normal de plasmocytes et à une concentration normale d'Ig sériques. Les complications auto-immunes sont fréquentes.

Le **syndrome de Wiskott-Aldrich**, lié au chromosome X (Xp1.1.3), est un déficit mixte affectant, chez le jeune enfant, les cellules-souches communes aux lymphocytes et aux plaquettes. Le déficit de l'immunité cellulaire est progressif mais sévère, comportant une lymphopénie croissante, une thrombopénie avec anomalies morphologiques et enzymatiques, et un eczéma chronique. Les IgG et IgM ont une concentration sanguine souvent réduite; les tumeurs lymphoïdes sont fréquentes.

L'**ataxie-télangiectasie**, autosomique récessive, dont le gène responsable est localisé en 11q22-23 a, chez l'homme, une fréquence de  $2.10^{-5}$  naissances. Ataxie cérébelleuse survenant dès la deuxième année, télangiectasies conjonctivales et faciales apparaissant entre 5 et 15 ans, retard statur pondéral et infections récidivantes puis chroniques des voies respiratoires constituent une symptomatologie assez caractéristique, fréquemment compliquée par le développement d'un lymphome, d'une leucémie ou d'une maladie de Hodgkin. On note une absence quasi complète d'IgA dans 80 p. cent des cas et une élévation importante du taux sanguin d'alpha-fœtoprotéine.

### DÉFICITS DES CELLULES PHAGOCYTAIRES

Quoique les leucocytes polynucléaires ne soient pas de véritables cellules immunologiquement compétentes, leurs anomalies perturbent la fonction de défense assurée par le système immunitaire et provoquent ainsi des immunodéficiences.

La **granulomatose septique chronique** est, dans l'espèce humaine, liée au sexe par suite d'une délétion chromosomiale d'environ 3 000 kb en Xp2.1; le gène déficient code pour une protéine de 468 acides aminés (54 kd). La maladie n'affecte que les garçons, dès l'âge de 2 ans, et est souvent associée au phénotype Mac Léod du système Kell

d'apprécia-  
la numéra-  
que récessif,  
rmique, une  
des organes  
e normal de  
ormale d'Ig  
munes sont

lié au chro-  
éficit mixte  
es cellules-  
tes et aux  
cellulaire est  
ne lympho-  
avec anoma-  
ues, et un  
M ont une  
réduite; les

e récessive,  
en 11q22-23  
de  $2.10^{-5}$   
enant dès la  
onctivales et  
ans, retard  
vantes puis  
nstituent une  
e, fréquem-  
ement d'un  
maladie de  
si complète  
ne élévation  
etoprotéine.

res ne soient  
ologiquement  
ent la fonc-  
me immuni-  
odéficiences.

que est, dans  
suite d'une  
3 000 kb en  
e protéine de  
die n'affecte  
et est souvent  
ystème Kell

de groupes sanguins. Elle résulte d'une absence d'activité bactéricide par défaut de la NAD(P)H oxydase nécessaire au métabolisme oxydatif producteur d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et d'anions superoxyde. On observe une hépatosplénomégalie, des polyadénopathies, une hyperglobulinémie et une polynucléose réactionnelle comprise entre 20 000 et 80 000/μl. Le test au NBT (nitrobleu de tétrazolium) est positif (l'oxydation du colorant en formazan qui précipite en grains bleu foncé dans les granulocytes n'a pas lieu).

Une maladie très semblable est connue chez le chien sous le nom de syndrome granulo-cytopathogène. Les chiots développent des infections pyogènes de la peau, une gingivite, une ostéomyélite et montrent une polyadénopathie chez les Doberman; la rhinite chronique et les bronchopneumonies sont fréquentes. Le même test est d'application pour le diagnostic.

**La maladie de Chediak-Higashi**, maladie autosomique récessive, associe une absence de pouvoir cytotoxique des lymphocytes NK à des granulations cytoplasmiques géantes dans les leucocytes polynucléaires, granulations dues à l'incapacité des lysosomes à fusionner avec les phagosomes. Le chimiotactisme est réduit et il existe probablement d'autres défauts enzymatiques.

On observe, chez l'enfant, un albinisme oculocutané partiel, des infections bactériennes récidivantes et une splénomégalie. La maladie n'est pas particulière à l'espèce humaine mais a également été décrite chez le chat, les bovins, le vison et l'orque, ainsi que dans la mutation beige de la souris. L'albinisme complet ou partiel, les affections bactériennes récurrentes, l'hépatosplénomégalie et des lésions du système nerveux central constituent un tableau clinique assez caractéristique.

D'autres anomalies ont été décrites, telles que l'absence de glycoprotéines leucocytaires d'adhésion (LFA-1, Mac-1, gp 150,95).

### DÉFICITS EN FACTEURS DU COMPLÉMENT

**L'œdème angioneurotique héréditaire** est, chez l'homme, une affection autosomique dominante liée à un déficit en inhibiteur de la C1-estérase. L'activation incontrôlée de C4 qui en résulte conduit à la formation de nombreux complexes C4b2a ou C3-convertase qui clivent C3, produi-

sant ainsi en abondance C3a qui est une anaphylatoxine et qui augmente la perméabilité capillaire. Le tableau clinique comporte des crises brutales et répétées d'œdème localisé (au larynx, à l'abdomen et aux membres notamment) et des signes digestifs aigus qui peuvent durer 2 ou 3 jours.

**L'absence congénitale d'autres facteurs du complément** est fréquente et donne lieu à des :

- maladies auto-immunes (syndromes lupiques, connectivites, purpura d'Henoch-Schönlein, pour les déficits en C1q, C1r, C1s, C4, C2;

- infections graves et récidivantes par défaut d'opsonisation et troubles de la phagocytose pour les déficiences en C3, P, I;

- infections à gonocoques et méningocoques pour les insuffisances en facteurs C5 à C9 et en properdine.

Diverses anomalies (particulièrement un déficit en C3) ont aussi été rapportées chez des animaux de laboratoire et, occasionnellement, chez le chien. Un déficit en C3 paraît ainsi associé à des infections récurrentes à pneumocoques chez des épagneuls anglais. Le diagnostic repose évidemment sur l'étude sérologique et la mise en évidence d'un déficit spécifique en un facteur du complément. Une telle analyse doit être entreprise chaque fois que des infections bactériennes répétées ne peuvent être attribuées à des défauts en immunoglobulines.

### DÉFICITS ACQUIS OU SECONDAIRES

Les déficits immunitaires acquis sont beaucoup plus fréquents et diversifiés que les déficits congénitaux. Certes, les déficits immunitaires complets ne se rencontrent guère que dans des cas de dénutrition extrême, dans des états cachectiques terminaux consécutifs à des cancers généralisés, ou lorsqu'une aplasie médullaire résulte, notamment, d'une chimiothérapie intensive. Mais des déficits plus ou moins sévères de l'immunité cellulaire accompagnent de nombreuses infections virales, quelques infections bactériennes et parasitaires et plusieurs syndromes lymphoprolifératifs. Quant aux déficits de l'immunité humorale, ils peuvent être dus à une production réduite ou à une perte accrue d'immunoglobulines.

## DÉFICITS DE L'IMMUNITÉ HUMORALE

Une réduction temporaire ou prolongée de la production d'Ig est imputable à des pathologies extrêmement variées :

— malnutrition protéique de l'enfant (Kwashiorkor dans différents pays d'Afrique) se traduisant par une symptomatologie physique (œdèmes, ballonnement abdominal,...) et biologique (hypoalbuminémie, hypoglobulinémie) généralement compliquée par des infections chroniques ou récidivantes et par une très faible réponse immune aux vaccinations;

— carences minérales diverses : en zinc avec une réduction de l'immunité humorale mais surtout cellulaire (affectant particulièrement les lymphocytes T auxiliaires CD4 notamment chez la poule et les bovins de race danoise « Black Pied »); en fer dont la carence entraîne divers troubles métaboliques (myéloperoxydases leucocytaires,...); en cuivre, etc.;

— maladies lymphoprolifératives (à lymphocytes B) telles que le myélome multiple (chez l'homme, le chien et le chat) où la prolifération de plasmocytes producteurs d'Ig monoclonale déprime la synthèse des Ig polyclonales et la riposte immune primaire, et s'accompagne d'infections intercurrentes. La maladie de Waldenström (IgM monoclonale) et les leucémies lymphoïdes chroniques entrent aussi dans ce groupe;

— infections bactériennes (coqueluche,...) ou virales (rubéole congénitale,...).

Une perte massive d'Ig affectant la riposte immune peut s'observer dans : le syndrome néphrotique (perte d'IgG mais non d'IgM), les entéropathies exsudatives, les brûlures étendues, etc.

## DÉFICITS DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE

Le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA, AIDS : Acquired Immune Deficiency Syndrome) est assurément le plus connu de tous les déficits de l'immunité cellulaire causés par des virus. Apparu en 1981, il est dû à un rétrovirus appelé HIV (Human Immunodeficiency Virus) fait de deux copies d'une chaîne d'ARN d'environ 9 200 paires de bases liées à des protéines (dont

l'enzyme transcriptase inverse) pour constituer le nucléoïde.

Le HIV comporte deux variantes (le type I est actuellement beaucoup plus répandu que le II); il appartient, avec les virus HTLV (Human T Lymphotropic Virus I et II) responsables des leucémies humaines à cellules T, au groupe des lentivirus et est très proche aussi des virus simiens STLV (Simian T Lymphotropic Virus) et du FIV (voir chapitre 36). Sa structure génétique est assez bien connue : entre les 5'- et 3'-LTR (Long Terminal Repeat) on trouve les gènes *gag* (codant pour les antigènes spécifiques de groupe), *pol* (ADN-polymérase ou transcriptase inverse), *env* (codant pour les glycoprotéines d'enveloppe) et plusieurs autres gènes. Plusieurs des protéines et glycoprotéines caractéristiques de chaque type de HIV sont parfaitement connues et permettent le diagnostic de l'infection par les techniques ELISA et de l'immunotransfert.

Les cibles privilégiées du virus du SIDA sont les lymphocytes CD4 et les cellules nerveuses; dès sa pénétration dans le lymphocyte (par l'intermédiaire du récepteur CD4) l'ARN viral est linéarisé, transcrit par la transcriptase inverse en ADN double brin circularisé qui s'intègre dans le génome cellulaire, puis l'ADN viral sera transcrit en ARN traduit à son tour en protéines, le virus sera enfin assemblé et libéré.

La maladie, toujours mortelle, est transmise par les voies sexuelles (initialement limitée aux homosexuels multi-partenaires, elle est actuellement principalement hétérosexuelle) et parentérale chez les toxicomanes et les polytransfusés bien que, chez ces derniers, le dépistage généralisé des donneurs de sang porteurs sains du virus ait considérablement réduit le risque.

L'infection demeure toutefois, le plus souvent asymptomatique pendant plusieurs mois à plusieurs années et peut se traduire ensuite par une lymphadénopathie généralisée, de la fièvre, un amaigrissement important, des troubles digestifs, des signes cutanés (syndrome de Kaposi), une myéloencéphalite,... et de nombreuses infections « opportunistes ».

Les analyses biologiques montrent une réduction considérable du nombre des lymphocytes CD4 et la présence d'anticorps caractéristiques de diverses protéines de l'enveloppe virale ainsi que, éventuellement, la présence précoce d'antigène viral.

En octobre 1989, l'Organisation mondiale de la santé estimait qu'il y avait dans le monde environ 600 000 malades et au moins 10 millions de

constituer le

le type I est que le II); il (Human T responsables des groupe des virus simiens (S) et du FIV que est assez LTR (Long gag (codant groupe), pol nverse), env enveloppe) et protéines et que type de permettent le techniques ELISA

du SIDA sont nerveuses; dès (par l'inter- N viral est e inverse en ègre dans le sera transcrit nes, le virus

transmise par se aux homo- actuellement entérale chez és bien que, généralisé des du virus ait

plus souvent urs mois à suite par une a fièvre, un les digestifs, Kaposi), une es infections

nt une réduc- lymphocytes téristiques de ale ainsi que, ce d'antigène

mondiale de la onde environ millions de

porteurs de virus; la maladie demeure actuellement en pleine expansion dans divers pays et ne saurait être enrayée que par la généralisation d'une vaccination efficace car la chimiothérapie spécifique, si elle en réduit la mortalité, ne la guérit pas.

Une infection virale très semblable au SIDA est connue chez le macaque sous le nom de syndrome simien d'immunodéficience acquise et est due au virus SIV (Simian Immunodeficiency Virus, variante MAC), assez semblable au HIV. La maladie du macaque présente une symptomatologie voisine de celle du SIDA : réduction importante des lymphocytes T auxiliaires, anémie, neutropénie, gingivites nécrotiques, abolition des réactions lymphocytaires aux mitogènes et aux alloantigènes; les animaux meurent de lymphomes ou d'infections « opportunistes » à *Pneumocystis carinii* notamment. Ce virus SIV<sub>MAC</sub> ne provoque toutefois qu'une affection sub-clinique chez le singe vert d'Afrique qui est plus sensible à la variante SIV<sub>AGM</sub>.

Le chat est, lui aussi, sensible à un virus de ce groupe : le FTLV (Feline T-Lymphotropic Virus) qui est structurellement voisin mais antigéniquement assez différent du HIV, et qui provoque une symptomatologie variable faite d'amaigrissement, leucolymphopénie, lymphadénopathies et infections surajoutées (rhinite chronique, conjonctivite, gingivite, dermatite,...). Un autre virus, celui de la leucémie féline, est plus proche des virus leucémogènes humains HTLV-I et II; il en est de même du virus de la leucémie bovine (BLV : Bovine Leukemia Virus) tandis que le virus de l'immunodéficience bovine (BIV : Bovine Immunodeficiency Virus) confère aux bovins une maladie apparentée au SIDA : lymphadénopathies, amaigrissement, lésions du système nerveux central.

**De nombreux autres déficits** de l'immunité cellulaire, moins graves que le précédent, sont dus chez l'homme à des :

— virus : EBV (virus d'Epstein-Barr responsable du lymphome de Burkitt et de la mononu-

cléose infectieuse), CMV (cytomégalovirus), rougeole (surtout chez l'enfant), hépatite B, leucémies T,...

— bactéries responsables de la lèpre, de la tuberculose, de la brucellose,...

— parasitoses : candidose chronique,...

— syndromes lymphoprolifératifs : thymome, lymphomes, maladie de Hodgkin.

Chez l'animal, on connaît :

— la maladie de Gumboro de la poule, due à un birnavirus (Infectious Bursal Disease Virus : IBDV) provoquant une dégénérescence de la bourse de Fabricius et une diminution de la réponse immune humorale;

— diverses infections virales ou microbiennes ou des infestations à protozoaires (divers trypanosomes) et parasites.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARTA O. Laboratory Techniques of Veterinary Clinical Immunology. Springfield, Illinois, Charles C Thomas, 1984, 189 pages.
- BARTA O. Serum lymphocyte immunoregulatory factors (SLIF). Vet Immunol Immunopathol, 1983, 4 : 279-306.
- FELSBURG PJ, JEZYK PF. A canine model for combined immunodeficiency. Clin Res, 1982, 30 : 347-357.
- FRIEDMAN H, KLEIN TW, SZENTIVANYI A (Eds.). Immunomodulation by bacteria and their products, New York, Plenum Publishing Company, 1981, 308 pages.
- KRAKOWKA S, RINGLER SS, LEWIS M et al. Immunosuppression by canine distemper virus : modulation of in vitro immunoglobulin synthesis, interleukin release and prostaglandin E2 production. Vet Immunol Immunopathol, 1987, 15 : 181-201.
- MAUL DH, MILLER CH, MARX PA et al. Immune defects in simian acquired immunodeficiency syndrome. Vet Immunol Immunopathol, 1985, 8 : 201-214.
- MONTAGNIER L, BRUNET JB, KLATZMANN D. Le SIDA et son virus. La Recherche n° 167, Juin 1985, 750-760.
- PERRYMAN LE, MAGNUSON NS. Immunodeficiency disease in animals. In : RJ Desnick, DF Patterson, DG Scarpelli (Eds). Animal models of inherited Metabolic Diseases. New York, Alan R. Liss, Inc, 1982 : 271-305.
- WONG-STAAAL F, GALLO RC. Human T-lymphotropic retroviruses. Nature, 1985, 317 : 395-403.



J. Descotes

## IMMUNOTOXICOLOGIE

Si les effets indésirables des médicaments immunodépresseurs sont connus depuis plus de 20 ans, le concept d'immunotoxicologie est beaucoup plus récent. Définie comme « l'étude des événements pouvant conduire à des effets indésirables par suite d'une interaction de xénobiotiques avec le système immunitaire » [1], l'immunotoxicologie concerne aussi bien les altérations de la réponse immune normale provoquées par les médicaments et autres xénobiotiques (ou « immunotoxicité directe ») que l'induction par ces mêmes substances, d'une réponse qualitativement anormale (hypersensibilité ou auto-immunité).

Discipline très récente, elle a bénéficié des progrès de l'immunologie, mais il lui reste à développer, à standardiser et à valider ses propres modèles ainsi qu'à définir des critères d'évaluation spécifiques.

### CONSÉQUENCES POTENTIELLES D'UN EFFET IMMUNOTOXIQUE

Il ne suffit pas qu'une exposition chimique s'accompagne d'altérations immunologiques pour

que le xénobiotique en cause soit immunotoxique; encore faut-il que les altérations observées aient une traduction clinique, immédiate ou retardée. Les données disponibles dans ce domaine sont encore très incomplètes [3, 5]; on peut toutefois opposer deux situations assez différentes.

#### ALTÉRATION DE LA RÉPONSE IMMUNE NORMALE

S'il est bien démontré qu'un même agent pharmacologique peut, selon la dose ou le protocole d'administration, exercer un effet tantôt immunodépresseur, tantôt immunostimulant, les conséquences toxicologiques d'une immunodépression ou d'une immunostimulation sont nettement distinctes.

#### Conséquences d'une immunodépression

La baisse de résistance vis-à-vis des infections microbiennes en est la plus classique, que l'immunodépression ait ou non une origine toxique. La

nature des infections dépend du déficit immunitaire en cause, infections à germes intracellulaires ou à levures opportunistes et infections virales sévères pour les déficits des lymphocytes T, infections à germes pyogènes et certaines infections virales pour les déficits des lymphocytes B, par exemple.

L'augmentation de l'incidence de certains cancers est le second problème majeur : les patients soumis à une chimiothérapie prolongée présentent un risque accru vis-à-vis de certains cancers, notamment les lymphomes. Si le pouvoir cancérogène/mutagène des agents cytostatiques ou une éventuelle prédisposition individuelle peuvent rendre compte de l'apparition de ces cancers, les données obtenues chez les malades transplantés, soumis à une immunodépression prolongée, plaident en faveur du rôle de cette dernière [9]. Les registres du cancer montrent d'ailleurs deux pics distincts : un pic précoce (au bout de quelques mois à deux ans) constitué surtout de lymphomes, et un pic plus tardif (au-delà de 10 ans), fait de tumeurs solides probablement plus en rapport avec un effet cancérogène.

### Conséquences toxiques d'une immunostimulation

Elles sont moins bien définies, les médicaments immunostimulants étant encore trop récents. On peut assimiler les conséquences toxiques d'une immunostimulation aux effets indésirables de ces médicaments. Quatre conséquences d'importance très différente ont été signalées [4] : les réactions pseudo-grippales, peut-être directement en rapport avec la production d'interleukine 1 et/ou de TNF; l'exacerbation d'une maladie sous-jacente chronique (herpès, brucellose, maladie de Crohn, lupus...); l'augmentation de la fréquence de phénomènes allergiques, théoriquement possible, mais peu documentée; des interactions médicamenteuses enfin, par une inhibition des cytochromes P 450 laquelle implique encore une fois l'IL-1.

### INDUCTION D'UNE RÉPONSE QUALITATIVEMENT ANORMALE

#### Réactions d'hypersensibilité

Les médicaments et les xénobiotiques sont susceptibles de sensibiliser un individu exposé,

soit directement, soit indirectement, la molécule-mère ou ses métabolites jouant alors le rôle d'haptène. Ces réactions allergiques représentent la pathologie « immunotoxique » la plus fréquente [5]. L'opposition classique effet toxique/effet allergique ne résiste pas toujours à l'analyse, comme le montre le mécanisme de certaines hépatites médicamenteuses. Un effort de recherche est nécessaire pour développer des modèles expérimentaux prédictifs dans ce domaine.

#### Maladies auto-immunes

Elles sont également importantes en termes d'immunotoxicité [2]. Leurs mécanismes sont parfois encore mal connus. Les lupus induits sont les plus classiques bien qu'exceptionnels, un nombre limité de médicaments pouvant être incriminés (hydralazine, procainamide, acébutolol, isoniazide, chlorpromazine...), les produits chimiques n'étant que très rarement en cause.

D'autres maladies auto-immunes peuvent avoir une origine médicamenteuse, citons les myasthénies de la pénicillamine ou les anémies hémolytiques auto-immunes de l'alphaméthylidopa. Plus difficile et plus fréquent est le problème des autoanticorps de découverte fortuite, sans traduction clinique et de signification pathologique controversée.

### MÉTHODES D'ÉTUDE EN IMMUNOTOXICOLOGIE

Il n'existe actuellement aucun test spécifique à l'immunotoxicologie, tous les tests proposés étant directement issus de l'immunologie [1, 8].

#### HISTOPATHOLOGIE

L'examen histopathologique est, a priori, un élément important de toute exploration immunotoxicologique. Il peut comporter la simple pesée des organes lymphoïdes qu'il faudra toujours rapporter au poids corporel; on pourra lui adjoindre un examen histologique, voire immunohistochimique, une numération-formule avec éventuellement numération des lymphocytes B et T, et des sous-populations de lymphocytes T.

la molécule-  
alors le rôle  
représentent  
plus fréquente  
toxique/effet  
à l'analyse,  
de certaines  
n effort de  
développer des  
fs dans ce

es en termes  
anismes sont  
s induits sont  
tionnels, un  
ant être incrim-  
acébutolol,  
produits chimi-  
cause.

peuvent avoir  
les myasthé-  
ies hémolyti-  
yldopa. Plus  
problème des  
sans traduc-  
pathologique

GIE

t spécifique à  
proposés étant  
[1, 8].

a priori, un  
tion immuno-  
simple pesée  
udra toujours  
n pourra lui  
voire immuno-  
ormule avec  
phocytes B et  
phocytes T.

## TESTS FONCTIONNELS

Des tests fonctionnels viendront compléter l'examen histologique du système lymphoïde. Les paramètres les plus souvent proposés sont, pour la composante humorale de la réponse immune, le dosage des immunoglobulines sériques totales ou d'anticorps dirigés contre un antigène défini T-dépendant (globules rouges de mouton, albumine, anatoxine, par exemple) ou T-indépendant (LPS). Soit on dosera les anticorps circulants (hémagglutination, ELISA), soit on pratiquera une numération des plages d'hémolyse directes (IgM) ou indirectes (IgG). En ce qui concerne la composante cellulaire, on pourra utiliser un test d'hypersensibilité retardée vis-à-vis d'un antigène défini (globules rouges, albumine) ou un test d'hypersensibilité de contact (dinitrochlorobenzène (DNCB), chlorure de picryle, oxazolone) ou encore apprécier, *in vitro* ou *ex vivo*, la réponse proliférative des lymphocytes T, en présence des mitogènes (PHA, con A) ou au sein d'une culture mixte, et enfin, le rejet d'allogreffes (peau, rein). L'exploration des défenses non spécifiques de l'hôte pourra comporter l'étude de la phagocytose et du chimiotactisme. L'activité NK est aussi souvent étudiée.

## TESTS GLOBAUX

Ils sont nécessaires pour vérifier les conséquences d'éventuelles altérations fonctionnelles. Les modèles d'infections expérimentales sont primordiaux qu'il s'agisse d'infections bactériennes, virales ou parasitaires. Des tests de résistances vis-à-vis de tumeurs implantées ou des animaux sensibles à des maladies auto-immunes (souris NZB/NZW) peuvent également être utilisés.

## DÉTECTION DES PROPRIÉTÉS ALLERGISANTES

Les tests prédictifs en matière d'allergie sont insuffisamment développés. Les tests de sensibilisation cutanée chez le cobaye sont très utilisés et n'explorent sans doute pas que le pouvoir sensibilisant de contact. Le test du ganglion poplité semble intéressant pour prédire un risque de réactions d'hypersensibilité, mais aussi de patho-

logies auto-immunes [6]. D'autres tests sont à mettre au point.

## PRINCIPES D'UNE EXPLORATION IMMUNOTOXICOLOGIQUE

Il n'existe pas, à l'heure actuelle, de directives précises en matière d'immunotoxicologie [1]. Ce relatif vide réglementaire s'accompagne d'ailleurs d'une absence de procédures standardisées et validées. Ainsi, il n'est pas actuellement réaliste de proposer une exploration immunotoxicologique fiable du risque d'auto-immunité et d'hypersensibilité. Même en se limitant à la mise en évidence d'une éventuelle immunotoxicité directe comme c'est généralement le cas aujourd'hui, de nombreuses questions restent sans réponse : choix de l'espèce, de la dose, de la voie d'administration, de la durée d'exposition, du caractère systématique ou pas de l'exploration immunotoxicologique...

Il est généralement admis que cette exploration devra s'effectuer en plusieurs étapes. La première étape comportera un examen histologique et un nombre réduit de tests fonctionnels (deux ou trois) explorant la réponse humorale, la réponse cellulaire et/ou la phagocytose; en cas de modification des réponses immunes, la seconde étape cherchera à confirmer les résultats initiaux et surtout à en déterminer les conséquences éventuelles en termes d'immunotoxicité, en recourant alors surtout à des tests globaux de résistance.

## EXEMPLES DE PRODUITS IMMUNOTOXIQUES

Si le plus grand nombre de données disponibles en matière d'immunotoxicité provient d'études conduites chez l'animal de laboratoire, la recherche d'altérations immunologiques d'origine toxique chez les animaux domestiques est encore exceptionnelle [7]. Beaucoup d'auteurs ont décrit l'existence d'altérations immunologiques à la suite d'une exposition chimique ou médicamenteuse sans pour autant que celles-ci aient réellement une traduction pathologique évidente [4].

Parmi les produits probablement immunotoxiques, les biphényles, les hydrocarbures polycycliques, certains métaux lourds, le benzène et des médicaments, antimitotiques antiépileptiques, antihypertenseurs, antirhumatismaux... sont les plus fréquemment cités (Tableau 38-1).

Dans le domaine de la médecine vétérinaire, les exemples sont extrêmement rares. Le plus classique est celui des biphényles polybromés (PBB) :

**Tableau 38-1** Exemples de quelques produits immunotoxiques

Produits	Rongeurs	Homme
<b>Hydrocarbures polycycliques</b>		
dioxine	+++	±
PCB	+++	+++
PBB	+++	+++
hexachlorobenzène	+++	(?)
benzène	++	±
méthylcholanthrène	+++	(?)
benzo(a)pyrène	+++	(?)
<b>Métaux lourds</b>		
plomb	+++	(?)
mercure	++	(?)
cadmium	+++	(?)
dérivés organiques de l'étain	+++	(?)
<b>Autres polluants</b>		
ozone	++	++
DDT	++	(?)
mycotoxines	+++	(?)
alcool	+++	+++
tabac	+++	+++
<b>Médicaments</b>		
antiépileptiques (phénytoïne...)	+++	+++
antihypertenseurs (hydralazine...)	±	+++
antimitotiques	+++	+++
antirhumatismaux (pénicillamine)	++	+++
psychotropes (phénothiazines)	+++	++

en 1973, l'introduction accidentelle de PBB dans des aliments pour le bétail a été à l'origine d'une intoxication collective affectant des milliers d'animaux (volailles, bétail) qui durent être abattus. Chez l'animal, comme d'ailleurs chez l'homme, les PBB se sont avérés fortement immunodépresseurs.

L'absence de réelle standardisation et de validation des tests proposés rend l'interprétation des résultats obtenus tout à fait aléatoire dans la plupart des cas d'autant plus que les données humaines sont pratiquement inexistantes. Un effort alliant immunologistes et toxicologues semble donc indispensable pour répondre aux multiples questions que pose l'immunotoxicologie.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BERLIN A, DEAN J, DRAPER MH et al. Immunotoxicology, Dordrecht, Martinus Nijhoff, 1987, 495 pages.
2. BIGAZZI PE. Autoimmunity induced by chemicals. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1988, sous presse.
3. DESCOTES J. Immunotoxicology of drugs and chemicals, 2<sup>e</sup> Ed., Amsterdam, Elsevier Science, 1988, 444 pages.
4. DESCOTES J. Immunomodulating drugs. *In* : MNG Dukes, Meyler's Side-Effects of Drugs, 11<sup>e</sup> Ed., Amsterdam, Elsevier Science, 1988, sous presse.
5. DESCOTES J. Drug-induced immune-diseases, Amsterdam, Elsevier Science, 1989, sous presse.
6. KAMMULLER ME, PENNINKS AH, SEINEN W. The popliteal lymph node assay : a test system for chemically induced autoimmune and allergic reactions. *In* : L. Chedid, JW Hadden, F Spreafico, P Dukor and D Willoughby, *Advances in Immunopharmacology*, vol. 3, ed. Londres, Pergamon Press, 1986, pp. 449-451.
7. KOLLER LD. Effects of environmental contaminants on the immune system. *Adv Vet Sci Comp Med*, 1979, 23 : 267-295.
8. LUSTER MI, DEAN JH, MOORE JA. Evaluation of immune functions in toxicology. *In* : Principles and methods of toxicology, ed. by AW Hayes, New York, Raven Press, 1982, pp. 561-586.
9. PENN I. Cancers following cyclosporine therapy. *Transplant Proceed*, 1987, 19 : 2211-2213.

de PBB dans  
origine d'une  
milliers d'ani-  
être abattus.  
chez l'homme,  
immunodépres-

n et de valida-  
interprétation des  
toire dans la  
les données  
sistantes. Un  
toxicologues  
répondre aux  
immunotoxic-

immunotoxicology,  
pages.

by chemicals. J

and chemicals, 2<sup>e</sup>  
3, 444 pages.

n : MNG Dukes,  
Ed., Amsterdam,

ses, Amsterdam,

W. The popliteal  
chemically induced  
L. Chedid, JW  
D Willoughby,  
3, éd. Londres,

contaminants on the  
Med, 1979, 23 :

ation of immune  
and methods of  
rk, Raven Press,

therapy. Trans-

R. Dantzer, P.J. Neveu, K.W. Kelley

## STRESS ET RÉPONSE IMMUNE

L'idée que le stress puisse affecter la résistance aux maladies n'est pas nouvelle. En médecine vétérinaire, on attribue au stress de sevrage, de transport et à diverses autres agressions, l'accroissement de la morbidité et de la mortalité qui survient fréquemment en période de transition d'un système d'élevage à l'autre, surtout lorsqu'il est difficile d'isoler des agents pathogènes spécifiques [6]. Un exemple en est le syndrome de « fièvre des transports » (« shipping fever » des auteurs anglo-saxons) qui affecte les jeunes bovins dans les jours, voire les semaines, qui suivent leur arrivée dans les locaux d'engraissement : les animaux présentent une infection aiguë du tractus respiratoire, avec de la fièvre, de l'abattement, de l'anorexie, du jetage et des signes broncho-pleurétiques. On ne retrouve habituellement dans les prélèvements que des germes microbiens banals dont le pouvoir pathogène aurait été exacerbé par l'amoindrissement des défenses immunes sous l'effet du stress occasionné par les manipulations accompagnant le transport.

De telles influences du stress sur l'immunité sont longtemps restées hypothétiques dans la

mesure où on ne connaissait ni les modalités de la réponse aux agressions chez les animaux concernés, ni leur répercussion exacte sur les fonctions immunes. Ceci a changé au cours des dix dernières années, grâce au progrès des connaissances sur l'immunologie des animaux domestiques et sur les mécanismes réactionnels du stress. Même si on ne peut pas encore prédire avec précision les effets de tel ou tel stress sur la réponse immune, on peut proposer une stratégie d'action cohérente et émettre des hypothèses sur les causes de la sensibilité du système immunitaire au stress [5].

### MÉCANISMES RÉACTIONNELS DU STRESS

#### HORMONES DU STRESS

L'exposition aiguë à une agression provoque une élévation des concentrations plasmatiques d'adrénaline et de noradrénaline dans les minutes

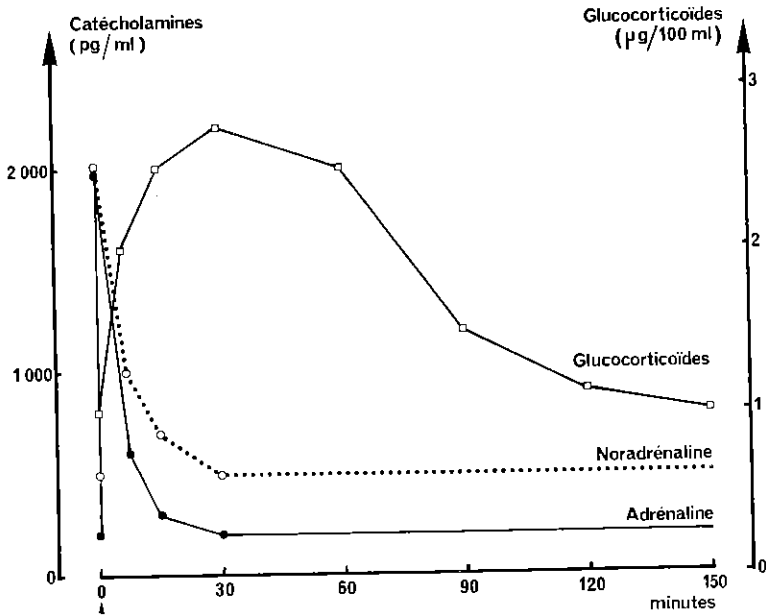


Figure 39-1 Évolution dans le temps des concentrations plasmatiques de catécholamines et de glucocorticoïdes à la suite d'une agression ménagée et de courte durée telle que l'exposition à un nouvel environnement ou la tonte chez le mouton. Notez la brièveté de la latence de la réponse catécholaminergique et le long délai nécessaire pour l'apparition du pic de sécrétion des glucocorticoïdes (d'après [6]).

qui suivent, puis une montée plus lente des glucocorticoïdes dont le pic plasmatique est atteint 30 minutes à une heure après (Fig. 39-1). L'adrénaline provient essentiellement de la médullo-surrénale tandis que la noradrénaline vient de l'excitation du système nerveux sympathique. Ces deux hormones, désignées sous le nom de catécholamines en raison de leur structure chimique, permettent les ajustements métaboliques (fourniture de glucides au cerveau et aux muscles à partir du glycogène stocké dans le foie) et physiologiques (redistribution du sang des viscères vers le cerveau et les muscles, augmentation de la force et la fréquence des battements cardiaques, augmentation de la pression artérielle, approfondissement de la respiration, augmentation du nombre de globules rouges) nécessaires à l'action. Les glucocorticoïdes amplifient et prolongent l'action des catécholamines : ils permettent en particulier la mobilisation d'énergie à partir des réserves non glucidiques (lipides, protéines) de l'organisme, grâce aux mécanismes de la néoglucogenèse.

Comme les glucocorticoïdes sont plus faciles à doser que les catécholamines et que leurs concentrations plasmatiques sont plus stables dans le temps, il n'est pas étonnant que cet aspect de la réponse au stress ait été le plus étudié.

Au cours des dix dernières années, les connaissances sur les mécanismes hormonaux de la

réaction de stress ont beaucoup progressé grâce aux travaux des endocrinologistes [3]. On savait déjà que les glucocorticoïdes étaient libérés à partir du cortex surrénalien en réponse à l'ACTH, l'hormone adrénocorticotrope originaire de l'hypophyse et que l'ACTH elle-même était contrôlée par un facteur de libération d'origine hypothalamique. Mais ce dernier facteur n'a pu être isolé qu'au début des années 80. Le CRF (Corticotrophin Releasing Factor) ou corticolibérine est un peptide de 41 acides aminés. Bien qu'il s'agisse du principal facteur de stimulation de la libération d'ACTH au niveau de l'hypophyse, d'autres peptides comme la vasopressine, l'angiotensine II et la cholécystokinine ont également la même activité hormonale. Cette coexistence de plusieurs mécanismes régulateurs au niveau d'un même maillon de la chaîne réactionnelle n'est pas une exception : en amont, les cellules nerveuses hypothalamiques qui synthétisent la corticolibérine reçoivent de nombreuses afférences en provenance du tronc cérébral (projections des noyaux des nerfs crâniens, du vague et de l'organe sous-forminal impliqué dans la régulation de la pression osmotique), du système limbique (le cerveau des émotions) et du restant de l'hypothalamus (le cerveau viscéral); en aval, la surrénale fait également l'objet de contrôles croisés : le cortex surrénalien est innervé et la médullosurrénale est soumise à l'influence

des glucocorticoïdes; ceux-ci induisent l'activité de la tyrosine hydroxylase et de la phényléthanolamine N-méthyl transférase, deux enzymes qui jouent un rôle-clé dans la synthèse de l'adrénaline.

La liste des hormones classiques du stress était limitée initialement aux glucocorticoïdes et aux catécholamines. On sait maintenant qu'elle est incomplète et qu'il faut ajouter de nombreuses autres hormones, en particulier les morphines endogènes ou endomorphines. Il s'agit de peptides appartenant à trois grandes familles, les dérivés de la proopiomélanocortine, les dérivés de la proenképhaline et les dérivés de la prodynorphine. La proopiomélanocortine est le précurseur de l'ACTH; elle donne également naissance à la  $\beta$ -endorphine et à la  $\beta$ -mélanotropine. La proenképhaline est synthétisée dans les cellules chromaffines de la médullosurrénale, dans lesquelles sont également élaborées les catécholamines; elle est à l'origine de pentapeptides, la leu- et la métenképhaline, suivant la nature de l'acide aminé N-terminal.

Tous ces peptides, qu'il s'agisse de la corticolibérine, de l'ACTH ou des endomorphines, sont également présents dans le système nerveux où ils jouent le rôle de neurotransmetteurs et où leurs concentrations varient sous l'effet du stress. De plus, les glucocorticoïdes ont également pour cible le cerveau: à côté de leur rétroaction négative sur la sécrétion d'ACTH au niveau hypophysaire et sur la sécrétion de corticolibérine au niveau hypothalamique, ils agissent sur l'hippocampe, une structure nerveuse du système limbique. Cette dernière action est importante, car elle représente le frein physiologique de la réaction de stress: chez des animaux porteurs d'une lésion expérimentale de l'hippocampe, l'élévation des concentrations circulantes de glucocorticoïdes est prolongée au-delà de la normale.

### RELATIONS ENTRE RÉPONSES HORMONALES ET COMPORTEMENTS

A quoi sert la réaction du stress et quelles sont ses limites? Depuis Hans Selye, on a l'habitude de concevoir le stress comme une réponse non spécifique de l'organisme à toute agression qui menace son équilibre interne. Cette réponse est censée reposer sur la mobilisation des glucocorticoïdes sécrétés par le cortex surrénalien. Une

réponse mal adaptée, sous la forme d'un excès de glucocorticoïdes, peut provoquer un ulcère gastrique et immunodépression; une réponse trop prolongée risque d'épuiser la surrénale.

On sait maintenant que ce tableau du syndrome général d'adaptation est inexact et que la réaction de stress n'a pas ce caractère stéréotypé que lui a attribué Selye. Les glucocorticoïdes ne sont pas les seules hormones en jeu et ne jouent pas de rôle critique dans les capacités d'adaptation à l'agression. Ce sont les catécholamines qui risquent de faire défaut en cas de réaction excessive, alors que les glucocorticoïdes sont encore largement excédentaires.

Il est difficile de comprendre la finalité de la réaction de stress uniquement à partir des caractéristiques de ses médiateurs. Walter Cannon avait déjà souligné l'articulation entre les effets de l'adrénaline et les ajustements métaboliques et physiologiques nécessaires à la lutte ou à la fuite. Cette notion a été reprise et étendue par les psychobiologistes qui étudient les bases biologiques des processus mentaux. Le stress peut être défini comme une interaction entre l'individu et son environnement physique et social, au cours de laquelle ses capacités réactionnelles sont sollicitées de manière intense et/ou prolongée. La notion d'interaction indique que le stress ne dépend pas des caractéristiques physiques de l'agent agresseur, mais de la façon dont celui-ci est perçu par l'individu. On a ainsi montré que la possibilité pour les animaux exposés à une agression de s'engager dans une action leur permettant de mettre fin à l'agression ou de détourner leur attention de celle-ci suffit, le plus souvent, à diminuer son impact sur l'organisme. Ainsi, des porcs qui s'engagent dans des activités compulsives de mâchonnement d'objet en réponse à la frustration créée par un rationnement alimentaire trop intense, présentent une moindre activation du système hypophyso-corticosurrénalien que des porcs dénués d'une telle possibilité [7].

Le profil hormonal obtenu au cours du stress varie suivant les cas. Les hormones classiques, glucocorticoïdes et catécholamines, ne sont libérées de façon simultanée que sous l'effet d'une agression aiguë. Si celle-ci se prolonge, la réaction hormonale dépend du comportement de l'animal par rapport à la situation [3, 7]. D'une façon générale, les tentatives de contrôler la situation par un comportement actif sont associées à une activation préférentielle du système sympathique et médullosurrénalien, avec en conséquence une libération de catécholamines.

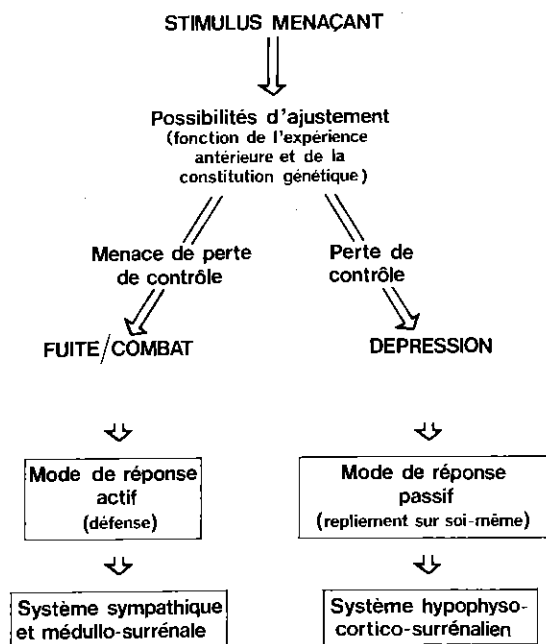


Figure 39-2 Orientation des réponses neuro-endocriniennes à l'agression suivant le comportement adopté en face d'une situation (d'après [6]).

Par contre, l'impossibilité de contrôle et la résignation conduisent à une activation prédominante du système hypophyso-cortico-surrénalien (Fig. 39-2). Les facteurs individuels, qu'ils soient d'origine génétique ou fonction de l'expérience antérieure, se retrouvent à ce niveau : ainsi, des poulets ayant fait l'objet d'une sélection génétique sur la réaction d'immobilité dans un environnement nouveau présentent, par rapport à leurs congénères plus actifs, une augmentation de fonctionnement de l'axe corticotrope et une moindre activité du système sympathique et médullorénal; le même profil hormonal est observé chez des veaux de lait élevés à l'attache et maintenus dans un rôle passif, par rapport à des veaux élevés en groupe et libres de leurs mouvements [7].

Cette différence de réactivité suivant le comportement vaut aussi pour les endomorphines. L'exposition à diverses formes de stress diminue la sensibilité à la douleur. Cette analgésie induite par le stress est très hétérogène dans ses mécanismes puisqu'elle est susceptible d'être bloquée ou non par les antagonistes des récepteurs opiacés (on parle d'analgésie opioïde ou non opioïde suivant

le cas) et de disparaître ou non après hypophysectomie (on parle d'analgésie hormonale ou non suivant le cas). Mise en évidence d'abord chez les rongeurs de laboratoire, elle est retrouvée chez les animaux d'élevage. Chez une souris exposée à un adversaire très agressif, une analgésie non opioïde apparaît initialement, puis fait très rapidement place à une analgésie opioïde en même temps que se développe le comportement de soumission [13]. Chez l'agresseur on observe par contre une hyperalgie.

## EFFETS DU STRESS SUR LES RÉPONSES IMMUNES

### VARIÉTÉ DES EFFETS DU STRESS SUR L'IMMUNITÉ

L'étude des effets du stress sur les réponses immunes a suivi pas à pas les conceptions de la réaction de stress. En médecine vétérinaire, on s'est le plus souvent limité à la considération des agressions inhérentes aux pratiques d'élevage ou à des stress conventionnels, choisis pour leur facilité de mise en œuvre, comme l'exposition à des températures extrêmes en chambres climatiques ou l'exercice physique imposé [9]. Il a ainsi été montré que le transport en camion s'accompagne d'une leucocytose, d'une baisse du pourcentage des lymphocytes T et d'une réduction de la blastogenèse. Chez le porcelet, le sevrage provoque une baisse de réponses immunes et notamment de la production d'anticorps vis-à-vis d'érythrocytes hétérologues. En cas de sevrage précoce, on note une baisse simultanée des fonctions des cellules B et T. Ces perturbations immunologiques sont peut-être à mettre en relation avec la fréquence élevée de diarrhées post-sevrage.

L'exposition à des températures extrêmes modifie la sensibilité aux germes infectieux et les réponses immunes. Chez des porcelets placés au froid, la gastroentérite transmissible et la sensibilité à *Escherichia coli* sont augmentées mais la production d'anticorps vis-à-vis de globules rouges hétérologues est stimulée. Chez le poulet, l'exposition au froid ou à la chaleur a des effets complexes sur l'hypersensibilité de type retardée, une réponse dépendant des lymphocytes T, ainsi



ypophyse-  
ale ou non  
ord chez les  
rée chez les  
posée à un  
non opioïde  
rapidement  
e temps que  
soumission  
contre une

que sur la blastogenèse des lymphocytes T. L'instabilité de la hiérarchie sociale provoquée par la rotation systématique des poulets d'une bande à une autre diminue la résistance à *Mycoplasma gallisepticum* et au virus de la maladie de Newcastle, mais augmente la résistance à la coccidiose et aux infections bactériennes dues à *Escherichia coli* et à *Staphylococcus aureus*; les facteurs immunes susceptibles d'expliquer cette différence de sensibilité suivant la nature de l'agent infectieux ne sont pas connus.

Ces quelques exemples montrent que les agressions modifient les réponses immunes, mais sans qu'il soit possible de systématiser les effets observés.

UNES

### IMPORTANCE DES FACTEURS PSYCHIQUES

Des travaux sur les animaux de laboratoire ont confirmé ceux précédemment évoqués chez les animaux d'élevage, mais avec un certain nombre de précisions importantes. Tout d'abord, les effets du stress sur l'immunité ne sont pas un phénomène de tout ou rien puisqu'ils varient suivant l'intensité du stress. De plus, les modifications observées ne dépendent pas tant de l'intensité physique de l'agression que de ses caractéristiques psychologiques. A titre d'exemple, des rats sont soumis à des chocs électriques qu'ils peuvent éviter en changeant de côté dans une cage à deux compartiments (groupe « évitement »). Les rats d'un deuxième groupe expérimental (groupe « couplé ») sont placés individuellement dans une cage similaire couplée électriquement à la précédente : les chocs qu'ils reçoivent sont donc fonction du comportement des animaux actifs. Un troisième groupe de rats sert de témoin : les animaux sont manipulés et placés dans la cage expérimentale, mais sans choc [11]. La blastogenèse des lymphocytes T est diminuée uniquement chez les animaux du groupe « couplé », les animaux du groupe « évitement » ayant des réponses semblables à celles des témoins. Là également, il est difficile de généraliser et de parler d'effet immunodépresseur du stress car si l'on prend comme critère la production d'anticorps contre des globules rouges hétérologues, ce sont les animaux du groupe « évitement » qui ont la réponse la plus basse (Fig. 39-3).

Un phénomène intéressant est le conditionnement des réponses immunes. Tout comme le chien de Pavlov qui salive à l'audition du son du

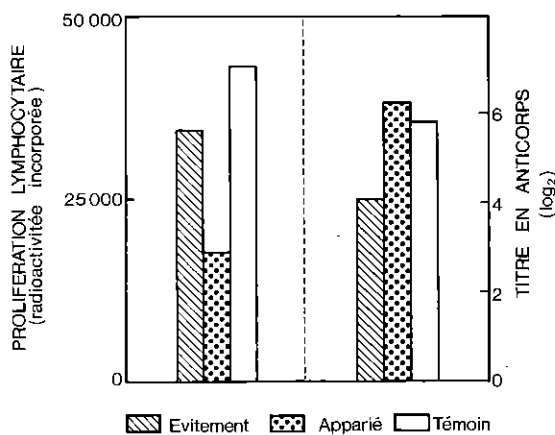


Figure 39-3 Influence de la capacité de contrôler la survenue de chocs électriques sur la réponse immune (d'après [11]).

métronomie couplé à la présentation de viande, l'association entre un stimulus conditionnel (le goût sucré d'une boisson) et le stimulus inconditionnel, en l'occurrence un traitement immunomodulateur (la cyclophosphamide par exemple) amène le sujet à répondre par une immunodépression à une nouvelle présentation du stimulus conditionnel. Il s'agit là d'effets reproductibles qui s'appliquent à divers types de réponses immunes dues aux lymphocytes T, lymphocytes B, cellules tueuses naturelles et mastocytes. Ils affectent même le déroulement de maladies expérimentales, comme l'équivalent chez la souris, du lupus érythémateux disséminé [1]. Les interprétations de ce phénomène sont cependant controversées : s'agit-il d'un véritable conditionnement ou de simples conséquences du stress [4] ? L'ambiguïté vient du fait que les traitements immunomodulateurs utilisés dans ce type d'expérience ont des effets secondaires importants si bien que le stimulus conditionnel est l'équivalent d'un signal annonçant une série d'événements désagréables. Que ce dernier ait des effets sur l'immunité n'a rien d'étonnant compte tenu de ce que l'on a vu précédemment sur la sensibilité des réponses immunes au stress.

### MÉCANISMES EN CAUSE

Quels sont les mécanismes du stress sur l'immunité ? Sachant que le profil hormonal varie

suivant les possibilités de contrôle de l'agression, il est tentant de le comparer aux altérations de la réponse immune. Les travaux sur les relations stress-immunité n'ont cependant pas encore atteint un degré de précision tel que l'on puisse de façon univoque relier un facteur hormonal précis à une variation circonscrite de la réponse immune. Certes, on sait que certains effets du stress sur l'immunité passent par la libération de glucocorticoïdes qui, eux-mêmes, inhibent la synthèse de nombreuses cytokines comme l'interleukine 2, l'interféron gamma, l'interleukine 1 et le facteur nécrosant des tumeurs. C'est le cas, par exemple, des conséquences du transport sur la prolifération lymphocytaire chez le veau : le sérum des animaux stressés (qui présente une concentration élevée en cortisol) inhibe la mitogenèse de lymphocytes normaux ainsi que la production d'interleukine 2; l'addition de quantités croissantes de cortisol à du sérum de veaux non stressés a les mêmes effets. De même l'augmentation de la prolifération des cellules tumorales constatée sous l'effet du stress chez le rat âgé peut être reproduite expérimentalement chez le rat jeune en lui administrant de la corticostérone après le stress, de façon à mimer la réponse hormonale des rats âgés. Une telle relation n'a cependant pas de valeur générale : l'hypophysectomie ne bloque pas l'effondrement de la blastogenèse des lymphocytes circulants dû à l'administration de chocs électriques intenses pendant plusieurs heures à des rats. Chez la souris, l'atténuation de la réaction d'hypersensibilité retardée provoquée par l'immobilisation physique forcée (le stress de contrainte) est bloquée par la surrénalectomie ou l'injection de métyrapone, un inhibiteur de la synthèse des glucocorticoïdes, mais ces traitements sont sans effet sur les altérations de la dermite de contact au dinitrofluorobenzène provoquées par la contrainte (Tableau 39-I).

Le rôle joué par les endomorphines dans les effets du stress sur l'immunité a été mis en évidence par une série d'expériences ingénieuses tirant parti du fait que l'analgésie provoquée par des chocs électriques intermittents est opioïde alors que celle provoquée par un choc électrique continu ne l'est pas. Comme seuls les premiers entraînent une baisse de l'activité cytotoxique des cellules tueuses naturelles (NK), il était logique d'en déduire que l'altération des réponses immunes est due à l'activation des systèmes opioïdes endogènes. Effectivement, le prétraitement par un antagoniste des récepteurs aux opiacés bloque la chute de l'activité des NK chez

**Tableau 39-I** Le stress de contrainte diminue l'hypersensibilité de type retardée aux globules rouges de mouton, mais augmente la dermite de contact au dinitrofluorobenzène. Le premier effet dépend des glucocorticoïdes, mais ce n'est pas le cas du second (d'après [2]).

Traitement	Hyper-sensibilité	Dermite
Témoin	100 p. cent	100 p. cent
Contrainte	38 *	143 *
+ surrénalectomie	100	124 *
+ métyrapone	85	136 *

\* Significativement différent du groupe témoin.

les animaux stressés tandis que l'injection de morphine à des animaux témoins reproduit les effets du stress. Les endomorphines n'agissent pas directement au niveau des NK puisque les mêmes effets sont obtenus par l'injection intracérébrale de quantités infimes de morphine.

A côté des médiateurs directement responsables des conséquences du stress sur les réponses immunes existent ce que l'on pourrait appeler des systèmes compensateurs, favorisant la récupération. Les premiers travaux qui ont attiré l'attention sur de tels systèmes datent du début des années 1970 : on s'est alors aperçu que les effets du stress sur les réponses immunes d'animaux hypophysectomisés étaient atténués par l'injection d'hormone de croissance purifiée. Ces travaux sont passés inaperçus jusqu'à ce qu'il ait été montré dix ans plus tard que l'implantation de cellules tumorales d'origine hypophysaire sécrétant de grandes quantités d'hormone de croissance et de prolactine fait réapparaître un thymus fonctionnel chez des rats âgés. La disponibilité de quantités importantes d'hormone de croissance obtenue par génie génétique a, depuis lors, permis d'étudier de façon systématique l'activité de ce facteur sur les cellules de l'immunité. L'hormone de croissance stimule les fonctions des lymphocytes T et active également les macrophages de façon intense que l'interféron gamma (Tableau 39-II). Les zootechniciens connaissent bien le phénomène de croissance compensatrice qui survient après une infection ou un stress chez des animaux en croissance : à la perte de poids ou au retard de croissance fait habituellement suite une accélération du gain de poids, ce qui permet aux animaux de retrouver un développement normal. Si cette croissance compensatrice est due à une libération accrue d'hormone de croissance, on

l'hypersensibi-  
mouton, mais  
robenzène. Le  
ce n'est pas le

**Dermite**

100 p. cent  
143 \*  
124 \*  
136 \*

n.

injection de  
produit les  
agissent pas  
les mêmes  
cérébrale de

responsables  
s réponses  
rait appeler  
t la récupé-  
ttiré l'atten-  
début des  
ne les effets  
d'animaux  
r l'injection  
ces travaux  
l'il ait été  
antation de  
saire sécré-  
e croissance  
un thymus  
onibilité de  
croissance  
lors, permis  
ivité de ce  
L'hormone  
es lympho-  
ophages de  
a (Tableau  
ent bien le  
ce qui sur-  
s chez des  
poids ou au  
t suite une  
permet aux  
ent normal.  
due à une  
ssance, on

**Tableau 39-II** Contraste entre les effets des glucocorticoides et ceux de l'hormone de croissance sur l'immunité (d'après [10]).

	Glucocorticoides	Hormone de croissance
Taille du thymus	↓	↑
Lymphocytes circulants	↓	↑
Synthèse d'anticorps	↓	↑
Activité NK	↓	↑
Fonctions des macrophages	↓	↑
Prolifération lymphocytaire	↓	↑
Hématopoïèse	↓	↑

↑ = augmentation; ↓ = diminution.

devrait s'attendre à ce qu'elle soit accompagnée par une augmentation de la résistance aux infections. Une telle possibilité reste encore à tester.

**IMPLICATIONS**

**LA RÉPONSE IMMUNE, UN INDICATEUR DU STRESS ?**

Pour diminuer l'incidence de la mortalité et de la morbidité imputée aux facteurs de stress en élevage, il est nécessaire de mettre en place des mesures correctrices. Le même problème est retrouvé dans le domaine de la protection animale, quand il s'agit d'évaluer l'impact des techniques d'élevage intensif sur l'organisme et le risque de stress ou de souffrance associé. Dans les deux cas, les indicateurs hormonaux ne sont pas suffisants : ils ne donnent qu'une vue partielle de la réponse et ils ne peuvent de toute façon être interprétés en l'absence de données comportementales sur la façon dont les animaux réagissent à leur environnement. Comme elles se situent en aval des mécanismes réactionnels du stress, les éventuelles altérations des fonctions immunes qui apparaissent dans ces conditions ont de fortes chances d'intégrer les diverses composantes de la réaction de stress et donc de la refléter avec davantage de précision et de sensibilité que ne le permettent d'autres indicateurs.

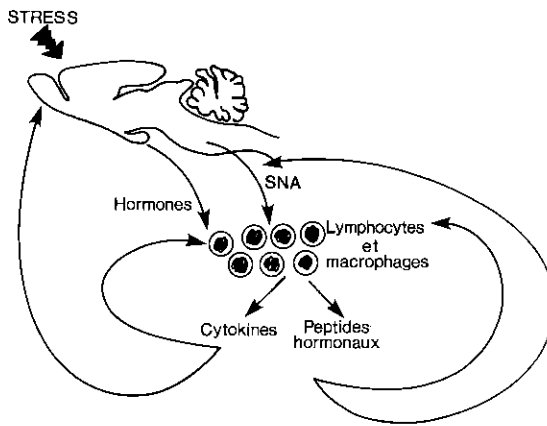
Dans le cas du système immunitaire, la fonction étudiée peut être soit totalement arbitraire, par exemple une réponse de lymphoprolifération sous l'effet de mitogènes non spécifiques, soit choisie sur des bases physiopathologiques, en raison de son implication dans l'évolution de la maladie imputable au stress. Dans le cas du complexe fièvre des transports par exemple, il vaudra mieux rechercher d'éventuelles altérations des réponses immunes au niveau des lymphocytes et des macrophages du tractus respiratoire qu'au niveau des lymphocytes circulants.

L'utilisation raisonnée de tels indicateurs permet de montrer quelles sont, parmi les stimulations auxquelles l'organisme est exposé, celles qui sont les plus nocives. Ainsi, des travaux réalisés sur le stress chirurgical chez la souris [12] ont permis de montrer que la diminution d'activité des NK qui apparaît lors d'amputation d'un membre postérieur n'est pas imputable à l'anesthésie mais à l'amputation elle-même. Cette immunodépression apparaît dans les heures qui suivent l'opération et se maintient pendant une douzaine de jours. Elle est corrigée par l'administration d'un immunostimulant. On conçoit facilement l'intérêt d'une telle approche pour la résection chirurgicale des tumeurs.

**INTERPRÉTATION DES EFFETS DU STRESS SUR L'IMMUNITÉ**

Pour être comprise, la sensibilité du système immunitaire au stress doit être replacée dans le contexte plus général des relations immunoneuroendocriniennes (voir chapitre 8). L'idée d'une régulation extrinsèque du fonctionnement du système immunitaire s'est progressivement imposée : le système nerveux informe le système immunitaire de son état de fonctionnement par l'intermédiaire des cytokines et des peptides hormonaux élaborés par ses diverses cellules constitutives; il est à son tour modulé par des influences véhiculées par le système nerveux autonome et le système neuroendocrinien. Les influences du stress sur l'immunité ne font que « profiter » de ce système de régulation (Fig. 39-4).

Une autre conception tout autant téléologique que la précédente est celle de la complémentarité des actions entre le système nerveux et le système immunitaire dans la lutte contre l'infection. Celle-ci représente un processus coûteux sur le plan énergétique surtout lorsqu'elle est accompagnée



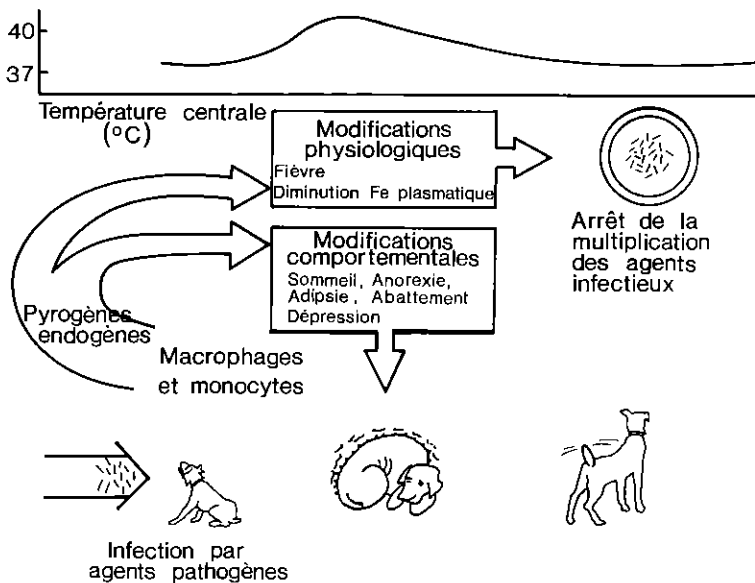
**Figure 39-4** Schéma des interactions entre le système immunitaire et le système nerveux. Les influences du stress sur l'immunité empruntent la voie efférente de la régulation extrinsèque du système immunitaire par le système nerveux (d'après [5]).

de fièvre. Il est alors indispensable que l'organisme ne gaspille pas l'énergie disponible et que, compte tenu de l'état de faiblesse dans lequel il se trouve, il ne s'expose pas à des prédateurs potentiels. Ce sont les facteurs pyrogènes endogènes, particulièrement l'interleukine 1, les interférons et le facteur nécrosant des tumeurs, qui ont été sélectionnés par l'évolution pour assurer cette étroite coordination entre le système immu-

nitaire et le cerveau, organe de l'action (Fig. 39-5). Effectivement, de nombreuses expériences montrent que l'injection d'interleukine 1 reproduit les symptômes non spécifiques de la maladie (abattement, anorexie, augmentation du sommeil). L'organisme se trouve ainsi placé dans un état de stress en cas d'infection et certains symptômes de cet état sont non spécifiques : c'est le cas par exemple de l'activation du système hypophyso-corticosurrénalien; mais il s'agit d'un état de stress bien particulier, sans commune mesure avec celui associé aux situations nécessitant la fuite ou la lutte.

## CONCLUSION

L'étude des effets du stress sur l'immunité a longtemps été cantonnée au recensement des effets immunodépresseurs du stress dont on supposait implicitement qu'ils étaient sous-tendus par la libération de glucocorticoïdes. On n'en est plus là : suivant l'agression, le type de réponse immune et le moment de survenue de l'agression par rapport au déroulement de la réponse, on peut observer des effets stimulants ou dépresseurs. De plus, on a maintenant quitté ce stade descriptif pour passer au stade pratique voire spéculatif.



**Figure 39-5** Coordination entre les réponses physiologiques et comportementales à l'infection sous l'action des pyrogènes endogènes libérés par les macrophages et les monocytes (d'après [8]).

on (Fig. 39-  
expériences  
l reproduit  
la maladie  
u sommeil).  
s un état de  
ntômes de  
le cas par  
hypophyso-  
un état de  
mesure avec  
la fuite ou

**BIBLIOGRAPHIE**

1. ADER R, COHEN N. CNS-immune system interactions : Conditioning phenomena. *Behav Brain Sci*, 1985, 8 : 379-426.
2. BLECHA F, KELLEY KW, SATTERLEE DG. Adrenal involvement in the expression of delayed-type hypersensitivity to SRBC and contact sensitivity to DNFB in mice. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1982, 162 : 247-252.
3. DANTZER R. Psychobiologie des émotions. *In* : J Delacour, *Neurobiologie des comportements*, Paris, Hermann, 1984, 110-143.
4. DANTZER R, CRESTANI F. Conditioning of immune responses. *In* : J Delacour, JCS Levy, *Systems with learning and memory abilities*. Amsterdam, Elsevier, 1988, 213-225.
5. DANTZER R, KELLEY KW. Stress and immunity : An integrated view of the relationships between the brain and the immune system. *Life Sci*, 1989, 44 : 1995-2008.
6. DANTZER R, MORMÈDE P. *Le stress en élevage intensif*. Paris, Masson, 1979, 118 pages.
7. DANTZER R, MORMÈDE P. Stress in farm animals : A need for reevaluation. *J Anim Sci*, 1983, 57 : 6-18.
8. HART BL. Biological basis of the behaviour of sick animals. *Neurosci Biobehav Rev*, 1988, 12 : 123-137.
9. KELLEY KW. Immunological consequences of changing environmental stimuli. *In* : GP Moberg, *Animal Stress*. Bethesda, American Physiological Society, 1985, 193-223.
10. KELLEY KW, DANTZER R. Growth hormone and prolactin as natural antagonists of glucocorticoids in immunoregulation. *In* : AJ Murgo, *Stress and immunity*, sous presse.
11. MORMÈDE P, DANTZER R, MICHAUD B et al. Influence of stressor predictability and behavioral control on lymphocyte reactivity, antibody responses and neuroendocrine activation in rats. *Physiol Behav*, 1988, 43 : 577-583.
12. POLLOCK RE, LOTZOVA E, STANFORD SD, ROSENTHAL MM. Effect of surgical stress on murine natural killer cell cytotoxicity. *J Immunol*, 1987, 138 : 171-178.
13. RODGERS RJ, RANDALL JL. On the mechanisms and adaptive significance of intrinsic analgesia systems. *Rev Neurosci*, 1987, 1 : 185-200.

immunité a  
ement des  
dont on  
sous-tendus  
On n'en est  
de réponse  
l'agression  
se, on peut  
esseurs. De  
e descriptif  
spéculatif.

ion entre les  
et comporte-  
s l'action des  
bérés par les  
cytes (d'après

R. Wolter

## NUTRITION ET RÉPONSE IMMUNE

Généralement, une bonne alimentation améliore la résistance aux maladies. Toutefois, les interactions nutrition-immunité sont multiples et complexes car toute erreur alimentaire par carence ou excès peut entraîner une baisse de la réponse immune (Tableau 40-I, Fig. 40-1) [20].

Pour simplifier, nous devons principalement considérer :

- les facteurs de la protéosynthèse, favorables à l'élaboration des immunoglobulines;
- les effets négatifs des excès lipidiques ou martiaux.

### PROTÉINES ET PROTÉOSYNTHÈSE

Le rôle fondamental de la protéosynthèse tient à la nature protéique des anticorps, au taux élevé de multiplication cellulaire dans le tissu lymphoïde et

à l'intervention nécessaire d'enzymes dans les réactions immunes.

### CARENCE PROTÉIQUE

L'organisme donne toujours une priorité d'utilisation des acides aminés à l'immunité. Celle-ci n'est affectée par des déficits que s'ils sont sévères et durables.

Le taux sérique du complément est particulièrement affecté par une baisse de la synthèse de ses composants ou une augmentation de son activation [12].

### Tissu lymphoïde

Lors de sa formation, le tissu lymphoïde est particulièrement sensible et une sous-alimentation de la femelle gestante compromet le potentiel immunologique du nouveau-né : une réalimentation normale du jeune ne restaure pas pleinement la fonction immune [4].

Tableau 40-1 Points d'impact des facteurs nutritionnels sur l'immunité.

	Immunité non spécifique					Immunité spécifique						
	Epithélium	Complément interféron	Mobilité	Bactéricide	Corticoïdes circulants	Tissu lymphoïde	FTS	Blastogénèse	Résistance infection, rejet greffes	HSR lymphokines	Nombre LB	Production d'Ac
AAI		+			-	+	+	+	+	+	0	+
Mg		+							+			+
Zn	+				-		+		+			
Vit. A β-carotène	+	- +	+	+	-	+		+			+	+
Vit. B					+				+			
Vit. C		++	+	+				+	+	+		+
Iode												+(13)
AGE	+					+						
Excès AGP I			-			-			-	-		-
Vit. E, Se		+	+	+					+			
Fe		++	++	++	++	++	0	+	++	+		

AAI : acides aminés indispensables; AGE : acides gras essentiels; AGPI : acides gras polyinsaturés; FTS : facteur thymique sérique, HSR : hypersensibilité retardée; LB : lymphocytes B; Ac : anticorps.

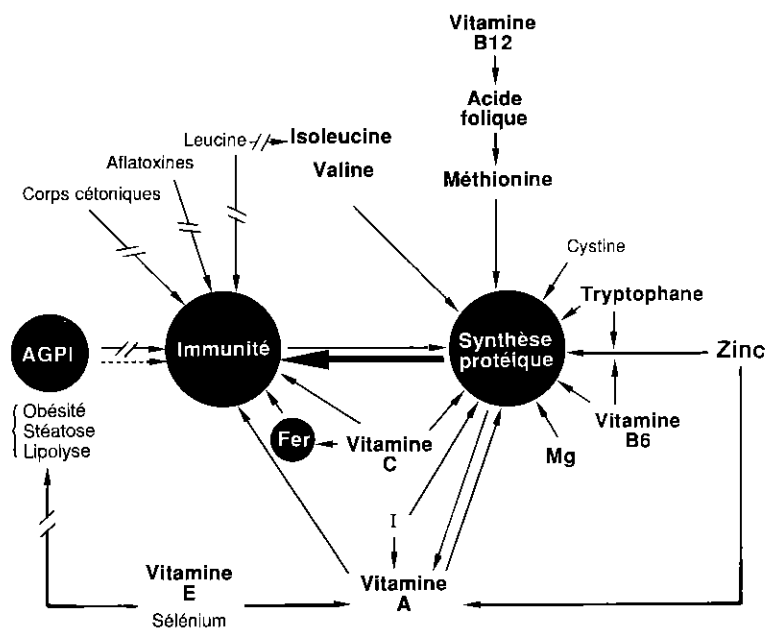


Figure 40-1 Interactions entre la nutrition et l'immunité.

Plus tard, un régime dépourvu de protéines détermine une involution thymique réversible avec une raréfaction sévère des lymphocytes et une perte de la différenciation structurale du cortex et de la médulla, transformations qui seront retrouvées plus tardivement au niveau des organes lymphoïdes périphériques.

Cette involution thymique s'accompagne d'une altération ou du tarissement de la sécrétion de FTS : facteur thymique sérique ou thymuline [14].

La teneur en FTS peut être considérée comme représentative de la fonction hormonale lymphodifférenciatrice de l'épithélium thymique; sa disparition serait une des causes principales du déficit immunitaire à médiation cellulaire observé dans la carence protéique.

### Immunité à médiation cellulaire

Lors d'un tel déséquilibre nutritionnel, la population lymphocytaire est affectée dans son ensemble :

- la blastogénèse est réduite;
- les lymphocytes T auxiliaires (CD4) sont

plus rares, alors que la population des lymphocytes T suppresseurs et des cellules nulles augmente;

— l'activité des lymphocytes T cytotoxiques (CD8) est aussi diminuée; la résistance de l'organisme aux infections et aux processus tumoraux est moindre alors que la survie des greffes, en revanche, est favorisée;

— les réactions d'hypersensibilité retardée sont amenuisées [6].

### Immunité à médiation humorale

La production d'anticorps est directement dépendante de l'apport protéique puisque les immunoglobulines sont des macromolécules protéiques.

Le colostrum d'une mère sous-nourrie a une concentration protéique très réduite, bien que sa composition ne soit que peu modifiée, et l'immunité passive transmise est réduite.

Chez l'adulte, cette même carence n'affecte pas le nombre de lymphocytes B, mais bien la production d'anticorps sériques [6].



L'apport protéique doit donc être suffisant en quantité et en qualité pour permettre une bonne rétention azotée. Mais celle-ci peut être amoindrie par des pertes urinaires (lors d'insuffisance rénale chronique) ou intestinales (à l'occasion d'entérites, notamment infectieuses ou parasitaires, qui entraînent une fuite anormale de protéines plasmatiques à la suite des lésions de la muqueuse digestive).

### ACIDES AMINÉS INDISPENSABLES (AAI)

L'immunosynthèse, dépendante de l'équilibre des AAI, serait particulièrement perturbée par des carences en acides aminés soufrés, ainsi qu'en isoleucine et valine [6, 11, 12] d'une part et en tryptophane d'autre part.

### Acides aminés soufrés (AAS)

Nécessaires à l'intégrité des barrières (peau et poil) et à la lymphogénèse, les AAS ne le sont pas moins à la formation d'anticorps (Ac) fonctionnels. Méthionine et cystine entrent dans la constitution des immunoglobulines (Ig). Leur carence diminue le titre en Ac. Elle n'est ressentie que tardivement car la production de ceux-ci est prioritaire par rapport à la croissance corporelle.

La méthionine, par ailleurs, est un des principaux précurseurs de la choline, facteur majeur de prévention de la stéatose hépatique et, par conséquent, des troubles immunologiques secondaires.

La diminution du titre en AC, en présence d'un excès de méthionine, est encore inexplicée.

### Isoleucine, valine, leucine, tryptophane

L'isoleucine et la valine contribuent à la formation des cellules de la lignée blanche et à la production des protéines sériques; elles préviennent aussi une élévation des corticoïdes circulants qui s'accompagne d'une immunodépression vérifiée chez le rat. La leucine se comporte en antagoniste et a donc des effets contraires.

Le tryptophane conditionnerait l'élaboration des anticorps.

## FACTEURS DE PROTÉOSYNTÈSE

Tous les facteurs alimentaires impliqués dans la synthèse protéique ont un rôle à jouer dans les fonctions immunes en particulier le magnésium, le zinc et l'iode, les vitamines A, B et éventuellement C.

### Magnésium

Cet élément participe à de nombreuses réactions enzymatiques et, en particulier, à l'activation de l'ARN-polymérase.

### Zinc

Le zinc est essentiel au développement et au maintien de l'immunité. Il intervient directement dans le métabolisme des acides nucléiques et des protéines comme cofacteur des ADN- et ARN-polymérase. C'est aussi après liaison au zinc que la thymuline activée acquiert sa fonction lymphodifférenciatrice [14].

La carence en zinc augmente l'activité de la RNase et abrège la vie de l'ARN messenger (ARNm). Elle s'accompagne d'un développement moindre du thymus et d'une sévère immunodéficience se manifestant au moins par des pyodermites. Elle est favorisée par une déficience en vitamine B<sub>6</sub> car celle-ci conditionne la conversion du tryptophane en acide picolinique qui contrôle l'absorption intestinale du zinc. De même, cette dernière est entravée par l'excès de calcium et d'acide phytique. Enfin, la carence en zinc entraîne aussi une élévation du taux des corticoïdes circulants.

### Iode

La carence en iode entraverait la synthèse des anticorps. L'iode, par l'intermédiaire de la thyroxine, est nécessaire à la synthèse des anticorps, mais un excès se révèle immunodépresseur [23].

### Vitamine A

En plus de son rôle protecteur des épithéliums, la vitamine A est indispensable au maintien des structures normales des membranes, comme facteur de synthèse des glycoprotéines qui sont des récepteurs de surface cellulaire pour beaucoup d'effecteurs biologiques (mitogènes-antigènes) et

qui conditionnent la distribution des lymphocytes dans les organes lymphoïdes. Elle modifierait la concentration en ARN et ARNm dans les tissus, par liaison avec les protéines nucléaires [5].

La vitamine A et le  $\beta$ -carotène agissent dans le même sens, si ce n'est pour la production d'interférons qui est diminuée en présence de la première et favorisée par le second. En outre, des caroténoïdes comme la canthaxanthine (qui n'est pas précurseur de vitamine A) auraient un rôle spécifique dans l'amélioration de la réponse immune.

La vitamine A participe à l'immunité non spécifique : par ses propriétés antioxydantes, elle favorise la mobilité des polynucléaires; par fragilisation des lysosomes elle améliore la bactéricidie. De cette façon, elle s'oppose aux effets immunodépresseurs des corticoïdes qui, eux, stabilisent les membranes lysosomiales.

La vitamine A favorise aussi l'immunité spécifique : elle est nécessaire au maintien de la cellularité des organes lymphoïdes; elle facilite l'induction de l'immunité cellulaire; elle augmente le taux des anticorps sériques et le nombre des cellules spléniques productrices d'anticorps; elle renforce l'immunité locale intestinale qui pourrait aussi être favorisée par les probiotiques [18, 22].

Enfin, la vitamine A pourrait éventuellement intervenir dans le mécanisme de stimulation de l'expression de certains gènes et, à ce titre, induire des processus immuns défavorables (tumeurs). Ceci va à l'encontre des propriétés protectrices qui lui sont très généralement reconnues dans de nombreuses affections, comme les mammites en particulier.

A fortes doses pourtant la vitamine A n'est pas dépourvue de toxicité et son utilisation thérapeutique reste limitée [21].

La caroténase intestinale qui permet la conversion des carotènes en vitamine A est activée par la thyroxine et donc dépendante de l'apport iodé.

Le transport de la vitamine A dans le sang se fait en liaison avec une protéine spécifique, la « RBP » : « Retinol-Binding-Protein » tributaire du zinc pour sa synthèse. Par ailleurs, la vitamine A doit être protégée de l'oxydation, notamment par association avec la vitamine E et des antioxydants.

### Vitamines du complexe B

Le défaut de vitamine B provoque une atteinte grave du tissu lymphoïde. La vitamine B<sub>6</sub>, l'acide

folique et la cyanocobalamine (B<sub>12</sub>) sont directement impliqués dans la synthèse protéique et le métabolisme des acides nucléiques.

La vitamine B<sub>6</sub> ou pyridoxine, et sans doute l'acide pantothénique, la riboflavine (B<sub>2</sub>), la niacine (PP), sont essentiels à l'élaboration des anticorps par l'intermédiaire du métabolisme du tryptophane (qui intervient largement dans la composition des globulines), ou par la synthèse d'ADN et d'ARNm.

La vitamine B<sub>6</sub> est aussi nécessaire à la maturation des lymphocytes. Les précurseurs lymphoïdes n'étant pas concernés, les effets de la carence sont réversibles.

L'acide folique et la cyanocobalamine (vitamine B<sub>12</sub>) : les carences en folates et en cyanocobalamine entraînent une anémie mégalo-blastique résultant d'une perturbation de la synthèse de l'ADN dans les cellules hématopoïétiques. Elles entravent conjointement de nombreuses réactions impliquant un transfert de groupements méthyl, et aboutissant à la synthèse de méthionine, de choline, de thymidine, des purines et des acides nucléiques; l'incorporation de la thymidine dans le noyau deviendrait impossible [10]. Les anomalies morphologiques et quantitatives des neutrophiles sont communes dans l'anémie mégalo-blastique induite par la carence en folates ou en vitamine B<sub>12</sub>.

Par contre, la carence en folates n'a que peu de conséquences sur les fonctions mêmes des leucocytes tandis que leur activité bactéricide et la phagocytose sont diminuées lors de carence en vitamine B<sub>12</sub>. Ceci suggérerait un rôle de la vitamine B<sub>12</sub> dans la production d'intermédiaires nécessaires aux fonctions cellulaires normales [10].

### Vitamine C

La vitamine C participe directement à la synthèse des anticorps. L'acide ascorbique et l'acide déhydroascorbique constituent un système d'oxydoréduction indispensable dans un premier temps à la réduction de la cystine en cystéine et, ultérieurement, à l'oxydation des groupements sulfhydryle en ponts disulfure qui relie entre elles chaînes légères et chaînes lourdes des immunoglobulines.

La vitamine C conditionnerait aussi la synthèse des hormones stéroïdes dont on connaît l'importance dans les défenses de l'organisme face au stress. Elle est métabolisée plus rapidement dans

tous les états de stress. Elle pourrait agir en favorisant la production et l'activation d'interféron. Enfin, elle entre en jeu dans la mise en place des structures microtubulaires de membrane nécessaires à la mobilité des macrophages.

En dehors de la synthèse protéique, la vitamine C contribue à l'activité bactéricide des neutrophiles puisqu'elle est utilisée par ces cellules pendant cette étape des réactions de défense; on sait que, inversement, de fortes doses de vitamine C (2 g/h/j) diminuent ce pouvoir.

## LIPIDES

Les excès alimentaires globaux et surtout lipidiques, comme toute cause d'hyperlipémie telle qu'un amaigrissement rapide, sont immunodépresseurs, et tendent à réduire l'espérance de vie.

### ACIDES GRAS ESSENTIELS (AGE)

Les acides gras essentiels sont nécessaires à l'immunité; mais les excès ou déséquilibres sont néfastes.

Les AGE tels que l'acide linoléique précurseur de l'acide arachidonique (série  $\omega$  6) et l'acide  $\alpha$ -linoléique (série  $\omega$  3) ont un rôle structural dans les membranes biologiques et un rôle fonctionnel plus spécifique dans la synthèse des prostaglandines (PG) et leucotriènes. Par ces deux fonctions essentielles, ils participent à l'immunité [19].

#### Constituants des membranes cellulaires

La fonction immune des membranes est stimulée par leur niveau de fluidité plus que par des interactions spécifiques acides gras-protéines. Néanmoins, cette fluidité membranaire affecte l'activité de certaines protéines membranaires [1, 16]. Elle tient à l'encombrement spatial des AGE constitutifs et donc à leur degré d'insaturation. Ainsi la composition alimentaire en acide gras module le niveau du métabolisme cellulaire, notamment des lymphocytes, quant à l'intensité des divisions, à la production d'anticorps et aux autres réponses spécifiques à l'antigène.

### Formation des eicosanoïdes : prostaglandines (PG) et leucotriènes

Les AGE polyinsaturés des séries  $\omega$  6 et  $\omega$  3 sont des précurseurs de prostaglandines et des leucotriènes des séries 2 et 3 respectivement. Ces molécules pro-inflammatoires induisent bon nombre de réactions immunes bénéfiques ou néfastes si leur mobilisation est trop intense. Ces possibilités ont été mises en évidence essentiellement chez l'homme par les différences de pathologie liées à la consommation préférentielle d'huiles végétales (série  $\omega$  6) ou de poisson (série  $\omega$  3) [16]. La base théorique du retentissement de l'alimentation, par le biais des facteurs lipidiques, sur la réaction immune est ainsi posée.

### CARENCE EN ACIDES GRAS ESSENTIELS

Les symptômes de carence les plus souvent mentionnés sont une vitesse de croissance inférieure à la normale, une peau squameuse et des pertes hydriques transcutanées exagérées. L'acide arachidonique, comme précurseur des  $PG_2$ , influencerait la division cellulaire normale et la différenciation de l'épiderme.

A cause de leur rôle constitutif, une carence en AGE est à l'origine de lésions cutanées et donc d'une baisse de résistance aux infections. Par altération des membranes, elle perturbe la stimulation et la réponse lymphocytaire : la synthèse des anticorps est diminuée et la mémoire immune est mauvaise. La baisse de l'immunité humorale précède les effets sur la croissance [9].

### EXCÈS D'ACIDES GRAS POLYINSATURÉS (AGPI)

Du point de vue de leurs effets sur l'immunité, les excès lipidiques rejoignent ceux d'une carence protéique. Une concentration élevée en lipides sériques affecte les défenses non spécifiques du système réticulo-endothélial (altération des membranes).

#### Tissu lymphoïde

L'administration prolongée d'un excès d'acide linoléique ou d'acide arachidonique aboutit à une

cytolysé partiellement réversible, au niveau de la rate et du thymus. L'acide arachidonique a l'action thymolytique la plus nette et ceci est sans doute à mettre en rapport avec son haut degré d'insaturation.

### Dépression de l'immunité à médiation cellulaire

La blastogénèse est réduite non pas par l'action directe des AGPI sur les lymphocytes, mais par l'apparition dans le sérum d'éléments qui retardent la prolifération (fraction chylomicrons et lipoprotéines) [7].

Par diminution de l'activité cytotoxique des cellules Tc, les processus tumoraux et infectieux sont favorisés; chez les obèses, la fréquence des affections respiratoires et des septicémies est augmentée.

Des études multiples ont montré l'incidence accrue des cancers du côlon et des tumeurs mammaires chez des animaux soumis à un régime riche en graisses ou en acide arachidonique [21].

Réciproquement, les excès lipidiques alimentaires augmentent la survie des greffes et retardent la production d'anticorps dans les maladies auto-immunes.

### Immunité humorale

Elle est secondairement affectée par une perte de reconnaissance et de traitement par l'antigène plutôt que par une inhibition directe de la synthèse des anticorps.

### Excès lipidiques et éicosanoïdes

Les PG<sub>2</sub> en excès dépriment aussi bien la fonction T que la fonction B. Les PG synthétisées par les macrophages activés exercent une action antagoniste sur les lymphocytes qui diminuent leur production de lymphokines. Cette rétroaction correspond à un rôle immunorégulateur des PG mais on comprend qu'un apport excessif en AGPI tel que l'acide arachidonique aura des conséquences désastreuses sur l'immunité. Les acides de la série 3 auraient un effet inhibiteur dans la conversion des arachidonates [5] en PG<sub>2</sub> [16]. On pense qu'il est bon de respecter un rapport PG<sub>2</sub>/PG<sub>3</sub> variant de 5 à 10 [19].

Les leucotriènes, facteurs de l'inflammation, produits en trop grande quantité réduisent la

protection immune, notamment dans les réactions d'hypersensibilité de type I.

### VITAMINE E ET SÉLÉNIUM

La vitamine E et le sélénium, grâce à leurs propriétés antioxydantes préviennent la dégradation des AGPI et protègent les membranes cellulaires.

La vitamine E et le sélénium ont aussi un rôle modérateur de la synthèse des PG. Ils participent à l'activité bactéricide des macrophages et contribueraient à la synthèse de l'ADN. Tous deux, à des doses supérieures aux seuls besoins zootechniques [17], élèveraient la production d'anticorps et stimuleraient la phagocytose. Ils sont recommandés en pratique pour renforcer la défense immune, notamment à l'égard des salmonelloses aviaires, de la dysenterie du porc, ou des affections génitomammaires chez la vache.

### LE FER : UN EXEMPLE PARTICULIER

Coenzyme de nombreux enzymes, le fer joue un rôle majeur dans les réactions immunes.

### MÉTABOLISME DU FER : QUELQUES RAPPELS

Les fonctions biologiques du fer dépendent de sa propriété fondamentale qui est de passer de l'état ferrique (Fe<sup>3+</sup>) à l'état ferreux (Fe<sup>2+</sup>).

Outre les états ferreux, ferrique et la forme héminique du fer, celui-ci peut se lier à des protéines particulières nécessaires à son absorption, son transport et sa fixation. Trois molécules sont principalement impliquées :

— la *transferrine* plasmatique (forme de transport). Cette molécule peut fixer le fer ferrique. Elle n'est habituellement pas saturée et peut donc se comporter lors de carence comme un régulateur rapide de l'absorption du fer. Elle joue un rôle protecteur contre une accumulation excessive et toxique de fer libre dans l'organisme [2]. La transferrine intervient de manière attractive dans les échanges membranaires avec les cellules;

— les *lactoferrines*. Elles sont présentes dans les sécrétions (lait, larmes, sucs intestinaux, mucus) et dans les polynucléaires neutrophiles. La lactoferrine du lait, outre ses propriétés antianémiques, possède un pouvoir antibactérien, spécialement vis-à-vis des germes diarrhéogènes du jeune [2]. Ces deux propriétés pourraient être exploitées de manière plus large en extrayant la lactoferrine du lait ou en clonant le gène responsable de sa synthèse [13];

— la *ferritine* (forme de stockage) : elle est capable de fixer les ions ferreux du milieu en les transformant en ions ferriques ou hydroxydes. C'est une forme de stockage du fer dans le système réticulo-endothélial (SRE) du foie, de la rate et dans la moelle osseuse. Elle n'est pas rapidement relargable. Elle interviendrait également dans la régulation de l'absorption. Elle est un excellent indicateur du stock de fer dans l'organisme.

### CARENCE MARTIALE

Les effets de la carence en fer se manifestent à l'égard de la réponse immune avant toute dépression des teneurs sanguines en hémoglobine ou même en fer.

Ils sont voisins de ceux de la carence protido-énergétiques qui est souvent associée.

Cependant, l'atteinte de la fonction non spécifique des macrophages est plus grave. La réponse cellulaire est plus fortement déprimée. L'atrophie du thymus affecte essentiellement les thymocytes et non l'épithélium : la sécrétion de la thymuline est maintenue. Enfin, la cytotoxicité des cellules Tc est plus réduite [15].

### FER ET INFLAMMATION

Lors d'une réaction inflammatoire, la concentration du fer circulant est abaissée par :

- un accroissement de sa capture par le SRE;
- une augmentation de l'haptoglobine;
- une diminution de l'absorption intestinale.

Ceci est attribué à la production d'interleukine 1 dans le foyer inflammatoire et à l'oxydation de la ferritine et de l'hémosidérine (autre forme de stockage du fer) qui réduit la disponibilité des réserves.

### FER ET INCIDENCE DES INFECTIONS

Les micro-organismes exigent beaucoup de fer pour leur métabolisme. En cas d'infection, la baisse de la concentration du fer circulant apparaît comme un moyen efficace de défense de l'organisme.

Pourtant, les bactéries possèdent des sidérophores; ce sont des molécules dont le pouvoir de fixation du fer est supérieur à celui de la transferrine et qui sont capables de désaturer celle-ci.

En cas d'inflammation ou d'infection chroniques, le blocage exercé par le SRE conduit à l'indisponibilité du fer, à l'hypoferrémie et secondairement à l'anémie [3].

Les interventions prophylactiques ou thérapeutiques ne sont pas toujours justifiées si l'on veut maintenir un niveau optimal de fer dans l'organisme; une carence très modérée en fer semble en effet rendre l'homme et l'animal plus résistants à l'infection, alors qu'en cas de carence sévère, les cellules assurant la défense de l'organisme deviennent inactives et moins nombreuses. Une réalimentation en fer sur un terrain carencé doit donc être mesurée pour prévenir une augmentation de l'incidence des maladies sous-jacentes.

Ainsi, des apports abusifs en fer (par exemple lors du traitement des porcelets nouveau-nés) dépassant les capacités de fixation par la transferrine exagèrent la disponibilité sanguine du fer libre qui favorise les proliférations microbiennes; en outre, par leur rôle prooxydant, ils épuisent les réserves en vitamine E et prédisposent à une altération brutale des acides gras insaturés structuraux qui provoque un effondrement des défenses immunes. Par conséquent, des accidents septicémiques risquent de survenir à la suite de traitements ferriques intempestifs, surtout lors de carence en vitamine E-sélénium.

### FER ET CARCINOGENÈSE

De façon comparable au rôle joué vis-à-vis des bactéries, le fer interviendrait dans la croissance tumorale, et la réaction d'hypoferrémie est aussi susceptible de freiner la prolifération des cellules néoplasiques [2].

les lactoferrines. Elles sont présentes dans les sécrétions (lait, larmes, sucs intestinaux, etc.) et dans les polynucléaires neutrophiles. La lactoferrine du lait, outre ses propriétés antibactériennes, possède un pouvoir antibactérien, spécialement vis-à-vis des germes diarrhéogènes du genre *Shigella*. Ces deux propriétés pourraient être utilisées de manière plus large en extrayant la lactoferrine du lait ou en clonant le gène responsable de sa synthèse [13];

la ferritine (forme de stockage) : elle est constituée de fer et de protéines. Elle est présente dans les cellules hépatiques et dans les cellules réticulo-endothéliales (SRE) du foie, de la moelle osseuse, des reins, etc. Elle n'est pas facilement relargable. Elle intervient également dans la régulation de l'absorption. Elle est considérée comme un bon indicateur du stock de fer dans l'organisme.

**LE FER ET LA RÉPONSE IMMUNE**

Les carences en fer se manifestent à travers une réponse immunitaire diminuée. Les carences en fer affectent les teneurs sanguines en hémoglobine et les concentrations de ceux de la carence protidique qui est souvent associée.

L'atteinte de la fonction non spécifique des macrophages est plus grave. La réponse est fortement déprimée. L'atrophie est essentielle des thymocytes et de la sécrétion de la thymuline. Enfin, la cytotoxicité des cellules tueuses est diminuée [15].

**LE FER ET L'INFLAMMATION**

La réaction inflammatoire, la concentration de globules blancs est abaissée par :  
 - la diminution de sa capture par le SRE;  
 - la diminution de l'absorption intestinale.  
 La production d'interleukine 1 (IL-1) par le foyer inflammatoire et la diminution de la ferritine et de l'hémosidérine (forme de stockage du fer) qui réduit la disponibilité des réserves.

**FER ET IMMUNITÉ**

Les micro-organismes ne peuvent bien par les carences de la carence par les abus comme un mode industrialisés maladies dégénératives.

Pourtant, les carences sont évitables par son rôle dans la fixation du fer (A, E, B) un rôle de transferrine et d'excès (leucine, etc.) dans celle-ci.

En cas d'insuffisance d'un baromètre biologique, le blocage, et le rôle de l'indisponibilité de l'attention ou à des carences directement à l'astauration n'est pas évident.

Les interventions ne sont pas suffisantes pour maintenir un niveau normal de fer; une carence peut avoir un effet rendre l'organisme plus vulnérable à l'infection, alors que les cellules assurent leur fonction et ne sont pas inactives en l'absence de stimulation en fer.

Ainsi, des approches de traitement dépassant les capacités de l'organisme exagèrent les carences. La réponse est plus libérale qui favorise la production de fer, en outre, par leur rôle dans les réserves en vitamines et l'altération brutale de l'immunité. Thèse pour le doctorat, Maisons-Alfort, 132 p.

**FER ET CANCER**

De façon comparative, les carences en fer, les carences bactériennes, le fer intestinal, la carence tumorale, et la réaction inflammatoire sont susceptibles de freiner le développement des néoplasies [2].

fat on rabbit and rat lymphocyte proliferation in vitro. *J Nutr*, 1988, 118 : 11-18.

8. DE SOUSA M. Le fer et l'immunité. *La recherche*, 1988, 19 : 763-773.
9. DEWILLE JW, FRAKER PJ, ROMSOS DR. Effects of essential fatty acid deficiency, and various levels of dietary polyunsaturated fatty acids, on humoral immunity in mice. *J Nutr*, 1979, 109 (6) : 1018-1027.
10. GERSCHWIN ME, BEACH RS, HURLEY LS. Nutrition and immunity. Academic Press, inc., 250-254.
11. GRIEBEL PJ, SCHOONDERWOERD M, BABIUK LA. Ontogeny of the immune response : effect of protein energy malnutrition in neonatal calves. *Can J Vet Res*, 51 : 428-435.
12. GROSS RL, NEWBERNE PM. Role of nutrition in immunologic function. *Physiological Review*, 1980, 60 (1) : 188-306.
13. HEADON D. Nature's own Iron Source : Lactoferrin and how we can use it. Aaltechs, 1988, Second European Lecture Tour, 9 p.
14. JAMBON B, ZIEGLER O, DUHILLE J. Fonction hormonale lymphodifférenciatrice du thymus et malnutrition protéino-énergétique. Les malnutritions dans les pays du Tiers-Monde. Colloque Inserm, 1986, 136 : 333-340.
15. KURIBIDILLA S. Atteinte de l'immunité à médiation cellulaire par carence en fer dans le modèle animal (la souris). *La Malnutrition dans les pays du Tiers-Monde*. Colloque Inserm, 1986, 136 : 319-332.
16. LANDS WE. Renewed questions about polyunsaturated fatty acids. *Nut Rev*, 1986, 44 (6) : 189-195.
17. NOCKELS CF. Protective effects of supplemental vitamin E against infection. *Fed Proc*, 1979, 38 (7) : 2134-2138.
18. PORTER P, BARRATT MEJ. Immunity, nutrition and performance in animal production, Recent advances in animal nutrition, 1987, 107-116.
19. ROCHE-FONDEUR S, ROMDANE N, MOUTHON G. Aux sources de la cascade des eicosanoïdes : les acides gras essentiels. *Rec Med Vet*, 1986, 132 (10) : 1067-1079.
20. WANNEMACKER RW. Revue de l'influence des acides aminés alimentaires. *Fedstuffs*, 1980, 52 (33) : 16-20.
21. WHITELEY HE, WILLARD TR. Dog, diet and cancer : exploring the connections. *Vet Med*, 1987, 892-902.
22. WOLTER R, HENRY N. Bactéries lactiques et alimentation animale. *Bull d'Inf Station Exp d'Aviculture de Ploufragan*, 1987, 27 (4) : 108-119.
23. ZEL'TSER ME, NIKOV PS. Antibody formation on iodine-deficient diet. *Voprosy Pitaniya*, 1972, 31 (5) : 25-28.

— les *lactoferrines*. Elles sont présentes dans les sécrétions (lait, larmes, sucs intestinaux, mucus) et dans les polynucléaires neutrophiles. La lactoferrine du lait, outre ses propriétés antianémiques, possède un pouvoir antibactérien, spécialement vis-à-vis des germes diarrhéogènes du jeune [2]. Ces deux propriétés pourraient être exploitées de manière plus large en extrayant la lactoferrine du lait ou en clonant le gène responsable de sa synthèse [13];

— la *ferritine* (forme de stockage) : elle est capable de fixer les ions ferreux du milieu en les transformant en ions ferriques ou hydroxydes. C'est une forme de stockage du fer dans le système réticulo-endothélial (SRE) du foie, de la rate et dans la moelle osseuse. Elle n'est pas rapidement relargable. Elle interviendrait également dans la régulation de l'absorption. Elle est un excellent indicateur du stock de fer dans l'organisme.

### CARENCE MARTIALE

Les effets de la carence en fer se manifestent à l'égard de la réponse immune avant toute dépression des teneurs sanguines en hémoglobine ou même en fer.

Ils sont voisins de ceux de la carence protido-énergétiques qui est souvent associée.

Cependant, l'atteinte de la fonction non spécifique des macrophages est plus grave. La réponse cellulaire est plus fortement déprimée. L'atrophie du thymus affecte essentiellement les thymocytes et non l'épithélium : la sécrétion de la thymuline est maintenue. Enfin, la cytotoxicité des cellules Tc est plus réduite [15].

### FER ET INFLAMMATION

Lors d'une réaction inflammatoire, la concentration du fer circulant est abaissée par :

- un accroissement de sa capture par le SRE;
- une augmentation de l'haptoglobine;
- une diminution de l'absorption intestinale.

Ceci est attribué à la production d'interleukine 1 dans le foyer inflammatoire et à l'oxydation de la ferritine et de l'hémosidérine (autre forme de stockage du fer) qui réduit la disponibilité des réserves.

### FER ET INCIDENCE DES INFECTIONS

Les micro-organismes exigent beaucoup de fer pour leur métabolisme. En cas d'infection, la baisse de la concentration du fer circulant apparaît comme un moyen efficace de défense de l'organisme.

Pourtant, les bactéries possèdent des sidérophores; ce sont des molécules dont le pouvoir de fixation du fer est supérieur à celui de la transferrine et qui sont capables de désaturer celle-ci.

En cas d'inflammation ou d'infection chroniques, le blocage exercé par le SRE conduit à l'indisponibilité du fer, à l'hypoferrémie et secondairement à l'anémie [3].

Les interventions prophylactiques ou thérapeutiques ne sont pas toujours justifiées si l'on veut maintenir un niveau optimal de fer dans l'organisme; une carence très modérée en fer semble en effet rendre l'homme et l'animal plus résistants à l'infection, alors qu'en cas de carence sévère, les cellules assurant la défense de l'organisme deviennent inactives et moins nombreuses. Une réalimentation en fer sur un terrain carencé doit donc être mesurée pour prévenir une augmentation de l'incidence des maladies sous-jacentes.

Ainsi, des apports abusifs en fer (par exemple lors du traitement des porcelets nouveau-nés) dépassant les capacités de fixation par la transferrine exagèrent la disponibilité sanguine du fer libre qui favorise les proliférations microbiennes; en outre, par leur rôle prooxydant, ils épuisent les réserves en vitamine E et prédisposent à une altération brutale des acides gras insaturés structuraux qui provoque un effondrement des défenses immunes. Par conséquent, des accidents septicémiques risquent de survenir à la suite de traitements ferriques intempestifs, surtout lors de carence en vitamine E-sélénium.

### FER ET CARCINOGENÈSE

De façon comparable au rôle joué vis-à-vis des bactéries, le fer interviendrait dans la croissance tumorale, et la réaction d'hypoferrémie est aussi susceptible de freiner la prolifération des cellules néoplasiques [2].

## CONCLUSION

L'immunité est perturbée aussi bien par les carences de la sous-alimentation que par les abus de suralimentation dans les pays industrialisés avec une incidence accrue des maladies dégénératives dites « de civilisation ».

L'équilibre est de règle : préjudiciable par son déficit (AAI, zinc, fer, vitamines A, E, B) un élément le sera aussi par ses excès (leucine, AGPI, zinc, vitamine A et vitamine C ...).

L'immunocompétence est un baromètre sensible et fonctionnel de la nutrition, et le rôle de la diététique en matière de prévention ou à des fins thérapeutiques d'immunorestauration n'est pas négligeable.

## BIBLIOGRAPHIE

- BEREGIAT G, CHAMBAJ J, COLARD O, WOLD C. Les multiples fonctions des phospholipides cellulaires. *Médecine/Sciences*, 1988, 4 (1) : 8-15.
- BRUGERE H. Rôles biologiques du fer. Le fer dans l'organisme des mammifères. *Rec Med Vet* 1988, 164 (4) : 279-286.
- BRUGERE H. Rôles biologiques du fer. Aspects physiopathologiques. *Rec Med Vet*, 1988, 164 (5) : 347-355.
- CHANDRA RK. Immunodeficiency in indernutrition and overnutrition. *Nut Rev*, 1981, 39 (6) : 225-231.
- CHEW BP. Symposium. Immune function : relationship of nutrition and disease control. *J Dairy Sci*, 1987, 70 : 2732-2743.
- CORMIER-JOUYS P. Alimentation et immunité. Thèse pour le Doctorat vétérinaire. Année 1987. Maisons-Alfort, 132 p.
- DE DECKERE EA. Effects of type and amount of dietary fat on rabbit and rat lymphocyte proliferation in vitro. *J Nutr*, 1988, 118 : 11-18.
- DE SOUSA M. Le fer et l'immunité. *La recherche*, 1988, 19 : 763-773.
- DEWILLE JW, FRAKER PJ, ROMSOS DR. Effects of essential fatty acid deficiency, and various levels of dietary polyunsaturated fatty acids, on humoral immunity in mice. *J Nutr*, 1979, 109 (6) : 1018-1027.
- GERSCHWIN ME, BEACH RS, HURLEY LS. Nutrition and immunity. Academic Press, inc., 250-254.
- GRIEBEL PJ, SCHOONDERWOERD M, BABIUK LA. Ontogeny of the immune response : effect of protein energy malnutrition in neonatal calves. *Can J Vet Res*, 57 : 428-435.
- GROSS RL, NEWBERNE PM. Role of nutrition in immunologic function. *Physiological Review*, 1980, 60 (1) : 188-306.
- HEADON D. Natures own Iron Source : Lactoferrin and how we can use it. Aaltechs, 1988, Second European Lecture Tour, 9 p.
- JAMBON B, ZIEGLER O, DUHEILLE J. Fonction hormonale lymphodifférenciatrice du thymus et malnutrition protéino-énergétique. Les malnutritions dans les pays du Tiers-Monde. Colloque Inserm, 1986, 136 : 333-340.
- KURIBIDILLA S. Atteinte de l'immunité à médiation cellulaire par carence en fer dans le modèle animal (la souris). La Malnutrition dans les pays du Tiers-Monde. Colloque Inserm, 1986, 136 : 319-332.
- LANDS WE. Renewed questions about polyunsaturated fatty acids. *Nut Rev*, 1986, 44 (6) : 189-195.
- NOCKELS CF. Protective effects of supplemental vitamine E against infection *Fed Proc*, 1979, 38 (7) : 2134-2138.
- PORTER P, BARRATT MEJ. Immunity, nutrition and performance in animal production, Recent advances in animal nutrition, 1987, 107-116.
- ROCHE-FONDEUR S, ROMDANE N, MOUTHON G. Aux sources de la cascade des eicosanoïdes : les acides gras essentiels. *Rec Med Vet*, 1986, 132 (10) : 1067-1079.
- WANNEMACKER RW. Revue de l'influence des acides aminés alimentaires. *Fedstuffs*, 1980, 52 (33) : 16-20.
- WHITELEY HE, WILLARD TR. Dog, diet and cancer : exploring the connections. *Vet Med*, 1987, 892-902.
- WOLTER R, HENRY N. Bactéries lactiques et alimentation animale. *Bull d'Inf Station Exp d'Aviculture de Ploufragan*, 1987, 27 (4) : 108-119.
- ZEL'TSER ME, NIKOV PS. Antibody formation on iodine-deficient diet. *Voprosy Pitaniya*, 1972, 31 (5) : 25-28.



P. Prelaud

## ALLERGOLOGIE ANIMALE

L'allergologie suscite un intérêt croissant en médecine vétérinaire. On attribue de nombreuses pathologies à l'allergie sans que l'on puisse souvent avoir les moyens de le confirmer. On confond parfois dans le langage courant les termes d'atopie, d'allergie et d'anaphylaxie. L'allergie regroupe l'ensemble des manifestations d'hypersensibilité. L'anaphylaxie est l'expression d'une réaction d'hypersensibilité immédiate, le plus souvent considérée dans sa forme aiguë ou suraiguë. Quant à l'atopie, c'est une prédisposition héréditaire à manifester des réactions d'hypersensibilité de type I. Chez les animaux domestiques, elle n'a été décrite de façon formelle que chez le chien. Chez le chat et le cheval la dermatite atopique doit son nom à la similitude de symptomatologie avec l'atopie de l'enfant ou du chien.

Quoique la première reproduction expérimentale de l'anaphylaxie ait été obtenue au début du siècle par Richet et Portier chez le chien, l'allergologie vétérinaire en est encore à ses balbutiements.

L'isolement et la purification des IgE humaines

en 1967 par les Ishizaka aux Etats-Unis et par Johansson et Bennich en Suède, puis la mise au point de techniques d'exploration biologique ont largement contribué à sortir l'allergologie humaine de son empirisme. Faute de pouvoir bénéficier de ces méthodes, l'allergologie vétérinaire est longtemps restée un art essentiellement clinique.

Toutefois, en médecine vétérinaire, l'engouement récent pour les tests cutanés et l'immunothérapie, notamment chez le chien et le cheval, ont permis de mieux définir les manifestations cliniques de l'allergie, les allergènes incriminés et de mettre au point de nouvelles techniques de diagnostic biologique.

### ANTICORPS ANAPHYLACTIQUES

L'hypersensibilité immédiate est à l'origine de la majorité des manifestations allergiques. C'est pourquoi la connaissance des anticorps anaphylac-

tiques est la base de toute étude sur l'allergie. La propriété principale des anticorps anaphylactiques est de pouvoir se fixer sur les basophiles et les mastocytes. Dans de nombreuses espèces deux types d'anticorps anaphylactiques ont été isolés : des IgE (homme, rat, souris, lapin, vache, chien et cheval) et des IgG (IgGd chez le chien, IgG1 chez la souris, IgG2a chez le rat). On les distingue classiquement par leurs propriétés chimiques et biologiques. Les IgE sont homocytotropes, thermolabiles (2 heures à 56 °C) et ne sensibilisent les mastocytes cutanés qu'après une incubation de 24-48 heures (voir test de Prausnitz-Küstner). Les IgG sont thermostables, plus ou moins hétérocytotropes et capables de sensibiliser les mastocytes cutanés en 4 heures. Ces notions doivent être relativisées. Ainsi, les IgE de souris peuvent s'accrocher avec une faible affinité sur des basophiles humains et ne sont donc pas rigoureusement homocytotropes. Les IgE de rat résistent à la chaleur en présence de fortes concentrations de sels ou de sucres.

Chez le chien, l'isolement des IgE a été fait à partir d'individus fortement parasités ou allergiques à l'ambrosie (ragweed) [9]. Il a permis la production d'immunsérums anti-IgE de chien [1]. Toutefois, certains auteurs n'ont pas pu mettre en évidence d'IgE dans les sérums de chiens atopiques en utilisant ces réactifs [8, 12]. Willemse et coll. [12] ont, quant à eux, isolé à partir de chiens artificiellement sensibilisés, des IgG anaphylactiques de la sous-classe IgGd, proche des IgG1. Plusieurs arguments supplémentaires plaident en faveur de l'existence d'IgG anaphylactiques chez le chien. Des taux élevés d'IgGd spécifiques d'allergènes ne sont retrouvés que chez des chiens atopiques [13], leur taux diminue significativement après six mois d'hyposensibilisation et il est possible de provoquer la dégranulation des basophiles canins en présence d'anti-IgG [4].

Chez le cheval, des anticorps de type IgE ont été isolés à partir d'animaux allergiques à l'albumine d'œuf et à la pénicilline. Ces IgE présenteraient une communauté antigénique avec celles de l'homme et du rat [3]. L'hypothèse de l'existence d'IgG anaphylactiques a été avancée mais jamais démontrée [3].

Le chat supporte si bien les corticothérapies prolongées qu'il a suscité peu de recherches en allergologie. Tout au plus a-t-on pu mettre en évidence la présence d'anticorps anaphylactiques par anaphylaxie cutanée passive (ACP). L'isolement de ces anticorps doit encore être réalisée dans cette espèce.

Enfin, chez les bovins, la purification des IgE est acquise. Des anticorps monoclonaux anti-IgE bovines ont été obtenus [10] et le gène codant pour ces IgE a pu être cloné, permettant ainsi la production d'IgE bovines pures [2].

## ALLERGÈNES

Bien que l'intervention de phénomènes d'hypersensibilité de types I, II et III ait été mise en évidence dans la pathogénie des maladies auto-immunes, nous ne reviendrons pas sur les autoantigènes évoqués dans les chapitres précédents. Nous n'évoquerons pas davantage les allergies bactériennes encore très discutées en allergologie humaine.

### INSECTES PIQUEURS

**Hyménoptères.** Les venins d'hyménoptères sont des allergènes puissants, pouvant être responsables d'accidents anaphylactiques graves chez l'homme. Chez les animaux domestiques, la gravité de ces piqûres est rarement liée à une réaction d'hypersensibilité.

**Piqûres de diptères chez le cheval.** Les dermites estivales du cheval, fréquentes, sont des réactions d'hypersensibilité immédiate aux piqûres de Culicoïdes ou de Simulies.

**Piqûres de puces.** La puce (*Ctenocephalides felis*) est un parasite commun du chien et du chat. Les réactions d'hypersensibilité à leurs piqûres sont fréquentes dans les deux espèces. Il s'agit d'une hypersensibilité cutanée à basophiles chez le chien. Chez le chat, les résultats des tests cutanés plaident en faveur d'une hypersensibilité immédiate pure.

### PNEUMALLERGÈNES

Les pneumallergènes sont les allergènes qui pénètrent par les voies aériennes. Il s'agit principalement des différents composants de la poussière (acariens, spores de moisissures, squames) et des pollens anémophiles (ambrosie, graminées, bouleau, etc.). Ils sont responsables de manifesta-

tions d'hypersensibilité immédiate, à prédominance cutanée chez le chien, le chat et l'enfant (dermite atopique) et respiratoire chez le cheval (bronchopneumopathies obstructives) et l'homme adulte (rhinite et asthme).

Les principaux pneumallergènes incriminés en Europe sont les acariens de la poussière. On distingue les acariens de la poussière de maison (*Dermatophagoides farinae* et *Dermatophagoides pteronyssinus*) qui se nourrissent de squames animales, des acariens de stockage, qui se nourrissent de débris végétaux. Le rôle de ces derniers est encore discuté tant chez l'homme que chez l'animal.

Chez le chien, la sensibilisation aux acariens de la poussière de maison présente une particularité : la majorité des chiens atopiques sont sensibles à l'acarien *D. farinae* (40 à 80 p. cent) et non à *D. pteronyssinus* (2 à 10 p. cent) [5]. Par contre, chez l'homme la sensibilisation concomitante aux deux acariens est quasi systématique, avec une prédominance pour *D. pteronyssinus*. Une telle différence peut s'expliquer soit par une présence plus abondante de *D. farinae* dans l'entourage des chiens, soit par une reconnaissance par le chien de fractions antigéniques spécifiques de *D. farinae* et non des fractions communes aux 2 acariens. Ces hypothèses restent à vérifier.

Paradoxalement, les allergies aux acariens n'ont pas été recherchées dans les études étiologiques des bronchopneumopathies obstructives chroniques (BPOC) du cheval. Les travaux ont surtout porté sur les spores de moisissures, présentes en très grande quantité dans l'atmosphère des écuries. Elles provoquent des réactions d'hypersensibilité de types I et III.

### TROPHALLERGÈNES

On a coutume d'englober sous le terme d'allergie alimentaire les hypersensibilités vraies et des réactions provoquées par des substances histaminolibératrices ou riches en histamine. Les aliments les plus souvent incriminés en allergologie sont des protéines (lait, œuf, viande, cacahuète, céréales...) ou des additifs (conservateurs, colorants).

Chez l'animal, leur étude demeure partielle et le diagnostic d'allergie alimentaire repose sur un régime d'éviction suivi de la réintroduction des aliments suspects. Les mécanismes de ces intolérances restent obscurs. Toutefois, l'observation

chez le chien de tests positifs de dégranulation des basophiles à la viande de bœuf est en faveur de l'existence de réactions d'hypersensibilité immédiate. Dans l'espèce canine les manifestations cliniques sont principalement cutanées et digestives. Les chats semblent présenter plus souvent des intolérances alimentaires. Elles se manifestent par l'apparition d'une dermite prurigineuse essentiellement faciale. Chez le cheval, des allergies alimentaires pourraient être à l'origine de certains urticaires et de BPOC.

Pour l'anecdote, citons l'allergie à l'œuf manifestée par le panda « Ching Ching » du zoo de Londres.

### ALLERGÈNES DE CONTACT

Les allergènes dits de contact sont des haptènes qui pénètrent par voie transcutanée. Après liaison à une protéine porteuse, leur reconnaissance par le système immunitaire induit une réaction d'hypersensibilité retardée. C'est l'eczéma ou dermite de contact.

Ces allergies sont plus fréquentes chez l'homme que chez les animaux. Ceci est probablement dû à la protection offerte par le pelage et à une sensibilité variable selon les espèces.

### MÉDICAMENTS

Il est préférable de parler, surtout en allergologie vétérinaire, de réactions médicamenteuses, tant les mécanismes d'action et les manifestations cliniques sont variés. Ces réactions sont beaucoup moins fréquentes chez l'animal que chez l'homme. Les médicaments incriminés sont nombreux. Il s'agit le plus souvent d'antibiotiques ( $\beta$ -lactames), de sulfamides, d'anesthésiques et de vaccins [7].

### DERMATOPHYTES

Occasionnellement les dermatophytes, *Microsporum canis* et *Trichophyton mentagrophytes*, peuvent provoquer des réactions d'hypersensibilité retardée d'expression cutanée chez l'homme ou le chien, appelées dermatophytides. Chez le cheval et le chat, porteurs sains de dermatophytes, de

telles manifestations n'ont pas été décrites à notre connaissance; l'hypothèse d'une dermatophytide comme étiologie de la dermatite miliaire du chat a été émise mais jamais démontrée.

### HORMONES SEXUELLES

L'hypersensibilité aux hormones sexuelles reste encore très discutée. Elle se manifeste principalement chez la femme par des urticaires cycliques (allergie à la progestérone ou aux œstrogènes). Chez le chien, cette entité pathologique a été décrite.

## DIAGNOSTIC SPÉCIFIQUE DES ALLERGIES

La recherche des allergènes responsables des manifestations cliniques a un double intérêt : poser le diagnostic d'allergie et choisir une thérapeutique adaptée (évitement, hyposensibilisation).

### TESTS DE PROVOCATION

Bien qu'ils apportent la preuve la plus tangible de la responsabilité d'un allergène, ils sont trop lourds à mettre en œuvre chez l'animal.

### TESTS CUTANÉS

Historiquement, la première méthode employée a été l'intradermoréaction, dont le temps de réaction a permis de définir les différents types d'hypersensibilité. Aujourd'hui encore, les tests cutanés restent, surtout en médecine vétérinaire, un moyen facile de mise en évidence d'une sensibilisation.

#### Tests cutanés de lecture immédiate (15-20 min)

Ils sont utilisés en routine chez l'homme pour le diagnostic d'hypersensibilités immédiates aux pneumallergènes, aux aliments, aux médicaments

ou aux piqûres d'insectes. La technique la plus utilisée est le « prick test » ou scarification par piqûre, moins dangereuse et plus reproductible que l'intradermoréaction. En médecine vétérinaire, les « prick » ne sont pas employés : leur lecture est difficile et les épaisseurs de peau varient grandement d'une espèce et d'une race à l'autre. On utilise donc l'intradermoréaction (IDR).

La lecture des résultats, qui doit tenir compte de l'apparition d'un œdème et d'un érythème, est très difficile chez le chat et le mouton, espèces dont la réactivité cutanée est très faible. Chez le cheval et le chien, la technique et la lecture sont simples [11]. Toutefois, les résultats doivent être interprétés en fonction de l'état de la peau, des thérapeutiques antérieures et de la qualité des extraits allergéniques. Ce dernier point est l'écueil principal de l'allergologie vétérinaire. Les extraits de moisissures utilisés chez le cheval sont « irréguliers » et chez le chien la seule standardisation consiste à définir des concentrations non irritantes.

#### Tests de lecture tardive (24-48 h)

Chez le chien, l'intradermoréaction à l'extrait de puce est toujours lue à 15 minutes et à 48 heures, certains chiens pouvant ne présenter que des réactions tardives.

Les tests épicutanés sont employés dans le diagnostic des allergies de contact. Le principe est d'appliquer pendant 48 heures l'allergène à même la peau, puis d'observer la réaction cutanée. D'un usage courant en allergologie humaine, ils sont d'un emploi délicat sur l'animal. En outre, les solutions utilisées ne sont standardisées que pour l'homme.

### TESTS BIOLOGIQUES

La recherche des témoins d'une sensibilisation peut se faire soit par la recherche d'anticorps spécifiques d'allergènes circulants, soit par la recherche d'anticorps cytotropes fixés sur les basophiles circulants.

#### Tests sérologiques

La recherche d'anticorps précipitants, témoins d'une hypersensibilité de type III, se fait par immunodiffusion en gel ou par électrophorèse. La

que la plus  
fication par  
productible  
ine vétérinaire  
oyés : leur  
s de peau  
une race à  
moréaction

enir compte  
ythème, est  
on, espèces  
le. Chez le  
ecture sont  
loivent être  
peau, des  
qualité des  
est l'écueil  
Les extraits  
sont « irréd-  
ardisation  
non irri-

n)  
à l'extrait  
nutes et à  
e présenter

és dans le  
principe est  
ne à même  
anée. D'un  
e, ils sont  
outre, les  
s que pour

isibilisation  
d'anticorps  
oit par la  
és sur les

s, témoins  
e fait par  
horèse. La

recherche des anticorps anaphylactiques spécifiques exige l'utilisation de méthodes très sensibles. Les techniques radio-immunologiques sont de moins en moins utilisées au profit de techniques immunoenzymo-fluorimétriques, moins onéreuses et aussi sensibles. Il s'agit de techniques de sandwich simple : l'allergène est fixé sur un disque d'acétate de cellulose ou le fond d'une cupule en plastique. Il est mis à incuber en présence du sérum à tester puis, après lavage, en présence de l'immunsérum marqué. Ces techniques de dosage d'IgE spécifiques sont largement utilisées en médecine humaine.

En allergologie canine, des laboratoires proposent des dosages d'IgE spécifiques. Mais les résultats de ces tests sont décevants; ils s'accordent mal avec les renseignements fournis par l'examen clinique et les tests cutanés. Ceci est probablement dû au manque de spécificité des immunsérums anti-IgE de chien... La recherche d'IgGd spécifiques correspond mieux aux données cliniques, mais elle n'est pas proposée en routine.

Chez le cheval, des essais de dosages d'IgE spécifiques par ELISA ont été faits, mais ils ne sont pas non plus utilisés en routine.

En fait, le peu de développement de ces techniques chez les animaux domestiques est dû à la difficulté d'obtention d'IgE pures. Les immunsérums de qualité utilisés en allergologie humaine sont, en effet, produits à partir d'IgE humaines myélomateuses. La découverte de tels myélomes serait providentielle pour l'allergologie canine et équine.

Enfin, même s'il existe une antigénicité croisée entre les IgE de l'homme et celles du chien ou du cheval, celle-ci n'est pas suffisante pour permettre l'emploi d'anti-IgE humaines pour la recherche d'IgE de chien ou de cheval.

Ces résultats quelque peu décevants et le fait que ces techniques ne permettent de mettre en évidence que les surplus d'anticorps circulants, font des tests cellulaires la meilleure approche biologique de l'hypersensibilité immédiate chez les animaux domestiques.

**Tests cellulaires**

Le principe de ces tests est de mettre en évidence, après contact antigénique, la libération de médiateurs par les basophiles sensibilisés (test de libération d'histamine) ou leur perte d'affinité pour les colorants spécifiques (test de dégranulation des basophiles).

Le principal problème technique, chez l'homme, le chien et le chat est l'enrichissement en basophiles du sang. Celui-ci se fait par simple centrifugation ou par l'utilisation de gradients de densité. Plusieurs dilutions de l'allergène sont préparées (de 10 µg/ml à 1 ng/ml) et adsorbées sur des plaques de microtitrage. Un aliquot de plasma enrichi en leucocytes est mis à incuber en présence de chaque dilution. Dans le test de libération d'histamine on effectue le dosage de l'histamine dans le surnageant après incubation. Les techniques de dosage chimique (fluorimétrie ou HPLC) sont lourdes et nécessitent une automatisation. Les techniques immunologiques (anticorps monoclonaux), plus faciles à mettre en œuvre, restent onéreuses. C'est pourquoi, en pratique, ce test n'est employé que pour des études pharmacologiques et peu en diagnostic. Il a été appliqué chez le chien [9] et le cheval.

Le test de dégranulation des basophiles (TDB) (Fig. 41-1). Après incubation, les basophiles sont colorés et comptés dans des hémocytomètres pour chaque dilution d'allergène. Les résultats obtenus sont comparés à deux témoins dépourvus d'allergène. Les colorants utilisés chez l'homme, le cheval et le lapin sont le bleu de toluidine et le bleu alcyan qui ont une forte affinité pour les protéoglycanes à pH acide. La faible teneur en protéoglycanes des granules de basophiles de

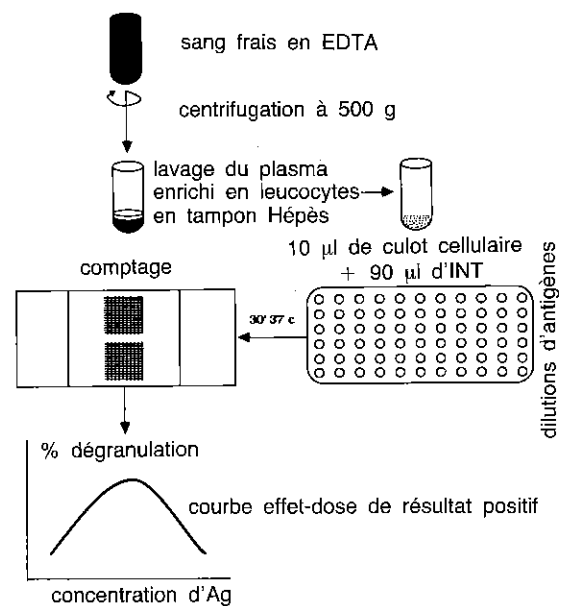


Figure 41-1 Test de dégranulation des basophiles. INT : iodotétrazolum.

chien et de chat interdit l'emploi de ces colorants. On utilise l'iodonitrotétrazolium (INT) qui met en évidence l'activité de la succinyl-déshydrogénase contenue dans les granules.

L'interprétation de ces tests doit tenir compte du nombre de basophiles comptés dans les témoins : plus ils sont nombreux, plus le seuil de positivité est bas. On exprime les résultats en pourcentage maximal de dégranulation [6]. Toutes ces techniques sont lourdes. Elles ne devraient être utilisées chez l'animal que lorsque les tests cutanés sont impraticables ou pour des études pharmacologiques.

L'ensemble des tests de diagnostic allergologique et a fortiori les tests biologiques représentent à la fois un progrès et un danger pour la pratique de l'allergologie. En effet ils ne doivent pas faire oublier que le diagnostic allergologique est avant tout clinique.

## HYPOSENSIBILISATION

Le traitement des allergies, tant chez l'homme que chez l'animal, repose avant tout sur l'éviction de l'allergène. Par exemple : des traitements insecticides, un régime d'éviction lors d'allergie alimentaire ou la mise au pré de chevaux souffrant de BPOC. Toutefois, dans la pratique, cette éviction est souvent impossible. Les effets secondaires de la plupart des traitements symptomatiques, et notamment des corticoïdes, font de l'hyposensibilisation la méthode de choix pour le traitement de fond des manifestations d'hypersensibilité immédiate.

Le principe de l'hyposensibilisation, terme préféré à désensibilisation, est de provoquer une diminution de la réaction anaphylactique par administration de l'allergène à doses croissantes. Elle repose sur des observations faites chez l'homme ou des animaux de laboratoire. Nous nous contenterons ici de présenter les protocoles et les résultats obtenus tant chez l'homme que chez l'animal (chien, cheval) dans les allergies aux pneumallergènes et aux piqûres d'insectes.

### PNEUMALLERGÈNES

L'efficacité de l'hyposensibilisation aux pneumallergènes est maintenant reconnue chez

l'homme pour les acariens de la poussière et les pollens (graminées, ambrosie). Les résultats concernant les squames d'animaux et les moisissures sont encore discutés. Les protocoles varient grandement selon les auteurs et le type d'allergènes utilisés : aqueux ou « retards ».

L'administration hebdomadaire ou bihebdomadaire par voie sous-cutanée est le protocole le plus largement utilisé. Une fois déterminée la dose minimale efficace, ou maximale tolérée (chien), les injections sont espacées en fonction de l'amélioration des signes cliniques.

Chez l'homme, les réactions généralisées d'aggravation empêchent parfois la progression du traitement d'attaque. Certains auteurs proposent dans ce cas des désensibilisations accélérées (atteinte de la dose maximale en 3 à 5 jours) en milieu hospitalier. Ces protocoles permettent d'atteindre des doses supérieures aux méthodes « classiques ». Il s'agit probablement plus ici d'un phénomène de tolérance ou de paralysie immunologique que d'une hyposensibilisation à proprement parler.

Chez les animaux domestiques les réactions généralisées étant rarissimes, ces protocoles ne sont pas utilisés, on leur préfère les schémas « classiques » à l'aide d'extraits aqueux (Amérique du Nord) ou retard (Europe).

Chez le chien, l'efficacité de l'hyposensibilisation, dans le traitement de la dermatite atopique, est maintenant largement admise. Les études critiques utilisant soit des extraits allergéniques aqueux, soit des extraits « retard » montrent une efficacité variant de 50 à 80 p. cent selon les auteurs. Une seule hyposensibilisation a été menée en double aveugle [14]. Elle s'est avérée efficace chez 59 p. cent des chiens après 9 mois de traitement avec les extraits allergéniques (20 p. cent pour les chiens traités avec le placebo). Le suivi biologique de chiens atopiques après 6 mois d'hyposensibilisation a permis de mettre en évidence une augmentation significative du taux d'IgG spécifiques et une diminution significative du taux d'IgGd spécifiques de *Dermatophagoides farinae*.

Chez le chat, les études sont partielles et les pathologies auxquelles l'hyposensibilisation a été appliquée sont mal définies. C'est pourquoi on ne peut pas conclure quant à son efficacité dans le traitement de l'asthme, de la dermatite atopique, de la dermatite miliaire ou des granulomes à éosinophiles.

Chez les chevaux atteints de BPOC, les essais

sière et les résultats aux et les protocoles et le type ards ».

bihebdoma- cole le plus ée la dose ée (chien), n de l'amé-

isées d'ag- pression du proposent accélérées 5 jours) en permettent méthodes t plus ici e paralysie ilisation à

réactions tocoles ne s schémas eux (Amé-

posensibili- e atopique, es études ergéniques ntrent une selon les ée menée ée efficace mois de iques (20 acebo). Le rès 6 mois mettre en e du taux gnificative phagoides

lles et les ation a été uoi on ne té dans le ppique, de es à éosi-

les essais

d'hyposensibilisation aux spores de moisissures n'ont pas, à notre connaissance, été faits en double aveugle. En outre, les critères de diagnostic et de choix des allergènes empêchent de conclure quant à la valeur des résultats. En effet, ces études ne tiennent pas compte du stade évolutif, des modifications de l'environnement, du type de réaction cutanée (immédiate ou tardive) et du fait que de nombreux chevaux sains présentent aussi des tests cutanés positifs.

Aujourd'hui, les avantages théoriques de la voie orale séduisent les allergologues humains. En effet, cette voie serait plus sûre et plus facile à mettre en œuvre. Un essai en double aveugle a même montré l'efficacité de l'administration de granules de hautes dilutions de pollens de graminées dans le traitement du rhume des foins.

### PUCES

Deux études, menées en double aveugle, l'une chez le chien, la seconde chez le chat, n'ont pas mis en évidence de différence significative entre le placebo et un extrait allergénique de corps totaux de *Ctenocephalides felis*, dans le traitement de la dermatite par allergie aux piqûres de puces.

### CULICOÏDES

Bien que les réactions aux piqûres de culicoïdes soient de type immédiat, les essais d'hyposensibilisation à l'aide d'extraits aqueux de corps totaux restent un échec.

### VENINS D'HYMÉNOPTÈRES

La désensibilisation aux venins d'hyménoptères est, à l'heure actuelle chez l'homme, la plus satisfaisante (90 p. cent de réussite). Elle se fait à l'aide de venins purifiés en « thérapie précipitée » de 5 jours, 3 jours, voire 6 heures. Les injections d'entretien sont mensuelles. Il s'agit plus dans ce cas d'une « vaccination », avec intervention d'anticorps bloquants, que d'une réelle hyposensibilisation.

## CONCLUSION

En allergologie, comme dans d'autres domaines de la médecine, l'habitude a été prise de combler les lacunes des connaissances en médecine vétérinaire par des emprunts à la médecine humaine. Or le développement d'une allergie dépend à la fois de facteurs génétiques et de facteurs d'environnement. Cependant, les conditions de vie, d'alimentation et de médicalisation des animaux sont très différentes de celles de l'homme. Ceci peut en partie expliquer la fréquence des allergies médicamenteuses et des eczémas de contact chez l'homme, des allergies aux puces chez le chien et des BPOC chez le cheval. Enfin, comme le montrent les différents chapitres de cet ouvrage, la réponse immune peut différer d'une espèce à l'autre. Ainsi, en allergologie, on peut considérer que certaines espèces ont une réponse anaphylactique à prédominance IgE (homme, rat, souris) et d'autres à prédominance IgG (cobaye, chien).

Les progrès récents tant dans la purification des anticorps anaphylactiques que dans la mise au point de tests cellulaires, permettront dans l'avenir de mieux connaître les spécificités des allergies des animaux domestiques.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

- CHARPIN J. Allergologie. Flammarion Médecine Sciences, 2<sup>e</sup> édition, Paris, 1986, 1 034 pages.
- HALLIWELL REW, GORMAN NT. Veterinary Clinical Immunology, Saunders, Philadelphia, 1989.
- MAYRAND L. Les allergies non respiratoires. Laboratoires Fisons, Lyon, 1983, 548 pages.
- MONERET-VAUTRIN DA, ANDRÉ CI. Immunopathologie de l'allergie alimentaire et fausses allergies alimentaires. Masson, Paris, 1983, 266 pages.
- MULLER GH, KIRK RW, SCOTT DW. Small animal dermatology. Third Edition. WB Saunders, Philadelphia, 1983 : 400-448.
- PERRIN LF. Allergologie pratique. Masson, Paris, 1984, 203 pages.
- REEDY LM, MILLER WM Jr. Allergic skin diseases of dogs and cats. Saunders, Philadelphia, 1989.
- SCOTT DW. Immunologic skin disorders in the dog and cat. Vet Clin North Am, 1978, 8 : 641-664.
- SCOTT DW. Large Animal Dermatology. WB Saunders Company, Philadelphia, 1988 : 284-330.

### Références

- HALLIWELL REW, KUNKLE GA. The radioallergosorbent test in the diagnosis of canine atopic disease. J Allergy Clin Immunol, 1976, 62 : 236-242.

2. KNIGHT J, BROSTOFF J, PACK S et al. Genetic engineering of bovine Ig. Construction and characterization of hapten-binding bovine/murine chimeric IgE, IgA, IgG1, IgG2 and IgG3 molecules. *J Immunol*, 1988, *140* : 3654-3659.
3. MORROW AN, RUDOFKY UH, SCHRADER WP et al. Some characteristics of the antibodies involved in allergic skin reactions of the horse to biting insects. *Br Vet J*, 1987, *143* : 59-69.
4. PRELAUD P, SAINTE-LAUDY J. Set up of a canine basophil degranulation test : correlation with two major allergens (Dermatophagoides farinae & Ctenocephalides felis). Proceedings XIIIth WSAVA Congress, Barcelona, 1988.
5. PRELAUD P, SAINTE-LAUDY J. Dermatite atopique du chien : méthodes de diagnostic in vitro. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*, 1988, *5* : 441-448.
6. SAINTE-LAUDY J. Standardization of basophil degranulation for pharmacological studies. *J Immunol Methods*, 1987, *98* : 279-285.
7. SCOTT DW. Drug eruption. In : RW Kirk. *Current Veterinary Therapy VI*, WB Saunders, Philadelphia, 1980 : 458-463.
8. SCHWARTZMAN RM, MASSICOT JG, SOGN DD. The atopic dog model : report of an attempt to establish a colony. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1983, *72* : 97-101.
9. SCHWARTZMAN RM, ROCKEY JH, HALLIWELL REW. Canine reaginic antibody characterization of the spontaneous antiragweed and induced anti-dinitrophenyl reaginic antibodies of the atopic dog. *Clin Exp Immunol*, 1971, *9* : 549-569.
10. THATCHER EF, GERSHWIN LJ. Generation and characterization of murine monoclonal antibodies specific for bovine immunoglobulin E. *Vet Immunol Immunopathol*, 1988, *18* : 53-66.
11. WILLEMSE T. Investigation of symptomatology and the significance of immediate skin test reactivity in canine atopic dermatitis. *Res Vet Sci*, 1984, *34* : 261-265.
12. WILLEMSE T, NOORDZIJ A, RUTTEN VPMG et al. Induction of non-IgE anaphylactic antibodies in dogs. *Clin Exp Immunol*, 1985, *59* : 351-358.
13. WILLEMSE T, NOORDZIJ A, VAN DEN BROM WE et al. Allergen specific IgGd antibodies in dogs with atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol*, 1984, *59* : 359-363.
14. WILLEMSE T, VAN DEN BROM WE, RINBERK A. Effect of hyposensitization on atopic dermatitis in dogs. *JAVMA*, 1984, *184* : 1277-1280.



h a colony. Int  
97-101.

WELL REW.  
of the sponta-  
phenyl reaginic  
anol, 1971, 9 :

and characteri-  
specific for  
immunopathol,

ology and the  
vity in canine  
261-265.

WPMG et al.  
s in dogs. Clin

OM WE et al.  
gs with atopic  
359-363.

rk A. Effect of  
ogs. JAVMA,

# IMMUNOLOGIE COMPARÉE

P.-P. Pastoret

## INTRODUCTION À L'IMMUNOLOGIE COMPARÉE

Le chapitre d'Edwin Cooper consacré à la phylogénie du système immunitaire a montré qu'il a évolué en se compliquant.

Au sein des vertébrés, le schéma général d'organisation du système est fondamentalement identique car il doit répondre aux mêmes contraintes, qui lui sont imposées par les milieux extérieur et intérieur.

Néanmoins, de profondes différences subsistent entre certaines espèces actuellement éloignées, comme en témoigne la persistance chez les oiseaux d'un organe différencié chargé de la maturation des lymphocytes B. D'autres aspects du système diffèrent même entre espèces de mammifères assez proches, comme le mode de transmission passive de l'immunité maternelle, si importante pour la survie du nouveau-né. C'est pourquoi, une part importante de cet ouvrage est consacrée à l'immunologie comparée.

Le choix des espèces reprises dans cet inventaire a été dicté par des considérations de plusieurs ordres.

Cette revue des différents systèmes immuni-

taires se veut très large, incluant les principaux groupes zoologiques, qu'ils suscitent ou non un intérêt économique, afin de donner un aperçu général de l'organisation de l'immunité.

La part la plus importante est cependant consacrée à la description des principales espèces d'animaux domestiques qui font l'objet d'une attention particulière en médecine vétérinaire.

Certaines ont été regroupées dans un même chapitre comme le bovin, le mouton et la chèvre en raison de leurs similitudes d'adaptation, en tant que ruminants. Parmi ceux-ci, les camélidés ont cependant bénéficié d'un développement particulier car ils jouent un rôle extrêmement important dans certaines parties du monde. En revanche, certaines espèces, comme le buffle et l'éléphant, n'ont pas été décrites explicitement, car les informations les concernant sont encore trop fragmentaires, même si ces deux dernières espèces jouent un rôle dans l'économie de plusieurs pays.

Les espèces sauvages comme le renard (*Vulpes vulpes*) et le blaireau européen (*Meles meles*) ont

eu droit à des descriptions particulières en raison de l'intérêt qu'elles suscitent sur le plan épidémiologique. Le premier en tant que principal vecteur de la rage en Europe occidentale, le second comme réservoir de la tuberculose bovine, notamment en Grande-Bretagne. Les pinnipèdes et les cétacés ont eu droit à un traitement spécial en leur qualité de mammifères marins parfois victimes d'épizooties spectaculaires mettant leur existence en danger.

L'ordre de présentation des espèces suit la classification zoologique traditionnelle.

Le choix des rubriques dans chaque chapitre a principalement été dicté par des considérations d'intérêt pratique et par les composantes du système immunitaire qui comportent des particularités. En effet, les deux premières parties de l'ouvrage décrivent les bases communes de leur fonctionnement alors que celle-ci s'intéresse aux singularités des différentes espèces, acquises en raison de leur adaptation. C'est ainsi que le mode de transmission de l'immunité passive a été particulièrement examiné pour l'importance qu'il revêt en médecine vétérinaire, alors que la description du complexe majeur d'histo-compatibilité est présentée en raison de sa fonction biologique majeure (reconnaissance du soi) et aussi pour les conséquences pratiques de la connaissance du système (résistance vis-à-vis de certaines infections). En outre certaines espèces présentent un haut degré de polymorphisme et d'autres pas, sans que l'on en comprenne exactement la raison.

Les cytokines n'ont pas fait l'objet d'une subdivision particulière parce que les connaissances acquises à leur sujet dans les espèces

domestiques sont directement développées dans le chapitre correspondant de la partie générale de l'ouvrage (chapitre 11). De même l'immunologie de la souris n'est que brièvement rapportée car elle sert de base à de nombreuses descriptions de la partie générale.

Par contre, les groupes sanguins ont été systématiquement décrits. En effet, même si les érythrocytes ne jouent aucun rôle dans le fonctionnement du système immunitaire, leurs antigènes ont été déterminants dans le développement de l'immunologie. En outre, la présence ou l'absence d'isohémagglutinines naturelles ou d'isohémolysines est une source de variations entre les espèces. Un chapitre consacré aux groupes sanguins chez l'homme a été individualisé, car c'est certainement l'espèce actuellement la mieux connue à cet égard. La connaissance des groupes sanguins de l'homme, en raison notamment de son importance pratique en transfusion, continue à servir de modèle aux études dans les autres espèces.

## BIBLIOGRAPHIE

- MARGULIS L, SCHWARTZ KV. Five kingdoms. An illustrated guide to the phyla of life on earth. WH Freeman and company, New York, 1988.
- MCDONALD D. The encyclopaedia of mammals 1 and 2. Georger Allen and Unwin, London, Sydney, 1984.
- STORER TI, USINGER RL. General Zoology. Third Edition. McGraw-Hill Book Company, Inc., New York, Toronto, London, 1957.

pées dans le  
générale de  
immunologie  
apportée car  
criptions de

nt été systé-  
ème si les  
le fonction-  
rs antigènes  
ppement de  
ou l'absence  
d'isohémo-  
s entre les  
ux groupes  
dualisé, car  
nt la mieux  
des groupes  
amment de  
, continue à  
les autres

An illustrated  
Freeman and

nals 1 and 2.  
y, 1984.  
Third Edition.  
York, Toronto,

M. Brehélin

## IMMUNOLOGIE DES INVERTÉBRÉS

S'il faut chercher un point commun à l'immunologie de tous les groupes d'Invertébrés, c'est dans la principale différence avec l'immunologie des Vertébrés que l'on pourra le trouver. Il n'y a pas dans leur cas de réaction de l'antigène avec un médiateur spécifique de type immunoglobuline \*, à l'exception peut-être des échinodermes.

Chez des animaux (diplo- ou triploblastiques) aussi différents que des éponges, des vers, des mollusques, des insectes ou des oursins, une diversité des réactions de défense se superpose aux différences morphologiques. De plus, malgré la découverte du phénomène de phagocytose et son interprétation effectuée par E. Metchnikoff en 1882, chez l'étoile de mer (échinoderme) et la daphnie (crustacé) [8], les travaux sur l'immunité des invertébrés sont restés rares et dispersés

jusqu'aux années soixante. C'est dans l'embranchement des arthropodes, regroupant 90 p. cent des espèces animales connues, que les études sont les plus nombreuses. Elles serviront de trame à ce chapitre qui sera divisé en trois paragraphes : les cellules intervenant dans l'immunité, les médiateurs chimiques, les réactions immunes.

### SYSTÈME IMMUNITAIRE : ASPECTS CYTOLOGIQUES

Les cellules du système immunitaire des invertébrés peuvent être divisées en deux groupes : les cellules fixes et les cellules circulantes.

#### CELLULES FIXES

Elles sont parfois regroupées en organes mais le plus souvent dispersées dans tout l'organisme.

\* Ces différences de fond nous ont amené à emprunter des termes immunologiques dont l'objet ou l'action qu'ils désignent chez les invertébrés, ne présentent souvent qu'une très faible analogie avec ceux des vertébrés.

Chez les Insectes, des centres hématopoïétiques très structurés fonctionnent à la fois comme lieux d'origine des cellules circulantes, comme organes phagocytaires et vraisemblablement comme lieux de synthèse de molécules antibactériennes [7]. Des nodules hématopoïétiques ont également été décrits chez les crustacés et les mollusques. Il existe en outre, chez les insectes, des cellules péricardiales regroupées en amas le long du vaisseau dorsal, qui réalisent une endocytose [5]. Les macrophages fixés des crustacés sont répartis par groupes de 4 à 5 cellules le long de certains vaisseaux ou dans les branchies. Il en est de même des différents types de cellules phagocytaires bordant les cavités coelomiques des mollusques et des annélides.

### CELLULES CIRCULANTES

Ce sont les hémocytes des arthropodes et des mollusques, les leucocytes et coelomocytes dans les autres groupes d'invertébrés. Chez les insectes, les hémocytes sont divisés en deux grandes catégories : les hémocytes sans granules et les hémocytes granuleux [4]. Le type principal d'hémocytes sans granules est le type œnocytoïde, cellule de grande taille à rapport nucléocytoplasmique important, présentant une activité phénoloxidasique dont nous verrons l'importance dans la reconnaissance du non-soi. Les principaux hémocytes granuleux sont :

— les *hémocytes granuleux de type I* ou coagulocytes, caractérisés par la présence d'inclusions présentant une structure interne et un ergastoplasme très développé en citernes dilatées. Ils interviennent dans la phagocytose et l'induction de la « coagulation »;

— les *hémocytes granuleux de type II* ou granulocytes typiques, dont les inclusions sont toutes uniformément denses aux électrons. Ils forment les cals cicatriciels, les capsules entourant les corps étrangers et synthétisent une partie du lysozyme sanguin;

— les *hémocytes granuleux de type III* ou plasmocytes-macrophages, dont toutes les inclusions sont des lysosomes.

L'existence de cellules assimilables aux lymphocytes est actuellement très discutée chez les annélides et les échinodermes. Les autres groupes d'invertébrés n'en possèdent pas.

### MÉDIATEURS CHIMIQUES

L'énorme majorité des groupes d'invertébrés ne possède pas d'anticorps mais d'autres catégories de molécules sont synthétisées. Nous distinguons les substances présentant une activité toxique directement pour les corps étrangers, des substances synergiques des cellules immunitaires (activité « opsonique » essentiellement).

### SUBSTANCES TOXIQUES POUR LES CORPS ÉTRANGERS

Différents types de molécules ont été mis en évidence, qui sont presque tous des polypeptides ou des protéines.

Les *lysozymes* montrent une large distribution dans la plupart des embranchements d'invertébrés. Ils sont présents en permanence dans l'hémolymphe mais, dans certaines conditions, leur taux peut augmenter, de façon souvent fugace, à la suite d'une injection de bactéries pathogènes. Chez les insectes ils sont synthétisés par les cellules péricardiales [5] et certains hémocytes circulants [11].

D'autres *molécules à action hémolytique* (lyse d'hématies de vertébrés), *bactériostatique* ou *bactériolytique*, ont été mises en évidence principalement chez les annélides, les mollusques, les échinodermes, les crustacés et les insectes. Dans ce dernier groupe, une douzaine de protéines actives sont connues; les attacines (protéines de masses molaires de  $2.10^4$  à  $4,8.10^4$ ), les cecropines (masse molaire autour de  $4.10^3$ ) et leurs gènes font l'objet de nombreuses études [3]. La production de ces substances, actives contre des bactéries entomopathogènes ou non, est très fortement stimulée à la suite d'une injection de bactéries, plus faiblement après une blessure ou une injection de solution saline isotonique.

D'autres catégories de molécules jouent un rôle très important chez les insectes et les crustacés. Il s'agit des *mélanines* dont la production a été systématiquement décrite dans les réactions contre les parasites et souvent contre les agents pathogènes. En réalité, ce seraient des *quinones*, composés cytotoxiques, intermédiaires entre la tyrosine et les mélanines, et non les mélanines elles-mêmes, qui joueraient le rôle essentiel.

L'existence de *substances antivirales* est très discutée; si elles sont présentes, elles sont très peu répandues chez les invertébrés.

## AUTRES MÉDIATEURS CHIMIQUES

Ils collaborent à la défense immune cellulaire. Ce sont essentiellement des molécules favorisant la reconnaissance et/ou l'adhésion des cellules sur le corps étranger. Les composés les plus importants sont les agglutinines et les enzymes catalysant les réactions de synthèse des mélanines.

Si des *agglutinines* ont été mises en évidence dans tous les groupes d'invertébrés, leur rôle n'est pas encore bien compris. Chez les mollusques cependant, il a été montré de façon non équivoque [9] qu'elles jouent un rôle important dans la reconnaissance du non-soi par les hémocytes en établissant des liaisons entre les récepteurs situés sur la membrane de certains hémocytes et les corps étrangers.

Le système *phénoloxydase* est une cascade de réactions enzymatiques qui conduisent à l'activation d'un proenzyme présent dans le sang des arthropodes : la prophénoloxydase (proPO). Une fois activée par un système sécrété par les hémocytes, la PO va catalyser certaines réactions de la chaîne de synthèse des mélanines. L'existence de deux voies d'activation dont l'une fait intervenir des glycanes ou des endotoxines, ainsi que la nécessité d'une concentration définie en ions calcium dans les premières étapes de la chaîne de réactions et ses relations avec la « coagulation » de l'hémolymphe, ont fait comparer ce système au complément des mammifères [1]. L'une de ses activités biologiques importantes est la grande facilité qu'ont certains de ses composés à se fixer (de façon non spécifique) sur les corps étrangers, facilitant ainsi leur reconnaissance par les cellules du système immunitaire.

## RÉACTIONS IMMUNES

### RÉACTIONS À MÉDIATION ESSENTIELLEMENT HUMORALE

Elles ont été évoquées avec les médiateurs chimiques. Notons que, chez les insectes, les attacines n'ont qu'une activité bactériostatique dirigée contre quelques germes à Gram négatif, alors que les cécropines ont un spectre beaucoup plus large de bactéries à Gram positif et à Gram négatif dont elles lysent les membranes, chacune en des sites spécifiques. Comme la synthèse de

plusieurs cécropines est induite simultanément par le même germe présent dans l'hémocœle d'un insecte, il est impossible pour ce germe de devenir, par mutation, résistant à la fois à toutes les cécropines induites. Cet avantage aurait fortement contribué au développement et à la large répartition des insectes, que nous connaissons aujourd'hui [3]. Il faut cependant souligner que certains germes entomopathogènes ont trouvé une parade, non par la sélection de souches résistantes, mais par la production d'un facteur immunodépresseur qui lyse les protéines antibactériennes induites [6].

### RÉACTIONS À MÉDIATION ESSENTIELLEMENT CELLULAIRE

Les réactions humorales que nous venons de décrire sont limitées aux insectes et même dans cette classe elles ne sont pas les seules ni les plus importantes pour l'immunité des animaux. Les réactions cellulaires se rencontrent dans tous les embranchements d'invertébrés [10] et sont, de plus, dirigées contre la plupart des agressions que ceux-ci subissent : blessures, infections, parasitisme.

La « *coagulation* » fait intervenir des facteurs humoraux et cellulaires. Chez les invertébrés non arthropodes elle est réduite à l'agrégation de cellules circulantes. Chez les arthropodes, il existe en plus une « coagulation » plasmatique qui se traduit par la précipitation d'une protéine spécifique [2]. Outre son action mécanique dans l'obturation des plaies, la « coagulation » remplit d'autres fonctions dont l'une des plus importantes est la sécrétion et l'activation de certains facteurs par les cellules. C'est à la suite d'une transformation d'hémocytes granuleux de types I et II au contact d'un corps étranger, induisant une « coagulation » limitée, que sont libérés les facteurs de reconnaissance issus du système phénoloxydase chez les insectes. La « coagulation » représente la première phase (reconnaissance) des réactions immunes.

La *phagocytose*, réalisée par des cellules fixes et des cellules circulantes, se déroule selon les mêmes processus que ceux connus chez les vertébrés. Cependant les contacts se font le plus souvent au hasard, rarement par chimiotactisme. Une autre différence avec les vertébrés concerne la très faible spécificité de cette réaction. Les macrophages d'invertébrés reconnaissent une très grande variété de corps étrangers vivants ou non,

mais il n'y a pas d'intervention d'immunoglobulines. Ces cellules ne semblent pas non plus posséder de récepteurs spécifiques de certains antigènes mais des récepteurs pour des substances « opsoniques » (agglutinines, système phénoloxydase) qui ont préalablement recouvert les particules étrangères de façon non spécifique. L'énergie consommée au cours de la phagocytose est produite par la voie de la glycolyse.

La formation de capsules et de nodules est une réaction particulière aux invertébrés. Chez les insectes et les crustacés elle se déroule en trois phases, la première étant la reconnaissance de l'« antigène » (voir ci-dessus). La deuxième phase est une accumulation d'hémocytes circulants qui constituent la capsule autour du corps étranger (parasite par exemple) ou le nodule dans le cas de micro-organismes. Au cours de la troisième phase, ces hémocytes se transforment, parfois profondément, pour constituer une enveloppe qui isole le corps étranger de l'organisme. On observe toujours dans les nodules et les capsules la présence de substances mélaniques. Chez certains diptères, les hémocytes ne participent pas physiquement à la constitution de la capsule qui n'est faite que de mélanines. Bien que certains parasites soient capables de survivre à un encapsulement, la plupart succombent mais on ne sait pas exactement pourquoi. Certains insectes parasites d'autres insectes injectent en même temps qu'ils déposent leurs œufs dans l'hémocoèle, des particules virales à ADN qui inhibent totalement les réactions immunes de l'hôte, permettant ainsi le développement larvaire du parasite (immunodépression).

## CONCLUSION

L'immunité chez les invertébrés apparaît très différente de celle des vertébrés, tant dans les éléments qui constituent le système immunitaire que dans les réactions qui sont mises en place. Les très rares analogies observées concernent des groupes (échinodermes, tuniciers) qui, dans l'évolution, font le passage vers les vertébrés [10]. Dans la majorité des cas, les invertébrés ont développé des réactions originales qui ont certainement participé à la réussite de certaines classes. Si l'étude des réactions immunes dans les embranchements les plus évolués peut permettre de comprendre la phylogénie de plusieurs systèmes connus chez les vertébrés, les études menées dans

les autres groupes poursuivent quatre objectifs. D'une part elles facilitent la mise en place de mesures prophylactiques dans les élevages d'invertébrés (crustacés et mollusques par exemple). D'autre part la connaissance des moyens de défense développés par les insectes phytophages permet d'optimiser la lutte biologique par virus et bactéries entomopathogènes. Le troisième objectif est la compréhension des moyens mis en place par certains parasites de mammifères chez leurs hôtes intermédiaires insectes ou mollusques, pour inhiber les moyens de défense de ces hôtes et poursuivre leur développement. Enfin, l'étude de l'immunité chez les invertébrés peut permettre de trouver des facteurs nouveaux, antimicrobiens ou autres, qui pourraient être utilisés en médecine. L'un des meilleurs exemples est celui des cécropines découvertes chez les insectes et dont l'utilisation comme antibiotique est envisagée.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ASHIDA M, SÖDERHÄLL K. The prophenoloxdase activating system in crayfish. *Comp Biochem Physiol*, 1984, 77 : 21-26.
2. BOHN H. Hemolymph clotting in insects. *In* : M Brehélin. *Immunity in invertebrates*, Berlin, Springer Verlag, 1986 : 188-207.
3. BOMAN HG, FAYE I, V HOFSTEN P et al. Antibacterial immune proteins in insects. A review of some current perspectives. *In* : M Brehélin. *Immunity in invertebrates*, Berlin, Springer Verlag, 1986 : 63-73.
4. BREHÉLIN M, ZACHARY D. Insect haemocytes : a new classification to rule out the controversy. *In* : M Brehélin. *Immunity in invertebrates*, Berlin, Springer Verlag, 1986 : 37-48.
5. CROSSLEY AC. The ultrastructure and function of pericardial cells and other nephrocytes in an insect : *Calliphora erythrocephala*. *Tissue Cell*, 1972, 4 : 529-560.
6. GÖTZ P, BOMAN A, BOMAN HG. Interaction between insect immunity and an insect pathogenic nematode with symbiotic bacteria. *Proc R Soc Lond (Biol)*, 1981, 212 : 333-350.
7. HOFFMANN JA, ZACHARY D, HOFFMANN D et al. Post-embryonic development and differentiation : hemopoietic tissues and their functions in some insects. *In* : AP Gupta. *Insect hemocytes*, Cambridge, Cambridge University Press, 1979 : 29-66.
8. METCHNIKOFF O. *Life of Elic Metchnikoff*, Boston, Houghton Mifflin Co, 1921, 230 pages.
9. MULLAINADHAN P, RENWRANTZ L. Lectin-dependent recognition of foreign cells by hemocytes of the mussel, *Mytilus edulis*. *Immunobiol*, 1986, 171 : 263-273.
10. RATCLIFFE NA, ROWLEY AF, FITZGERALD SW et al. *Invertebrate Immunity : basic concepts and recent advances*. *Int Rev Cytol*, 1985, 97 : 183-350.
11. ZACHARY D, HOFFMANN D. Lysozyme is stored in the granules of certain hemocyte types in *Locusta migratoria*. *J Insect Physiol*, 1984, 80 : 405-411.

objectifs.  
 n place de  
 vages d'in-  
 exemple).  
 moyens de  
 phytophages  
 par virus et  
 me objectif  
 n place par  
 leurs hôtes  
 ques, pour  
 es hôtes et  
 l'étude de  
 ermettre de  
 crobiens ou  
 médecine.  
 celui des  
 tes et dont  
 nvisagée.

oxydase activa-  
 Physiol, 1984,

: M Brehélin.  
 inger Verlag,

. Antibacterial  
 some current  
 invertebrates,

ocytes : a new  
 : M Brehélin.  
 inger Verlag,

tion of pericar-  
 ect : Calliphora  
 29-560.

action between  
 nematode with  
 l), 1981, 212 :

D et al. Post-  
 : hemopoietic  
 In : AP Gupta.  
 lge University

nikoff, Boston,

ectin-dependent  
 of the mussel,  
 263-273.

ALD SW et al.  
 ts and recent  
 3-350.

s stored in the  
 usta migratoria.

J. Charlemagne

## IMMUNOLOGIE DES POISSONS

### PHYLOGÉNIE ET SYSTÉMATIQUE DES POISSONS

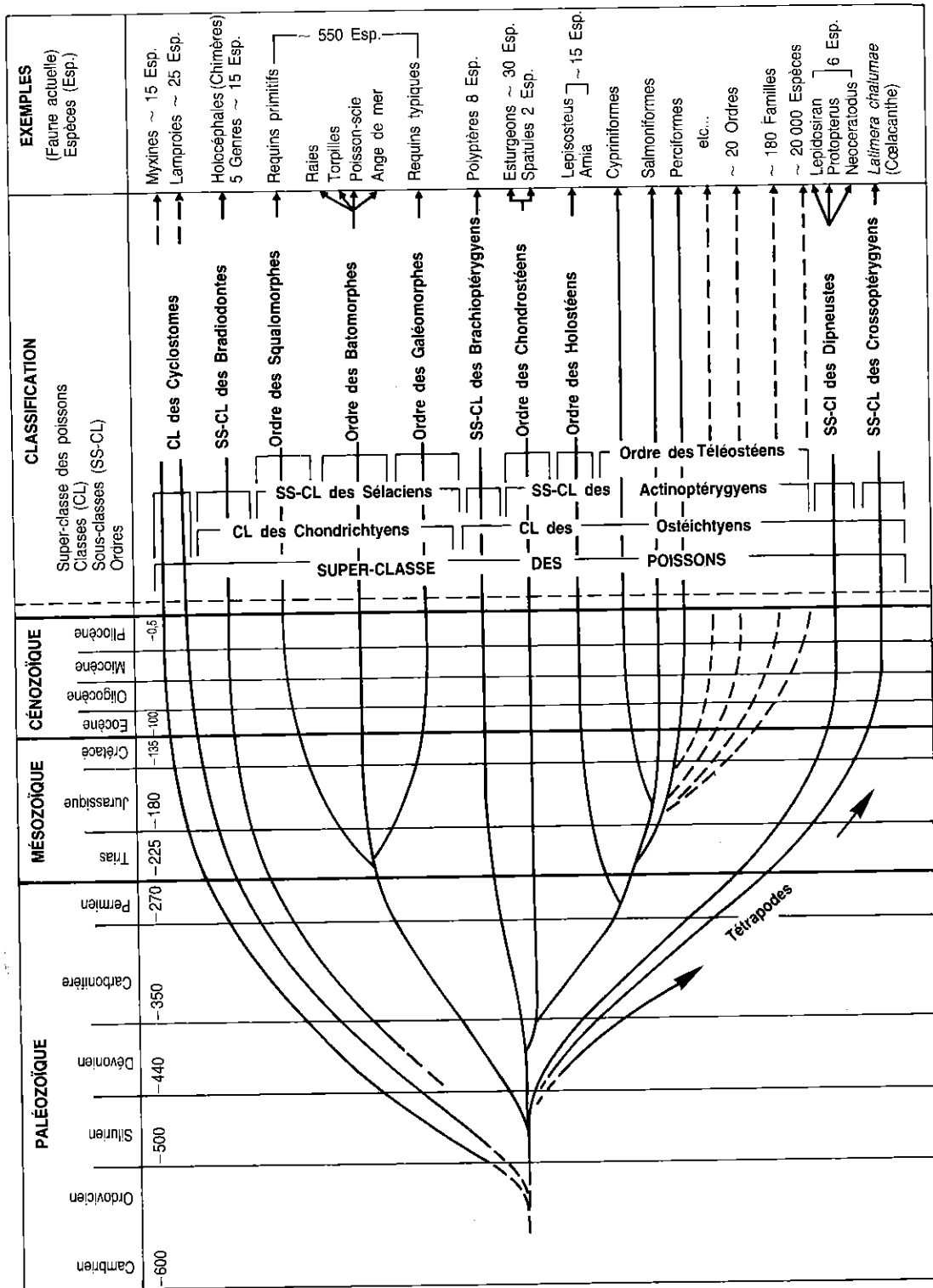
Les poissons dépourvus (Cyclostomes) et pourvus (Gnathostomes) d'une mâchoire sont regroupés, dans la majorité des classifications modernes, dans une même super-classe. La figure 44-1 retrace de manière très simplifiée l'évolution de ces animaux au cours des temps géologiques et rappelle la classification des formes actuelles (voir aussi chapitre 45, Fig. 45-1). Environ la moitié des vertébrés modernes (41 700 espèces) est constituée par des poissons Téléostéens (20 000 espèces) dont l'évolution s'est principalement déroulée à partir de l'ère secondaire. Les Téléostéens typiques existent dès le Jurassique (-180 millions d'années), alors que les familles et les genres actuels émergent au début du Tertiaire (Eocène), et que la faune actuelle achève de se constituer à la fin du tertiaire (Pliocène). Les Sélaciens (environ 550 espèces), abondants dès la fin de l'ère primaire (Carbo-

nifère, -330 -370 m.a.) se sont diversifiés au début du Secondaire. Toutes les autres formes de poissons sont constituées par des groupes actuellement peu représentés qui sont des reliques de formes abondantes à la fin de l'ère primaire. Parmi elles, le Coelacanthé (*Latimera chalumae*) reste l'unique représentant vivant de la sous-classe des Crossoptérygiens, abondante au Dévonien (-400 -330 m.a.), et qui a donné naissance à l'ensemble des tétrapodes.

### ORGANISATION ANATOMIQUE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Chez les Cyclostomes, il n'existe pas de système lymphatique autonome, mais plutôt un système hémolymphatique primaire véhiculant les cellules sanguines et auquel se rattachent des sinus dérivant directement des vaisseaux. Il n'y a pas de chylifères, ce sont les vaisseaux de l'intestin





**Figure 44-1** A gauche, schéma simplifié de l'évolution des poissons au cours des temps géologiques. Les chiffres en haut des colonnes représentent des millions d'années. A droite, classification des formes actuelles de poissons.

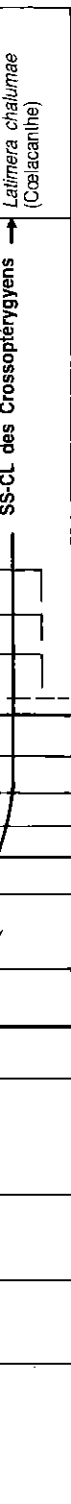


Figure 44-1 A gauche, schéma simplifié de l'évolution des poissons au cours des temps géologiques. Les chiffres en haut des colonnes représentent des millions d'années. A droite, classification des formes actuelles de poissons.

Tableau 44-1 Répartition anatomique du tissu hématopoïétique chez les poissons.

	Présence de lymphocytes dans la paroi intestinale		Présence de lymphocytes dans le système uro-génital	Thymus	Rate	Lymphocytes dans des localisations diverses
	Cellules éparses	Formations nodulaires				
Cyclostomes						
Myxines	+	-	+ pronéphros	-	-	-
Lamproies	+	-	+ opistonéphros pli spiral du rein	-	-	Région branchiale, foie, corps supraneural
Bradiodontes (Chimère)	+	-	-	+ trilobé	+	Hématopoïèse dans les cavités cartilagineuses (crâne, orbites)
Sélaciens	+	+ organe de Leydig (œsophage)	± (discuté)	+ quadri- ou trilobé	+	Organe épigonal Méninges, gonades
Brachioptrygiens (polyptères)	+	?	?	+	+	?
Chondrostéens (esturgeons, spanules)	+	-	+	+	+	Crâne, méninges Organe péricardique
Holostéens (amia)	+	-	+	+	+	Organe péricardique
Téléostéens	+	-	+	+	+	-
Dipneustes	+	+	+	+	+	Gonades
Crossopterygiens	+	?	?	+	+	dans la paroi de l'estomac ?

moyen qui transportent les aliments résorbés. Le système lymphatique paraît également absent chez les Sélaciens primitifs (Squalomorphes) et évolués (Galéomorphes) mais semble clairement défini chez les Batomorphes (raies, torpilles) où il forme des plexus à la surface des organes, la lymphe étant collectée au niveau du mésentère pour se jeter dans le système veineux. Le système lymphatique est encore incomplet chez les Chondrostéens (esturgeons) et les Holostéens, par contre chez les Téléostéens, il est aussi bien développé que chez les vertébrés supérieurs, chylifères inclus. Il existe toutefois une différence majeure : l'absence de toute structure rappelant les ganglions lymphatiques.

Chez tous les poissons, la paroi du tube digestif est peuplée par des leucocytes, incluant des lymphocytes et des granulocytes. Les cyclostomes n'ont pas d'organes lymphoïdes individualisés; le thymus et la rate sont par contre présents chez tous les Gnathostomes. Les thymus sont toujours paires, anatomiquement proches de leurs bourgeons pharyngiens d'origine, situés dorsalement, immédiatement en arrière du crâne. Ils sont, comme chez tous les vertébrés, constitués d'une trame épithéliale envahie par une majorité de cellules d'aspect lymphoïde qui prolifèrent activement jusqu'à la maturité sexuelle. Chez les Téléostéens, les thymus ne sont séparés de la cavité branchiale que par une mince lamelle épithéliale. La rate est toujours impaire, située sur le trajet de la veine sous-intestinale, à proximité de la partie antérieure du tube digestif. Chez les Dipneustes, elle est intégrée à la paroi de l'estomac. Elle est le site majeur, sinon unique, de l'érythropoïèse qui se déroule dans une pulpe rouge constituée de vastes sinus. Les lymphocytes sont abondants, localisés autour des vaisseaux, et forment parfois des nodules sphériques. L'existence d'une véritable zone marginale est discutée. On trouve également dans la rate des granulocytes, des thrombocytes (équivalents des plaquettes sanguines) et des macrophages généralement associés aux nodules lymphoïdes. Certains macrophages synthétisent un pigment (mélano-macrophages). Excepté chez les Chondrichthyens, le rein antérieur est un organe hématopoïétique majeur chez les poissons. Encore fonctionnel chez la larve de lamproie (ammocète), le pronéphros est infiltré, entre les tubules, par de nombreux lymphocytes et granulocytes. Dans le rein antérieur (rein céphalique) et le rein moyen des Ostéichthyens, on trouve un abondant tissu hématopoïétique riche en lymphocytes, mélano-macrophages (souvent en

foyers) et granulocytes. Les plasmocytes y sont souvent plus abondants que dans la rate mais on n'observe pas de nodules lymphoïdes. Le tableau 44-I indique la répartition anatomique du tissu hématopoïétique chez les différents poissons. Par comparaison aux oiseaux, le seul organe lymphoïde primaire est le thymus. Le rein, la rate, les foyers hématopoïétiques trouvés chez certains groupes dans les cavités cartilagineuses du crâne, le péricarde ou les gonades, sont à la fois des centres de prolifération-différenciation et de stockage de plusieurs lignées sanguines.

## IMMUNITÉ HUMORALE

### IMMUNOGLOBULINES

Des immunoglobulines de haut poids moléculaire ressemblant aux IgM des mammifères (chaînes H d'environ 70 kd; chaînes L de 22-25 kd) existent dans le sérum de tous les poissons, sauf les Cyclostomes. Immunisée avec des hématies humaines du groupe O, la lamproie marine (*Petromizon marinus*) synthétise des molécules de 320 kd (9S) présentant une activité anticorps spécifique. Ces « Ig » sont constituées de 4 sous-unités identiques de 75 kd associées de façon non covalente et dont la structure secondaire serait constituée à 50 p. cent par des hélices  $\alpha$  [16]. Chez la myxine du Pacifique (*Eptatretus stoutii*), les « Ig » seraient des monomères formés de deux chaînes lourdes H1 et H2 antigéniquement différentes associées entre elles par des ponts disulfure, et de deux chaînes légères L associées aux chaînes H de façon covalente. La nature véritable des immunoglobulines des Cyclostomes reste à confirmer.

Les Holocéphales (chimères), les requins Squalomorphes et Galéomorphes synthétisent des IgM pentamères (17-19S), aussi présentes sous forme monomérique (7S). Parmi les Batomorphes, les raies synthétisent à la fois des IgM (pentamères et parfois dimères) et une classe indépendante d'Ig monomère [31]. En l'absence de toute expérience d'immunisation, il est pour le moment difficile d'assigner un rôle particulier à cette nouvelle classe d'Ig. Les Brachioptérygyens (polyptère), les Chondrostéens (spatule) et les Actinoptérygyens synthétisent des IgM tétramères parfois présentes (mais pas toujours, comme chez la

ytes y sont  
ate mais on  
Le tableau  
ue du tissu  
oissons. Par  
organe lym-  
, la rate, les  
chez certains  
es du crâne,  
la fois des  
ion et de  
es.

ids moléculu-  
mammifères  
L de 22-25  
es poissons,  
c des héma-  
roie marine  
s molécules  
té anticorps  
uées de 4  
ées de façon  
ndaire serait  
ces  $\alpha$  [16].  
*stoutii*),  
nés de deux  
ement diffé-  
des ponts  
L associées  
La nature  
Cyclostomes

equins Squa-  
ent des IgM  
sous forme  
morphes, les  
entamères et  
ndante d'Ig  
e expérience  
ent difficile  
ette nouvelle  
(polyptère),  
Actinoptéry-  
ères parfois  
me chez la

carpe) sous forme de monomères. Chez certains Salmonidés, une partie des chaînes L n'est pas associée de manière covalente aux chaînes H mais peuvent être liées entre elles par des ponts disulfure. Les IgM des Téléostéens peuvent se diviser en sous-classes dont les chaînes H $\mu$  sont antigéniquement différentes tout en conservant des caractéristiques physicochimiques (masse, mobilité électrophorétique) proches [18].

Chez *Ictalurus punctatus* (« catfish »), deux isotypes de chaînes L ont été caractérisés [19]. Les Dipneustes (*Neoceratodus*, *Protopterus*) synthétisent deux classes d'Ig antigéniquement différentes : des IgM pentamères (H = 70 kd; L = 23 kd) et des Ig monomères (H = 38 kd; L = 22-23 kd) parfois nommées IgN [20]. On ne possède malheureusement pas d'indications sur les homologues possibles entre ces Ig légères et les IgY et IgG des tétrapodes.

### SYNTHÈSE DES ANTICORPS ET SA RÉGULATION

Des tentatives d'immunisation expérimentale ont été réalisées chez les poissons à l'aide d'antigènes protéiques, de virus, de bactéries ou de différents haptènes couplés à des protéines ou à des globules rouges. Des anticorps réagissant spécifiquement contre ces antigènes sont généralement détectables, ils peuvent être précipitants, agglutinants, cytotoxiques (complément-dépendants) ou neutralisants. De nombreuses espèces de poissons ont été étudiées, appartenant aux principales sous-classes, chacune d'entre elles dans des conditions particulières. Nous ne pouvons ici que faire ressortir quelques notions générales, sans entrer dans les détails expérimentaux, mais en donnant simplement des exemples :

— la cinétique de la réponse primaire est généralement lente. Chez le poisson rouge (à 25 °C), les titres agglutinants anti-érythrocytes culminent 20 à 30 jours après une première injection. Chez la truite arc-en-ciel (10-16 °C), les titres maximaux d'anticorps anti-2,4-dinitrophénol (DNP) sont obtenus 40 à 100 jours après une injection de DNP-hémocyanine (DNP-KLH) en présence d'adjuvant complet de Freund (ACF);

— les titres maximaux de la réponse primaire se prolongent en plateau, parfois pendant plusieurs mois, surtout lorsque les animaux sont

immunisés avec des antigènes solubles en présence d'ACF. La synthèse primaire d'anticorps anti-érythrocytes s'effondre assez rapidement (40-60 jours);

— il n'est pas toujours facile d'obtenir des anticorps. A titre d'exemple, la truite s'immunise assez mal contre des antigènes solubles comme la sérum-albumine bovine ou l'ovalbumine ou contre des globules rouges. Par contre, cette même espèce s'immunise efficacement contre des bactéries, des virus ou des complexes haptène-porteur. L'effet-dose est généralement peu marqué, de fortes doses d'antigène induisant rarement la tolérance;

— les rappels effectués en fin de réponse primaire ne suscitent pas de réponses secondaires aussi spectaculaires que chez les mammifères; les titres secondaires excèdent rarement de 4 à 16 fois les titres primaires et les maximums sont atteints 10 à 20 jours après les rappels. Ces réponses ressemblent aux synthèses obtenues chez la souris normale ou thymectomisée sollicitée par des antigènes thymo-indépendants (pas de commutation IgM-IgG). L'absence d'IgG chez les poissons est l'explication la plus logique de ce phénomène;

— une amplification sensible de la synthèse des anticorps est obtenue à l'aide de rappels réalisés au tout début de la réponse primaire (3 à 7 jours après une première injection chez le poisson rouge) alors que les rappels effectués en fin de réponse primaire sont souvent peu efficaces;

— chez les espèces de poissons qui synthétisent des IgM polymères (16-19S) et monomères (7S), l'expression des anticorps 7S n'est pas particulièrement favorisée au cours de la réponse secondaire;

— la constante d'association des anticorps de poisson est en général faible ( $K_0 = 10^4-10^6 M^{-1}$ ) et varie peu en cours d'immunisation. Chez la carpe qui ne synthétise que des Ig tétramères, la valeur  $K_0$  des anticorps anti-DNP primaires et secondaires reste inchangée ( $10^5 M^{-1}$ );

— plusieurs auteurs ont montré que l'immunisation préalable avec une protéine favorise chez les poissons la synthèse ultérieure d'anticorps dirigés contre un haptène couplé à cette protéine. Cet « effet porteur » a été interprété (de manière discutable) comme le témoin de l'activité auxiliaire d'une sous-population lymphocytaire considérée comme T) sur la différenciation des cellules B. Nous verrons plus loin qu'il existe en effet des interactions entre sous-populations lymphocytaires pour la synthèse des anticorps mais que l'origine

des cellules auxiliaires reste encore incertaine.

Parmi les facteurs qui influencent la production des anticorps chez les poissons, le plus important est certainement la température. Une température basse de l'eau d'élevage abolit, diminue ou retarde les réponses, les effets pouvant varier considérablement en fonction de l'espèce et de l'antigène utilisé. Une espèce d'eau froide, comme la truite, synthétise efficacement des anticorps entre 10 et 15 °C alors qu'une espèce tolérant des eaux plus chaudes (carpe, poisson rouge) est plus efficace entre 18 et 28 °C. Chez la carpe une importante série de travaux [1] réalisés *in vivo* a démontré que les 3-4 premiers jours qui suivent l'injection d'un antigène sont température-dépendants, une température élevée (25 °C) étant nécessaire à la production ultérieure d'anticorps et à la mise en place d'une mémoire spécifique. Ce délai passé, les animaux s'immunisent normalement, même s'ils sont placés à basse température (12 °C). Ce résultat est interprété comme étant le reflet d'une sensibilité différente des sous-populations cellulaires impliquées dans la reconnaissance initiale de l'antigène : les cellules présentatrices de l'antigène et les lymphocytes T ne participent à l'induction des réponses humorales T-dépendantes qu'à une température élevée, la synthèse et l'excrétion des anticorps étant indépendantes de la température. Cette hypothèse est renforcée par des expériences montrant qu'une réponse efficace anti-haptène n'est possible chez la carpe que si la sensibilisation à l'élément porteur est réalisée à température élevée.

Chez *Ictalurus*, des travaux utilisant des techniques *in vitro* confirment ces résultats [25] et soulignent l'importance de la durée d'acclimatation des animaux à une température donnée (3 à 5 semaines) avant le prélèvement des lymphocytes. La synthèse *in vitro* des anticorps anti-TNP (trinitrophénol) est indépendante de la température si l'antigène porteur est « thymo-indépendant » (selon les critères admis chez les mammifères), comme par exemple le LPS (lipopolysaccharide d'*E. coli*). En utilisant le porteur KLH (hémocyanine, considéré comme « thymo-dépendant »), la synthèse des anticorps anti-TNP devient température-dépendante [23].

Ces travaux ont suscité la recherche de marqueurs capables de caractériser des sous-populations lymphocytaires fonctionnelles. Les immunosérums polyclonaux anti-Ig de poisson ne permettent pas d'identifier de manière sélective les lymphocytes porteurs d'Ig de surface (sIg<sup>+</sup>).

Ils réagissent en effet de manière préférentielle contre les résidus glycosylés très immunogènes des molécules d'Ig qui sont également associés à des polypeptides non-Ig présents à la surface des lymphocytes du thymus, des érythrocytes et de nombreux autres types cellulaires. Cette confusion matérielle a conduit de nombreux auteurs à décrire la présence d'Ig à la surface des thymocytes et de la quasi-totalité des lymphocytes périphériques de poissons et d'amphibiens. L'utilisation plus récente d'anticorps monoclonaux (Acm) indique que seule une proportion variable (20-60 p. cent) des lymphocytes périphériques (sang, rate, rein antérieur) est sIg<sup>+</sup>. Chez *Ictalurus*, les lymphocytes sIg<sup>+</sup> purifiés par affinité à l'aide d'un Acm sont stimulables *in vitro* par le LPS en présence de macrophages. Toutefois, la stimulation par la Con A est température-dépendante pendant sa phase d'initiation [30]. L'Acm 13C10 qui ne reconnaît que les lymphocytes sIg<sup>+</sup> a permis de mettre en évidence parmi ces cellules une population impliquée dans l'amplification de la synthèse d'anticorps *in vitro* en présence d'un antigène « thymo-dépendant » (DNP-KLH), de lymphocytes sIg<sup>+</sup> et de cellules adhérentes [22, 30].

Rappelons que malgré cet ensemble de résultats qui concordent avec ce que l'on connaît chez les mammifères :

— l'origine thymique des lymphocytes sIg<sup>-</sup> des poissons n'est pas démontrée, l'effet de la thymectomie sur la synthèse des anticorps est en effet mal connu chez les poissons;

— aucune information n'est encore disponible sur les mécanismes cellulaires de traitement et de présentation des antigènes;

— la présence de molécules analogues aux antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I et de classe II des vertébrés supérieurs n'est pas démontrée.

## ANTICORPS NATURELS

Il est connu de longue date que le sérum des poissons réagit spontanément avec de nombreuses cibles naturelles (bactéries, globules rouges). Ces activités peuvent être précipitantes, agglutinantes, parfois hémolytiques et, dans certains cas précis, les molécules actives ne sont pas des Ig [3, 20]. Une activité naturelle anti-DNP est décelable dans le sérum d'un grand nombre de vertébrés, et chez plusieurs espèces de poissons, les molécules

responsables, directement purifiables à partir du sérum normal par chromatographie d'affinité, sont des immunoglobulines [32].

L'activité anticorps des sérums normaux de 12 espèces de poissons incluant des Sélaciens, des Chondrostéens et des Téléostéens a été testée [9] contre une série de 7 antigènes (actine, myosine, tubuline, thyroglobuline, hémocyanine, ADN monocaténaire et TNP). Des titres significatifs ont été relevés contre ces 7 antigènes, particulièrement élevés contre le TNP. L'origine de ces activités a pu être vérifiée grâce à l'utilisation d'une technique ELISA et d'anticorps spécifiques des Ig des espèces étudiées, montrant la nature immunoglobulinique des molécules impliquées. Les anticorps anti-TNP de plusieurs de ces espèces ont ensuite été purifiés par chromatographie d'affinité. Bien que réagissant préférentiellement contre le TNP, ils se lient également à d'autres antigènes de manière forte et constante lorsqu'ils proviennent des espèces les plus primitives (Sélaciens, Chondrostéens) et de manière plus faible mais significative lorsqu'ils proviennent de Téléostéens (carpe, poisson rouge, truite). Dans le cas particulier du sérum de tanche (Cyprinidé), les anticorps naturels anti-TNP sont rigoureusement spécifiques du TNP.

La qualification de « naturels » des anticorps trouvés dans le sérum d'animaux non immunisés peut être discutée. Il est clair que la nourriture et le milieu ambiant constituent pour les poissons une source riche et variée de stimulants antigéniques puissants tels que des lipopolysaccharides ou polysaccharides bactériens ou que l'hémocyanine. La présence constante d'anticorps anti-TNP reste plus difficile à expliquer, cette molécule n'existant pas dans la nature et ne faisant pas partie des polluants industriels habituels. Une hypothèse possible serait l'existence d'une réaction croisée avec l'ADN ou avec un épitope « public » présent sur un grand nombre de macromolécules. On constate, par ailleurs, que pour une espèce donnée, différents lots d'individus capturés dans des sites différents présentent des titres très similaires d'anticorps naturels contre un épitope donné, suggérant que la présence de ces anticorps est plus constitutive qu'accidentelle. Chez tous les vertébrés, la fraction Ig du sérum représente une proportion constante et importante des globulines sériques serait constituée par des molécules ayant toutes une activité anticorps. Il semble qu'au moins une partie des épitopes reconnus soit exprimée par des antigènes très conservés dans la phylogénie (protéines du cytosquelette, carbohy-

drates, ADN), donc peu différents de certains antigènes du soi. Ce bruit de fond permanent d'autoréactivité naturelle pourrait être un facteur important dans l'autostimulation permanente du système immunitaire et le développement du répertoire des anticorps potentiellement exprimés par chaque individu.

## IMMUNITÉ LOCALE

L'importance des surfaces muqueuses (peau, branchies, tractus digestif) en contact chez les poissons avec l'environnement aquatique suggère la nécessité d'une immunité locale efficace. Des lymphocytes sont présents dans la paroi du tube digestif de tous les poissons. En général dispersés, ils peuvent aussi former des amas ou exceptionnellement des structures organisées (organe de Leydig des Sélaciens). Comme chez les mammifères, on les observe dans la *lamina propria*, insérés entre les entérocytes (lymphocytes intra-épithéliaux). Parmi ces lymphocytes, certains expriment des Ig, bien que peu de résultats à ce jour aient été obtenus à l'aide de systèmes de détection rigoureusement spécifiques (Acm anti-Ig de spécificité définie). Les Ig détectées, ainsi que celles présentes dans la bile et le fluide intestinal sont antigéniquement identiques aux IgM sériques, bien que parfois présentes sous forme de dimères (chez le sparidé *Archosargus*, ou « sheephead » [17]). La teneur en Ig de la bile est variable, elle peut être équivalente à celle du sérum chez la rousette (Sélacien) ou très inférieure chez les Téléostéens (carpe, *Archosargus*). La présence d'Ig libres dans les sécrétions (bile, mucus cutané et intestinal) et à l'intérieur des entérocytes (chez la carpe) suggère l'existence d'un système de transport spécifique équivalent au composant sécrétoire (CS) des IgA de mammifères. Un polypeptide similaire au CS a été décrit dans le mucus cutané d'*Archosargus* [17], et le sérum du Sélacien *Ginglymostoma* (requin dormeur) contient des molécules ayant une forte affinité pour le CS humain [10]. Il est pour le moment difficile de savoir si les molécules d'Ig détectées dans les entérocytes et le mucus intestinal sont synthétisées localement ou proviennent du sérum.

L'épithélium intestinal des poissons absorbe efficacement les macromolécules par pinocytose. Le devenir de ces protéines absorbées est extrêmement variable selon leur nature, l'espèce étudiée et

l'âge des animaux. Elles peuvent être retrouvées intactes dans la circulation ou être partiellement ou totalement dégradées dans les vacuoles entérocytaires. Un segment distinct de l'intestin (partie moyenne de l'intestin distal) paraît être spécialisé chez la carpe dans la capture des antigènes, et des déterminants antigéniques sont retrouvés de manière transitoire à la surface de macrophages associés à l'épithélium. Toutefois la stimulation antigénique du tube digestif n'induit pas toujours une augmentation sensible du nombre de leucocytes dans la paroi intestinale. L'administration d'antigènes par la voie digestive, par l'intermédiaire de la nourriture ou par intubation orale ou anale, conduit chez de nombreuses espèces à l'établissement d'une immunité systémique d'où son importance pratique en vaccination [10].

Les résultats sont encore limités en ce qui concerne la présence d'Ig dans le mucus cutané. Chez la truite immunisée avec des globules rouges, une activité anticorps agglutinante anti-érythrocyte est détectable dans le mucus. Des lymphocytes et des plasmocytes sécrétant des Ig et la présence d'Ig dans les cellules du derme suggèrent l'existence d'un système sécrétoire. Ces résultats sont confirmés chez d'autres espèces (*Lepisosteus*, *Ictalurus*, *Tachysurus*, *Pleuronectes*). Signalons enfin la possibilité d'un transfert maternel de l'immunité par l'intermédiaire de l'œuf, notamment chez *Tilapia*.

#### LA DIVERSITÉ DES ANTICORPS ET SON CONTRÔLE GÉNÉTIQUE

Chez les mammifères, les mécanismes somatiques très complexes de réorganisation, de diversification et d'expression des gènes codant pour les immunoglobulines sont maintenant bien connus. A partir d'un nombre relativement limité de gènes codant pour les parties variables des Ig, ces mécanismes somatiques permettent potentiellement l'expression d'un nombre quasi illimité de molécules d'Ig différentes ( $3,9 \times 10^{18}$  selon des estimations certaines). Un individu donné génère durant sa vie un nombre très inférieur de lymphocytes B ( $10^{11}$ - $10^{12}$  chez la souris) et n'exploite donc qu'une partie de ce potentiel qui différera partiellement du répertoire exprimé par un autre individu de la même espèce, même génétiquement identique (cas d'animaux isogéniques). Face à un épitope donné, un mammifère est capable de

synthétiser un nombre généralement élevé ( $10^3$ - $10^4$ ) de molécules pourvues de régions variables différentes issues de la stimulation d'un nombre équivalent de clones lymphocytaires. Chez les vertébrés inférieurs, et, particulièrement les poissons, l'hétérogénéité structurale des anticorps a fait l'objet de plusieurs analyses. Les résultats indiquent que chez les Sélaciens et les Téléostéens le répertoire des anticorps est plus faible et surtout moins hétérogène que chez les mammifères. Chez la tanche, la carpe et le poisson rouge, l'analyse par isoélectrofocalisation des spectrotypes des anticorps anti-TNP synthétisés par des individus différents indique la présence d'un nombre limité d'Ig de points isoélectriques différents (une dizaine); une majorité de ces molécules est exprimée par l'ensemble des individus étudiés [32]. Un phénomène similaire est observé chez la truite où, dans des groupes d'animaux au sein desquels une réduction significative de l'hétérozygotie a été obtenue par gynogenèse ou autofécondation, les anticorps individuels sont moins hétérogènes et moins diversifiés d'un individu à l'autre que ceux des fratries témoins [6]. Ces résultats, l'absence d'une augmentation de l'affinité des anticorps en cours d'immunisation et l'existence d'une proportion importante d'anticorps porteurs du même idiotype, synthétisés par des individus différents [21], indiquent que le répertoire immunitaire des poissons est loin d'être aussi vaste que celui des mammifères. Ils suggèrent que, chez ces espèces, la diversité des domaines variables des Ig est le reflet d'un patrimoine génétique germinal relativement peu remanié par des mécanismes de diversification somatique.

Il est désormais possible dans quelques espèces de poissons, d'aborder l'analyse directe de la diversité des anticorps par l'étude de la structure et de l'expression des gènes d'immunoglobulines. Le travail le plus important a été réalisé chez le requin *Heterodontus* [15]. Chaque chaîne H est codée par une unité IgH de 10 kb comportant un exemplaire unique des exons VH, DH, (D2), JH et CH. Il existerait un nombre probablement élevé (environ 200) de ces unités, dispersées dans le génome et éloignées les unes des autres. Des séquences de recombinaison (heptamères-nonamères) sont présentes entre les exons V et D et les exons D et J. L'analyse d'ADN complémentaires confirme que ces unités IgH sont des unités de transcription codant pour des chaînes H $\mu$  complètes comportant des homologies significatives de

élevé ( $10^3$ -  
ns variables  
un nombre  
Chez les  
ement les  
es anticorps  
Les résultats  
Téléostéens  
le et surtout  
ifères. Chez  
e, l'analyse  
rotypes des  
s individus  
mbre limité  
éments (une  
lécules est  
us étudiés  
ervé chez la  
ux au sein  
l'hétérozy-  
autofécon-  
moins hété-  
individu à  
s [6]. Ces  
on de l'affi-  
nisation et  
ante d'anti-  
thétisés par  
ent que le  
t loin d'être  
s. Ils suggè-  
ersité des  
reflet d'un  
vement peu  
ersification

ues espèces  
recte de la  
la structure  
oglobulines.  
lisé chez le  
maîne H est  
important un  
I, (D2), JH  
ement élevé  
ées dans le  
autres. Des  
mères-nona-  
7 et D et les  
élémentaires  
s unités de  
u complètes  
icatives de

séquence et de structure avec les chaînes H $\mu$  des mammifères. Il apparaît peu probable que des exons issus d'unités IgH différentes puissent s'associer. Il n'existerait donc pas de diversité de recombinaison. Cette structure implique également qu'il existe autant de sous-isotypes C $\mu$  que d'unités IgH. Une analyse plus poussée de l'organisation génomique de 12 unités IgH indique trois types possibles d'organisation : VH-D1-D2-JH-CH (classique); VHD-JH-CH ou VHDJH-CH. Dans les deux derniers types (7 gènes sur 12), les segments VHD ou VHDJH sont jointifs. Selon les auteurs, il ne s'agirait pas de pseudogènes issus de la réintégration dans le génome de séquences somatiques (présence de séquences signal et d'introns), ni de gènes partiellement recombinés à la suite de l'expression transitoire d'une recombinase à un stade prélymphoïde. Ces unités paraissent capables de s'exprimer (cadre homogène de lecture, séquences normales de régulation, etc.). Ce type unique d'organisation pourrait représenter une forme ancestrale de gènes d'Ig précédant l'étape d'insertion des séquences de recombinaison. Transmis de génération en génération, ils pourraient être responsables de la synthèse d'immunoglobulines dont l'activité anticorps est importante pour la conservation de l'espèce (anticorps naturels). Finalement, l'analyse des gènes IgH d'*Heterodontus* suggère qu'ils ressemblent à certains gènes de mammifères codant pour le récepteur spécifique des lymphocytes T (TcR), à la fois en termes d'organisation et de régulation. La description récente de la structure des chaînes légères confirme chez la même espèce d'importantes ressemblances avec la chaîne  $\beta$  du TcR des mammifères [29]. L'analyse des gènes codant pour les Ig des Téléostéens ne fait que débiter. Chez *Ictalurus*, un travail récent indique toutefois qu'il n'existerait chez cette espèce que deux loci génétiques codant pour des régions constantes des chaînes H $\mu$  [8].

## IMMUNITÉ CELLULAIRE

### REJET D'ALLOGREFFE

Toutes les espèces de poissons étudiées rejettent les allogreffes et acquièrent une mémoire spécifique du rejet [3, 20]. Le temps moyen de survie

(TMS) des allogreffes de peau ou d'écaillés est directement en relation avec le stade évolutif, il est long chez les Cyclostomes (parfois plusieurs mois), moyen chez les Sélaciens, les Chondrostéens et les Holostéens (plusieurs semaines), rapide chez les Téléostéens (1 à 3 semaines). Chez la carpe et le poisson rouge (à 23-25 °C), le TMS est de 7,2 jours pour la première greffe et de 4,7 jours pour la seconde. Chez la truite, le TMS est de 20 jours pour la première greffe et de 11 jours pour la seconde. Le temps de survie des allogreffes est, au moins chez les Téléostéens, en étroite relation avec la température d'élevage : un poisson rouge rejette une allogreffe d'écaillé en 40 jours à 10 °C, 24 jours à 15 °C, 8 jours à 21 °C, 6,8 jours à 23 °C, 4,3 jours à 32 °C. Le processus du rejet est classique. Les greffons cicatrisent rapidement et sont vascularisés après quelques jours. On voit ensuite apparaître des signes d'inflammation (vasodilatation, œdème, points hémorragiques, infiltration leucocytaire) suivis d'une nécrose et d'une disparition complète du greffon. Les écaillés sont totalement éliminées, y compris le plateau scalaire osseux. La capacité de rejet est, comme chez les vertébrés supérieurs, directement en rapport avec la constitution génétique des animaux. Les lois de Snell (voir glossaire) sont applicables au xiphophore (*Xiphophorus maculatus*, Téléostéen) comme l'a montré Kallman à l'aide de lignées consanguines dont certaines résultent de croisements entre frères et sœurs depuis 30 générations [14]. L'analyse statistique du rejet des greffes parentales par des hybrides révèle l'existence de 6 à 9 « loci » d'histocompatibilité.

### ANTIGÈNES D'HISTOCOMPATIBILITÉ

En l'absence d'un modèle génétique capable de révéler l'existence de l'équivalent d'un CMH chez les poissons, la caractérisation des molécules-cibles de l'alloréactivité est évidemment difficile. Deux voies d'accès ont récemment été envisagées. La première est indirecte et consiste à tester sur des cellules de poissons la réactivité d'un grand nombre d'anticorps monoclonaux et polyclonaux de spécificités connues pour des déterminants de classe I ou de classe II du CMH humain ou de poulet. Cette approche, déterminante pour les amphibiens, n'a pas encore donné de résultats



exploitables chez les poissons. Une deuxième possibilité consiste à pratiquer des allo-immunisations entre lignées de poissons consanguins. De tels anticorps, obtenus chez la carpe, ne précipitent pas de polypeptides ressemblant à des molécules du CMH. Il sera probablement aussi difficile que chez les mammifères de caractériser chez les poissons des molécules de surface définies comme « antigènes mineurs » de transplantation.

### CONTRÔLE CELLULAIRE DU REJET D'ALLOGREFFE

Il n'existe aucune preuve expérimentale directe indiquant que des lymphocytes d'origine thymique sont impliqués chez le poisson dans les phénomènes d'alloréactivité. Des difficultés d'ordre technique (petite taille des alevins, régénération) rendent quasi impossible la thymectomie chirurgicale. Les poissons sont par ailleurs très résistants aux agents immunodépresseurs qui agissent préférentiellement sur les lymphocytes T des mammifères. Chez les Téléostéens *Fundulus heteroclitus* et *Oryzias latipes*, une irradiation de 10 à 30 Gy ne fait que ralentir le rejet d'allogreffe. Chez le poisson rouge, l'azathioprine et le méthotrexate sont sans effet à dose sublétales et 25-50 mg/kg de mercaptopurine retardent le rejet de quelques jours [3]. Une irradiation totale de 20 Gy (non létale) provoque chez le poisson rouge la destruction de la grande majorité des thymocytes en 24 h (sans signe perceptible de régénération après 11 jours) et une survie partielle ou définitive des allogreffes d'écaillés [5]. Lorsque les thymus sont protégés par des caches de plomb pendant l'irradiation, les rejets s'effectuent dans les délais normaux. Une autre possibilité de détection d'une population lymphocytaire de type T chez les poissons est d'analyser sa réactivité in vitro dans une situation allogénique (culture lymphocytaire mixte, CLM), ou en présence des activateurs polyclonaux classiques des cellules T des mammifères (PHA, Con A). Ces analyses se heurtent à des difficultés considérables de mise au point technique. Pour chaque espèce, la composition du milieu (osmolarité, pH, sérum), la température, la densité cellulaire, la concentration en mitogène et le facteur temps doivent être optimisés. Chez le cyclostome *Eptatretus stoutii*, les leucocytes du sang périphérique répondent

vigoureusement en culture lymphocytaire mixte, face à des leucocytes allogéniques irradiés [28]. Les cellules sont des petits leucocytes, non adhérents, sIg<sup>+</sup>. Les cellules stimulantes sont des grands leucocytes, en majorité adhérents. Les lymphocytes sIg<sup>+</sup> ne sont pas eux-mêmes stimulants. Rappelons qu'une dichotomie T/B n'est pas clairement définie chez les agnathes dont les molécules d'« immunoglobulines » possèdent des caractéristiques très particulières (voir p. 436). Il est difficile, probablement pour des raisons techniques, de mettre en évidence une CLM chez les Sélaciens. Par contre, une CLM vigoureuse est démontrable chez plusieurs espèces de Téléostéens. Chez *Ictalurus* [24], les lymphocytes répondeurs sont des sIg<sup>-</sup> et la présence de cellules adhérentes est nécessaire. La CLM est optimale après 8 jours à 27 °C ou 14 jours à 22 °C. Elle est totalement inhibée à 17 °C. Les cellules stimulantes doivent être irradiées à 20 Gy et peuvent être sIg<sup>+</sup>, sIg<sup>-</sup> ou adhérentes, ces dernières restant les plus efficaces. Une analyse statistique de la CLM bidirectionnelle chez des familles de truites indique que les stimulations obtenues ne peuvent pas être simplement interprétées comme résultant de l'expression d'antigènes d'histocompatibilité codés par un locus unique; analogue au CMH des mammifères ou des oiseaux [12].

Les lymphocytes des Sélaciens et des Téléostéens sont stimulables in vitro par la PHA et la Con A et les populations cellulaires pauvres en lymphocytes sIg<sup>-</sup> (thymocytes) sont plus facilement stimulables que les populations riches en lymphocytes sIg<sup>+</sup> (pronéphros). Fait intéressant, les conditions optimales de température pour l'obtention d'une bonne prolifération des lymphocytes diffèrent souvent par une même espèce selon la nature du mitogène : les mitogènes T sont plus efficaces à des températures relativement élevées (27-33 °C chez la carpe, la brème, *Ictalurus*) et les mitogènes B (LPS) stimulent mieux à des températures plus faibles (22-27 °C). Il est possible que les modifications de la viscosité membranaire induites par la température affectent de manière différentielle la capacité d'activation de différentes sous-populations lymphocytaires par les mitogènes. Dans la pratique, si les conditions in vitro reproduisent la situation in vivo, l'abaissement de la température de l'eau d'élevage affecte probablement de manière différente l'immunité humorale et cellulaire chez les poissons, les défenses spécifiques de type cellulaire étant diminuées par les basses températures.

## IMMUNITÉ NON SPÉCIFIQUE

### CELLULES TUEUSES NATURELLES

Les cellules du rein antérieur, de la rate et du sang de plusieurs espèces de poissons (Cyprinidés, Salmonidés, *Ictalurus*) sont capables de lyser spontanément des cellules transformées humaines ou murines. L'espèce la mieux connue est *Ictalurus punctatus* (voir la réf. [7] pour une bibliographie détaillée). Cette espèce présente une population de cellules qui lysent spontanément des cellules lymphomateuses B humaines, la lignée K562 et les lignées murines YAC-1 et P815. Ces cellules CCN (cellules cytotoxiques non spécifiques) n'adhèrent pas au plastique, ne phagocytent pas et ne sont pas retenues par le Sephadex G10. Leur activité peut être amplifiée par irradiation X (5-25 Gy), ce qui suggère qu'elle pourrait être régulée négativement par une population cellulaire radiosensible. Les cellules CCN s'équilibrent dans une fraction précise (45 p. cent) d'un gradient de Percoll et l'analyse par cytométrie de flux de leurs propriétés physiques (taille, diffusion) indique qu'elles sont hétérogènes et constituées d'au moins 4 populations distinctes. Leur activité lytique dépend d'un contact physique avec les cibles, les ions  $Mg^{2+}$  étant suffisants pour la conjugaison, l'effet lytique dépendant des ions  $Ca^{2+}$ . Elles ne sont pas capables de recyclage et leur activité est peu dépendante de la température. Par rapport aux cellules NK des mammifères, leur activité lytique est rapide (2 heures), elle dépend de l'activité métabolique, elle est inhibée par la cytochalasine B, la monensine, les inhibiteurs des microtubules. Comme chez les mammifères, les Ig de l'espèce inhibent l'activité cytolytique. Ces propriétés sont dans leur ensemble très voisines de celles des cellules NK humaines et murines avec toutefois une différence importante: les CCN ne contiennent pas de granules intracytoplasmiques de grande taille analogues à ceux des LGL (Large Granular Lymphocytes).

Des anticorps monoclonaux ont été produits contre une population de cellules sanguines d'*Ictalurus* enrichie en CCN et certains d'entre eux inhibent spécifiquement la lyse des cibles. Ils reconnaissent à la surface des CCN un hétérodimère de 41 kd + 38 kd et sont capables d'inhiber la capacité cytotoxique des cellules NK de plusieurs espèces de mammifères [7]. Curieu-

sement, ces anticorps reconnaissent en immunofluorescence un nombre important de cellules du rein antérieur (25-39 p. cent) et de la rate (42-54 p. cent), soit la majorité des cellules  $sIg^-$ .

Il demeure difficile (comme chez les mammifères), d'associer l'activité CCN des leucocytes de poissons à une population cellulaire d'origine précise. Les CCN des Sélaciens sont adhérents et phagocytent, alors que celles des Téléostéens ne semblent pas posséder les propriétés de la lignée monocyttaire. Chez la carpe [2], les CCN observées en microscopie électronique sont morphologiquement hétérogènes, comprenant des lymphocytes contenant des granules qui rappellent ceux des LGL et des cellules d'aspect monocyttaire pourvues de pseudopodes entrant en contact étroit avec les cibles.

### MACROPHAGES

On trouve chez les poissons des macrophages dans le rein antérieur et moyen, la rate, le thymus; le cœur, le mésentère et le liquide péritonéal. Leur aspect est celui de monocytes dans les fluides, de cellules réticulo-endothéliales bordant les sinus sanguins et de macrophages ou de mélanomacrophages dans les organes lymphoïdes. La phagocytose est active dans la rate au niveau des sinus et dans le tissu interstitiel du rein. Chez certaines espèces (truite, poisson rouge, carpe), les granulocytes neutrophiles et éosinophiles possèdent des propriétés phagocytaires. Les macrophages des poissons sont adhérents au verre et au plastique et peuvent pratiquer la phagocytose in vitro en émettant une chimioluminescence qui permet de mesurer leur activité métabolique. Ils possèdent un équipement enzymatique voisin de celui des macrophages des mammifères, sont actifs à basse température et leur activité est généralement augmentée chez les animaux immunisés (opsonisation). Ils jouent un rôle important dans la coopération cellulaire.

### CYTOKINES

Les cellules du système immunitaire des vertébrés supérieurs produisent de nombreux facteurs solubles non spécifiques [interleukines (IL), interférons (IFN), facteur nécrosant des tumeurs (TNF)] qui agissent sur la prolifération et/ou la

différenciation des lymphocytes ou limitent la prolifération virale ou tumorale. L'induction d'une activité cellulaire antivirale par des facteurs solubles de type interféron est connue chez les poissons depuis plus de vingt ans. Chez la truite infectée avec du virus de la septicémie hémorragique (VHSV ou virus d'Egtved) et maintenue à 15 °C, il apparaît très tôt dans le sérum un facteur augmentant la résistance de cellules homologues en culture (lignée RTG) à une infection par le même virus ou par un virus non apparenté. Ce facteur présente les caractéristiques d'un interféron. Son activité est maximale 2-3 jours après l'infection virale [4]. Ses caractéristiques sont voisines de l'IFN des mammifères sans qu'il soit possible pour le moment d'associer sa production à une catégorie cellulaire précise. En outre la synthèse semble dépendre de la température.

Les monocytes des poissons (carpe, *Ictalurus*) produisent un ou plusieurs facteurs dont l'activité rappelle celle de l'IL-1 et qui sont capables de déclencher la production d'IL-2 in vitro par des thymocytes de souris ou un lymphome T murin. Inversement, les IL-1 murine et humaine natives sont capables d'induire la différenciation blastique des lymphocytes sIg<sup>-</sup> d'*Ictalurus*.

Enfin, les surnageants de cultures lymphocytaires mixtes ou de leucocytes stimulés in vitro par la PHA (carpe, *Ictalurus*) permettent la prolifération à long terme des lymphocytes sIg<sup>-</sup> de ces espèces et présentent donc une activité de type IL-2. De l'IL-2 d'origine mammalienne peut dans certains cas déclencher in vitro la prolifération de lymphocytes sIg<sup>-</sup> d'*Ictalurus*.

## COMPLÉMENT

Chez une lamproie (*Lampetra japonica*), il existe dans le sérum un facteur qui potentialise la phagocytose par les phagocytes de l'espèce et se fixe au zymosan [26]. Ce facteur est une  $\beta$ -globuline de 190 kd constituée de trois polypeptides,  $\alpha$  : 84 kd;  $\beta$  : 74 kd et  $\gamma$  : 32 kd. Il fonctionne comme le composant C3 des mammifères (ce qui suppose l'existence de récepteurs pour le C3 à la surface des phagocytes de lamproie). La chaîne  $\alpha$  se clive au cours de sa liaison avec le zymosan, produisant un fragment de type C3d pourvu d'un pont thioester. Les mêmes auteurs ont montré que l'activité hémolytique naturelle du sérum de lamproie ne dépend

pas de la voie classique du complément. Toutefois, elle est inhibable par le zymosan et est sensible au Mg<sup>2+</sup>, suggérant l'existence d'un système de type properdine (voie alterne).

Chez le requin *Ginglymostoma cirratum* (requin dormeur), six composants du complément, fonctionnellement purs, et correspondant aux C1, C2, C3, C4 et C8-9 du complément de mammifère ont été isolés du sérum. Ils interagissent en cascade pour former, à la surface de globules rouges sensibilisés, des complexes lytiques qui sont identiques, en microscopie électronique, aux complexes équivalents formés par le complément de cobaye [11]. Les anticorps de requin activent le C1 du lapin, mais pas celui de l'homme, du chien ou du cobaye. Les complexes anticorps-C1-4 de requin activent C8-9 des mammifères et inversement, les complexes anticorps-C1-7 de mammifère sont compatibles avec le C9 de requin. La présence, chez des Sélaciens, de titres élevés d'anticorps naturels et de complément leur procure une immunité humorale d'une remarquable efficacité.

Chez la truite, une activité hémolytique du sérum contre les globules rouges de mouton (GRM) n'est possible qu'en présence d'anticorps spécifiques anti-GRM et dépend de la présence d'ions Ca<sup>2+</sup> et Mg<sup>2+</sup>. Une protéine de type C5 a été caractérisée comme une  $\beta$ -globuline constituée de deux polypeptides de 133 kd et 86 kd unis par des ponts disulfure. Une voie différente d'activation du C5 indépendante des anticorps est possible à l'aide du zymosan, du LPS ou d'érythrocytes de lapin, activateurs connus de la voie alterne. Elle dépend seulement des ions Mg<sup>2+</sup>. Les complexes moléculaires issus de l'activation du C5 ont une taille et une composition très similaires à celles des complexes lytiques C5-9 des mammifères. Un composant de type C3, très voisin de C5 (composé de deux polypeptides associés de 133 kd et 86 kd) est toutefois antigéniquement différent et n'est pas incorporé aux complexes lytiques [27].

La continuité évolutive entre le système du complément des poissons et celui des vertébrés supérieurs est renforcée par une série d'observations [13] indiquant que le plasma et le sérum des Téléostéens possèdent une activité protéolytique pour les composants C4b et C3b humains, probablement liée à la présence de facteurs qui seraient les équivalents phylogéniques des protéines de régulation I, H et C4bp du système mammalien. L'activité du complément de poisson, sans être rigoureusement espèce-dépendante, est restreinte à des espèces phylogéniquement apparentées. Le

complément.  
mosan et est  
tence d'un  
erne).

utum (requin  
ment, fonc-  
ux C1, C2,  
mmifère ont  
en cascade  
ules rouges  
s qui sont  
e, aux com-  
plément de  
activent le  
ne, du chien  
ps-C1-4 de  
es et inver-  
s-C1-7 de  
le C9 de  
ns, de titres  
plément leur  
une remar-

olytique du  
de mouton  
d'anticorps  
la présence  
e type C5 a  
e constituée  
kd unis par  
te d'activa-  
est possible  
throcytes de  
alterne. Elle  
s complexes  
C5 ont une  
res à celles  
mifères. Un  
e C5 (com-  
e 133 kd et  
différent et  
tiques [27].  
système du  
es vertébrés  
d'observa-  
e sérum des  
protéolytique  
ains, proba-  
qui seraient  
protéines de  
mammalien.  
n, sans être  
t restreinte à  
rentées. Le

complément des Salmonidés ne fonctionne qu'entre Salmonidés, celui des Cyprinidés a une activité croisée très variable : le complément de brème (*Abramis brama*) est activé efficacement par des anticorps de carpe, alors que celui du poisson rouge (très voisin de la carpe) ne l'est pas. Aucune généralisation n'est possible. A titre d'exemple, les anticorps de la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri*) ne fixent pas le complément de cobaye alors que les anticorps de la truite fario (*Salmo trutta*) en sont capables.

Il est important de rappeler que le système du complément prend ses racines chez les invertébrés. L'hémolymphe de l'étoile de mer (*Asterias forbesi*) contient un facteur qui, complexé avec le venin de cobra, active le complément de grenouille et clive le composant C3 humain pour libérer de l'anaphylatoxine. Ce facteur serait un équivalent fonctionnel du facteur B.

## CONCLUSION

Les poissons possèdent un système immunitaire dont la complexité et l'efficacité augmentent parallèlement à leur degré d'évolution. Ils représentent, pour les immunologistes, une série d'étapes qui témoignent de la mise en place progressive, au cours de la phylogénie, des cellules et des molécules de l'immunité. Chez les Agnathes, qui ne possèdent pas d'organes lymphoïdes, la dichotomie entre lymphocytes T et B n'est probablement qu'ébauchée et les globulines ayant une fonction anticorps ne présentent pas la structure classique des immunoglobulines. A partir des Sélaciens, l'existence d'un thymus et d'Ig typiques témoignent de la spécialisation des lymphocytes. Chez les Téléostéens, les réponses cellulaire et humorale du système immunitaire rappellent très précisément les systèmes mammaliens, le seul point douteux – et important – restant l'existence d'un complexe génique comparable au CMH des vertébrés supérieurs.

La distinction, chez les poissons, entre immunités spécifique et non spécifique, n'est pas toujours aisée. Il est clair que le système du complément, les cellules tueuses naturelles, les macrophages, l'interféron, représentent une barrière immédiate de défense très efficace dans les heures ou les jours qui suivent une sollicitation antigénique. Cette immunité non spécifique est

peu dépendante de la température et son efficacité peut être considérablement amplifiée par la présence de titres élevés d'anticorps naturels (activation du complément, opsonisation). L'immunité, cellulaire et humorale, spécifique est plus tardive, très dépendante de la température, son intérêt majeur étant la mise en place progressive au cours de la vie de chaque individu d'une mémoire à long terme lui permettant de tenir compte de son expérience passée et favorisant l'expression ultérieure de l'immunité non spécifique.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AVTALION RR, WOJDANI A, MALIK Z et al. Influence of environmental temperature on the immune response in fish. *Curr Top Microbiol Immunol*, 1973, 61 : 1-35.
2. BIELEK E. Ultrastructural analysis of leucocyte interaction with tumor targets in a teleost, *Cyprinus carpio*. *L Develop Comp Immunol*, 1988, 12 : 809-821.
3. COOPER EL. *Comparative Immunology*. Londres, Prentice-Hall, 388 pages.
4. DE KINKELIN P, DORSON M. Interferon production in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) experimentally infected with Egtved virus. *J Gen Virol*, 1973, 19 : 125-127.
5. DESVAUX FX, CHARLEMAGNE J. The goldfish immune response. II. Thymic influence on allograft rejection. *Develop Comp Immunol*, 1983, 7 : 563-567.
6. DESVAUX FX, COSSARINI-DUNIER M, CHILMONZCYK S et al. Antibody diversity in trouts obtained by gynogenesis or self-fertilization. Comparative analysis of the heavy chains spectrotypes. *Develop Comp Immunol*, 1987, 11 : 577-587.
7. EVANS DL, JASO-FRIEDMANN L, SMITH EE et al. Identification of a putative antigen receptor on fish nonspecific cytotoxic cells with monoclonal antibodies. *J Immunol*, 1988, 141 : 324-332.
8. GHAFFARI SH, LOBB CG. Cloning and sequence analysis of channel catfish heavy chain cDNA indicate phylogenetic diversity within the IgM immunoglobulin family. *J Immunol*, 1989, 142 : 1356-1365.
9. GONZALEZ R, CHARLEMAGNE J, MAHAMA W et al. Specificity of natural serum antibodies present in phylogenetically distinct fish species. *Immunology*, 1988, 63 : 31-36.
10. HART S, WRATHMELL AB, HARRIS JE et al. Gut immunology in fish : a review. *Develop Comp Immunol*, 1988, 12 : 453-480.
11. JENSEN JA, FESTA E, SMITH DS et al. The complement system of the nurse shark : hemolytic and comparative characteristics. *Science*, 1981, 214 : 566-569.
12. KAASTRUP P, NIELSEN B, HYALYCK V et al. Mixed lymphocyte reaction (MLR) in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) siblings. *Develop Comp Immunol*, 1988, 12 : 801-808.
13. KAIDO T, GIGLI I. Phylogeny of regulatory proteins of the complement system. Isolation and characterization of a C4b/C3b inhibitor and a cofactor from Sand Bass plasma. *J Immunol*, 1989, 142 : 1605-1613.
14. KALLMAN KD. An estimate of the number of histocompatibility loci in the Teleost *Xiphophorus maculatus*. *Genetics*, 1964, 50 : 583-595.

15. KOBUKU F, LITMAN R, SHAMBLOTT MJ et al. Diverse organization of immunoglobulin VH gene loci in a primitive vertebrate. *EMBO J*, 1988, 7 : 3413-3422.
16. LITMAN GW, FROMMEL D, FINSTAD J et al. The evolution of the immune response. VIII. Structural studies of the lamprey immunoglobulin. *J Immunol*, 1970, 105 : 1278-1288.
17. LOBB CJ, CLEM LW. Phylogeny of immunoglobulin structure and function. XI. Secretory immunoglobulins in the cutaneous mucus of the Sheepshead, *Archosargus probatocephalus*. *Develop Comp Immunol*, 1981, 5 : 587-596.
18. LOBB CJ, OLSON MD. Immunoglobulin heavy H chain isotypes in a Teleost fish. *J Immunol*, 1988, 141 : 1236-1245.
19. LOBB CJ, OLSON MDJ, CLEM LW. Immunoglobulin light chain classes in a Teleost fish. *J Immunol*, 1984, 132 : 1917-1923.
20. MARCHALONIS JJ. *Immunity in Evolution*, Londres, Arnold, 1977, 316 pages.
21. MARCHULLA HKG, RICHTER RF, AMBROSIUS H. Study of antibody heterogeneity of carp (*Cyprinus carpio* L.). The idiotype specificity of anti-DNP antibodies. *Immunology Letters*, 1980, 1 : 329-334.
22. MILLER NW, BLY JE, VAN GINKEL CF et al. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity : identification and separation of functionally distinct subpopulations of Channel catfish lymphocytes with monoclonal antibodies. *Develop Comp Immunol*, 1987, 11 : 739-747.
23. MILLER NW, CLEM W. Temperature-mediated processes in teleost immunity : differential effects of temperature on catfish *in vitro* antibody responses to thymus-dependent and thymus-independent antigens. *J Immunol*, 1984, 133 : 2356-2359.
24. MILLER NW, DEUTER A, CLEM LW. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity : the cellular requirements for the mixed leucocyte reactions with Channel catfish. *Immunology*, 1986, 59 : 123-128.
25. MILLER NW, SIZEMORE RC, CLEM LW. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity : the cellular requirements for *in vitro* antibody responses of Channel catfish leucocytes. *J Immunol*, 1985, 134 : 2884-2888.
26. NONAKA M, FUJI T, KAIDOH T et al. Purification of a lamprey complement protein homologous to the third component of the mammalian complement system. *J Immunol*, 1984, 133 : 3242-3249.
27. NONAKA M, MAMAGUCHI N, NATSUUME-SAKAI S et al. The complement system of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). I. Identification of the serum lytic system homologous to mammalian complement. *J Immunol*, 1981, 126 : 1489-1494.
28. RAISON RL, GILBERTSON P, WOTHERSPOON J. Cellular requirements for mixed leucocyte reactivity in the cyclostome *Eptatretus stoutii*. *Immunol Cell Biol*, 1987, 65 : 183-188.
29. SHAMBLOTT MJ, LITMAN CW. Complete nucleotide sequence of primitive vertebrate immunoglobulin light chain genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86 : 4684-4689.
30. SIZEMORE RC, MILLER NW, CUCHENS MA et al. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity : the cellular requirements for *in vitro* mitogenic responses of Channel catfish leucocytes. *J Immunol*, 1984, 133 : 2920-2924.
31. TOMONAGA S, KOBAYASHI K. A second class of immunoglobulins in the cartilaginous fishes. *Develop Comp Immunol*, 1985, 9 : 797-802.
32. WETZEL MC, CHARLEMAGNE J. Antibody diversity in fish. Isoelectric focalisation study of individually-purified specific antibodies in three Teleost fish species : Tench, Carp and Goldfish. *Develop Comp Immunol*, 1985, 9 : 261-270.

annel catfish.

Phylogeny of  
quirements for  
ish leucocytes.

urification of a  
s to the third  
ent system. J

AKAI S et al.  
(*Salmo gair-*  
ystem homolo-

ON J. Cellular  
ctivity in the  
ell Biol, 1987,

ete nucleotide  
nglobulin light  
A, 1989, 86 :

S MA et al.  
: the cellular  
ses of Channel  
: 2920-2924.  
ss of immuno-  
velop Comp

y diversity in  
idually-purified  
ecies : Tench,  
mol, 1985, 9 :

J. Charlemagne

## IMMUNOLOGIE DES POÏKILOTHERMES

Les capacités immunitaires des vertébrés primitifs ont intéressé certains immunologistes dès le début de ce siècle. Plus récemment, depuis la fin des années cinquante, un petit nombre de laboratoires se consacrent à l'analyse des réponses immunes des vertébrés à sang froid, certains pour des raisons fondamentales, d'autres dans le but de mieux connaître les capacités de défense des espèces d'intérêt économique (principalement des poissons téléostéens). L'approche fondamentale a pour objectif d'analyser les différentes étapes qui, au cours de l'évolution, ont conduit à l'élaboration des circuits immunologiques les plus complexes. L'approche plus finaliste consiste, à cerner les paramètres permettant de protéger le plus efficacement possible (prophylaxie, vaccination) les animaux d'élevage contre l'action des bioagresseurs.

Sans vouloir retracer ici l'évolution complète des vertébrés, il paraît donc indiqué d'examiner quelques espèces de poïkilothermes, parfois obscures ou peu répandues (Fig. 45-1).

Il est par ailleurs important de souligner que, face aux quelques milliers d'équipes qui s'intéressent aux mammifères, les quelques dizaines de chercheurs qui étudient les vertébrés inférieurs ont pu apporter que des résultats fragmentaires et dispersés dont il est difficile de faire la synthèse.

Le tableau 45-I énumère les principales espèces ayant fait l'objet d'études et les résultats obtenus les plus importants. Il n'a pas la prétention d'être complet et la lecture de quelques ouvrages d'immunologie comparée [18, 19] permet d'avoir une idée plus détaillée de l'état actuel des travaux.



Anticorps monoclonaux spécifiques des lymphocytes T

Classes d'immunoglobulines (Ig)  
 HMW : Ig de masse moléculaire élevée  
 LMW : Ig de masse moléculaire faible

« IgM »<sup>a, b</sup>    IgM<sup>a</sup>    IgM 19S<sup>a, b</sup>    IgM 19S<sup>a, b</sup>    IgM 7S<sup>a, b</sup>    IgM 7S<sup>a, b</sup>    IgM 7S<sup>a, b</sup>    IgM 7S<sup>a, b</sup>    IgM<sup>a, b, c</sup>    IgM<sup>a, b, c</sup>    IgM<sup>a, b, c</sup>    IgM<sup>a, b, c, d</sup>    IgM<sup>a, b, c, d</sup>  
 IgM<sup>a</sup>    IgM<sup>a</sup>    (Ig LMW)<sup>e</sup>    (Ig LMW)<sup>e</sup>    (Ig LMW)<sup>e</sup>    (Ig LMW)<sup>e</sup>    (Ig LMW)<sup>e</sup>    (Ig LMW)<sup>e</sup>    IgY<sup>a</sup>    IgY<sup>a</sup>    IgY<sup>a</sup>    IgY<sup>a, b, c, d</sup>    IgY<sup>a, b, c, d</sup>  
 Ig LMW<sup>b</sup>    Ig LMW<sup>b</sup>    Ig LMW<sup>b</sup>    Ig LMW<sup>b</sup>    Ig LMW<sup>b</sup>    Ig LMW<sup>b</sup>    Ig LMW<sup>b</sup>    Ig LMW<sup>b</sup>    IgX<sup>a</sup>    IgX<sup>a</sup>    IgX<sup>a</sup>    IgX<sup>a</sup>

	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c, e</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c, e</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c</sup>	+ <sup>a</sup>
Isotypes des chaînes d'Ig	(2 isotypes)		(2 isotypes)		(2 isotypes)		(2 isotypes)		(2 isotypes)		(2 isotypes)		+ <sup>a</sup>
Anticorps monoclonaux anti-Ig	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b, c, d, e</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Séquences N-terminales d'Ig	+ <sup>b</sup>	+ <sup>a</sup>	+	+ <sup>c</sup>	+	+	+	+	+	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b</sup>
Clonage de gènes codant pour les Ig	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Spécificité des anticorps naturels	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>
Cinétique de la synthèse des Ac. spécifiques	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>
Réponses primaire et secondaire	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>	+ <sup>a, b, c</sup>
Diversité des anticorps. Idiotypie	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, c, d</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Effet de la température sur la synthèse des anticorps	+ <sup>b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, e</sup>	+ <sup>a, e</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>
Ig sécrétoires			+ <sup>b, e</sup>	+ <sup>b, e</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Régulation cellulaire de la synthèse des anticorps	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, e</sup>	+ <sup>a, e</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>
Action des corticoïdes			+ <sup>b, c</sup>	+ <sup>b, c</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>
Action de l'irradiation			+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Equivalent Thy-1	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, d</sup>	+ <sup>a, d</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Equivalent β <sub>2</sub> -m	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>c, d</sup>	+ <sup>c, d</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>
Tumeurs lymphoïdes			+ <sup>g</sup>	+ <sup>g</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>
Cycles saisonniers			+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>
Complément	+ <sup>b</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b, f</sup>	+ <sup>a, b, f</sup>	+ <sup>a</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, b</sup>	+ <sup>a, c</sup>	+ <sup>a, c</sup>

Espèces étudiées :

- <sup>a</sup> Myxines
- <sup>b</sup> Lamproies
- <sup>a</sup> Requins
- <sup>b</sup> Raies
- <sup>a</sup> Spatule
- <sup>b</sup> Esturgeon
- <sup>a</sup> Cyprinidés
- <sup>b</sup> Salmonidés
- <sup>c</sup> Cyprinus
- <sup>d</sup> Carassius
- <sup>e</sup> Ictalurus
- <sup>f</sup> Thon
- <sup>g</sup> Brochet
- <sup>h</sup> Xiphophore
- <sup>a</sup> Neoceratodus
- <sup>b</sup> Protopterus
- <sup>a</sup> Caecilia
- <sup>b</sup> Axolotl (Amblystoma)
- <sup>c</sup> Tritons
- <sup>a</sup> Xenopus
- <sup>b</sup> Rana
- <sup>c</sup> Bufo
- <sup>a</sup> Lézards
- <sup>b</sup> Tortues
- <sup>c</sup> Serpents
- <sup>d</sup> Alligator



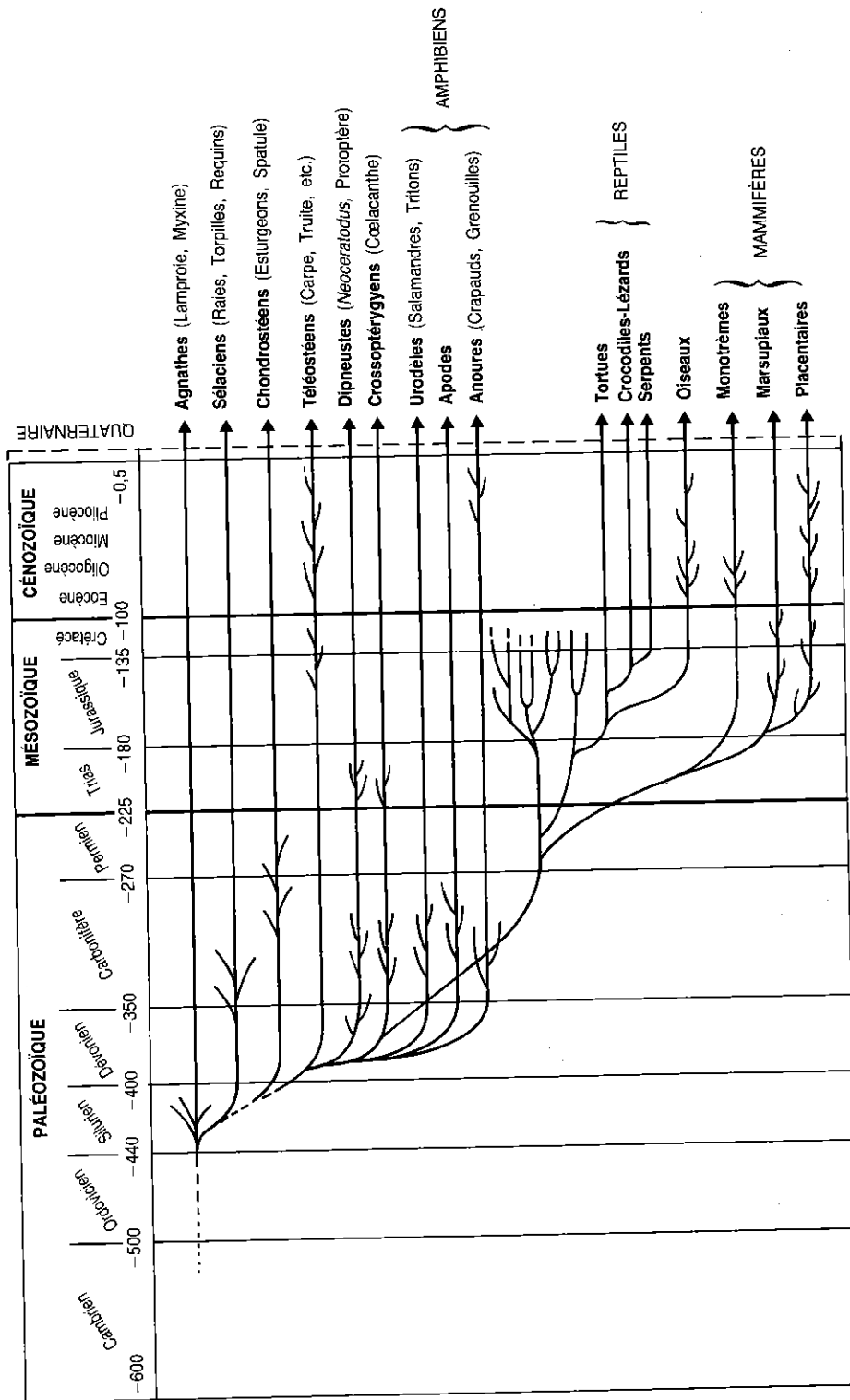


Figure 45-1 Schéma simplifié de l'évolution des vertébrés. Les ères géologiques sont indiquées en millions d'années. Une période du paléozoïque d'environ 100 millions d'années (Silurien et Dévonien) a vu l'émergence des principales classes de vertébrés. Dès le Permien (~ 250 MA) apparaît un sous-groupe de reptiles primitifs qui donnera les Mammifères. Certaines classes ou sous-classes ont très peu évolué depuis l'ère primaire (Agnathes, Sélaciens, Dipneustes, Crossoptérygiens, Urodèles, Anoures primitifs). Certains groupes poursuivent encore actuellement leur évolution (Téléostéens, certains Anoures, Oiseaux ou Mammifères placentaires).

## PHYLOGÉNIE DES ORGANES ET DES CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Le tableau 45-II retrace, chez les vertébrés, l'ensemble des organes et formations lymphoïdes de façon comparative. Le thymus et la rate sont les organes les plus répandus. La moelle osseuse et les ganglions lymphatiques n'existent que chez les vertébrés à sang chaud. La plupart des vertébrés possèdent des lymphocytes associés à la paroi digestive, soit de manière éparse dans la *lamina propria* et l'épithélium, soit sous la forme de nodules associés à la paroi buccale et œsophagienne, ou dispersés le long du tube digestif. Au cours du développement, le thymus est toujours le premier organe lymphoïde qui se différencie, à partir d'ébauches épithélio-endothéliales dérivées du pharynx. Des précurseurs hématopoïétiques viennent secondairement les coloniser. Ils proviennent soit directement du mésenchyme voisin (poissons, amphibiens), soit de la moelle osseuse d'où ils sont apportés par la circulation (oiseaux, mammifères). La rate se développe parallèlement au thymus, toujours plus ou moins intimement accolée à la paroi de l'estomac. Chez les mammifères, les ébauches thymiques bilatérales migrent dans la cavité thoracique pour former un organe médian qui coiffe le cœur. Chez les autres vertébrés, les thymus sont bilatéraux, souvent formés de plusieurs lobes indépendants, et restent au voisinage des poches pharyngiennes (poissons, amphibiens) ou migrent bilatéralement le long des veines jugulaires (reptiles, oiseaux).

L'aspect morphologique des cellules sanguines est extrêmement stable au cours de la phylogénie. Même chez les vertébrés les plus primitifs (agnathes, sélaciens), les lignées lymphocytaires, granulocytaires et monocytaires sont aisément retrouvées et définies selon les critères de l'hématologie. Il existe toutefois deux exceptions. Contrairement à ceux des mammifères, les globules rouges de l'ensemble des autres vertébrés sont nucléés et portent le nom d'érythrocytes. De même, les plaquettes sanguines n'existent que chez les mammifères et leurs équivalents physiologiques chez les autres vertébrés sont des cellules fusiformes nucléées appelées thrombocytes.

De nombreux travaux montrent que, comme chez les mammifères, les lymphocytes des verté-

brés à sang froid sont hétérogènes. Une dichotomie entre lymphocytes « ressemblant aux T » et « ressemblant aux B » paraît le plus souvent évidente, basée à la fois sur des critères anatomiques (lymphocytes provenant ou non du thymus) et fonctionnels (expériences de thymectomie, mise en évidence d'une population lymphocytaire spécialisée dans la synthèse des anticorps). L'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-immunoglobulines (Ig) permet la détection d'une sous-population de lymphocytes B périphériques porteurs d'Ig de surface chez plusieurs espèces de poissons, d'amphibiens et de reptiles. Par contre, peu de marqueurs de différenciation des lymphocytes T ont été détectés chez les poissons et les amphibiens. Chez le Téléostéen *Ictalurus punctatus*, un anticorps monoclonal (13C10) reconnaît les lymphocytes périphériques dépourvus d'Ig de surface (sIg<sup>-</sup>) et permet d'isoler des cellules ayant un effet auxiliaire sur la synthèse des anticorps [20]. Chez l'amphibien urodèle *Ambystoma mexicanum* (axolotl), un anticorps monoclonal (34.38.6) reconnaît la totalité des thymocytes, les lymphocytes sIg<sup>-</sup> de la rate, et aussi les macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les cellules-souches hématopoïétiques [25]. Chez le xénope, on dispose d'un anticorps monoclonal (XT-1) qui reconnaît spécifiquement (uniquement chez les xénopes de la lignée J) la majorité des thymocytes et au moins une partie des lymphocytes T périphériques [21]. L'utilisation de sérums polyclonaux anti-thymocytes ou anti-cerveau permet dans certains cas l'élimination sélective ou la détection des lymphocytes dérivés du thymus.

Les activateurs polyclonaux utilisés chez les mammifères ont été largement exploités chez les vertébrés à sang froid. Leur action est étroitement dépendante des conditions expérimentales (composition des milieux de culture, température) et est très généralement similaire au schéma classique : les polysaccharides bactériens (LPS, SIII) activent préférentiellement les lymphocytes capables de synthétiser des anticorps (lymphocytes B) et les lectines (PHA, Con A) activent préférentiellement des lymphocytes non B dont on a pu montrer dans certains cas qu'ils provenaient du thymus (xénope). Enfin, certaines propriétés physiques des lymphocytes sont conservées dans l'évolution : les lymphocytes B adhèrent généralement à divers matériaux inertes tels que des fibres de nylon.

d'années (Silurien et Dévonien) a vu l'émergence des principales classes de vertébrés. Dès le Permien (~ 250 MA) apparaît un sous-groupe de reptiles primitifs qui donnera les Mammifères. Certaines classes ou sous-classes ont très peu évolué depuis l'ère primaire (Agnathes, Sélaciens, Dipneustes, Crossoptérygiens, Urodèles, Anoures primitifs). Certains groupes poursuivent encore actuellement leur évolution (Téléostéens, certains Anoures, Oiseaux ou Mammifères placentaires).

Tableau 45-II Phylogénie des organes lymphoïdes.

Organes lymphoïdes	Agnathes		Poissons		Amphibiens		Reptiles	Oiseaux	Mammifères
	Sélaginiens	Téléostéens	Urodèles	Anoures					
Thymus	-	+ (CM) <sup>a</sup>	+ (CM ?)	+ (CM)	+ (CM)	+ (CM)	+ (CM)	+ (CM)	+ (CM)
Rate	-	+ (PbPr) <sup>b</sup>	+ (PbPr ?)	+ (PbPr)	+ (PbPr)	+ (PbPr)	+ (PbPr)	+ (PbPr)	+ (PbPr)
Formations associées au tube digestif	+ (l.p.) <sup>c</sup>	+ (l.p.)	+ (l.p.)	+ (l.p.)	+ (l.p.)	+ (l.p.)	+ (l.p.)	+ (l.p.)	+ (l.p.) plaques de Peyer
Formations associées à la bouche et au pharynx	-	± diffus	+ amygdales	+ amygdales nodules	+ amygdales nodules	+ amas lymphoïdes	+ amas lymphoïdes	+ +	+ amygdales végétations
Moelle osseuse	-	-	-	± (selon les espèces)	± (selon les espèces)	+ +	+ +	+ +	+ +
Ganglions lymphatiques	-	-	-	-	-	-	-	± (selon les espèces)	+ +
Cæcums, appendices	-	-	-	-	-	-	-	+ +	+ +
Divers	branchies ? pronéphros ?	pronéphros gonades	foie (T) <sup>d</sup>	foie (T) mésonephros (T)	foie (T) mésonephros (T)	foie (T) rein (T)	foie (T) rein (T)	foie (T) rein (T)	foie (T)

<sup>a</sup> Différenciation corticomédullaire présente (CM) ou douteuse (CM ?).

<sup>b</sup> Différenciation entre pulpe blanche et pulpe rouge présente (PbPr) ou douteuse (PbPr ?).

<sup>c</sup> l.p. : *Lamina propria*.

<sup>d</sup> T : transitoire, organes accueillant des lymphocytes durant la vie embryonnaire, larvaire ou fœtale.

## IMMUNITÉ CELLULAIRE

### REJET D'ALLOGREFFE

L'existence de phénomènes d'alloréactivité a été démontrée chez les éponges, les coraux, les annélides, les mollusques, les arthropodes et les échinodermes. L'incompatibilité tissulaire existe aussi dans toutes les classes de vertébrés. Selon les espèces, les rejets sont lents (25 à 200 jours) ou rapides (5 à 20 jours) et dépendent de la présence d'un système immunitaire différencié. La démonstration expérimentale du rôle du thymus dans le rejet des allogreffes n'a été réalisée que chez un petit nombre d'espèces. Chez les Téléostéens, la thymectomie du jeune alevin pose des problèmes techniques considérables et les thymus, directement en contact avec l'épithélium de la cavité branchiale, régénèrent très rapidement. Chez le poisson rouge (*Carassius auratus*) âgé d'un an, l'irradiation locale des thymus à forte dose (20 Gy) inhibe partiellement le rejet des allogreffes d'écaille alors que l'irradiation totale à 20 Gy, thymus protégés, laisse intacte la capacité de rejet [8]. Chez les urodèles, la thymectomie chirurgicale réalisée chez les larves de 4 à 8 semaines abolit de manière définitive le rejet des allogreffes cutanées [23]. Les animaux opérés deviennent parfois sensibles aux infections fongiques et parasitaires et leur croissance peut être perturbée. La thymectomie chez l'adulte reste par contre sans effet. Chez les anoures (xénope), la thymectomie doit être réalisée très tôt, entre 4 et 7 jours après la fécondation, pour affecter de manière significative le rejet des allogreffes et la réaction lymphocytaire mixte [11]. Cette différence entre anoures et urodèles s'explique par la précocité de l'organogénèse du thymus des anoures, suivie d'une migration rapide des lymphocytes T alloréactifs vers la périphérie.

### COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ (CMH)

L'analyse du déterminisme génétique des compatibilités tissulaires reste très difficile à réaliser chez les vertébrés inférieurs. Peu d'entre eux s'élèvent au laboratoire et les temps de génération, généralement longs, ne permettent pas

d'établir facilement des lignées histocompatibles par sélection génétique. Les alloantisérums sont difficiles, sinon impossibles à produire et l'éloignement phylogénique ne permet pas la production par des mammifères (lapins, souris) de xénoantisérums capables de distinguer un polymorphisme allélique chez un vertébré inférieur. Il existe toutefois quelques exceptions, la plus intéressante étant le xénope, où il a été possible de décrire de manière détaillée un complexe majeur d'histocompatibilité, appelé XLA, à partir d'expériences faisant intervenir des critères biologiques (rejet accéléré des allogreffes), sérologiques (allo- et xénoantisérums), cellulaires (réaction lymphocytaire mixte), génétiques et moléculaires (caractérisation d'antigènes de classes I et II). Ces travaux ont été rendus possibles grâce à l'obtention de clones d'animaux isogéniques. Les femelles hybrides de *Xenopus laevis* × *Xenopus gilli* différencient des ovocytes de deux sortes. Les uns sont de petite taille, aneuploïdes et, après fécondation, ne donnent pas d'embryons viables. Les autres sont de grande taille et possèdent un stock chromosomique diploïde identique au génome maternel. Ces œufs, après activation artificielle avec du sperme irradié, donnent naissance à des embryons viables génétiquement identiques entre eux ainsi qu'à leur mère. Des familles de xénopes ont ainsi été sélectionnées, permettant la caractérisation de 11 haplotypes XLA [11].

L'immunisation mutuelle de xénopes d'haplotypes différents a permis l'obtention d'alloantisérums capables d'immunoprécipiter des molécules ayant les caractéristiques d'antigènes de classe I : chaînes lourdes de 40-44 kd associées à des chaînes légères de 13 kd, équivalentes aux  $\beta_2$ -microglobulines des mammifères [11]. De plus, un antisérum de lapin dirigé contre la chaîne  $\beta$  des antigènes de classe II humains (HLA-DR) est capable de reconnaître à la surface des leucocytes de xénopes des molécules de classe II constituées de chaînes de 34 kd associées à des chaînes de 29 kd. Ces chaînes sont polymorphiques et codées par le complexe XLA. Curieusement, les antigènes de classe II apparaissent tôt dans l'ontogénie (larves d'environ 20 jours) alors que les antigènes de classe I n'apparaissent qu'à la métamorphose (environ 50 jours). Les réactions d'incompatibilité existant chez la larve pourraient être produites par des lymphocytes T alloréactifs reconnaissant des antigènes de classe II [11].

Le complexe d'histocompatibilité du xénope est celui qui a été décrit de la manière la plus

complète chez un vertébré à sang froid. Les anticorps anti-classes I et II du CMH des mammifères ne reconnaissent aucune structure analogue chez les agnathes et les poissons (Séla-ciens, Téléostéens). Des antigènes de classe II seraient présents chez l'axolotl et les reptiles. Ainsi, au cours de la phylogénie, et en l'absence de toute information chez les poissons, les antigènes de classe II seraient les seuls exprimés chez les urodèles et seraient exprimés en premier au cours de l'ontogenèse chez les anoures. Des antigènes de classes I et II seraient présents chez les reptiles (chez lesquels on ne dispose d'aucune information concernant l'ontogenèse).

## ANTICORPS

### ISOTYPES D'IMMUNOGLOBULINES

Plusieurs classes et sous-classes d'Ig sont synthétisées chez les mammifères et définies par les propriétés antigéniques et physicochimiques de leurs chaînes lourde (H) et légère (L). Une diversité isotypique des Ig est également observable chez les non mammaliens et, de manière générale, les espèces les moins évoluées présentent les schémas les plus simples. Des « IgM », définies par comparaison aux Ig de haut poids moléculaire (19S) des mammifères, sont présentes chez tous les vertébrés, sauf peut-être chez les agnathes où il n'existerait que des monomères. Chez les poissons cartilagineux, les seules Ig sont des IgM polymères, parfois présentes sous forme de monomères [19], à l'exception de certaines espèces de raies où une deuxième classe d'Ig de faible poids moléculaire vient d'être récemment décrite [22]. Les poissons téléostéens ne possèdent que des IgM, généralement tétramériques, parfois sous forme de monomères. Ces IgM peuvent se diviser en plusieurs sous-groupes (sous-classes ou subisotypes) dont les caractéristiques sont légèrement différentes [17]. Toutefois, chez deux espèces de Dipneustes (*Neoceratodus*, et *Protopterus*), il existe une deuxième classe d'Ig de faible poids moléculaire (les Dipneustes font partie comme les Crossoptérygiens de la sous-classe des Sarcoptérygiens ou poissons à nageoires lobées). Des Ig de faible poids moléculaire (analogues aux IgG) émergent à partir des

amphibiens et sont désignées IgY chez les anoures [14], et chez les urodèles [16]. Un nouvel isotype de chaînes H ( $\chi$ ,  $\gamma$ ) vient d'être décrit chez le xénope [11] qui synthétise donc trois classes d'Ig [IgM (hexamères), IgY (monomères) et IgX (polymères)]. Les IgY des anoures sont antigéniquement proches des « IgG » des reptiles et des oiseaux (que certains appellent IgY) et des IgA des mammifères [1]. Il est intéressant de noter que les IgY des urodèles (axolotl) sont sécrétoires, ce qui les rapproche effectivement des IgA. Les Ig biliaires de certains oiseaux, considérées d'abord comme analogues aux IgA des mammifères, représentent en fait une nouvelle classe (IgB) sans relations antigéniques nettes avec les IgA [1]. Les IgG (et leurs sous-classes), IgE et IgD n'existeraient que chez les mammifères.

### RÉGULATION DE LA SYNTHÈSE DES ANTICORPS

Des tentatives d'immunisation expérimentale ont été réalisées chez de nombreux vertébrés à sang froid à l'aide d'antigènes protéiques, de virus, de bactéries ou d'érythrocytes. Des anticorps spécifiques peuvent être produits par tous les groupes de poissons; les cinétiques d'immunisation sont généralement lentes (20 à 40 jours pour obtenir un titre maximum en réponse primaire) et les injections de rappel ne produisent pas de véritables réponses secondaires analogues à celles des mammifères, mais plutôt une amplification de la réponse primaire, les titres secondaires n'excédant pas 4 à 16 fois les titres primaires. Ce phénomène est lié à l'absence de commutation inter-classe (les poissons ne synthétisent pas d'IgG) et donc parfaitement logique. La procédure d'immunisation est un facteur important dans l'efficacité de la réponse. Chez le poisson rouge, deux injections du même antigène, espacées de 4 à 7 jours, provoquent une réponse primaire beaucoup plus importante que lorsque la seconde stimulation se situe au moment du plateau ou de la fin de la réponse primaire (20-30 jours) [7].

L'effet de la thymectomie sur la synthèse des anticorps n'est pas connu chez les poissons car la thymectomie des alevins n'est pas techniquement réalisable. Chez les amphibiens urodèles, la thymectomie de la larve ou de l'adulte n'inhibe pas, mais au contraire favorise, la synthèse des anticorps anti-globules rouges [3]. Un effet similaire est obtenu en traitant les animaux à l'hydro-

corti  
Chez  
class  
cont  
dant  
cont  
Chez  
phoc  
macr  
Il a  
lymp  
la sy  
indé  
sacc  
sair  
antig  
peut  
com  
de ty  
poss  
phoc  
sens  
lymp  
rant  
La  
port  
class  
auxi  
sens  
anti-  
auxi  
diffé  
Il s'  
le C  
verté

C  
parti  
gène  
bulin  
men  
chac  
extr  
diffé  
vidu  
prod  
d'un  
répe  
rent  
espè

les anoures  
 quel isotype  
 crit chez le  
 classes d'Ig  
 s) et IgX  
 nt antigéni-  
 tiles et des  
 et des IgA  
 le noter que  
 rétoires, ce  
 gA. Les Ig  
 es d'abord  
 ammifères,  
 (IgB) sans  
 gA [1]. Les  
 D n'existe-

SE

périmentale  
 vertébrés à  
 éiques, de  
 Des anti-  
 ts par tous  
 d'immuni-  
 à 40 jours  
 en réponse  
 produisent  
 analogues à  
 e amplifica-  
 secondaires  
 imaires. Ce  
 mmutation  
 étissent pas  
 a procédure  
 portant dans  
 sson rouge,  
 pacées de 4  
 maire beau-  
 la seconde  
 eau ou de la  
 rs) [7].  
 ynthèse des  
 ssons car la  
 hniquement  
 odèles, la  
 te n'inhibe  
 ynthèse des  
 effet simi-  
 à l'hydro-

cortisone ou par irradiation à faible dose [4, 24]. Chez les anoures, la thymectomie a un effet plus classique : elle inhibe la synthèse des anticorps contre les antigènes classiquement thymo-dépendants et n'a que peu d'effet sur l'immunisation contre les antigènes thymo-indépendants [11]. Chez le Téléostéen *Ictalurus punctatus*, les lymphocytes de surface sIg<sup>+</sup> et sIg<sup>-</sup> ainsi que les macrophages peuvent être physiquement séparés. Il a été montré dans un système in vitro, que les lymphocytes sIg<sup>+</sup> et les macrophages suffisent à la synthèse d'anticorps contre un antigène thymo-indépendant (TNP-LPS : trinitrophénol-lipopoly-saccharide). L'addition de cellules sIg<sup>-</sup> est nécessaire pour l'obtention d'une réponse contre un antigène thymo-dépendant (TNP-KLH) [20]. On peut supposer que la population des cellules sIg<sup>-</sup> comporte des lymphocytes exprimant une fonction de type auxiliaire (donc T). Chez le xénope, il est possible de faire coopérer efficacement des lymphocytes adhérant au nylon et résistant à 30 Gy, sensibilisés à une molécule porteuse, avec des lymphocytes sensibilisés à l'haptène DNP, adhérant au nylon et sensibles à l'irradiation (5 Gy). La coopération est spécifique de la protéine porteuse [2]. Il s'agit donc d'une interaction classique telle que celle décrite entre lymphocytes auxiliaires aux caractéristiques T et lymphocytes sensibilisés à l'haptène, sécrétant des anticorps anti-haptène. Fait intéressant, des lymphocytes auxiliaires T et B sensibilisés, d'haplotypes XLA différents, ne coopèrent pas efficacement in vitro. Il s'agit du seul exemple décrit de restriction par le CMH d'une réponse immune humorale chez un vertébré à sang froid [2].

### DIVERSITÉ DES ANTICORPS

Chez les mammifères, un mécanisme très particulier et complexe de réorganisation des gènes codant pour les chaînes d'immunoglobulines permet, à partir d'un ensemble relativement limité de gènes variables, l'expression par chaque individu d'un répertoire immunitaire extraordinairement vaste ( $10^7$  à  $10^8$  anticorps différents). Ce mécanisme permet à chaque individu de l'espèce d'avoir les meilleures chances de produire des anticorps efficaces. Chaque individu d'une espèce donnée dispose de son propre répertoire d'anticorps exprimés, largement différent de celui d'un autre individu de la même espèce, même si, au départ, leurs stocks généti-

ques sont identiques (cas des souris isogéniques). On comprend l'intérêt d'un tel système dans la protection globale de l'espèce vis-à-vis de son environnement. Les immunologistes ont longtemps admis que les bases génétiques et moléculaires de la diversité des anticorps, telles qu'elles sont connues chez les mammifères, pouvaient être extrapolées à l'ensemble des vertébrés. Plusieurs travaux récents indiquent que cela n'est pas vraiment exact. Ils peuvent être résumés en trois points :

**Le nombre de molécules d'anticorps différents synthétisés vis-à-vis d'un antigène donné** est beaucoup plus faible chez les vertébrés inférieurs que chez les mammifères [10]. Par exemple, pour une synthèse d'anticorps anti-2,4-dinitrophénol (DNP), il y a environ  $10^4$  anticorps différents chez la souris, moins de  $10^2$  chez le xénope [10], moins de 10 chez les poissons (Cyprinidés et Salmonidés) [9] et les amphibiens urodèles [5];

**L'augmentation de la consanguinité** diminue l'hétérogénéité des anticorps. Ainsi, les xénopes isogéniques (clones obtenus par gynogenèse) fabriquent tous les mêmes anticorps anti-DNP d'idiotypes en majorité récurrents [10]. Chez la truite, l'augmentation de la consanguinité (par gynogenèse ou autofécondation) réduit l'hétérogénéité et la diversité des anticorps (homogénéisation des réponses entre individus et réduction individuelle des possibilités de réponse [9]);

**Les techniques de la génétique moléculaire** ont récemment permis de comprendre l'organisation des gènes codant pour les Ig chez un requin (*Heterodontus*). Cette organisation limite considérablement les possibilités individuelles de réorganisation somatique de ces gènes [15]; le répertoire immunitaire exprimé d'un requin serait l'expression directe d'un répertoire germinale potentiel transmis de génération en génération. Les mutations somatiques seraient quasi inexistantes. Une organisation du même type pourrait exister chez les Téléostéens. Chez le xénope, bien que l'organisation des gènes codant pour les chaînes H des Ig ressemble à celle des mammifères, le petit nombre des segments variables et leur grande homologie de structure limiteraient considérablement les possibilités du répertoire [11].

En conclusion, le répertoire des anticorps exprimés chez les mammifères n'est pas héréditaire; il se différencie chez chaque individu de manière indépendante et originale; cette diversification somatique est considérable. Au contraire, chez les poissons et les amphibiens, le répertoire

exprimé des Ig serait peu différent des possibilités du répertoire germinale que chaque individu hérite de ses parents. Ce dernier point est d'une importance fondamentale : toute entreprise de sélection génétique portant sur ces espèces peut avoir une influence directe sur leur capacité de synthétiser des anticorps.

### SPÉCIFICITÉ DES ANTICORPS NATURELS

Chez tous les vertébrés, une fraction du répertoire des lymphocytes B s'exprime spontanément et produit les Ig normalement présentes dans le sérum. Ces Ig possèdent des fonctions (anticorps dits « naturels ») plus ou moins facilement détectables. Ces anticorps naturels sont particulièrement abondants chez les vertébrés à sang froid : titres parfois importants d'agglutinines contre des globules rouges ou des bactéries de différentes espèces, ou anticorps dirigés contre de nombreuses protéines ou le TNP. Dans plusieurs groupes de poissons [Elasmobranches (roussette, torpille), Chondrostéens (esturgeon) et Téléostéens (Cyprinidés et Salmonidés)], il est possible de mettre en évidence des anticorps naturels contre l'actine, la tubuline, la thyroglobuline, l'hémocyanine, l'ADN monocaténaire et le TNP. Lorsque les anticorps anti-TNP de ces poissons sont purifiés par chromatographie d'affinité, les anticorps naturels de tanche (Cyprinidé) sont étroitement spécifiques du TNP, mais les anticorps anti-TNP d'esturgeon et de roussette reconnaissent également d'autres antigènes comme l'actine, la tubuline, l'hémocyanine et l'ADN. Les anticorps de roussette et de torpille sont particulièrement polyspécifiques [13]. Une hypothèse possible serait que chez les vertébrés primitifs, une partie du répertoire germinale des Ig est spontanément exprimé et en majorité constitué d'anticorps peu spécifiques dirigés contre des déterminants antigéniques très conservés dans la phylogénie.

### CONCLUSION

Il convient d'insister sur deux points. En premier lieu, l'alloréactivité. Il s'agit d'un phénomène universel, décelable même chez les verté-

brés les plus primitifs. La marque génétique de l'identité individuelle, accompagnée par la génération sexuée, limite la fusion de cellules génétiquement différentes au phénomène de fécondation. Cette intégrité du soi et ce refus du non-soi ont été les moteurs de l'évolution, permettant à la fois la diversification des génomes, leur sélection et le maintien des individus les mieux adaptés. L'intégrité du soi et son organisation progressive sont à chaque étape contrôlées par des molécules de la surface cellulaire de plus en plus spécialisées permettant les mouvements de l'organogenèse et la stabilité des tissus. Ces molécules sont souvent constituées par la succession d'un nombre variable de domaines extracellulaires d'environ 110 acides aminés incluant chacun deux résidus cystéine séparés par environ 60 acides aminés et prenant dans l'espace une forme globale (feuillet  $\beta$  anti-parallèles). Chez les animaux les plus primitifs, ces molécules interagissent entre elles de manière homotypique. Certaines d'entre elles seraient ensuite devenues capables d'interagir avec des ligands non homologues (molécules différentes présentes à la surface des cellules du même individu) ou allogéniques (molécules présentes à la surface des cellules d'autres individus de la même espèce). L'interaction allogénique, telle qu'on l'observe au cours d'un rejet d'allogreffe ou in vitro dans une réaction lymphocytaire mixte, a peu de chances d'intervenir dans des conditions naturelles. On met donc en évidence par une manipulation expérimentale des interactions récepteur-ligand qui miment probablement des situations naturelles où des molécules du soi (antigènes de classe I ou II du CMH) présentent aux récepteurs spécifiques des cellules réactives (les lymphocytes T) des fragments peptidiques du soi (autopeptides) ou du non-soi (« antigènes » dérivant ou non d'éléments pathogènes). Il semble que la différenciation de molécules de surface spécialisées, capables de communiquer au système immunitaire des informations conditionnées, se soit produite de manière progressive au cours de l'évolution des vertébrés. C'est seulement à partir des amphibiens que nos moyens actuels permettent indiscutablement la détection de molécules apparentées aux antigènes du CMH des mammifères.

Un deuxième point concerne les immunoglobulines. Ces molécules, responsables de l'immunité humorale spécifique, existent d'emblée chez tout les vertébrés. Les poissons les plus primitifs possèdent donc les mécanismes moléculaires qui leur permettent de modifier la structure de l'ADN

généti-  
par la gène-  
lules gène-  
de fécon-  
ce refus du  
tion, permet-  
énomes, leur  
as les mieux  
organisation  
blées par des  
plus en plus  
ats de l'orga-  
es molécules  
cession d'un  
tracellulaires  
chacun deux  
n 60 acides  
forme globu-  
les animaux  
interagissent  
e. Certaines  
es capables  
homologues  
surface des  
allogéniques  
des cellules  
). L'interac-  
ve au cours  
o dans une  
de chances  
naturelles. On  
manipulation  
eptideur-ligand  
ns naturelles  
e classe I ou  
s spécifiques  
cytes T) des  
otides) ou du  
n d'éléments  
enciation de  
capables de  
re des infor-  
e de manière  
es vertébrés.  
iens que nos  
ablement la  
ux antigènes

immunoglo-  
de l'immu-  
emblée chez  
plus primitifs  
éculaires qui  
re de l'ADN

codant pour les récepteurs spécifiques des lymphocytes (séquences génétiques de recombinaison et enzymes permettant des coupures et des réassociations au niveau de ces séquences). Ces mécanismes augmentent d'emblée les possibilités d'interactions face à l'univers du non-soi en permettant à chaque individu d'établir son propre répertoire de lymphocytes prêts à reconnaître un large spectre de structures. Ils ont probablement

nécessité la diversification progressive de multiples systèmes régulateurs destinés à l'élimination ou au contrôle des cellules fortement autoréactives. La mise en place du CMH, interface entre l'univers antigénique du soi et non-soi et des cellules capables d'exprimer un répertoire de reconnaissance potentiellement illimité a probablement été une étape décisive dans l'évolution du système immunitaire.

*Remerciements : nous remercions vivement Georges Mees pour sa lecture attentive du manuscrit.*

## BIBLIOGRAPHIE

1. AMBROSTUS H, HADGE D. Phylogeny of low molecular weight immunoglobulins. *Develop Comp Immunol*, 1983, 7 : 721-724.
2. BLOMBERG B, BERNARD CCA, DU PASQUIER L. In vitro evidence for T-B lymphocyte collaboration in the clawed toad. *Xenopus*. *Eur J Immunol*, 1980, 10 : 869-876.
3. CHARLEMAGNE J. Thymus independent anti-horse erythrocyte antibody response and suppressor T cells in the Mexican axolotl (*Amphibia, Urodela, Ambystoma mexicanum*). *Immunology*, 1979, 36 : 643-648.
4. CHARLEMAGNE J. Regulation of antibody diversity synthesis in the X-irradiated Mexican axolotl. *Eur J Immunol*, 1981, 11 : 712-721.
5. CHARLEMAGNE J. Antibody diversity in amphibians. Noninbred axolotls use the same unique heavy chain and a limited number of light chains for their anti-2,4-dinitrophenyl antibody response. *Eur J Immunol*, 1987, 17 : 421-424.
6. COOPER EL. *Comparative Immunology*, Londres, Prentice-Hall, 388 pages.
7. DESVAUX F-X, CHARLEMAGNE J. The Goldfish immune response. I. Characterization of humoral response to particulate antigens. *Immunology*, 1981, 43 : 755-762.
8. DESVAUX F-X, CHARLEMAGNE J. The goldfish immune response. II. Thymic influence on allograft rejection. *Develop Comp Immunol*, 1983, 7 : 563-567.
9. DESVAUX F-X, COSSARINI-DUNIER M, CHILMONZCYK S et al. Antibody diversity in trouts obtained by gynogenesis or self-fertilization. Comparative analysis of the heavy chain spectrotypes. *Develop Comp Immunol*, 1987, 11 : 577-584.
10. DU PASQUIER L. Antibody diversity in lower vertebrates — Why is it so restricted? *Nature*, 1982, 296 : 311-313.
11. DU PASQUIER L, SCHWAGER J, FLAJNIK MF. The immune system of *Xenopus*. *Ann Rev Immunol*, 1989, 7 : 251-275.
12. FELLAH JS, CHARLEMAGNE J. Characterization of an IgY-like low molecular weight immunoglobulin class in the Mexican axolotl. *Molec Immunol*, 1988, 25 : 1377-1386.
13. GONZALES R, CHARLEMAGNE J, MAHANA W et al. Specificity of natural serum antibodies present in phylogenetically distinct fish species. *Immunology*, 1988, 63 : 31-36.
14. HADJI-AZIMI I. Anuran immunoglobulins. A review. *Develop Comp Immunol*, 1979, 3 : 223-243.
15. HINDS KR, LITMAN GW. Major reorganization of immunoglobulin VH segmental elements during vertebrate evolution. *Nature*, 1986, 320 : 546-549.
16. KOBEL HR, DU PASQUIER L. Production of large clones of histocompatible, fully identical clawed toads (*Xenopus*). *Immunogenetics*, 1975, 2 : 87-91.
17. LOBB CJ, OLSON MO. Immunoglobulin heavy H chain isotypes in a Teleost fish. *J Immunol*, 1988, 141 : 1236-1245.
18. MARCHALONIS JJ. *Comparative Immunology*, Londres, Blackwell Scientific publications, 1976, 470 pages.
19. MARCHALONIS JJ. *Immunity in Evolution*, Londres, Arnold, 1977, 316 pages.
20. MILLER MJ, SIZEMORE RC, CLEM LW. Phylogeny of lymphocyte heterogeneity : the cellular requirement for *in vitro* antibody responses of channel catfish leukocytes. *J Immunol*, 1985, 134 : 2884-2888.
21. NAGATA S. A cell surface marker of thymus-dependent lymphocytes in *Xenopus laevis* is identifiable by mouse monoclonal antibody. *Eur J Immunol*, 1985, 15 : 837-841.
22. TOMONAGA S, KOBAYASHI K. A second class of immunoglobulin in the cartilaginous fishes. *Develop Comp Immunol*, 1985, 9 : 797-802.
23. TOURNEFIER A. Développement des organes lymphoïdes chez l'Amphibien Urodèle *Triturus alpestris* Laur ; tolérance des allogreffes après la thymectomie larvaire. *J Embryol Exp Morph*, 1973, 29 : 383-396.
24. TOURNEFIER A. Corticosteroid action on lymphocyte subpopulations and humoral immune response of axolotl (urodele amphibian). *Immunology*, 1982, 46 : 155-162.
25. TOURNEFIER A, GUILLET F, ARDAVIN C. Surface markers of axolotl lymphocytes as defined by monoclonal antibodies. *Immunology*, 1988, 63 : 269-276.



A. Silim, M.-R. Rekik

## IMMUNOLOGIE DES OISEAUX

Le système immunitaire des oiseaux se distingue de celui des mammifères par la présence d'une bourse de Fabricius (organe de maturation des lymphocytes B) et par l'absence de ganglions lymphatiques anatomiquement individualisés. Hormis ces particularités anatomiques, il est fort semblable à celui des mammifères. C'est le poulet, l'espèce la mieux étudiée, qui servira de base à la description du système immunitaire des oiseaux. La structure de certains organes lymphoïdes des oiseaux, comme la bourse de Fabricius, est détaillée dans le chapitre 5.

### ONTOGENÈSE

#### *BOURSE DE FABRICIUS*

D'apparition embryonnaire très précoce c'est-à-dire du 3<sup>e</sup> au 5<sup>e</sup> jour d'incubation, la bourse de Fabricius est infiltrée par un grand nombre de

cellules-souches basophiles, du 7<sup>e</sup> au 8<sup>e</sup> jour de la vie embryonnaire du poussin. Avant cette période, aucune des cellules-souches qui prennent leur origine dans le sac vitellin, n'est retenue par la bourse. Le processus de différenciation commence, dès l'entrée de ces cellules-souches dans l'organe. Les antigènes Ia (de classe II du CMH) sont repérables sur les cellules B au 10<sup>e</sup> jour d'incubation et dès le 13<sup>e</sup> jour ces cellules commencent à exprimer des IgM [16]. Le nombre de cellules exprimant les deux marqueurs augmente progressivement jusqu'au jour 18. Les IgM de ces cellules sont de deux types : IgM cytoplasmiques (cIgM) et IgM de surface (sIgM). Les cellules portant des sIgM sont présentes le 13<sup>e</sup> jour; par contre, les cellules à IgG et à « IgA » apparaissent respectivement le 14<sup>e</sup> jour et le 16<sup>e</sup> jour d'incubation [21, 29, 30, 31].

Au cours de leur développement les cellules-souches passent par trois stades de maturation : prébursal, bursal et post-bursal. Les caractéristiques de ces trois stades de développement des cellules B sont résumées dans le tableau 46-I.

**Tableau 46-1** Caractéristiques des trois stades de maturation des cellules B des oiseaux.

Caractéristiques	Cellules prébursales	Cellules bursales	Cellules post-bursales
IgM de surface	Absente	Présente	Présente
Nécessité de la bourse pour leur développement	Oui	Oui	Non
Lieu de maturation	Sac vitellin, mésenchyme	Bourse	Moelle osseuse, bourse, rate, thymus
Période de maturation	Début de l'embryogenèse	Durant l'embryogenèse et jusqu'à 2 semaines après l'éclosion	Après l'éclosion

Pendant l'incubation, le transit des prélymphocytes B vers la bourse de Fabricius est indispensable pour achever leur différenciation. En effet, la bourse de Fabricius élabore un tripeptide appelé bursine [2] qui stimule des systèmes cyclasiques intracellulaires et induit la différenciation des lymphocytes B [5]. La bursine s'est révélée active aussi bien sur les cellules B des oiseaux que sur celles des mammifères [3].

### THYMUS

C'est le second organe lymphoïde primaire des oiseaux et son rôle dans la maturation des lymphocytes T est identique à celui qu'il joue chez les mammifères. Chez les oiseaux, les cellules-souches des lymphocytes T se retrouvent dans le mésenchyme embryonnaire du 3<sup>e</sup> au 5<sup>e</sup> jour d'incubation. Le thymus primitif est constitué de cellules épithéliales, ectodermiques et endodermiques, vers lesquelles vont migrer des lymphocytes immatures, sous l'influence de facteurs chimiotactiques.

La colonisation du thymus par les cellules-souches lymphoïdes débute vers le 7<sup>e</sup> jour d'incubation. Des cellules T possédant des récepteurs de l'enzyme déoxytransférase terminale sont observées dès le 12<sup>e</sup> jour d'incubation. Au 14<sup>e</sup> jour, les lymphocytes T complètement mûrs passent dans

la circulation et vont coloniser les organes lymphoïdes secondaires. La maturation des précurseurs des lymphocytes T dépend de la thymopoïétine, hormone sécrétée par les cellules épithéliales du thymus, mais le rôle d'autres substances comme le facteur thymique sérique n'est pas exclu [4]. Avant l'éclosion le thymus comporte également des macrophages et des cellules dendritiques [36]; après l'éclosion il est partiellement envahi par des lymphocytes B et le nombre de plasmocytes augmente jusqu'à l'âge de 8 mois.

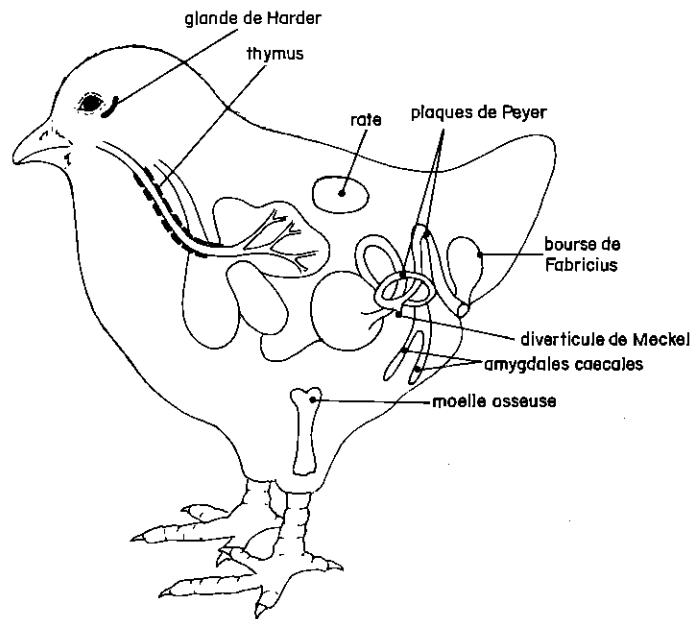
## ORGANES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE (Fig. 46-1)

### ORGANES LYMPHOÏDES PRIMAIRES

#### Bourse de Fabricius

La bourse de Fabricius est un organe lymphoïde en forme de poche, qui se situe à la partie dorsale du cloaque. Sa cavité est tapissée longitudinalement par environ 15 plis primaires et 7 secondaires. Ces plis sont bordés par un épithélium portant des cellules à mucus. Ils abritent de nombreux follicules lymphoïdes, dont le nombre varie entre 8 000 et 12 000. Autour des follicules, se trouve un large réseau de vaisseaux lymphatiques à flux efférent, qui renferment un grand nombre de lymphocytes. Dans les follicules de la bourse, une couche de cellules épithéliales associées aux follicules (EAF) délimite une médulla et un cortex qui contiennent quelques plasmocytes, des lymphocytes, des lymphoblastes, des macrophages et des réticulocytes. La surface totale des parois délimitant la cavité de la bourse équivaut à 10 cm<sup>2</sup>, dont 10 p. cent sont occupés par des EAF qui contribueraient à la défense propre de la bourse. Outre son rôle d'organe lymphoïde central, la bourse fonctionne également comme un organe lymphoïde périphérique [18, 45, 46, 52] et contient également des cellules T, situées dans des zones T-dépendantes [33]. La structure microscopique de ces zones ressemble à celle des organes lymphoïdes périphériques. Comme le thymus, la bourse possède une fonction sécrétrice assurée par les cellules situées à la frontière corticomédullaire des follicules qui sécrètent une

rganes lym-  
des précur-  
e la thymo-  
lules épithé-  
s substances  
est pas exclu  
porte égale-  
dendritiques  
ment envahi  
re de plas-  
8 mois.



**Figure 46-1** Organes du système immunitaire chez le poussin.

ne lymphoïde  
partie dorsale  
ongitudinale-  
et 7 secon-  
n épithélium  
abritent de  
nt le nombre  
es follicules,  
ux lymphati-  
nt un grand  
llicules de la  
méiliales asso-  
ne médulla et  
plasmocytes,  
des macro-  
nce totale des  
se équivaut à  
par des EAF  
propre de la  
e lymphoïde  
nt comme un  
45, 46, 52] et  
situées dans  
La structure  
le à celle des  
Comme le  
ion sécrétrice  
la frontière  
sécrètent une

hormone, la bursine. La bourse de Fabricius, après 10 semaines de croissance, entame une lente involution anatomique qui consiste en un épuisement des follicules lymphoïdes et qui s'achève vers la 24<sup>e</sup> semaine chez le poulet, c'est-à-dire au moment où l'oiseau atteint sa maturité sexuelle.

### Thymus [22]

Le thymus se compose de 12 à 18 lobes, séparés et répartis symétriquement à côté des vaisseaux jugulaires. Chaque lobe se divise en lobules qui, eux-mêmes, sont divisés en médullaire et cortex. La taille et la structure microscopique des lobules sont similaires à celles des mammifères. Certaines différences existent cependant : contrairement au thymus des mammifères, celui des oiseaux agit comme organe lymphoïde périphérique. En effet, environ 7 p. cent des lymphocytes présents dans le thymus après l'éclosion sont des cellules B. De plus, après immunisation, on y observe des centres germinatifs et quelques cellules productrices d'anticorps. Le thymus des oiseaux, comme celui des mammifères, agit également comme glande endocrine. L'extrait thymique de la poule induit in vivo et in vitro la différenciation des cellules T [19]. Le thymus se modifie avec l'âge, il s'entoure progressivement de graisse et finit par

involver lentement à partir de la 20<sup>e</sup> à la 23<sup>e</sup> semaine.

## ORGANES LYMPHOÏDES SECONDAIRES

### Rate

Durant le développement embryonnaire, la rate est colonisée par des cellules lymphoïdes et joue un rôle dans la granulopoïèse et l'érythropoïèse. Elle est considérée comme un organe lymphoïde secondaire. Chez l'adulte, la rate est un des principaux organes producteurs d'immunoglobulines. Elle est plus ou moins sphérique, située sur la face médiane du proventricule; son développement structural se poursuit après l'éclosion et elle atteint sa taille maximale dans les 6 premières semaines d'âge. Elle se compose d'une capsule fibreuse qui renferme deux masses cellulaires : la pulpe rouge et la pulpe blanche. La pulpe rouge consiste en des sinusoides et des cellules lymphoïdes diffuses. La pulpe blanche entoure l'arbre vasculaire splénique qui est entouré à son tour par un tissu lymphoïde PALT (pulp associated lymphoid tissue) composé de cellules principalement thymo-dépendantes. Il existe des îlots indépendants de cellules B. Les centres germinatifs des sinusoides sont burso-dépendants, quoique la pré-

sence de cellules T soit indispensable à leur formation. Le nombre de ces centres augmente avec l'âge, jusqu'à 4-5 semaines, de même qu'après une immunisation. Les cellules B qui les composent sont peu différenciées mais capables de proliférer.

### Nodules lymphatiques

A l'exception de certaines espèces appartenant notamment aux Anséridés et aux Larolimicoles, les oiseaux ne possèdent pas de ganglions lymphatiques anatomiquement individualisés. Ils sont par contre pourvus d'un grand nombre de nodules ou amas lymphatiques.

Ces amas sont souvent disséminés le long des gros vaisseaux sanguins (amas pariétaux) ou dans de nombreux organes (amas viscéraux). Ils apparaissent vers le début de la vie embryonnaire et prennent de l'ampleur en réponse à une stimulation antigénique locale. Ces nodules se composent de cellules lymphoïdes regroupées en amas dans lesquels on distingue des formations sphéroïdes pourvues de vaisseaux lymphatiques efférents et afférents.

### Tissu lymphoïde du tube digestif

Le tissu lymphoïde du tube digestif des oiseaux est bien développé. Il se compose de la bourse de Fabricius, des amygdales cæcales, du diverticule de Meckel et des plaques de Peyer.

Outre son rôle d'organe lymphoïde primaire, la bourse de Fabricius possède une activité d'organe lymphoïde périphérique, du fait de la présence de plasmocytes. L'apport antigénique se fait grâce aux contractions antipéristaltiques du cloaque [45, 46]. La bourse joue un rôle dans l'immunité locale chez le jeune oiseau.

Chez la poule, les amygdales cæcales sont deux amas ovoïdes, situés dans la région proximale de chaque cæcum. Il s'agit du tissu intestinal le plus riche en lymphocytes aussi bien T que B. La structure des amygdales cæcales consiste en un chorion thymo-dépendant, un épithélium et une zone sous-épithéliale qui héberge les cellules lymphoïdes et phagocytaires. Elle est considérée comme burso-dépendante. Contrairement à la bourse, les amygdales cæcales ne sont pas présentes à l'éclosion, leur développement et leur fonctionnement sont tributaires des stimulations antigéniques. Leur localisation et leur constante exposition au contenu intestinal font qu'elles

jouent un rôle de sentinelle de première importance.

Les plaques de Peyer de la poule se retrouvent tout le long de l'iléon distal. Elles se distinguent dans l'épithélium intestinal par leur aplatissement, l'absence de cellules caliciformes et l'épaississement des villosités lié à la présence de centres germinatifs et de tissu lymphoïde diffus.

Le diverticule de Meckel [35] est considéré comme le 3<sup>e</sup> organe lymphoépithélial des oiseaux. Son développement commence dès la 2<sup>e</sup> semaine d'âge, il devient fonctionnel de la 5<sup>e</sup> à la 7<sup>e</sup> semaine et le demeure jusqu'à environ la 20<sup>e</sup> semaine d'âge. Il produit des plasmocytes qui synthétisent des anticorps.

### Tissu lymphoïde paranasal

Il est situé dans les régions paranasales et paraoculaires. La glande de Harder en est l'élément le plus important; elle se situe ventralement et postéromédialement par rapport au globe oculaire. Elle est infiltrée dès le 17<sup>e</sup> ou le 18<sup>e</sup> jour d'incubation par des cellules lymphoïdes qui proviennent de la muqueuse oculaire et des sinus. En effet, une bursectomie durant la période embryonnaire n'affecte en rien l'accumulation des plasmocytes dans cette glande. Malgré cette infiltration précoce, le développement et le fonctionnement des centres germinatifs restent, là encore, tributaires d'une stimulation antigénique. Les lymphocytes B sont les principales cellules immunocompétentes retrouvées dans la glande de Harder. Les cellules T sont beaucoup moins nombreuses mais indispensables pour la synthèse d'anticorps, par leurs interactions avec les cellules B. Grâce à une bonne intercommunication entre le sac conjonctival, les sinus infra-orbitaux et les narines, l'apport antigénique est maximal et permet donc une forte réponse immune locale au niveau des orbites, des fosses nasales et du système respiratoire antérieur.

## CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Les lymphocytes issus des cellules-souches lymphoïdes assurent les réactions immunes spécifiques cellulaire et humorale, alors que les cellules phagocytaires issues des cellules-souches myé-

loïde  
tions  
souch  
jour  
naiss  
(Fig  
3 à 4  
le no  
par  
leuc  
phoc  
de p  
noph

### Lym

Le  
tom  
deux  
tes T  
tion  
sent



H

LY



Fig

ère impor-  
e retrouvent  
distinguent  
atissement,  
'épaississe-  
de centres  
fus.  
t considéré  
des oiseaux.  
2<sup>e</sup> semaine  
5<sup>e</sup> à la 7<sup>e</sup>  
viron la 20<sup>e</sup>  
ocytes qui

loïdes interviennent principalement dans les réactions immunes non spécifiques. Les cellules-souches s'observent dans le sac vitellin dès le 7<sup>e</sup> jour d'incubation. Elles donneront ultérieurement naissance à tous les éléments cellulaires sanguins (Fig. 46-2). Le sang de la poule contient environ 3 à 4 millions d'érythrocytes par mm<sup>3</sup>, alors que le nombre de leucocytes dépasse rarement 30 000 par mm<sup>3</sup> de sang. Chez le poulet adulte, les leucocytes comprennent 59 p. cent de lymphocytes, 10,2 p. cent de monocytes, 27,2 p. cent de polynucléaires hétérophiles, 2 p. cent d'éosinophiles et 1,7 p. cent de basophiles.

### Lymphocytes

Les expériences de thymectomie et de bursectomie chez l'oiseau démontrent l'existence de deux populations de lymphocytes : les lymphocytes T et les lymphocytes B [41]. Dans la circulation sanguine périphérique, les cellules T représentent 60 à 70 p. cent des lymphocytes, le reste

anasales et  
en est l'élé-  
ventralement  
au globe  
u le 18<sup>e</sup> jour  
phoïdes qui  
et des sinus.  
la période  
mulation des  
Malgré cette  
t et le fonc-  
restent, là  
antigénique.  
ales cellules  
la glande de  
coup moins  
la synthèse  
avec les cel-  
mmunication  
infra-orbitaux  
t maximal et  
ne locale au  
sales et du

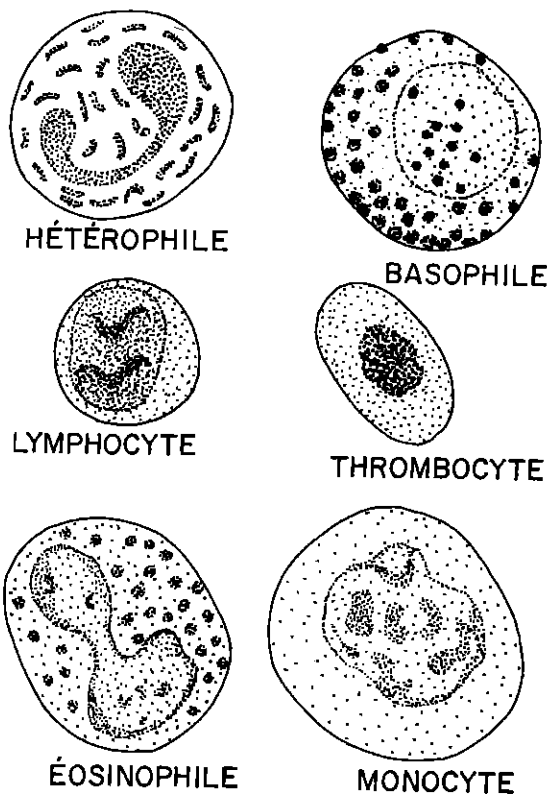


Figure 46-2 Cellules du système immunitaire des oiseaux.

correspondant à des cellules B et des cellules nulles. Dans la rate, les cellules T constituent environ 55 p. cent des lymphocytes totaux. Les lymphocytes B, par contre, prédominent dans la majorité des organes lymphoïdes en contact avec l'extérieur. Dans la glande de Harder ils représentent 80 p. cent, alors que dans les amygdales caecales ils dépassent 50 p. cent des lymphocytes totaux.

### Lymphocytes T

Ils sont thymo-dépendants et leur différenciation conduit à la formation d'une population hétérogène de lymphocytes, dotés de fonctions et de rôles variés. On distingue les lymphocytes T auxiliaires, T supprimeurs, T cytotoxiques et ceux qui interviennent dans les réactions d'hypermensibilité retardée.

Les *marqueurs de surface des cellules T* sont encore mal définis. Un anticorps monoclonal qui réagit avec les lymphocytes T du thymus et de la circulation sanguine a permis l'identification d'un antigène de surface CT-3 qui semble être l'homologue du complexe antigénique CD3 des mammifères. CT-3 est présent sur environ 20 p. cent des thymocytes et sur la majorité des lymphocytes Ig<sup>-</sup> spléniques et sanguins.

### Lymphocytes B [54]

Les lymphocytes B sont burso-dépendants et responsables des réactions immunes humorales spécifiques. A l'éclosion, la bourse contient environ  $2 \times 10^7$  lymphocytes B. La division cellulaire dans la bourse est rapide et le nombre des lymphocytes B double en un jour. Seulement 1 à 10 p. cent de ces cellules quittent quotidiennement la bourse vers les organes lymphoïdes périphériques; les autres meurent ou se différencient in situ.

Les *marqueurs de surface des cellules B* se divisent en deux groupes : les antigènes spécifiques des lymphocytes B bursaux et ceux spécifiques de tous les lymphocytes B. Dans le premier groupe, on distingue quatre antigènes de surface : CB-1, CB-2, B3 et HNK-1. CB-1 s'observe sur toutes les cellules B de la bourse, dès le 13<sup>e</sup> jour d'incubation, et sa concentration augmente jusqu'au 18<sup>e</sup> jour, après quoi il disparaît lorsque les lymphocytes migrent vers les organes lymphoïdes périphériques. Il semble jouer un rôle dans la croissance et la maturation des lymphocytes B de la bourse. CB-2 est présent sur les cellules B, mais aussi sur les cellules épithéliales

lules-souches  
munes spéci-  
e les cellules  
ouches myé-

de la bourse. Il est détectable à partir du 14<sup>e</sup> jour d'incubation et son rôle n'est pas encore bien défini. L'antigène B3 se retrouve sur les cellules B de la zone médullaire de la bourse et sur des cellules épithéliales assez variées, comme celles de l'intestin ou des poches pharyngées. Chez les poulets dysgammaglobulinémiques (UCD140), on note une déficience en antigène B3. Le quatrième antigène spécifique des cellules B de la bourse est l'antigène HNK-1 qui est présent dès le 13<sup>e</sup> jour d'incubation et qui, comme l'antigène B-1, ne peut être trouvé sur les cellules B des organes lymphoïdes périphériques. Lui aussi semble jouer un rôle dans la maturation des lymphocytes B de la bourse. Le premier antigène spécifique de tous les lymphocytes B a été décrit par Pink et coll. [40]. L'anticorps monoclonal correspondant reconnaît tous les lymphocytes Ig<sup>+</sup> de la bourse, de la rate et, occasionnellement, ceux du thymus. Plus récemment, Chen et coll. [9, 10] ont identifié 3 antigènes de surface, sur tous les lymphocytes B des poulets. Les anticorps monoclonaux correspondants sont CB-3, CB-4 et CB-5; ils réagissent avec toutes les cellules Ig<sup>+</sup> de la bourse et des organes périphériques.

### Macrophages

Les fonctions accessoires et effectrices des macrophages aviaires sont identiques à celles des mammifères. La difficulté d'obtenir une population pure de macrophages chez les oiseaux explique pourquoi ces cellules ont été peu étudiées.

### Granulocytes

Le rôle des granulocytes dans la réponse immune n'est pas encore bien établi. Selon l'affinité tinctoriale de leurs granulations, on en distingue, comme chez les mammifères, trois groupes :

**Les hétérophiles :** appelés également des pseudo-éosinophiles, ce sont les équivalents des polynucléaires neutrophiles des mammifères. Ils manifestent une importante activité phagocytaire, surtout lors de la réaction inflammatoire.

**Les éosinophiles :** chez les oiseaux, les fonctions des éosinophiles sont encore mal connues.

**Les basophiles :** ils jouent un rôle dans l'inflammation et l'hypersensibilité.

### Thrombocytes

Le nombre de thrombocytes est, chez la poule, de 20 000 à 30 000/mm<sup>3</sup>. Ils sont nucléés et, comme les plaquettes des mammifères, ils jouent un rôle essentiel dans la coagulation sanguine. Les thrombocytes des oiseaux manifestent également une activité phagocytaire très importante [7].

### Mastocytes

Ils sont riches en médiateurs des réactions inflammatoires et d'hypersensibilité, et ils participent à la réponse immune antiparasitaire.

### Cellules NK [43]

Comme chez les rongeurs, l'activité des cellules NK chez les oiseaux varie en fonction de l'âge; elle est faible pendant les premières semaines de la vie et augmente ensuite progressivement. Ces cellules sont surtout retrouvées dans la rate et elles ne sont ni phagocytaires ni autoadhérentes. Les cellules NK du poulet ne possèdent pas d'antigènes de surface détectables par les anticorps monoclonaux qui reconnaissent les cellules T ou B. L'alpha-fœtoprotéine inhibe l'activité des cellules NK chez la caille. Chez le poulet, il semble que l'interféron et l'IL-2 n'exercent aucun effet sur ces cellules [20].

### Cellules K

Chez les oiseaux, la cytotoxicité est dépendante des anticorps (ADCC) a été démontrée [11, 17, 38]; les cellules responsables possèdent des récepteurs Fc à leur surface. Ces cellules sont présentes dans la rate et la circulation périphérique. La cytotoxicité est médiée par les anticorps IgG.

## ANTIGÈNES D'HISTOCOMPATIBILITÉ ET GROUPES SANGUINS

Le complexe B fut décrit en 1950 par Briles et ses collaborateurs [6] comme antigène de groupe sanguin. Dix ans plus tard il a été reconnu étroitement associé au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Chez le poulet, le CMH

compo  
B-L (a  
(antig  
exprim  
rouges

L'ét  
similit  
polym  
d'expr  
quelqu  
B-G c  
laire d  
Chauss  
démon  
génétic  
les loc

La d  
et il d  
variabi  
maladi  
possess  
tance p  
les ant  
sont re  
B<sup>2</sup>, B  
modéré  
seules  
égalem  
comme  
des sou  
fréquer

Selon  
chimiqu  
cient de  
on disti  
globulin  
pas de  
IgD et  
plus vra

Immur  
majeur

Rapp  
sous le  
plus im  
quantita

comporte trois loci : B-F (antigènes de classe I), B-L (antigènes de classe II) et polymorphe B-G (antigènes de classe IV), ces derniers sont exprimés seulement à la surface des globules rouges et B-G est fortement lié au locus B-F.

L'étude du CMH du poulet a révélé plusieurs similitudes avec ceux des mammifères en fait de polymorphisme, de structure, de fonction et d'expression cellulaire [50]. Il existe cependant quelques différences, comme l'absence du locus B-G chez les mammifères. La structure moléculaire du complexe B a été récemment établie par Chausse et coll. [8] et des études préliminaires démontrent l'existence d'un grand polymorphisme génétique, de même qu'une liaison étroite entre les loci BL, BF et BG.

La découverte du rôle des antigènes de classes I et II du CMH du poulet, a permis d'expliquer la variabilité génétique de la résistance à certaines maladies [26]. En effet, chez les gallinacés, la possession de l'antigène B<sup>21</sup> confère une résistance particulière à la maladie de Marek, alors que les antigènes B<sup>1</sup>, B<sup>3</sup>, B<sup>5</sup>, B<sup>13</sup>, B<sup>15</sup>, B<sup>19</sup> et B<sup>27</sup>, sont responsables d'une grande sensibilité et que B<sup>2</sup>, B<sup>6</sup> et B<sup>14</sup>, déterminent une résistance modérée. Ce phénomène ne se limite pas aux seules maladies infectieuses, mais s'observe également lors de désordres immunopathologiques comme la propension à la thyroïdite auto-immune des souches de poules Leghorn obèses, bien plus fréquente avec l'antigène B<sup>1</sup> que B<sup>4</sup>.

## IMMUNOGLOBULINES [1]

Selon leurs caractères antigéniques et physico-chimiques, leur masse moléculaire, leur coefficient de sédimentation et leur structure chimique, on distingue chez les oiseaux 3 classes d'immunoglobulines : les 7SIg, IgM et « IgA ». Il n'existe pas de sous-classe; l'existence d'homologues aux IgD et IgE des mammifères semble de plus en plus vraisemblable [9].

### Immunoglobuline sérique majeure : 7SIg

Rapportée, de façon erronée, dans la littérature sous le terme IgG, elle représente la fraction la plus importante de toutes les Ig sur le plan quantitatif. La chaîne lourde H des 7SIg possède

**Tableau 46-II** Principales propriétés physicochimiques et biologiques des immunoglobulines de poulet.

	7SIg	IgM	« IgA »
<i>Propriétés</i>			
Masse moléculaire (kd)	165-180	880-890	350-900
Coefficient de sédimentation (S)	7,3-7,4	16,5-18,5	9-16
Concentration sérique (mg/ml)	5-7	1-2	0,3-0,64
Demi-vie (jours)	1,5-4,3	1-7	—
Apparition après le contact avec l'antigène (jours)	4-15	3-8	4-15
<i>Fonctions</i>			
Passage transvitellin	+	—	—
Activation du complément	?	+	?

un domaine de plus que la chaîne gamma des IgG des mammifères.

Certaines caractéristiques physicochimiques des 7SIg sont rapportées dans le tableau 46-II. Il est important de noter que de grandes différences existent entre 7SIg des oiseaux et les IgG des mammifères. Chez le poulet, la présence de déterminants allotypiques sur les 7SIg correspond au polymorphisme observé avec les IgG des mammifères. Ces déterminants allotypiques ne sont identifiés que sur les domaines CH et désignés G-1<sup>a</sup> à G-1<sup>1</sup>. Ces allotypes déterminent les caractéristiques phénotypiques propres à un groupe d'individus.

### IgM

Elles sont similaires à celles des mammifères [12]. Elles apparaissent 2 à 3 jours après une sollicitation antigénique et constituent la première ligne de défense en cas de septicémie [47]. Cette réponse atteint son maximum au bout de 8 jours. La masse moléculaire des IgM est de 890 kd et leur coefficient de sédimentation de 17S. Ce sont des pentamères avec dix fragments Fab qui sont à l'origine de la grande avidité des IgM pour l'antigène. A cause de leur PM élevé, les IgM ne traversent pas l'épithélium de l'oviducte; par conséquent, elles sont absentes du vitellus. Le polymorphisme allotypique des IgM est moins prononcé que celui des 7SIg. Il existe seulement 5 allotypes (M-1,1 à M-1,5) localisés sur les domaines CH.

### « IgA-like » [15, 37]

Elles possèdent une structure similaire à celle des IgA des mammifères; elles sont abondantes dans les sécrétions et les liquides biologiques et existent sous les deux formes monomérique et polymérique [28]. Selon le nombre de monomères associés, le coefficient de sédimentation varie de 9 à 16S et la masse moléculaire, de 350 à 900 kd. Malgré cette similitude avec les IgA des mammifères, les preuves d'homologie doivent encore être apportées. Les « IgA » aviaires sont fortement concentrées dans la bile (3-12 mg/ml); elles sont excrétées dans le duodénum à un taux de 1,7 mg/ml où elles constituent un moyen de défense efficace à l'égard des bactéries et des virus. Les « IgA » biliaires possèdent une pièce sécrétoire [39]; il s'agit d'un polypeptide de 60 kd, synthétisé par les hépatocytes et qui s'attache à l'immunoglobuline au cours de son trajet du sang à la bile.

### Autres immunoglobulines

La démonstration chez les oiseaux de l'existence d'immunoglobulines homologues aux IgD et IgE des mammifères, nécessiterait des recherches complémentaires [9].

### Anticorps maternels

Ils se composent surtout de 7SIg; ces dernières traversent facilement l'épithélium de l'ovaire et s'accumulent dans le vitellus. Ils contribuent à la protection du poussin, durant les trois premières semaines d'âge. Leur demi-vie ne dépasse guère 4 à 6 jours. Le taux d'anticorps maternels chez le poussin d'un jour n'atteint pas celui des anticorps sériques de la poule cela même en cas d'hyperimmunisation des reproductrices. La transmission des anticorps vitellins est importante dans la prévention de plusieurs maladies, comme celle de Gumboro: les poussins issus de poules bien immunisées seront protégés pendant leur jeune âge contre la maladie. Pour assurer le relais immunitaire, on suscite une immunité active en vaccinant les poulets, vers la 3<sup>e</sup> semaine d'âge. Une vaccination durant les premiers jours peut en effet être compromise par la présence d'anticorps maternels [14, 51, 53]. Il n'en demeure pas moins qu'une vaccination, par instillation oculonasale, à

un jour d'âge avec le virus de la bronchite infectieuse ou de la maladie de Newcastle induit une bonne réponse immune et ce même en présence d'un haut titre d'anticorps maternels. Il semble que, par cette voie, on sollicite davantage les anticorps locaux sécrétés par les lymphocytes B, majoritaires dans la glande de Harder.

### COMPLÉMENT

Chez les oiseaux, le complément constitue un élément également essentiel de la défense humorale anti-infectieuse [23]. Comme chez les mammifères, le composant C3 joue un rôle immunologique important; il représente la molécule-clé de l'activation du complément. Chez le poulet, C3 a été purifié et analysé; il s'agit d'une molécule de 190 kd qui se compose de deux polypeptides  $\alpha$  et  $\beta$  possédant respectivement un PM de 118 et 68 kd. Son point isoélectrique varie de 6,4 à 6,6 et sa concentration varie entre 0,4 et 0,5 mg/ml (la moitié de celle retrouvée chez les mammifères). Le C3 des oiseaux est similaire à celui des mammifères aussi bien au plan structural qu'au fonctionnel. Le complément des oiseaux peut être activé tant par la voie classique que par la voie alterne [24]. Dans le cadre de cette dernière, le facteur B joue un rôle important et, contrairement à celui des mammifères, son grand polymorphisme (BS, BF et BF/S) n'est pas associé à celui du CMH. Le facteur B, une glycoprotéine de 90 kd, semble également impliqué dans l'activation du complément, par la voie classique. On pense qu'il participe à la réaction d'immunohémolyse, comme le C2 chez les mammifères, alors que C3 couvre également la fonction de C4. En effet, ni C2 ni C4 n'a été retrouvé chez les oiseaux; on admet cependant que la même réaction en chaîne observée chez les mammifères entraîne, chez les oiseaux, l'activation séquentielle des autres composants du complément avec, comme particularité, la C1-estérase qui exerce son activité sur le facteur B. L'activité du complément chez le poulet a été détectée dès le 13<sup>e</sup> jour d'incubation; elle atteint son maximum vers l'âge de 3 à 4 semaines. Plusieurs inconnues subsistent dans les connaissances sur le complément des oiseaux.

Les pl  
dinde. I  
vont alté  
la répon

### Maladi

L'age  
effet imm  
ment s'  
première  
Fabriciu  
phocytes  
de ce v  
des pou  
tions pa  
faibleme  
agents p

### Maladi

Cette  
tique de  
virale e  
virus d  
profond  
et cellu  
immune  
suppres  
n'est p  
être bé  
nombre  
cellules  
maladie

### Réticu

L'ag  
affecte  
immun  
réducti  
poulet  
inducti  
glycop  
quemen  
faibles  
de cert  
aux in  
coccidi



## MALADIES IMMUNODÉPRESSIVES

Les plus étudiées sont celles du poulet et de la dinde. Il s'agit surtout de maladies virales qui vont altérer de manière significative et spécifique la réponse cellulaire et/ou humorale de l'oiseau.

### Maladie de Gumboro (IBDV)

L'agent étiologique est un birnavirus et son effet immunodépresseur se manifeste principalement s'il infecte des poussins, durant les deux premières semaines de vie, alors que la bourse de Fabricius est en plein développement. Les lymphocytes B de la bourse étant la cible privilégiée de ce virus, il en résulte une immunodépression des poulets qui deviennent vulnérables aux infections par des agents opportunistes et répondent faiblement à l'immunisation vis-à-vis des autres agents pathogènes.

### Maladie de Marek

Cette infection dépend de la sensibilité génétique des poulets, de l'oncogénicité de la souche virale et d'autres facteurs comme le stress. Le virus de la maladie de Marek peut perturber profondément les fonctions immunes, humorales et cellulaires. Cette diminution de la réponse immunitaire est provoquée par l'émergence de cellules suppressives. Cette immunodépression, quand elle n'est pas suivie d'infection secondaire, pourrait être bénéfique pour l'oiseau, en réduisant le nombre de lymphocytes activés qui sont parmi les cellules-cibles de l'infection par le virus de la maladie de Marek.

### Réticulo-endothéliose

L'agent étiologique (VRE) est un rétrovirus qui affecte aussi bien la dinde que le poulet. Le rôle immunodépresseur de ce virus se traduit par une réduction de la réponse immunitaire humorale, chez le poulet âgé de 3 à 10 semaines, et par une induction de cellules suppressives qui portent la glycoprotéine gp71 associée au CMH. Pratiquement, l'immunodépression se traduit par de faibles titres d'anticorps post-vaccinaux vis-à-vis de certains virus et par une prédisposition accrue aux infections ou aux infestations, comme la coccidiose.

### Entérite hémorragique du dindon (HEV)

Le virus de l'entérite hémorragique favorise les infections secondaires consécutives à l'effet immunodépresseur de ce virus qui se multiplie préférentiellement dans les cellules lymphoïdes.

### Anémie infectieuse du poulet (CAA)

L'agent responsable est un virus probablement apparenté aux parvovirus. Il est particulièrement lymphotrope, engendre des dégénérescences et appauvrit des lymphoïdes dans presque tous les organes lymphoïdes primaires et secondaires. Outre l'anémie, il provoque une lymphopénie sévère qui concerne à la fois les lignées T et B et qui engendre une immunodépression chez les très jeunes sujets. Il serait notamment une des causes d'échec de la vaccination contre la maladie de Marek.

## CONCLUSION

Les connaissances issues de l'immunologie comparée ont grandement profité à celle des oiseaux, en particulier de la poule, laquelle est à la fois un modèle d'étude et l'objet de la plus grande production animale dans le monde.

## BIBLIOGRAPHIE

1. AMBROSIUS H, HADGE D. Chicken immunoglobulins. *Vet Imm Immunopath*, 1987, 17 : 57-67.
2. AUDHYA T, KROON D, HEAVNER G et al. Tripeptide structure of bursin, a selective B cell differentiating hormone of the bursa of Fabricius. *Science*, 1986, 231 : 997-999.
3. BABA T, KITA M. Effect of extracts of the bursa of Fabricius on IgG production in hormonally bursectomized chickens. *Immunology*, 1977, 32 : 271-274.
4. BACH JF, DARDENNE M, PLEAU JM et al. Biochemical characterization of a serum thymic factor. *Nature*, London, 1977, 266 : 53.
5. BRAND A, GILMOUR DG, GOLDSTEIN G. Lymphocyte-differentiating hormone of bursa of Fabricius. *Science*, 1976, 193 : 319-321.
6. BRILES WE, MCGIBBON WH, IRWIN MR. On multiple alleles affecting cellular antigens in the chicken. *Genetics*, 1950, 35 : 633.

7. CHANG CH, HAMILTON PB. Refractory phagocytosis by chicken thrombocytes during aflatoxicosis. *Poultry Sc*, 1979, 58 : 559.
8. CHAUSSE AM, COUDERT F, DAMBRINE G et al. Molecular genotyping of four chicken B complex haplotypes with BL $\beta$ , BF and BG probes. *Immunogenetics*, 1989, 29 : 127-130.
9. CHEN CH, LEHMEYER JE, COOPER MD. Evidence for an IgD homologue on chicken lymphocytes. *J Immunol*, 1982, 129 : 2580.
10. CHEN CL. Ontogeny of immunoglobulin isotype diversity expressed by chicken lymphocytes. *Fed Proc*, 1978, 37 : 1395.
11. CHI SD, THORBECKE GJ. Cytotoxicity to allogeneic cells in the chicken III. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity in normal and agammaglobulinemic chickens. *Cell Immunol*, 1981, 64 : 258-266.
12. DAHAN A, REYNAUD CA, WEILL JC. Nucleotide sequence of the constant region of a chicken  $\mu$  heavy chain immunoglobulin mRNA. *Nucleic Acid Res*, 1983, 11 : 5381.
13. DARBY SA, VAN ALTEN PJ. The characterization of an Fc receptor cell population in the maturing bursa of Fabricius. *Clin Immunol Immunopathol*, 1982, 23 : 470-477.
14. DARBYSHIRE JH, PETERS RW. Humoral antibody response and assessment of protection following primary vaccination of chicks with maternally derived antibody against avian bronchitis virus. *Res Vet Sc*, 1985, 38 : 14.
15. DOHMS JE, SAIF YM, PITTS JE. Isolation of turkey immunoglobulin A. *Avian Dis*, 1978, 22 : 151.
16. EWERT DL, COOPER MD. IgA-like alloantigens in the chicken: serologic characterization and ontogeny of cellular expression. *Immunogenetics*, 1978, 7 : 521-535.
17. FLEISCHER B. Effector cells in avian spontaneous and antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity. *J Immunol*, 1980, 125 : 1161-1166.
18. GLICK B, CHANG TS, JAAP RG. The bursa of Fabricius and antibody production of the domestic fowl. *Poultry Sc*, 1956, 35 : 224.
19. GOLDSTEIN G, SCHEID M, BOYSE EA et coll. Thymopoietin and bursoipoietin: induction signals regulating early lymphocyte differentiation. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 1977, 4 : 5-8.
20. HAYARI Y, SCHAUENSTEIN K, GLOBERSON Q. Avian lymphokines II. Activity in supernatants of stimulated adherent splenocytes of chickens. *Dev Comp Immunol*, 1982, 6 : 785.
21. HOUSSAINT E, BELO M, LE DOUARIN NM. Investigations on cell lineage and tissue interactions in the developing bursa of Fabricius through interspecific chimeras. *Develop Biol*, 1976, 53 : 250-264.
22. KENDALL MD. Avian thymus glands: a review. *Dev Comp Immunol*, 1980, 4 : 191-210.
23. KOCH C, JOSEPHSEN J, NOCOLAISEN E et coll. Complement mediated lysis in chickens. *Dev Comp Immunol*, 1982, 6 : 41.
24. KOCH C, KONGERSLEV L, BJERRING JENSEN L. The alternative complement pathway in chickens. *Dev Comp Immunol*, 1983, 7 : 785.
25. KROMER G, SCHAUENSTEIN K, WICK G. Avian lymphokines: an improved method of chicken IL-2 production and assay. A ConA-erythrocyte complex induces higher T cell proliferation and IL-2 production than does free mitogen. *J Immunol Methods*, 1984, 73 : 273-281.
26. LAM KM, LINNA TJ. Transfer of natural resistance to Marek's disease (JMV) with nonimmune spleen cells II. Further characterization of protecting cell population. *J Immunol*, 1980, 125 : 715-718.
27. LASSILA O, ESKOLA J, TOIVANEN P et coll. Lymphoid stem cells in the intraembryonic mesenchyme of the chicken. *Scand J Immunol*, 1980, 11 : 445-448.
28. LEBACQ-VERHEYDEN AM, VAERMAN JP, HEREMANS JF. A possible homologue of mammalian IgA in chicken serum and secretions. *Immunology*, 1972, 22 : 165.
29. LE DOUARIN NM, DIETERLEN-LIEVRE F, OLIVER PD. Ontogeny of primary lymphoid organs and lymphoid stem cells. *Am J Anat*, 1984, 170 : 261-299.
30. LE DOUARIN NM, HOUSSAINT E, JOTEREAU FV et coll. Origin of hemopoietic stem cells in embryonic bursa of Fabricius and bone marrow studied through interspecific chimeras. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1975, 72 : 2701-2705.
31. LE DOUARIN NM, JOTEREAU FV. Homing of lymphoid stem cells to the thymus and the bursa of Fabricius studied in avian embryo chimaeras. *Progress in immunology IV* (M Fougereau et J Dausset), 1980, Academic Press, London, N.Y., 285-302.
32. MORGAN EL, RODRICK ML, TEMPELIS CH. Immunologic tolerance in the chicken II. Isolation and characterization of a soluble factor from a macrophage-like cell from chickens tolerant to bovine serum albumin. *Cell Immunol*, 1979, 45 : 428-436.
33. MURTHY KK, ODENDHAL S, RAGLAND WL. Demonstration of T lymphocytes in the bursa of Fabricius of the chicken following cyclophosphamide treatment. *Dev Comp Immunol*, 1984, 8 : 213-218.
34. NAQI SA, SAHIN N, WAGNER G et coll. Adverse effects of antibiotic on the development of gut associated lymphoid tissues and the serum immunoglobulins in chickens. *Am J Vet Res*, 1984, 47 : 1425-1429.
35. OLAH I, GLICK B, TAYLOR RL Jr. Meckel's diverticulum II. A novel lymphoepithelial organ in the chicken. *Anat Rec*, 1984, 208 : 253.
36. OLIVER PD, LE DOUARIN NM. Avian thymic accessory cells. *J Immunol*, 1984, 132 : 1748-1755.
37. ORLANS E, ROSE ME. An IgA-like immunoglobulin in the fowl. *Immunochemistry*, 1972, 9 : 833.
38. PALLADINO MA, CHI DS, BLYZNAK N et coll. Cytotoxicity to allogeneic cells in the chickens I. Role of macrophages in the cytotoxic effect on <sup>51</sup>Cr-labeled red blood cells by immune spleen cells. *Dev Comp Immunol*, 1980, 4 : 309-322.
39. PARRY SH, PORTER P. Characterization and localization of secretory component in the chicken. *Immunology*, 1978, 34 : 471.
40. PINK JRL, RATCLIFFE MJH, VAINIO O. Immunoglobulin-bearing stem cells for clones of B (bursa-derived) lymphocytes. *Eur J Immunol*, 1985, 15 : 617-620.
41. POTWOROWSKI EF. T and B lymphocytes. Organ and age distribution in the chicken. *Immunology*, 1972, 23 : 199-204.
42. POWELL PC. Immune mechanisms in infections of poultry. *Vet Immun Immunopath*, 1987, 15 : 87-113.
43. SHARMA JM, COULSON BD. Presence of natural killer cells in specific-pathogen-free chickens. *J Natl Cancer Inst*, 1979, 63 : 527-531.
44. SCHAUENSTEIN K, GLOBERSON A, WICK G. Avian lymphokines I. Thymic cell growth factor in supernatants of mitogen stimulated chicken spleen cells. *Dev Comp Immunol*, 1982, 6 : 533.
45. SORVARI T, SORVARI R, RUOTSALAINEN P et coll. Uptake of environmental antigens by the bursa of Fabricius. *Nature*, London, 1975, 253 : 217-219.

46. SORVARI T, SORVARI R, RUOTSALAINEN P et coll. Uptake of environmental antigens by the bursa of Fabricius. *Nature*, London, 1975, 253 : 217-219.
47. SUBBIAH V, SIVAKUMAR S, SIVAKUMAR S. Immunoglobulin synthesis in the bursa of Fabricius of the chicken. *Immunology*, 1972, 22 : 165.
48. TEMPELIS CH, MORGAN EL. Immunologic tolerance in the chicken II. Isolation and characterization of a soluble factor from a macrophage-like cell from chickens tolerant to bovine serum albumin. *Cell Immunol*, 1979, 45 : 428-436.
49. TOIVANEN P, LASSILA O, ESKOLA J et coll. Lymphoid stem cells in the intraembryonic mesenchyme of the chicken. *Scand J Immunol*, 1980, 11 : 445-448.

- population. J
1. Lymphoid  
tyme of the  
-448.
- EREMANS JF.  
A in chicken  
22 : 165.
- OLIVER PD.  
mphoid stem
- o FV et coll.  
onic bursa of  
interspecific  
, 72 : 2701-
- of lymphoid  
ricius studied  
munology IV  
ademic Press,
- Immunologic  
aracterization  
ke cell from  
ell Immunol,
- Demonstra-  
ricius of the  
atment. Dev
- verse effects  
at associated  
globulins in  
-1429.
- diverticulum  
thicken. Anat
- ic accessory
- lobulin in the
- ll. Cytotoxi-  
I. Role of  
r-labeled red  
mp Immunol,
- ocalization of  
ology, 1978,
- munoglobulin-  
ursa-derived)  
17-620.
- rgan and age  
1972, 23 :
- nfections of  
5 : 87-113.  
natural killer  
Natl Cancer
- G. Avian  
supernatants  
Dev Comp
- coll. Uptake  
of Fabricius.
46. SORVARI R, NAUKKARINIEN A, SORVARI TE. Anal suckling-like movements in the chicken and chicken embryo followed by the transportation of environmental material to the bursa of Fabricius, caeca and caecal tonsils. *Poultry Sc*, 1977, 56 : 1426.
47. SUBBA RAO DSV, McDUFFIE FC, GLICK B. The regulation of IgM production in the chick : roles of the bursa of Fabricius, environmental antigens, and plasma IgG. *J Immun*, 1978, 120 : 783-787.
48. TEMPELIS CH. Ontogeny and regulation of the immune response in the chicken. *Prog Vet Microbiol Immun*, 1988, 4 : 1-20.
49. TOIVANEN A, TOIVANEN P, ESKOLA J et coll. Ontogeny of the chicken lymphoid system. *In* : ME Rose, LN Payne, BM Freeman. *Avian Immunology*, Ed. British Poultry Science Ltd. Edinburgh, 1981, p. 45.
50. TOIVANEN A, VILJANEN M, TAMMINEN P. Histocompatibility requirements for cellular cooperation in the chicken. *Adv Exp Med Biol*, 1977, 88 : 257-265.
51. TOIVANEN A, TOIVANEN P (Editors). *Avian immunology : basis and practice* CRC Press. Vol. I and II, 1987.
52. VAN ALTEN PJ, MEUWISSEN HJ. Production of specific antibody by lymphocytes of the bursa of Fabricius. *Science*, 1972, 176 : 45.
53. WEBER WT, EWERT DL (Editors). *Avian immunology. Progress in clinical and biological research, vol. 238*, 1987.
54. WEBER WT. Avian B lymphocyte subpopulations : origins and functional capacities. *Transplant Rev*, 1975, 24 : 113-158.

J.D. Powell, H.M. McClure, F. Villinger, A.A. Ansari

## IMMUNOLOGIE DES PRIMATES

Les contributions de la recherche biomédicale expérimentale conduite à l'aide de primates non humains ont récemment fait l'objet d'une synthèse [83]. Il est clair qu'il existe des similitudes marquées entre l'homme et les primates sur les plans anatomique, physiologique, endocrinologique et neurologique. Le mot anthropoïde est réservé aux Cercopithécidés, Hylobatidés, Pongidés et Hominidés (Fig. 47-1). Ces similitudes ont non seulement fait des primates un modèle expérimental extrêmement utile pour l'évaluation de l'innocuité et de l'efficacité de traitements et vaccins, mais en plus un outil unique pour l'étude de certaines maladies infectieuses de l'homme, de néoplasmes et de transplantations pour lesquels il n'existe aucun autre modèle animal.

Actuellement, l'importance des primates est soulignée par leur utilisation en tant que modèle du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA).

La similitude entre l'homme et les primates est également illustrée par le degré d'homologie

existant au niveau de leur ADN. Le génome humain présente 98 p. cent d'homologie avec celui des chimpanzés, 92 p. cent d'homologie avec celui des singes des anciens continents africain et asiatique et 85 p. cent d'homologie avec celui des singes du nouveau monde d'Amérique du Sud [123].

Ce chapitre n'est pas une revue exhaustive des connaissances en immunologie des primates (d'excellents ouvrages ont été publiés dans ce domaine) [15, 75]; il tentera plutôt de résumer les connaissances actuelles sur le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), le phénotype des cellules du système immunitaire, l'immunité humorale et cellulaire des primates, enfin, de présenter une synthèse des maladies immunitaires étudiées chez différentes espèces. Ce chapitre concerne particulièrement les immunologistes qui s'intéressent à l'utilisation des primates pour l'étude de la biologie de la transplantation, l'auto-immunité, l'immunotolérance, les maladies lymphoprolifératives et le SIDA.

COMPLEXE D'HISTOCOMPATIBILITÉ DES PRIMATES

La capacité de « soi » est une notion complexe. La distinction « soi » est faite à partir de produits des gènes de l'espèce. Les travaux effectués avec d'autres primates cellulaires, à l'exception des bulines; leur système d'histocompatibilité en raison d'un codage pour les antigènes ont été étudiés dans le chapitre précédent. Les travaux effectués concernant le chimpanzé (1)

SYSTÈME

A l'origine, les rhesus ont été classés (SD), d'alloantisérum. La méthode de Baur [12] ainsi que celle de Unis [104] ont permis de contrôler par des tests de dernière sérologie B de classe. Actuellement, on n'a pas encore de données biochimiques sur le RhLA de ces espèces semblables à celles des anthropoïdes; l'une, l'autre, correspond à un poids moléculaire. Les produits de l'histocompatibilité sont originellement désignés par leurs gènes



Figure 47-1 Les familles actuelles de primates.

## COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ DES PRIMATES

La capacité de distinguer le « soi » du « non-soi » est une caractéristique de tous les organismes pluricellulaires [91]. Cette capacité de reconnaissance implique les produits des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) [55]. La distinction entre le « soi » et le « non-soi » est facilitée par le polymorphisme des produits des gènes du CMH, au sein d'une même espèce. Les antigènes du CMH appartiennent, avec d'autres antigènes présents à la surface cellulaire, à la super-famille des immunoglobulines; leur polymorphisme résulte de la combinaison d'un nombre limité de gènes. Les gènes codant pour le CMH de l'homme et de la souris ont été étudiés en détail [63, 84] et sont décrits dans le chapitre 7. Chez les primates, la plupart des travaux effectués sur les séquences du CMH concernent le rhésus (*Macaca mulatta*) et le chimpanzé (*Pan troglodytes*).

### SYSTÈME RhLA DU RHÉSUS

A l'origine, les produits des gènes du CMH du rhésus ont tout d'abord été définis sérologiquement (SD), par la cytotoxicité lymphocytaire d'alloantisérums obtenus par immunisation croisée d'individus de la même espèce [10]. Grâce à cette méthode, Balner et ses collègues aux Pays-Bas [12] ainsi que Neefe et ses collègues aux Etats-Unis [104] ont pu définir environ 27 antigènes SD contrôlés par 2 loci génétiquement distincts. Ces derniers se sont avérés homologues aux loci A et B de classe I du système HLA humain [73]; actuellement l'équivalent rhésus du locus HLA-C n'a pas encore été mis en évidence. L'analyse biochimique et moléculaire des produits des gènes RhLA de classe I a montré qu'ils sont très semblables à ceux de la souris et de l'homme. Ces antigènes sont constitués de 2 chaînes polypeptidiques; l'une d'un poids moléculaire de 44 kd et l'autre, correspondant à la  $\beta$ 2-microglobuline, d'un poids moléculaire de 12 kd [52].

Les produits des gènes RhLA de classe II, originalement décrits en 1974, ont été provisoirement désignés Ial [11]. Aujourd'hui, on sait que leurs gènes font partie du locus DR, selon la

nomenclature adoptée pour les gènes de classe II du CMH humain. L'analyse biochimique montre que ces molécules DR ressemblent à celles du locus DR humain et la murin, et elles comprennent 8 antigènes DR différents. A l'époque où les antigènes DR furent sérologiquement définis, un autre locus appelé HLA-D avait été identifié et analysé par culture lymphocytaire mixte (CLM) avec un éventail de cellules de référence. Il a été démontré que les produits des gènes du locus D définis par CLM correspondaient aux antigènes SD du locus DR et qu'ils leur étaient probablement identiques [68, 134].

Outre les antigènes D/DR, 8 ou 9 spécificités antigéniques semblent être présentes à la surface des lymphocytes B, qui sont contrôlées par des loci appartenant probablement à un autre système connecté à RhLA. Cet assortiment de gènes reste actuellement hypothétique et mal défini.

Les gènes de la réponse immune (IR) ont été initialement décrits chez la souris, comme des systèmes génétiques régissant la capacité de réponse à des antigènes de synthèse. Il apparaît actuellement que ces gènes IR sont, en fait, des gènes de classe II [7] qui jouent un rôle important dans la sensibilité de l'homme et des animaux à diverses maladies [89]. Deux ou 3 d'entre eux ont déjà été identifiés dans le système RhLA, en mesurant la réponse à des antigènes de synthèse [41]. En outre, des gènes codant pour des facteurs du complément, notamment pour le facteur polymorphique Bf, sont liés au CMH [144]. La figure 47-2 offre une représentation schématique de la carte génique du système RhLA, lequel est situé sur le chromosome 6 [47].

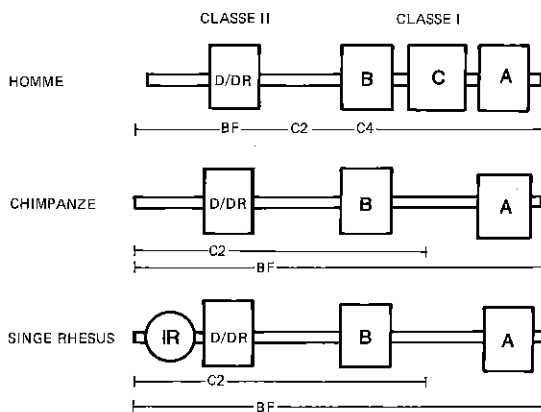


Figure 47-2 Carte du CMH de l'homme, du singe rhésus et du chimpanzé (d'après [9]).

## SYSTÈME ChLA DU CHIMPANZÉ

Le système ChLA est moins bien connu que le RhLA; l'existence d'élevages de chimpanzés en permet cependant l'étude [9]. Les antigènes de classe I ont été identifiés, comme pour le rhesus [73], et 14 antigènes SD ont été décrits, 7 d'entre eux contrôlés par le locus A et 7 par le locus B [13]. La région DR est actuellement encore mal connue mais les résultats fournis par les analyses sérologiques croisées et la CLM montrent une grande homologie avec la région D/DR de l'homme.

Des études familiales en élevages aux Pays-Bas et aux USA [114] ont permis de définir le polymorphisme de certains facteurs du complément : Bf, C2, C3, C6 et C8. De plus elles suggèrent que les facteurs C2 et Bf sont étroitement liés à ChLA alors que les facteurs C3, C6 et C8 ne le sont pas. La figure 47-2 représente l'organisation génétique du système ChLA.

Plus récemment, les gènes ChLA de classe I ont été analysés au niveau de leur séquence nucléotidique [94]. Utilisant une sonde d'ADN humain codant pour le site de classe I, Mayer et coll. ont pu analyser une génothèque d'ADN ChLA pour les allèles A et B. Ils ont montré que certains allèles humains ont plus d'homologies avec des allèles de chimpanzés qu'avec d'autres allèles humains et concluent que le polymorphisme du CMH est antérieur à la divergence chimpanzé/homme.

## SYSTÈME CyLA DU CYNOMOLGUS

Keever et Heise [78] ont étudié le CMH du cynomolgus (*Macaca fascicularis*). Des sérums hétérologues anti-cellules de cynomolgus et absorbés sur plaquettes ont permis de détecter un polymorphisme comportant au moins 35 spécificités antigéniques de classe I. Jusqu'à présent, 14 d'entre elles ont été reconnues dépendantes du locus CyLA-A, 10 du locus CyLA-B et 6 du locus CyLA-C. L'existence d'un grand nombre de spécificités CyLA exprimées chacune avec une faible fréquence suggère que le système CyLA comporte un polymorphisme plus large que celui du système RhLA, se rapprochant de celui connu chez l'homme.

## DÉFINITION DES ANTIGÈNES DU CMH À L'AIDE D'ANTICORPS MONOCLONAUX

Il est surprenant dans ce système hautement polymorphe, d'observer avec les allosérums une réactivité croisée entre différentes espèces animales [65]. Aussi Brodsky et Parham étudièrent-ils la réactivité de 29 anticorps monoclonaux murins anti-HLA-A, B, C, vis-à-vis de 50 espèces différentes [25]; les réactions croisées obtenues correspondaient relativement bien aux relations phylogéniques entre les espèces. Les anticorps spécifiques pour des épitopes humains monomorphes reconnaissent largement les cellules de primates alors que les anticorps spécifiques pour des déterminants polymorphiques ne réagissent que faiblement avec les cellules d'espèces différentes, y compris celles des primates. Une autre étude de 19 espèces de primates réalisée avec 2 anticorps monoclonaux anti-classe I monomorphes (ne décelant donc aucun polymorphisme chez l'homme) décela un polymorphisme chez les singes-hiboux (*Aotus trivigatus*) et les atèles (*Ateles spp.*) [109]. Les cellules de 8 atèles (sur 12 testés) réagirent avec l'anticorps monoclonal monomorphe humain PA2.5. Onze singes-hiboux sur 40 étaient positifs pour le déterminant monomorphe humain W6/32. De plus, les réactions, positives et négatives ont pu être mises en relation avec le caryotype. Enfin, parmi 23 autres anticorps monoclonaux pour les déterminants humains monomorphes de classe I, 5 reconnurent un polymorphisme dans l'espèce *Macaca nemestrina* [48]. Ainsi, des anticorps monoclonaux murins anti-HLA peuvent contribuer au typage du CMH des primates. De plus, des réactions croisées avec les cellules de primates pourraient permettre de discerner chez l'homme de légères différences entre les déterminants composés d'épitopes polymorphes associés.

## IMMUNOLOGIE DE LA TRANSPLANTATION

Le premier bénéfice clinique du typage du CMH a été la compatibilité en transplantation. Avant que le CMH ne fut caractérisé en détails, une culture lymphocytaire mixte négative (CLM)

entre des donneur et bon pronostic les primates classe II de leur compatibilité pour greffes de rein [8]

## TRANSFUSION AVANT

Le mod l'effet de transplantat [23]. Chez effet s'est mais non sensibilisés survie du observés cl au locus compatible incompatible donc que s'ajoute à ailleurs, la avant trans ment le so reuse anno étude suivie plaquettes aussi efficace nettement

## IMMUNO

Les im rine A, jou clinique de la cycl l'usage de L'analyse rhesus a pé ques de ce ainsi montr

entre des cellules sanguines mononucléées du donneur et de l'hôte était considérée comme de bon pronostic en allotransplantation rénale chez les primates. La connaissance des antigènes de classe II conduisit cependant à la constatation que leur compatibilité permettait de réduire sensiblement le rejet du rein transplanté [135]. Par contre, Balner et coll. [73] soulignèrent que si la compatibilité pour antigènes SD améliore les résultats des greffes de moelle osseuse et de peau chez le rhesus, elle est sans effet sur l'allogreffe du rein [8].

### TRANSFUSIONS SANGUINES AVANT TRANSPLANTATION

Le modèle rhesus a été utilisé pour évaluer l'effet de transfusions sanguines antérieures à la transplantation sur la survie du rein transplanté [23]. Chez le rhesus comme chez l'homme, cet effet s'est avéré bénéfique pour certains sujets mais non pour tous; quelques-uns ont même été sensibilisés. Néanmoins, des temps moyens de survie du greffon de 34±4,1 jours ont été observés chez les singes transfusés incompatibles au locus DR et 45±6,9 jours chez les DR compatibles transfusés contre 9 à 22 jours chez les incompatibles non transfusés [23]. On constate donc que l'effet protecteur de la transfusion s'ajoute à celui de la compatibilité DR. Par ailleurs, la CLM effectuée après transfusion et avant transplantation permet de prédire correctement le sort du greffon, une stimulation vigoureuse annonçant un rejet précoce. Enfin, dans une étude suivie, on a constaté que des transfusions de plaquettes faites avant la transplantation étaient aussi efficaces que les transfusions sanguines mais nettement moins immunisantes [24].

### IMMUNODÉPRESSEURS

Les immunodépresseurs, telle la *cyclosporine A*, jouent un rôle important dans le succès clinique de la transplantation. La néphrotoxicité de la cyclosporine a cependant été un frein à l'usage de cet agent en transplantation rénale. L'analyse de l'allogreffe rénale chez le rhesus a permis de préciser les doses thérapeutiques de ce médicament [105]. Borleffs et coll. ont ainsi montré que des doses inférieures ou égales à

25 mg/kg/jour administrées pendant 3 semaines, associées ou non à une thérapie immunodépresseuse conventionnelle, ne causaient ni toxicité, ni infection ubiquitaire. Après 6 mois ou davantage d'un tel traitement, ils notaient une tolérance complète du greffon et une néphrotoxicité mineure [22].

Harjula et coll. [56], analysant l'effet des cyclosporines A et G, administrées pendant un an, sur l'évolution pondérale du jeune cynomolgus, notent une inhibition du développement de l'animal. Bien que les mécanismes de cette inhibition n'aient pas été élucidés, les auteurs suspectent une interaction avec l'hormone de croissance et soulignent les implications en transplantation pédiatrique. Todd et coll. [130] ont étudié l'effet immunodépresseur du *FK506* sur le cynomolgus et le babouin et rapportent une prolongation notable de la survie des greffons, sans effets secondaires alors que ceux-ci sont sévères chez le chien.

### LES ANTICORPS MONOCLONAUX COMME IMMUNODÉPRESSEURS EN TRANSPLANTATION

Plus récemment, l'administration *in vivo* de plusieurs anticorps murins monoclonaux réagissant avec différentes sous-populations de lymphocytes T humains et simiens est parvenue à prolonger la survie de greffons de peau chez le rhesus [70]. L'administration des anticorps monoclonaux OKT4, OKT4A et OKT11A notamment, a entraîné une prolongation sensible de la survie de greffons de peau alors que l'anticorps OKT8 était sans effet. En transplantation rénale, les anticorps monoclonaux OKT4 et OKT4A prolongeaient la survie du greffon des rhesus non transfusés, mais ne montraient aucun effet immunodépresseur additionnel chez des receveurs pré-transfusés avec le sang du donneur [71]. Ces résultats ont été reproduits avec des cynomolgus [32]. Il est à noter que, si l'administration de l'anticorps monoclonal OKT8F ne prolongeait pas la survie du greffon, elle semblait néanmoins réduire la fréquence des rejets aigus [74]. Comme il est indiqué plus haut, la prétransfusion du greffon avec du sang du donneur prolongeait la survie de greffons rénaux. Par contre, l'administration prophylactique d'anticorps anti-CD4<sup>-</sup>, CD8 ou CD3 rhesus, combinée à des transfusions



sanguines, conduisait à des durées de survie du greffon plus courtes que lors de transfusions sanguines seulement. Des anticorps antirécepteurs pour l'interleukine 2 (IL-2) augmentent aussi les chances de survie de l'allogreffe rénale chez le rhésus [122].

Le traitement par anticorps monoclonaux présente l'avantage de la spécificité et d'une toxicité limitée, mais l'inconvénient d'une élimination rapide de ces anticorps murins. Celle-ci n'est pas due aux anticorps de singe anti-immunoglobulines de souris formés *in vivo*, lesquels ont un effet bénéfique sur l'immunodépression [67], mais elle est due aux anticorps simiens anti-idiotypes de l'anticorps monoclonal murin. C'est pourquoi, on a préconisé l'utilisation successive de différents anticorps anti-CD4 dirigés contre des épitopes différents de la molécule CD4 afin d'améliorer l'efficacité de la thérapie [69].

### GREFFE DE MOELLE OSSEUSE

Le rhésus, dont la moelle osseuse est très semblable à celle de l'homme et très radiosensible, a été utilisé comme modèle pour l'étude de l'allogreffe de moelle [133]. Les cellules mononucléées du greffon sont responsables de sa réaction envers les déterminants du CMH de l'hôte (GVHR) dont les signes cliniques sont identiques à ceux observés chez l'homme. Plusieurs études d'appauvrissement sélectif de la moelle à greffer en ses diverses sous-populations lymphocytaires (par des anticorps anti-lymphocytes T et du complément notamment) ont donc été menées, la suspension médullaire traitée étant injectée à un receveur allogénique irradié à doses létales. Dans ces conditions, on observe une restauration de l'hématopoïèse indiquant que les lymphocytes T ne sont pas indispensables à celle-ci et permettant des applications thérapeutiques intéressantes chez l'homme [51]. Kessler et coll. [80] ont obtenu un anticorps monoclonal reconnaissant une molécule (CD34) présente à la surface de cellules médullaires pluripotentielles chez les primates et l'homme. La fixation de cet anticorps sur des microbilles de fer, suivie de leur incubation avec les cellules médullaires et de leur séparation grâce à un champ magnétique permet de purifier rapidement ces cellules pluripotentielles et de les injecter ensuite à un receveur allogénique irradié, dans le but de restaurer l'hématopoïèse sans encourir le risque d'une GVHR.

### TRANSPLANTATIONS HÉPATIQUE ET CARDIAQUE

Pour des raisons anatomiques évidentes, les primates ont été initialement choisis pour la mise au point des techniques chirurgicales et du traitement médical en transplantations hépatique et cardiaque [14, 40]. Le babouin d'abord, le rhésus ensuite (particulièrement en transplantation cardiopulmonaire [118, 139]) ont permis des survies prolongées (jusqu'à 7 ans) de l'allogreffe avec peu de signes cliniques et histologiques de rejet. La transplantation xénogénique a également été étudiée : des transplantations cardiaques de cynomolgus à babouins compatibles pour leurs groupes sanguins ABO et en CLM, immunodéprimés par l'azathioprine et la cyclosporine A ont fourni des résultats encourageants (durée moyenne de survie des transplants :  $65 \pm 4,5$  jours contre  $6,5 \pm 0,8$  sans thérapie immunodépressive [116]). Certains ont proposé d'extrapoler cette méthode à l'homme comme mesure provisoire en cas d'urgence clinique.

### PHÉNOTYPAGE DES CELLULES MONONUCLÉÉES DU SANG PÉRIPHÉRIQUE

L'identification phénotypique des sous-populations de cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) des primates, fait partie intégrante de l'étude de leur statut immunitaire et de leur utilisation en tant que modèles pour l'étude du rôle du système immunitaire dans la pathogénie de certaines maladies et de la relation existant entre un phénotype et une fonction immune. Cette identification est grandement facilitée dans la mesure où les anticorps monoclonaux murins dirigés contre des tissus humains, reconnaissent également, dans une large mesure, les tissus des primates. Dès lors, l'analyse par cytofluorométrie (FACS) de la réactivité d'anticorps monoclonaux avec les PBMC (peripheral blood mononuclear cells) de plusieurs espèces de primates a été largement utilisée pour définir leurs sous-populations lymphocytaires (Tableau 47-I). Bien que des efforts considérables soient faits en vue de standardiser ces techniques et les réactifs, il est difficile de comparer les résultats en provenance

Tableau 47-I  
couramment  
marqueurs lym

Anticorps monoclonaux	
Séries Leu	
Leu 1	C
Leu 2a	C
	C
Leu 3a	C
Leu 4	C
Leu 5	C
Leu 7	
Leu 11a	
Leu 10	
Leu 12	
Leu 19	
anti- HLA DR	C

de divers la  
rents. Le tab  
communéme

Les réacti  
sur les cell  
primates ont  
monoclonaux  
Beaucoup de  
saient de fa  
d'origine h  
anthropoides  
l'homme que  
monde, ph  
Cependant,  
étude n'a p  
phylogénie e

Une des  
sous-populat  
une équipe  
primatologi  
réactivité d'  
dirigés contr  
Leu). Ces an  
comme des  
cellules hum  
résume les ré  
que si les ce  
réagissaient à  
utilisés, ceu  
pas avec les

**Tableau 47-I** Nomenclature des anticorps monoclonaux couramment utilisés chez l'homme pour identifier les marqueurs lymphocytaires.

Anticorps monoclonaux		Nomenclature CD	Réactivité cellulaire prédominante chez l'homme
Séries Leu	Séries OKT		
Leu 1	OKT1	CD5	Toutes les cellules T
Leu 2a	OKT8, OKT5	CD8	Cellules T suppressives et cytotoxiques
Leu 3a	OKT4	CD4	Cellules T auxiliaires
Leu 4	OKT3	CD3	Toutes les cellules T
Leu 5	OKT11	CD2	Récepteur érythrocytaire
Leu 7	—	—	Cellules NK/K
Leu 11a	—	CD16	Cellules NK/K
Leu 10	—	—	Cellules B et monocytes
Leu 12	—	CD19	Cellules B
Leu 19	—	—	Cellules NK
anti-HLA DR	OKT1a	—	Cellules B et cellules activées

de divers laboratoires utilisant des réactifs différents. Le tableau 47-I énumère les réactifs les plus communément utilisés et leur réactivité présumée.

Les réactions croisées des antigènes présents sur les cellules lymphoïdes de 11 espèces de primates ont été étudiées à l'aide de 8 anticorps monoclonaux dirigés contre les cellules T [31]. Beaucoup de ces anticorps monoclonaux réagissaient de façon similaire, que les cellules soient d'origine humaine ou simienne. Les singes anthropoïdes partagent plus d'épitopes avec l'homme que les singes de l'ancien et du nouveau monde, phylogéniquement plus distants. Cependant, contrairement à d'autres [59] cette étude n'a pas établi de relation claire entre la phylogénie et les réactions antigéniques croisées.

Une des meilleures études sur le typage des sous-populations lymphocytaires a été faite par une équipe japonaise à l'institut de recherches primatologiques de Kyoto [102], utilisant la réactivité d'une batterie d'anticorps monoclonaux dirigés contre des cellules mononucléées (anti-Leu). Ces anticorps avaient auparavant été définis comme des marqueurs spécifiques pour les cellules humaines T, B et NK. Le tableau 47-II résume les résultats de cette étude. Il y est montré que si les cellules mononucléées des chimpanzés réagissaient avec tous les anticorps monoclonaux utilisés, ceux de l'orang-outang ne réagissaient pas avec les anticorps Leu4 et Leu7 et ceux du

gibbon ne réagissaient pas avec les anticorps Leu4, Leu7 et Leu12. En outre, les cellules des singes de l'ancien monde étaient dépourvues de marqueurs de surface reconnus par les réactifs Leu1 et Leu10. Les variations des proportions de cellules T auxiliaires/suppressives au sein de 12 espèces de macaques a permis de classer ces primates en 3 groupes distincts avec des rapports : <0,1; compris entre 0,1 et 1,0; et >1,0. Les cellules des singes du nouveau monde n'exprimaient pas le marqueur reconnu par l'anticorps Leu2a et, parmi ces espèces, le marqueur de surface reconnu par le Leu3a n'était exprimé que par les cellules du singe *Aotus* (singe-hibou, *Aotus trivigatus*). Les cellules des prosimiens phylogéniquement distants ne réagissaient qu'avec des anticorps monoclonaux dirigés contre des épitopes HLA-DR du CMH humain.

D'autres études [120] ont employé un éventail d'anticorps monoclonaux dirigés contre des marqueurs de surface de lymphocytes humains pour déterminer les fréquences phénotypiques des PBMC provenant de 7 espèces de singes du nouveau monde. Elles ont montré que les anticorps OKF11a et OKTa1, qui sont dirigés contre les antigènes humains CD2 et HLA-DR du CMH respectivement, réagissaient avec les lymphocytes de toutes les espèces étudiées. En outre, l'anticorps OKM1, qui reconnaît un antigène de surface sur les monocytes humains s'avère utile pour déterminer les fréquences phénotypiques des monocytes provenant de ces singes. Ces données, ainsi que celles concernant le phénotype des PBMC [114] de babouins et celles d'une autre étude [87] sont reprises dans le tableau 47-II à titre comparatif.

L'expression de marqueurs connus de surface de cellules myéloïdes humaines a été examinée au niveau des polynucléaires de primates [88]; ces marqueurs présentaient un haut degré d'homologie entre les primates et l'homme. L'anticorps monoclonal My904 qui réagit avec les polynucléaires humains, les monocytes et les cellules NK, mais non avec les cellules T ou B, réagissait avec les cellules de toutes les espèces de primate étudiées. L'anticorps M01, supposé reconnaître le récepteur pour le fragment C3b, réagissait également avec une sous-population de PBMC dans toutes les espèces étudiées. D'autres anticorps (My4, My8, My3 et My7) réagissaient avec certaines mais pas avec toutes les espèces testées. Il est intéressant de constater qu'à l'intérieur d'un même genre, les structures de surface sont hautement conservées.

Notre laboratoire a développé un système

**Tableau 47-II a** Fréquence des marqueurs de surface des lymphocytes chez les singes anthropoïdes.

Anticorps	Homme	Chimpanzé	Chimpanzé nain	Orang-outang	Gibbon	Gorille	Babouin
Leu 1	65±3 <sup>a</sup>	68,0±10,0 <sup>a</sup>	---	76,0 <sup>a</sup>	36,6 <sup>a</sup>	---	---
Leu 2	17±3 <sup>a</sup>	46,0±2,0 <sup>a</sup> 47,7±9,0 <sup>b</sup> 72,0±6,0 <sup>c</sup>	---	32,0 <sup>a</sup> 38,0±14,0 <sup>b</sup> 72,0±6,0 <sup>c</sup>	62±1 <sup>a</sup>	---	---
Leu 3a	---	---	---	---	---	---	18,1±6,5 <sup>d</sup>
	52±1 <sup>a</sup>	42,0 <sup>a</sup> 33,3±9,1 <sup>b</sup> 51,0±3,0 <sup>c</sup>	---	44,0 <sup>a</sup> 26,0±7,4 <sup>b</sup> 42,0±22,0 <sup>c</sup>	24±1 <sup>a</sup>	---	---
Leu 4	---	---	---	---	---	---	3,1±1,5 <sup>d</sup>
	69±3 <sup>a</sup>	71,0±6,0 <sup>a</sup> 78,0±9,0 <sup>c</sup>	---	<1 <sup>a</sup> 0 <sup>c</sup>	<1 <sup>a</sup>	---	---
Leu 5	---	---	---	---	---	91,0±7,0 <sup>c</sup>	---
	69 <sup>a</sup>	83,0±3,0 <sup>a</sup> 86,9±5,2 <sup>b</sup>	---	72,0 <sup>a</sup> 57,6±9,5 <sup>b</sup>	59±3 <sup>a</sup>	---	0,7±0,3 <sup>d</sup>
Leu 7	---	---	---	---	---	75,4±11,4 <sup>b</sup>	---
Leu 11a	13±3 <sup>a</sup>	2,0±1,0 <sup>a</sup>	---	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	---	---
Leu 19	4±1 <sup>a</sup> 15±6 <sup>a</sup>	13,0±4,0 <sup>a</sup>	---	2,0 <sup>a</sup>	16±6 <sup>a</sup>	---	---
Leu 10	---	3,7±2,4 <sup>d</sup>	---	---	---	8,8±6,4 <sup>b</sup>	---
Leu 12	8±2 <sup>a</sup>	6,0±2,0 <sup>a</sup>	---	29,0 <sup>a</sup>	7±3 <sup>a</sup>	---	---
anti-HLA DR	12±5 <sup>a</sup> 12±5 <sup>a</sup>	5,0±2,0 <sup>a</sup> 7,0±1,0 <sup>a</sup> 6,5±3,8 <sup>b</sup>	---	7,0 <sup>a</sup> 54,0 <sup>a</sup> 26,8±12,2 <sup>b</sup>	<1 <sup>a</sup> 22±2 <sup>a</sup>	---	---
	---	---	18,8±11,5 <sup>b</sup>	---	---	16,5±8,9 <sup>b</sup>	6,6±2,4 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> Murayama et al. [102]; <sup>b</sup> Ansari, résultats non publiés; <sup>c</sup> Haynes et al. [59]; <sup>d</sup> Boldt et al. [21].

**Tableau 47-II b** Fréquence des marqueurs de surface des lymphocytes chez les singes de l'ancien monde.

Anticorps	Macaca fuscata	Macaca mulatta	Macaca nemestrina	Papio sphinx	Cercopithecus aethiops	Cercocebus atys
Leu 1	<1 <sup>a</sup> <4 <sup>c</sup>	<1 <sup>a</sup> <4 <sup>c</sup>	<1 <sup>a</sup> ---	<1 <sup>a</sup> ---	<1 <sup>a</sup> ---	---
Leu 2	43±6 <sup>a</sup> 25±11 <sup>c</sup>	44,0±9,0 <sup>a</sup> 42,0±12,0 <sup>c</sup> 20,0±0,0 <sup>c</sup> 31,5±9,0 <sup>f</sup>	53,0±7,0 <sup>a</sup> 48,0±0,3 <sup>c</sup> ---	42±5 <sup>a</sup>	50±7 <sup>a</sup>	---
Leu 3a	13±5 <sup>a</sup> 33±16 <sup>c</sup>	13,0±6,0 <sup>a</sup> 62,0±7,0 <sup>c</sup> 24,0±2,0 <sup>c</sup> 35,3±8,6 <sup>f</sup>	3,0±1,0 <sup>a</sup> 59,0±1,0 <sup>c</sup> ---	2 <sup>a</sup>	2±1 <sup>a</sup>	47,6±10,5 <sup>f</sup>
Leu 4	<1 <sup>a</sup> <4 <sup>c</sup>	<1 <sup>a</sup> 0 <sup>c</sup> <4 <sup>c</sup>	<1 <sup>a</sup> 0 <sup>c</sup> ---	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	22,4±5,4 <sup>f</sup>
Leu 5	77±2 <sup>a</sup> 78±0 <sup>c</sup>	76,0±5,0 <sup>a</sup> 54,0±13,0 <sup>c</sup> 66,4±10,8 <sup>f</sup>	82,0±2,0 <sup>a</sup> ---	58±8 <sup>a</sup>	11±5 <sup>a</sup>	---
Leu 7	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	---	72,8±9,5 <sup>f</sup>
Leu 11a	4±4 <sup>a</sup>	4,0±2,0 <sup>a</sup>	20,0±13,0 <sup>a</sup>	2±1 <sup>a</sup>	---	---
Leu 19	---	14,9±8,0 <sup>f</sup>	12,0±7,2 <sup>f</sup>	---	---	7,8±5,1 <sup>f</sup>
Leu 10	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	---	---
Leu 12	---	---	---	<1 <sup>a</sup>	---	---
anti-HLA DR	13±4 <sup>a</sup>	15,0±1,0 <sup>a</sup> 25,1±11,8 <sup>a</sup>	20,0±15,0 <sup>a</sup> 20,0±11,2 <sup>f</sup>	22±4 <sup>a</sup>	31±5 <sup>a</sup>	---
	---	---	---	---	---	21,5±7,2 <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Murayama et al. [102]; <sup>b</sup> Ansari, résultats non publiés; <sup>c</sup> Haynes et al. [59]; <sup>d</sup> Boldt et al. [21]; <sup>e</sup> Letvin et al. [87]; <sup>f</sup> Ansari et al. [6].

IMMUNOL

**Tableau 47**  
lymphocytes

Anticorps

Leu 1

Leu 2a

Leu 3a

Leu 4

Leu 5

Leu 7

Leu 11a

Leu 19

Leu 10

Leu 12

anti-

HLA DR

<sup>a</sup> Murayama et al.

<sup>c</sup> Haynes et al.

<sup>f</sup> Ansari et al.

d'analyse uti  
un procédé d  
permet de su  
taires dans l  
utilisée pour  
phocytes  
*nemestrina* e  
règle générale  
un nombre ph  
qu'une augme  
mentation rés  
quence et du  
CD8<sup>+</sup> qui se  
plus faible. Le  
comparable d  
de 56-68 p.  
possédaient le  
DR était 4 à 5  
*atys* que chez  
celui observé  
suggère qu'un  
circulation son  
résultats sont

Tableau 47-II c Fréquence des marqueurs de surface des lymphocytes chez les singes du nouveau monde.

Anticorps	Cebus capucinus	Saguinus oedipus	Callithrix jacchus
Leu 1	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	—	<4 <sup>e</sup>	—
Leu 2a	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
	—	<4 <sup>e</sup>	—
Leu 3a	<1 <sup>a</sup>	14,2±4,8 <sup>b</sup>	0,9±0,5 <sup>b</sup>
	—	<1 <sup>a</sup>	—
Leu 4	<1 <sup>a</sup>	12,2±3,9 <sup>b</sup>	1,0±0,3 <sup>b</sup>
	—	<1 <sup>a</sup>	—
	—	8,5±1,0 <sup>e</sup>	—
Leu 5	35 <sup>a</sup>	6,2±5,5 <sup>b</sup>	0,6±0,3 <sup>b</sup>
	—	28,0±18,0 <sup>a</sup>	50,0±16,0 <sup>a</sup>
	—	53,0±4,0 <sup>e</sup>	—
	—	58,9±0,9 <sup>b</sup>	1,0±0,4 <sup>b</sup>
Leu 7	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
Leu 11a	44 <sup>a</sup>	18,0±5,0 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
Leu 19	—	—	—
Leu 10	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
Leu 12	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>	<1 <sup>a</sup>
anti- HLA DR	15 <sup>a</sup>	17,0±4,0 <sup>a</sup>	36,0±13,0 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Murayama et al. [102]; <sup>b</sup> Ansari, résultats non publiés; <sup>c</sup> Haynes et al. [59]; <sup>d</sup> Boldt et al. [21]; <sup>e</sup> Letvin et al. [87]; <sup>f</sup> Ansari et al. [6]; <sup>g</sup> Schooley et al. [120].

d'analyse utilisant 20 anticorps monoclonaux dans un procédé de microfluorométrie à 2 couleurs qui permet de suivre les sous-populations lymphocytaires dans le temps [6]. Cette technique a été utilisée pour examiner les sous-populations lymphocytaires du *Cercocebus atys*, du *Macaca nemestrina* et du rhésus (*Macaca mulatta*). En règle générale, les *Cercocebus atys* présentaient un nombre plus élevé de leucocytes sanguins ainsi qu'une augmentation des cellules T. Cette augmentation résulte d'un accroissement de la fréquence et du nombre total de cellules Leu2a<sup>+</sup> ou CD8<sup>+</sup> qui se traduit par un rapport CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> plus faible. Le pourcentage de cellules CD4<sup>+</sup> était comparable dans les 3 espèces, dans des limites de 56-68 p. cent. Le nombre de cellules qui possédaient le double marqueur Leu2a et HLA-DR était 4 à 5 fois plus élevé chez le *Cercocebus atys* que chez le rhésus et 10 fois plus élevé que celui observé chez le *Macaca nemestrina*. Ceci suggère qu'un plus grand nombre de cellules T en circulation sont activées chez le cercocebus. Ces résultats sont résumés dans le tableau 47-II, de

même que ceux obtenus chez le chimpanzé pygmée (*Pan paniscus*), le chimpanzé (*Pan troglodytes*), l'orang-outang (*Pongo pygmaeus*), et le gorille (*Gorilla gorilla*).

D'autres techniques que la cytofluorométrie ont montré que les pourcentages de cellules T auxiliaires, de cellules T cytotoxiques/suppressives et de cellules B relevés dans des lavages bronchoalvéolaires de 6 cynomolgus étaient respectivement de 40±9 p. cent, 26±7 p. cent et 11±4 p. cent [54]. Ces valeurs ne diffèrent pas significativement de celles obtenues au niveau des leucocytes du sang périphérique d'animaux de la même espèce.

### LYMPHOCYTES DES GANGLIONS LYMPHATIQUES

Des anticorps monoclonaux dirigés contre des déterminants antigéniques humains ont été utilisés dans une technique d'avidine-biotine-immunoperoxydase pour colorer des coupes de ganglions lymphatiques de singes de l'ancien et du nouveau monde [28]. L'analyse a montré que la distribution des sous-populations de cellules monocléées était similaire à celle décrite chez l'homme [119].

### PHÉNOTYPAGE PAR ANTICORPS MONOCLONAUX SPÉCIFIQUES DES PRIMATES

Les études rapportées ci-dessus utilisent des anticorps monoclonaux murins dirigés contre des lymphocytes humains. Un anticorps monoclonal (Fn18) reconnaissant le CD3 a été préparé [107]. Il détecte apparemment un épitope CD3 polymorphe présent chez 97 p. cent des rhésus testés et a été utilisé in vivo comme agent immunodépresseur pour des transplantations expérimentales d'organes [72].

### MOELLE OSSEUSE DES PRIMATES

La moelle osseuse des vertébrés est la source principale de toutes les cellules hématopoïétiques fonctionnelles de la circulation sanguine. Les

lymphocytes, les érythrocytes, les granulocytes, les plaquettes proviennent tous de cellules-souches pluripotentes qui résident dans ce tissu.

La description initiale de la composition de la moelle osseuse du rhesus, en 1936 [124], a été suivie par la description morphologique détaillée des éléments cellulaires qui la composent. Elle est constituée de 39 p. cent de cellules érythrocytaires, 53 p. cent de cellules polynucléaires, 4,5 p. cent de lymphocytes et 6 p. cent de monocytes. Ces valeurs sont comparables à celles de la moelle osseuse humaine. Il faut cependant remarquer que le rhesus possède une plus grande réserve de cellules-souches érythrocytaires que l'homme. La séparation des sous-populations par centrifugation-élutriation [100] permet d'isoler deux populations hétérogènes de cellules dont l'analyse phénotypique a révélé que l'une est enrichie en cellules possédant les marqueurs lymphocytaires Leu2a, Leu3a et le récepteur pour les globules rouges du mouton (GRM), et ne contient que peu de cellules-souches de la moelle. En revanche, l'autre est très riche en cellules-souches hématopoïétiques, comme l'indique le nombre de colonies après 12 jours de culture *in vitro* en présence de facteurs de croissance. En outre, des cellules autologues injectées chez des singes irradiés à doses létales, sont capables de restaurer les caractéristiques phénotypiques et fonctionnelles de la moelle. Le phénotype et la fonction des cellules

de la moelle osseuse du rhesus sont présentés dans le tableau 47-III.

### MOELLE OSSEUSE CHIMÉRIQUE DES MARMOUSETS (GENRE CALLITHRIX)

La moelle osseuse des marmousets a également fait l'objet d'études détaillées. En 1939, Wislock découvrit qu'une forte majorité des embryons d'une même gestation possédaient des placentas fusionnés [141] et le groupe de Benirschke découvrit ultérieurement que la moelle osseuse de ces jumeaux était chimérique [16]. Dès lors, ces singes fournissaient un modèle unique non seulement pour étudier le rôle du CMH lors de transplantations de la moelle osseuse, mais également pour l'étude de la tolérance et de la restriction par le CMH.

Les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) de chaque individu d'une paire de marmousets jumeaux présentent une réponse proliférative normale en culture lymphocytaire mixte (CLM) avec des cellules allogéniques [110]. Par contre, les mêmes cellules utilisées comme répondeuses en culture avec des cellules PBMC de leur jumeau ne prolifèrent pas. Il est dès lors permis de conclure que l'absence de réponse allogénique d'un marmouset à l'égard de cellules (de CMH incompatible) de son jumeau dizygote résulte de l'acquisition d'une immunotolérance spécifique *in vivo*.

Les chimères de moelle osseuse chez le marmouset fournissent la possibilité d'étudier des situations sans interférence de variables telles que les effets allogéniques, l'irradiation incomplète et la possibilité de l'émergence et de la participation de populations de cellules mononucléées radio-résistantes comme dans les modèles murins [138]. Les lymphocytes T cytotoxiques (LTC) spécifiques pour le TNP, tuent préférentiellement des cellules-cibles qui expriment les mêmes antigènes du CMH que ceux du thymus dans lequel ils ont été éduqués [111]. Ainsi des LTC dérivés d'une moelle osseuse chimérique A × B et injectés dans un hôte B (c'est-à-dire un marmouset qui possède un thymus B) vont s'attaquer de préférence à des cellules-cibles, conjuguées avec du TNP, qui possèdent le CMH du type B. Ceci est également vrai si les clones de LTC proviennent de cellules de type CMH parental A.

Tableau 47-III Composition de la moelle osseuse de singe rhesus<sup>a</sup> (*Macaca mulatta*) d'après [100].

Phénotype	Non séparés	CP1-7	CP8-10
Fréquence de cellules positives ( $\pm 1$ erreur standard)			
Leu 2a	11,1 $\pm$ 3,0	18,7 $\pm$ 3,6	1,7 $\pm$ 0,5
Leu 3a	11,7 $\pm$ 3,7	19,5 $\pm$ 4,5	1,9 $\pm$ 0,7
HLA DR	7,9 $\pm$ 1,3	7,8 $\pm$ 2,4	7,0 $\pm$ 2,4
SRBC	11,7 $\pm$ 1,7	51,8 $\pm$ 4,7	2,9 $\pm$ 0,8
Activité des cellules-souches			
GM-CFC <sup>b</sup>	100	5,6 $\pm$ 2,5	90,3 $\pm$ 15,8
CFU-e <sup>c</sup>	100	1,7 $\pm$ 1,2	128,2 $\pm$ 56,0
BFU-e <sup>d</sup>	100	0,2 $\pm$ 0,2	207,5 $\pm$ 59,9
CFU-mix <sup>e</sup>	100	3,6 $\pm$ 3,1	125,9 $\pm$ 45,2

<sup>a</sup> Ces résultats ont été obtenus par Monroy et al. [69] utilisant l'élutriation (voir texte).

<sup>b</sup> GM-CFC : granulocyte macrophage colony forming cells.

<sup>c</sup> CFU-e : erythroid colony forming units.

<sup>d</sup> BFU-e : erythroid burst forming units.

<sup>e</sup> CFU-mix : mixed cell colony forming units.

Les par  
peuvent é  
compte de

Les sou  
examinées

Les cellule  
(PBMC) et

les anticorps  
T (OKT11

est constitu

OKT11<sup>+</sup>,  
OKT10<sup>+</sup>,  
OKT8<sup>+</sup>

Les cell  
représentée

OKT11<sup>+</sup>,  
OKT10<sup>+</sup>

OKT8<sup>+</sup>; 18

exprimaient

l'homme, l

exprimé s

immatures

ni les cellu

babouin ne

OKT4; de

TL sur les t

les cellules

thymocytes

la concanav

glutinine (P

des cellules

adultes prés

cellules sen

Le dével

T CD8<sup>+</sup> et

microfluoro

après la na

(*Macaca ne*

nés, les cel

et présentem

tiques de c

cellules CD

L'âge augm

aux lympho

B IgD<sup>+</sup>; c

CD8<sup>+</sup> CD

CD8<sup>br</sup> CD1

jour 0, il fa

deux autres

## ONTOGENÈSE DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE

Les paramètres immunologiques normaux ne peuvent être correctement évalués sans tenir compte de l'âge.

Les sous-populations lymphocytaires ont été examinées chez le babouin, fœtus et adulte [21]. Les cellules mononucléées du sang périphérique (PBMC) chez l'adulte et le fœtus réagissent avec les anticorps monoclonaux spécifiques des cellules T (OKT11, OKT8 et OKT10). Le thymus fœtal est constitué de 65,2±5,1 p. cent de cellules OKT11<sup>+</sup>, de 67,2±5,1 p. cent de cellules OKT10<sup>+</sup> et de 32,8±9,6 p. cent de cellules OKT8<sup>+</sup>.

Les cellules dérivées de la rate fœtale étaient représentées par 28,3±4,8 p. cent de cellules OKT11<sup>+</sup>, de 47,9±5,7 p. cent de cellules OKT10<sup>+</sup> et de 14,4±4,7 p. cent de cellules OKT8<sup>+</sup>; 18,3±3,3 p. cent des PBMC du babouin exprimaient ce marqueur de surface. Chez l'homme, le marqueur OKT10 est principalement exprimé sur les cellules hématopoïétiques immatures et les thymocytes alors que par contre, ni les cellules adultes ni les cellules fœtales de babouin ne réagissent avec les anticorps OKT3 et OKT4; de même, OKT6 qui identifie l'antigène TL sur les thymocytes humains ne réagit pas avec les cellules thymiques chez le babouin. Les thymocytes et les splénocytes fœtaux répondent à la concanavaleine A (Con A) et à la phytohémagglutinine (PHA) d'une manière comparable à celle des cellules humaines ou murines mais seuls les adultes présentent une activité NK à l'égard de cellules sensibles en culture.

Le développement des cellules B, T CD4<sup>+</sup>, T CD8<sup>+</sup> et des cellules NK a été suivi par microfluorométrie pendant les 800 premiers jours après la naissance chez une espèce de macaque (*Macaca nemestrina*) [128]. Chez les nouveau-nés, les cellules sont morphologiquement denses et présentent des marqueurs de surface caractéristiques de cellules au repos (cellules B IgD<sup>+</sup>; cellules CD4<sup>+</sup> Lp220<sup>+</sup>; cellules CD8<sup>+</sup> CD18<sup>mat</sup>). L'âge augmentant, les marqueurs correspondant aux lymphocytes activés prédominent (cellules B IgD<sup>-</sup>; cellules CD4<sup>+</sup> Lp220<sup>-</sup>; cellules CD8<sup>+</sup> CD18<sup>bri</sup>). Alors que des cellules CD8<sup>bri</sup> CD18<sup>mat</sup> sont décelées parmi les PBMC au jour 0, il faut attendre le jour 300 pour que les deux autres sous-populations (CD8<sup>bri</sup> CD18<sup>bri</sup>;

CD8<sup>mat</sup> CD18<sup>bri</sup>) soient détectées. Il reste à déterminer si le développement progressif de ces 3 sous-populations de cellules CD8<sup>+</sup> correspond à celui de fonctions immunes spécifiques. En accord avec les observations faites chez l'homme et en contradiction avec ce qui a été jusqu'à présent observé chez le chimpanzé, les adultes possèdent plus de cellules CD4<sup>+</sup> que les jeunes.

Comme le chimpanzé représente l'un des rares modèles animaux de l'infection par le HIV, l'ontogenèse des sous-populations lymphocytaires a été particulièrement étudiée dans cette espèce [43]. Alors que la présence du marqueur universel des cellules T CD2 ne varie pas en fonction de l'âge, le nombre de cellules CD4<sup>+</sup> décroît après l'âge de 8 ans et le marqueur des cellules B (Leu12) décline après 20 ans d'âge. Les cellules CD8<sup>+</sup> sont à leur plus bas niveau pendant les 4 premières années d'existence et augmentent par la suite en fonction de l'âge (surtout par rapport aux CD4<sup>+</sup>).

Chez le marmouset (*Callithrix jacchus*), l'ensemble des cellules T, et notamment les cellules CD8<sup>+</sup>, sont plus nombreuses chez les individus jeunes (âge moyen 21,3 mois) que chez les plus âgés (âge moyen, 93,1 mois) [108].

## FONCTIONS IMMUNES CELLULAIRES

Les fonctions des cellules T et B ont été étudiées chez les babouins, les singes-écureuils, les singes cebus et les marmousets [58]. Ces quatre espèces ont été inoculées avec des antigènes de *Salmonella* et du virus influenza. Dans les deux cas, la réponse immune mesurée par le titre des anticorps neutralisants était la plus élevée chez le babouin suivi en ordre décroissant par le singe-écureuil, le cebus et le marmouset. Les tests d'hypersensibilité retardée pratiqués in vivo et la prolifération lymphoblastique in vitro en présence de PHA et de PWM (Pokeweed Mitogen) étaient plus importants chez le babouin par comparaison aux autres espèces qui répondaient à des degrés divers. De plus, le test de fenêtre cutanée avec un traitement localisé à la PHA et au PWM semblait indiquer l'induction d'une réponse immune aiguë, dominée par des neutrophiles. Une fois de plus, la cinétique et les caractéristiques de la réponse du babouin ressemblent le plus à celles observées chez l'homme, même si aucune des espèces de primate testées ne

présentait des réponses aussi fortes que celles observées chez l'homme. Ces observations faites chez le babouin ont été confirmées par d'autres chercheurs [21]. De plus, les PBMC de babouin ont été cultivées *in vitro* en présence de lectines. Une activité IL-2, normalement tributaire de cellules T auxiliaires a été observée dans le surnageant de ces cultures, même si ces cellules n'exprimaient pas le marqueur de surface cellulaire Leu3a<sup>+</sup>, caractéristique des cellules T auxiliaires.

Les monocytes de babouin jouent un rôle important dans la réponse proliférative *in vitro* des cellules T à la stimulation par les lectines [34]. L'appauvrissement en cellules qui captent les particules de fer, probablement les phagocytes, provoque en effet une réduction marquée de la prolifération *in vitro* des cellules T en présence du PWM ou de la Con A. D'autres études ont montré que les monocytes sont essentiels pour une prolifération optimale des PBMC humains en réponse à la stimulation par les lectines, qu'ils ne sont pas essentiels chez le rhesus, et qu'ils exercent une influence dépressive sur la même prolifération des PBMC de cynomolgus [127, 129].

Les marmousets sont extrêmement sensibles à une série d'infections virales [39]. En outre, ces singes sont très fréquemment sujets à des lymphomes des cellules T et B et présentent souvent des cancers du côlon [27, 38]. Cette sensibilité accrue semble être due à une fonction immune anormale [66]. Des études immunologiques ont montré que les marmousets présentent une réponse humorale déficiente à l'égard du virus d'Epstein-Barr (EBV) tout en répondant normalement aux stimulants mitogéniques des cellules T. Les PBMC du marmouset répondent systématiquement moins bien que les cellules humaines aux cellules stimulatrices transformées par l'EBV, que celles-ci soient autologues, allogéniques ou xéno-géniques [66]. L'évaluation de l'activité des cellules NK a montré que chez les tamarins (*Saguinus spp.*) certaines espèces sont déficientes en activité NK (*S. oedipus* et *S. fuscicollis*) alors que d'autres (*S. mysfax* et *S. labiatus*) présentent une activité NK similaire à celle de l'homme [66]. La fonction immune du rhesus a également été examinée [44, 92] montrant que la présence de cellules T CD4<sup>+</sup> augmente la prolifération des cellules B induite *in vitro* par le PWM; ces CD4<sup>+</sup> agissent donc en tant que cellules auxiliaires alors que l'addition de cellules CD8<sup>+</sup> exerce une

activité dépressive sur la formation de plaques pour les cellules B [6].

Le macaque japonais (*Macaca fuscata*) présente, comme le macaque rhesus [140], une meilleure réponse proliférative *in vitro* à la Con A qu'à la PHA [103]. En outre, l'addition de macrophages permet d'augmenter la stimulation par la Con A. Enfin, la Con A induit plus efficacement la synthèse de récepteurs pour l'IL-2 à la surface des lymphoblastes que la PHA.

Les effets de la malnutrition sur la réponse immune ont également été étudiés chez les primates [103]. On observe *in vivo* un profond déclin des réponses d'hypersensibilité retardée, d'anaphylaxie cutanée passive et de rejet de greffe cutanée dès le 7<sup>e</sup> jour après le début d'un régime restreint [113], alors que des variations des taux d'albumine sérique et des infections franches résultant de l'immunodépression provoquée, ne sont pas observées avant 3 semaines. Ceci suggère que la malnutrition protido-énergétique exerce de profonds effets sur le système immunitaire avant même que les premières séquelles cliniques puissent être observées.

#### FONCTION DES NEUTROPHILES ET DES MACROPHAGES

Cheung et coll. ont examiné la fonction des macrophages et des neutrophiles pulmonaires obtenus par deux lavages en série chez des rhesus nouveau-nés et adultes [30]. Après le premier lavage, les cellules contenaient 87 p. cent de macrophages et 7 p. cent de neutrophiles alors que le second lavage contenait 45 p. cent de macrophages et 52 p. cent de neutrophiles. Contrairement à ceux des adultes, les macrophages alvéolaires des nouveau-nés ne parvenaient pas à phagocyter des *Candida*. En outre, la migration des neutrophiles était nettement réduite chez le nouveau-né. Ces données montrent que le rhesus constitue un bon modèle pour l'étude de la sensibilité des nouveau-nés aux infections.

#### CELLULES NK ET LAK

L'activité NK des PBMC et de la moelle osseuse a été étudiée chez le rhesus [50]. Au sein de la colonie de singes examinée, on a pu identifier de forts et de faibles répondeurs en

cellules N  
nues cons  
ces étude  
reconnues  
OKT11 et  
capable d  
cellules N  
celles de  
suggère q  
différent.

L'exam  
rhesus et  
leurs act  
important  
L'activité  
principale  
cellules L  
observées  
NK, les  
cellules L  
essentielle  
cellules p  
principale  
LAK et  
Leu19<sup>+</sup> L

Le ligna  
été élucid  
de la lign

#### ONTO DE L'IM

Le pas  
bulines (I  
par marqu  
131 et réi  
femelles  
examinés  
nent alors  
fœtus de  
également  
123 jours  
rouges de  
animaux s  
daient de  
fiques. Ce  
système i  
des prima

cellules NK, caractéristiques qui se sont maintenues constantes pendant les 2 années qu'ont duré ces études. Les cellules NK de rhésus étaient reconnues par les anticorps monoclonaux OKT10, OKT11 et Leu11. En outre, l'OKT10 s'est avéré capable d'inhiber l'activité des cellules NK. Les cellules NK des PBMC étaient RFc<sup>+</sup> alors que celles de la moelle osseuse étaient RFc<sup>-</sup>, ce qui suggère que les deux populations de cellules NK diffèrent.

L'examen de cellules NK et LAK de macaques rhésus et de *Cercocebus atys* [112] indique que leurs activités sont proportionnellement plus importantes pour les PBMC de *Cercocebus atys*. L'activité NK des PBMC du rhésus semble principalement s'exercer par l'entremise de cellules Leu19<sup>+</sup> et Leu2a<sup>-</sup> semblables à celles observées avec des PBMC humaines. Les cellules NK, les précurseurs des cellules LAK et les cellules LAK effectrices du *Cercocebus atys* sont essentiellement Leu19<sup>-</sup> Leu2a<sup>+</sup>, alors que les cellules précurseurs LAK chez le rhésus sont principalement Leu19<sup>+</sup> Leu2a<sup>-</sup> et les cellules LAK effectrices doublement marquées Leu19<sup>+</sup> Leu2a<sup>+</sup>.

Le lignage exact des cellules NK n'a pas encore été élucidé. On pense cependant qu'elles dérivent de la lignée des cellules T [45].

## ONTOGÈNESE DE L'IMMUNITÉ HUMORALE

Le passage transplacentaire des immunoglobulines (Ig) a été démontré chez les primates [20] par marquage des protéines maternelles à l'iode 131 et réinjection par voie intraveineuse chez des femelles gestantes. Les sérums des fœtus examinés 8 et 24 heures après l'injection contiennent alors des Ig radiomarquées. La capacité des fœtus de primates à produire des anticorps a également été démontrée [33]. Des fœtus de 73 à 123 jours ont été inoculés avec des globules rouges de mouton (GRM). Les rates de ces animaux splénectomisés avant la naissance possédaient des cellules produisant des IgM spécifiques. Ces résultats confirment l'existence d'un système immunitaire fonctionnel chez les fœtus des primates.

L'expression d'IgM et d'IgD membranaires sur les lymphocytes B a également été étudiée en fonction de l'âge [93]. Chez les *Macaca arctoides* et les rhésus on constate une fréquence plus élevée de cellules portant des IgM et des IgD de surface parmi les cellules mononucléées sanguines de singes de moins de 6 mois que chez ceux de plus d'un an. Chez les plus jeunes singes, les pourcentages de cellules B exhibant des Ig membranaires sont identiques dans les ganglions et le sang. Chez les singes plus âgés, par contre, un pourcentage plus élevé de cellules à Ig de surface était observé dans les ganglions que dans le sang.

Les taux sériques d'Ig ont été étudiés en fonction de l'âge, chez le rhésus [136]. Le taux d'Ig dans cette espèce augmente graduellement à partir de 2 ans jusqu'à l'âge adulte (supérieur à 7 ans). Les taux d'IgA et IgM semblent croître durant les 3 premières années, décroître légèrement pendant la quatrième avant d'augmenter rapidement jusqu'à l'âge adulte. Chez le chimpanzé, la concentration sérique en IgG plafonne à l'âge d'un an [137]. Les taux d'IgM par contre n'atteignent un niveau normal que vers l'âge de 7 ans alors qu'ils sont à environ 50 p. cent de cette valeur chez le jeune adulte. Les taux d'IgA sériques sont à environ 70 p. cent de ceux de l'adulte à l'âge d'un an et augmentent avec l'âge. Par contre, ceux d'IgD ne varient pas.

## IMMUNITÉ HUMORALE

Durant les années soixante, les études portant sur l'immunité humorale des primates ont fait appel aux techniques classiques comme la digestion à la pepsine et à la papaïne; l'exposition au mercaptoéthanol et aux alloantisérums pour démontrer l'existence d'IgG, d'IgM, d'IgD, d'IgA et d'IgE dans le sérum des primates. L'identification des sous-classes d'IgG, des types kappa et lambda des chaînes légères et l'examen de l'hétérogénéité des IgA ont également été réalisés. Les résultats sont résumés dans une revue de Damian et Greene [35]; un aperçu en est donné ci-après principalement axé sur les valeurs normales des Ig dans différentes espèces de primates (Tableau 47-IV).

Le cynomolgus s'est avéré être un modèle utile pour les études d'hypersensibilité immédiate, comme l'asthme [18]. Cependant, ce n'est que récemment qu'un rapport sur les taux sanguins normaux en Ig de cette espèce a été publié [19].



Tableau 47-IV Taux sériques d'immunoglobulines de l'homme et de primates adultes (mg/ml).

Espèces	Références	IgM	IgG	IgA
Chimpanzé	100	0,59-2,4	11,3-18,0	0,97-2,12
	101	0,2-0,8	8,0-13,0	0,8-2,9
Orang-outang	101	0,2-0,9	10,5-13,3	0,9-1,9
Babouin	101	0,3-1,8	11,0-13,3	0,1-4,1
Macaca mulatta	107	0,8-2,0	12,0-30,0	0,3-0,9
	105	0,87±0,29	12,4±2,3	0,5-1,5
Macaca arctoides	101	1,0-1,2	8,5-11,1	3,1-4,3
Cynomolgus	103	—	15,6±0,9	—
Homme	101	0,6-1,5	7,7-13,5	1,8-2,8

ainsi que les valeurs normales en immuncomplexes [4], qui dépendent du pays d'origine. Par exemple, les singes d'Indonésie ont des taux remarquablement élevés d'immuncomplexes par rapport à ceux importés de Malaisie ou des Philippines. De plus, les taux d'immuncomplexes dans le sang augmentent avec l'âge. Ces résultats soulignent le rôle de facteurs génétiques et peut-être du milieu sur les paramètres immunologiques considérés comme normaux pour une espèce.

Les taux d'Ig du rhésus sont présentés dans le tableau 47-IV [101]; les demi-vies des Ig du rhésus ont été déterminées [29]. Celle des IgG était de 4,5 jours tandis que celles des IgA et IgM étaient respectivement de 8,3 et 4,7 jours.

Les taux d'Ig des chimpanzés adultes [137] repris dans le tableau 47-IV, sont supérieurs à ceux donnés par d'autres auteurs [2]. Cette divergence particulièrement nette pour les IgG peut refléter l'influence de facteurs du milieu, comme par exemple, la présence endémique de parasites. Elle peut aussi être due à des artefacts liés aux réactions croisées entre les Ig de chimpanzés et les antisérums anti-Ig humaines. Les concentrations sériques des Ig de babouins sont comparables à celles de l'homme (voir Tableau 47-IV) [98].

Les tamarins semblent présenter des réponses humorales plus faibles. Ainsi, la réponse en anticorps envers de nombreux antigènes est diminuée chez les tamarins par comparaison aux autres primates non humains [49, 58]. En mesurant la réponse *in vitro* en anticorps envers le LPS-TNP (lipopolysaccharide-trinitrophénylé) par les cellules mononucléées sanguines de *S. fuscicollis*, on observe que la réponse immune des singes non chimériques est de loin supérieure à celle des singes chimériques [106]. Cette faible réponse

anti-TNP n'est pas due à l'influence directe ou indirecte des cellules T, car l'appauvrissement en cellules T n'altère pas le niveau des réponses en anticorps, ce qui suggère que l'effet de chimère se manifeste au niveau de l'activation des cellules B.

### COMPLÉMENT

Les antisérums caprins contre les composants du complément humain réagissent avec tous ceux des singes supérieurs excepté le facteur C1q [121]. Les singes de l'ancien monde sont antigéniquement déficients en C1q, C1s et C9. Les singes du nouveau monde sont déficients en tous les composants du complément excepté C5, C6 et le facteur B de la properdine, lorsqu'on utilise des antisérums caprins contre les composants du complément humain. Aucun des composants du complément des prosimiens n'est reconnu par ces mêmes sérums. Fonctionnellement, l'activité du complément semble être comparable à celle de l'homme, à l'exception de celle des prosimiens qui est considérablement inférieure.

### LES PRIMATES EN TANT QUE MODÈLES D'ÉTUDE DE CERTAINES MALADIES

Les primates ont été très étudiés comme modèles pour les maladies immunitaires. De nombreuses maladies humaines surviennent naturellement chez les primates et peuvent dès lors être étudiées sans devoir recourir à des artifices

expérim  
maladie  
renvoy  
passent  
parasita  
97, 99  
les pri  
l'élucie  
maladie  
jaune,  
primates  
rhumat  
de la m  
pneumo

MALA  
LYMPH

La p  
des né  
Chez le  
et viru  
désord  
virus p  
T-lymp  
Le v  
herpès  
impliqu  
tieuse,  
d'autre  
simien  
ment  
oedipu  
d'autre  
démont  
lympho  
lympho  
triviga  
L'H  
humain  
leucém  
[117].  
élevé  
par le  
p. cent  
lympho  
mies o  
(Cercop  
Dans t  
vis-à-v  
maladie  
une h

expérimentaux. Une revue exhaustive de ces maladies dépasserait le cadre de ce chapitre, nous renvoyons plutôt le lecteur à des ouvrages qui passent en revue les maladies virales, fongiques, parasitaires et bactériennes chez les primates [76, 97, 99, 131] ainsi que les études dans lesquelles les primates ont joué un rôle déterminant dans l'élucidation des mécanismes et du contrôle de maladies telles que la poliomyélite, la fièvre jaune, la rougeole et la rubéole [82]. En outre, les primates ont été utilisés pour l'étude de l'arthrite rhumatoïde [3], de la spondylite ankylosante [1], de la maladie des éleveurs de pigeon [61], de la pneumonie [79] et de l'asthme [18].

### MALADIES LYMPHOPROLIFÉRATIVES

La preuve de l'étiologie virale de la plupart des néoplasmes humains n'a pas été apportée. Chez les primates, par contre, le lien entre cancer et virus semble évident [60]. En matière de désordres lymphoprolifératifs, 2 types majeurs de virus peuvent être trouvés chez les primates : les T-lymphotropes et les B-lymphotropes.

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) est un virus herpès lymphotrope B de l'homme qui a été impliqué comme agent de la mononucléose infectieuse, dans l'étiologie du lymphome de Burkitt et d'autres désordres lymphoprolifératifs. L'EBV simien est régulièrement à l'origine du développement de tumeurs chez un tamarin (*Saguinus oedipus*) [37]. L'induction de néoplasmes dans d'autres espèces n'a été que sporadiquement démontrée [125] dans 4 cas de leucémie à larges lymphocytes granulaires (LGL) et une maladie lymphoproliférative chez des singes-hibous (*Aotus trivigatus*) [86].

L'HTLV-1 est un rétrovirus isolé de cellules T humaines qui est l'agent étiologique d'une leucémie à cellules T observée chez l'adulte [117]. On a montré qu'un nombre relativement élevé de singes de l'ancien monde sont infectés par le rétrovirus STLV-1, qui partage 90-95 p. cent d'homologie avec l'HTLV-1 [142]. Des lymphomes spontanés à cellules T et des leucémies ont été décrits chez le cercopithèque vervet, (*Cercopithecus aethiops*) ainsi que chez le rhésus. Dans tous ces cas, les singes étaient séropositifs vis-à-vis du STLV-1 [62, 117, 132]. Cette maladie se caractérise par une splénomégalie et une hypertrophie ganglionnaire systémique.

L'examen histopathologique montre que la plupart des ganglions hypertrophiés contiennent des cellules lymphoïdes transformées. En plus des tumeurs déjà mentionnées, une forme de maladie de Hodgkin a été décrite chez le babouin [53].

### SYNDROME D'IMMUNODÉFICIENCE ACQUISE (SIDA)

Un dommage important du système immunitaire est actuellement observé dans le cas du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). L'agent étiologique de cette maladie est le virus de l'immunodéficience humaine (HIV), un lentivirus qui présente une affinité pour le récepteur CD4. L'élucidation des mécanismes de cette maladie et l'étude des méthodes d'évaluation d'agents thérapeutiques potentiels pourraient bénéficier d'un modèle animal bien contrôlé.

On a montré à cet égard que le chimpanzé et le gibbon peuvent être infectés par l'HIV-1 [5, 90]. Cependant il n'a pas encore été possible de reproduire, chez aucun singe anthropoïde, une symptomatologie clinique persistante comparable à celle observée en cas de SIDA chez l'homme. Néanmoins, les prodromes du SIDA, une lymphadénopathie, la production d'anticorps antiviraux et une perte de poids ont été occasionnellement observés. Le chimpanzé est dès lors utilisé comme modèle pour apprécier l'efficacité de vaccins potentiels contre l'HIV. Un grand nombre de laboratoires ont immunisé des chimpanzés avec des protéines d'enveloppe du HIV produites par génie génétique et les ont ensuite soumis à une inoculation d'épreuve par du virus HIV. Jusqu'à présent, l'immunisation n'est pas parvenue à protéger les chimpanzés de l'infection [17, 42, 64], malgré la présence de taux satisfaisants en anticorps neutralisants. D'autres groupes ont immunisé des chimpanzés avec des recombinants du virus de la vaccine (HIV-ENV-vaccine). Les PBMC de ces animaux proliféraient en présence de l'antigène -env in vitro et des anticorps anti-env étaient détectés dans le sérum; néanmoins ces animaux n'étaient pas protégés envers une inoculation d'épreuve [143].

Le modèle du SIDA chez le chimpanzé est imparfait du fait qu'il n'imité pas exactement l'évolution clinique de la maladie humaine. Le virus simien de l'immunodéficience (SIV) est un rétrovirus T-CD4 lymphotrope qui présente 40

p. cent d'homologie de séquence avec l'HIV-1 et 75 p. cent d'homologie avec l'HIV-2 [26].

Plusieurs centres de primatologie ont montré que le rhesus (*Macaca mulatta*) infecté par le SIV souffre d'une maladie similaire au SIDA qui se traduit par une lymphadénopathie, une splénomégalie, une perte de poids, des anomalies de l'hémogramme, une chute des cellules T CD4<sup>+</sup> et finalement une diarrhée muqueuse sanguinolente qui précède le décès [85, 96]. Le SIV ressemble à l'HIV par le mécanisme d'assemblage des particules virales, son tropisme pour le récepteur CD4, sa propension à former des syncytiums, sa capacité de provoquer des neuropathies, et la réaction sérologique croisée des anticorps anti-SIV à l'égard de l'HIV [81]. En outre, des études ont montré le développement d'une hypogammaglobulinémie et une réponse anormale des PBMC aux lectines in vitro.

Le *Cercopithecus atys* s'est révélé être un outil potentiellement très utile pour les recherches sur le SIDA. Nous avons montré que plus de 80 p. cent des individus de cette espèce appartenant à la colonie du Yerkes Regional Primate Research Center d'Atlanta, Géorgie, sont naturellement infectés par le SIV [46]. Cependant, ces singes ne présentent aucun des symptômes normalement associés à l'infection par le HIV et le SIV. Par contre, lorsque des souches de SIV isolées de cette espèce sont injectées à des rhesus, ces derniers sont sujets aux manifestations cliniques de l'infection par le SIV [96]. Dès lors il faut admettre que le cercocebus est parvenu à développer une forme d'immunité à l'égard du SIV. On a d'ailleurs constaté des différences marquées entre les cellules précurseurs et effectrices des fonctions NK et LAK : chez le cercocebus, les cellules NK, les cellules précurseurs LAK et les cellules effectrices LAK sont toutes CD8<sup>+</sup>. Chez les rhesus infectés par le SIV, les cellules DC8<sup>+</sup> des PBMC sont capables d'inhiber la multiplication virale in vitro [77]. Il reste cependant à préciser si les différences entre cellules NK et LAK jouent un rôle dans le contrôle de l'infection par le SIV chez le cercocebus ou si elles ne sont que le reflet d'une différence immunitaire plus profonde non encore décrite.

## CONCLUSION

Les techniques issues de la biologie moléculaire nous ont fourni des préparations purifiées de

cytokines qui ont considérablement augmenté notre capacité de manipulation des lymphocytes in vitro. Ceci facilite l'étude d'affections comme l'arthrite, l'hypersensibilité, les maladies infectieuses, les leucémies, la transplantation d'organes et, bien sûr, le SIDA. Dans tous ces domaines d'application de l'immunologie, les primates non humains se sont révélés indispensables à l'avancement de notre compréhension.

En effet, au fur et à mesure que le champ de l'immunologie s'agrandit, il devient de plus en plus évident que le modèle fourni par les primates va jouer un rôle croissant en permettant d'opérer la transition entre les sciences fondamentales et l'application médicale chez l'homme.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADAMS RF, FLINN GS, DOUGLAS M. Ankylosing spondylitis in a nonhuman primate: a monkey tale. *Arthritis Rheum*, 1987, 30 (8): 956.
- ALEPA FP. Antigenic factors characteristic of human immunoglobulin G, detected in the sera of nonhuman primates. *Ann NY Acad Sci*, 1969 162: 170.
- ALEPA FP, STEINBERG AG. Production of anti-IgM reagents by rhesus monkeys. *Vox Sang*, 1964, 7: 231.
- ALEXANDER NJ, CLARKSON TB, FULGHAM DL. Circulating immune complexes in cynomolgus macaques. *Lab Animal Sci*, 1985, 35 (5): 465.
- ALTER HJ, EICHBERG H, MASUR H et al. Transmission of HTLV-III infection from human plasma to chimpanzees: an animal model for AIDS. *Science*, 1984, 226: 549.
- ANSARI AA, BRODIE AR, FULTZ et al. Flow microfluorometric analysis of peripheral blood mononuclear cells from nonhuman primates: correlation of phenotype with immune function. *Amer J Primatol*, 1988, 17: 107.
- BACH FH, BACH ML, KLEIN J. Genetic and immunological complexity of major histocompatibility regions. *Science*, 1972, 176: 1024.
- BALNER H. The DR system of rhesus monkeys: a brief review of serology, genetics, and relevance to transplantation. *Transplant Proc*, 1980, 13: 502.
- BALNER H. Genetic considerations: the major histocompatibility complex of primates: evolutionary aspects and comparative histogenetics. *Phil Trans R Soc Lond B*, 1981, 292: 109.
- BALNER H, GABB BW, DERSJANT H, VAN VREESWIJK W. Major histocompatibility locus of rhesus monkeys. *Nature*, 1971, 230: 177.
- BALNER H, VAN VREESWIJK W. The major histocompatibility complex of rhesus monkeys (RhLA) V. Attempts at serological identification of MLR determinants and postulation of an I region in the RhLA complex. *Transplant Proc*, 1971, 7: 13.
- BALNER H, VAN VREESWIJK W, DE GROOT ML, D'AMARO J. The major histocompatibility complex of rhesus monkey IV. Serological identification of several new antigens of both series of RhLA. *Transplant Proc*, 1974 6: 111.

13. BALNE  
The r  
identif  
and B  
14. BARN  
in Pri  
Primat  
15. BENIR  
Sustai  
1986.  
16. BENIR  
Marro  
513.  
17. BERME  
immu  
immu  
gp120  
18. BIAGI  
enhan  
model  
19. BIAGI  
IgG  
monk  
20. BINGI  
protei  
rhesu  
21. BOLD  
nolog  
funct  
cells.  
22. BORI  
as op  
in rh  
23. BORI  
Bloo  
immu  
predi  
plant  
24. BORI  
Plate  
allog  
no c  
985.  
25. BROD  
deter  
antib  
26. CHA  
Sequ  
maca  
retro  
27. CHA  
in m  
28. CHA  
tion  
prim  
29. CHA  
culat  
IgM  
30. CHE  
defe  
lung  
31. CLA  
Evo  
lym  
1983  
32. COSI  
prim

13. BALNER H, VAN VREESWIJK W, ROGER JH, D'AMARO J. The major histocompatibility complex of chimpanzees : identification of several new antigens controlled by the A and B loci of ChLA. *Tissue Antigens*, 1978, 12 : 1-8.
14. BARNARD PM, HEYDENRYCH JJ. Heart Transplantation in Primates. In : GP Murphy, ed. *Transplantation in Primates*, S Karger, New York, 1972, p. 131.
15. BENIRSCHKE K. In : *Primates : The Road to self Sustaining Populations*, Springer-Verlag, New York, 1986.
16. BENIRSCHKE K, ANDERSON JM, BROWNHILL LE. Marrow chimerisms in marmosets. *Science*, 1962, 138 : 513.
17. BERMAN PW, GROOPMAN JE, GREGORY T et al. Human immunodeficiency virus type I challenge of chimpanzee immunized with recombinant envelope glycoprotein gp120. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, 85 : 5200.
18. BIAGINI RE, MOORMAN WJ, BERNSTEIN IL. Ozone enhancement of platinum asthma in a nonhuman primate model. *Am Rev Resp Dis*, 1986, 134 : 719.
19. BIAGINI RE, MOORMAN WJ, LAL JB et al. Normal serum IgG and IgE Ab levels in adult male cynomolgus monkeys. *Lab Animal Sci*, 1988, 38 (2) : 194.
20. BINGHAM DR. The transmission of homologous serum proteins to the fetus and to the amniotic fluid in the rhesus monkey. *J Physiol*, 1960, 153 : 265.
21. BOLDT DH, FISCHBACH M, KUEHL TJ. Cellular immunology in the baboon : examination of structural and functional characteristics of adult and fetal lymphoid cells. *J Immunogenetics*, 1986, 11 : 219.
22. BORLEFFS JCC, NEUHAUS P, BALNER H. Cyclosporin A as optimal immunosuppressant after kidney allografting in rhesus monkeys. *J Heart Transplant*, 1983, 2 : 111.
23. BORLEFFS JCC, NEUHAUS P, MARQUET RL, BALNER H. Blood transfusions and changes in humoral and cellular immune reactivity in rhesus monkeys : possible predictive value for kidney allograft prognosis. *Transplantation*, 1983, 35 : 150.
24. BORLEFFS JCC, NEUHAUS P, VAN ROOD JJ, BALNER H. Platelet transfusions have a positive effect on kidney allograft survival in rhesus monkeys and induce virtually no cytotoxic antibodies. *Transplant Proc*, 1983, 15 : 985.
25. BRODSKY FM, PARHAM P. Evolution of HLA antigenic determinants : species cross reactions of monoclonal antibodies. *Immunogenetics*, 1982, 15 : 151.
26. CHAKRABARTI L, GUYADER M, ALIZON M et al. Sequence of simian immunodeficiency virus from macaque and its relationship to other human and simian retrovirus. *Nature*, 1987, 326 : 6543.
27. CHALIFOUX LV, BRONSON RT. Colonic adenocarcinoma in marmosets. *Primates Med*, 1985, 10 : 119.
28. CHALIFOUX LV, SCHLOSSMAN SF, LETVIN NL. Delineation of lymphocyte subsets in lymph nodes of nonhuman primates. *Clin Immunol Immunopathol*, 1984, 31 : 96.
29. CHALLACOMBE SJ, RUSSELL NW. Estimation of intravascular half-lives of normal rhesus monkey IgG, IgA, and IgM. *Immunology*, 1979, 36 : 331.
30. CHEUNG ATW, KURLAND G, MILLER ME et al. Host defense deficiency. In : *Newborn nonhuman primate lungs*. *J Med Primatol*, 1986, 15 : 37.
31. CLARK EA, MARTIN PJ, HANSEN JA, LEDBETTER JA. Evolution of epitopes of human and nonhuman primate lymphocyte cell surface antigens. *Immunogenetics*, 1983, 18 : 599.
32. COSIMI AB, BURTON RC, KUNG RC et al. Evaluation in primate renal allograft recipients of monoclonal antibody to human T-cell subclasses. *Transplant Proc*, 1981, 13 : 499.
33. COTES PM, HOBBS KR, BANGHAM DR. Development of the immune response in the fetal and newborn rhesus monkey. *Immunology*, 1966, 11 : 185.
34. DALESANDRO DA, DAMIAN RT. Mitogenic responses of baboon peripheral blood mononuclear cells. A possible role for monocytes. *Vet Immunol Immunopathol*, 1985, 9 : 171.
35. DAMIAN RT, GREENE ND. The immunology of nonhuman primates. In : RN Fiennes, ed. *Pathology of Simian Primates*, Karger-Basel, 1972, p. 342.
36. DAWKINS K, HAVERICH A, DERBY GC et al. Long-term hemodynamics following combined heart and lung transplantation in primates. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1985, 89 (1) : 55.
37. DEINHARDT F, DEINHARDT J. Comparative aspects : oncogenic animal herpes virus. In : MA Epstein, BG Achong, eds. *The Epstein-Barr Virus*, Springer-Verlag, New York, 1979, p. 373.
38. DEINHARDT FW, FALK LA, WOLFE LG. Simian herpes virus and neoplasia. *Adv Cancer Res*, 1974, 19 : 167.
39. DEINHARDT F, PETERSON D, CROSS G et al. Hepatitis in marmosets. *Am J Med Sci*, 1975, 270 : 73.
40. DERSJANT H, BALNER H. The use of anti-lymphocytic serum in subhuman primates. Possibilities and complications. In : GP Murphy, ed. *Transplantation in Primates*, S. Karger, New York, p. 1.
41. DORF ME, BALNER H, DE GROOT ML, BENACERAF B. Histocompatibility-linked immune response genes in the rhesus monkey. *Transplant Proc*, 1974, 6 (2) : 119.
42. DRESSMAN GG, KENNEDY RC, KANDA P et al. In : M Gerard, G de The, L Valette eds. *Retroviruses of Human AIDS and Related Diseases*, Pasteur Vaccines, Paris, 1986, p. 175.
43. EICHBERG JW, MONTIEL MM, MORALE BA et al. Lymphocyte subsets in chimpanzees. *Lab Animal Sci*, 1988, 38 (2) : 197.
44. ELLINGSWORTH LR, OSBURN BI, HAYASHI LG, HOLMBERG CA. Characterization of rhesus macaque peripheral blood T lymphocyte subpopulations. *Vet Immunol Immunopathol*, 1983, 4 : 417.
45. FOLKS TM, CHUSED TM, PORTNOY D et al. Increased number of Leu-2 bearing non T-cells with natural killer activity in chimpanzees. *Cellular Immunol*, 1986, 97 : 164.
46. FULTZ PN, MCCLURE HM, ANDERSON DC et al. Isolation of a T lymphotropic retrovirus from naturally infected sooty mangabey monkeys (*Cercocebus atys*). *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83 : 5286.
47. GARVER JJ, ESTROP AM, MEERA-KHAN P et al. Evidence of similar organization of the MHC chromosomes in man and other primates. *Cytogenet Cell Genet*, 1980, 27 : 238.
48. GAUR LK, ANTONELLI P, CLARK EA, HANSEN JA. Evolution of HLA Class I epitopes defined by murine monoclonal antibodies : distribution in macaques. *Human Immunology*, 1986, 17 : 406.
49. GENGOZIAN N, KATELY JR, NICKERSON DA. Marmoset species variation in humoral antibody response : *in vivo* and *in vitro* studies. *Immunol*, 1978, 35 : 549.
50. GENGOZIAN N, LONGLEY RE, FILLER J, GOOD RA. Natural killer cells in the blood and bone marrow of the rhesus monkey. *Cellular Immunol*, 1986, 101 : 24.
51. GERRITSEN WR, WAGEMAKER G, JONKER M et al. The repopulation capacity of bone marrow grafts following pre-treatment with monoclonal antibodies against T

- lymphocytes in rhesus monkeys. *Transplantation*, 1988, 45 (2) : 301.
52. GIPHART MJ, TANK B, BRUNING JW, BALNER H. The major histocompatibility complex of rhesus monkeys VIII. Isolation and partial characterization of SD antigens. *Transplantation*, 1978, 25 : 131.
  53. GLEISER CA, CAREY KD, HEBERLING RL. Malignant lymphoma and Hodgkins disease in baboons (*Papio sp.*). *Lab Animal Sci*, 1984, 34 (3) : 266.
  54. GORE I, MASON MJ, BICE DE. Enumeration of lymphocyte subpopulations in bronchoalveolar lavage of monkeys using an immunoenzymatic staining technique. *Vet Immunol Immunopathol*, 1986, 13 : 347.
  55. GOTZE D. *In* : The MHC in Man and Animals. Springer-Verlag, Inc., New York, 1977.
  56. HARJULA A, BALDWIN JC, HOFFMAN AR et al. Comparative effect of cyclosporin A and G on weight gain of primates during the pubertal growth period. *J Heart Transplant*, 1987, 6 : 222.
  57. HARJULA A, BALDWIN JC, TAZELAAR HD et al. Minimal lung pathology in long-term primate survivors of heart-lung transplantation. *Transplantation*, 1987, 44 (6) : 852.
  58. HARVEY JS, FELSBURG PJ, HEBERLING RL et al. Immunologic competence in nonhuman primates : differences observed in 4 species. *Clin Exp Immunol*, 1974, 16 : 267.
  59. HAYNES BF, DOWELL BL, HENSLEY LL et al. Human T-cell antigen expression by primate T-cells. *Science*, 1982, 215 : 298.
  60. HEBERLING R. Nonhuman primates in viral oncology. *In* : SS Kalter, ed. *Viral and Immunological Diseases in Nonhuman Primates*, AR Liss, Inc., New York, 1983, p. 91.
  61. HENSLEY GT, FINK JN, BARBORIA K. Hypersensitivity pneumonitis in the monkey. *Arch Pathol*, 1974, 97 : 33.
  62. HOMA T, KANKI PJ, KING NW et al. Lymphoma in macaques : association with virus of human T lymphocyte family. *Science*, 1984, 225 : 716.
  63. HOOD L, STEINMIETZ M, MALISSEN B. Genes of the major histocompatibility complex of the mouse. *Ann Rev Immunol*, 1983, 1 : 529.
  64. HU SL, FULTZ PN, McCLURE HM et al. Effect of immunization with a vaccinia-HIV env recombinant on HIV infection of chimpanzees. *Nature*, 1987, 328 : 721.
  65. IVANYI P. Interspecies MHC relationships studied by serological and cellular cross reactions. *In* : RA Reisfield, S Ferrone, eds. *Current Trends in histocompatibility*, Plenum Press, New York, 1981, p. 133.
  66. JOHNSON DR. Immune function in marmosets : present state of relevant knowledge. *Digest Diseases Sci*, 1985, 30 (12) : 615.
  67. JONKER M. Immunosuppression by murine monoclonal antibodies : the rhesus monkey used for preclinical testing. *In* : JC Mani, J Dorn, eds. *Lymphocyte activation and differentiation*, Walter de Gruyter Co., New York, 1988, p. 865.
  68. JONKER M, BALNER H. Current knowledge of D/DR region of the major histocompatibility complex of rhesus monkeys and chimpanzees. *Hum Genet*, 1980, 1 (4) : 305.
  69. JONKER M, DEN BROK JHAM. Idiotype switching of CD4-specific monoclonal antibodies can prolong the therapeutic effectiveness in spite of host anti-mouse IgG antibodies. *Eur J Immunol*, 1987, 17 : 1547.
  70. JONKER M, GOLDSTEIN G, BALNER H. Effects of *in vivo* administration of monoclonal antibodies specific for human T-cell subpopulations on the immune system in a rhesus monkey model. *Transplantation*, 1983, 35 : 521.
  71. JONKER M, NEUHAUS P, ZURCHER C et al. OKT4 and OKT4A antibody treatment as immunosuppression for kidney transplantation in rhesus monkeys. *Transplantation*, 39 : 247.
  72. JONKER M, NOOJ FSM. The internal image-like anti-idiotypic response to a CD3-specific monoclonal antibody in primates is dependent on the T-cell binding properties of the injected antibodies. *Eur J Immunol*, 1987, 17 : 1519.
  73. JONKER M, VAN VREESWIJK W. The major histocompatibility complex of the rhesus monkey and the chimpanzee. *In* : *Immunobiology of the Major Histocompatibility Complex*, 7th Int Cong Immunol, Niagara Falls, New York, 1981, p. 224.
  74. JONKER M, WOOIJ FJM, VAN SUYLICHEN P et al. The influence of OKT8F treatment on allograft survival in rhesus monkeys. *Transplantation*, 1986, 41 : 431.
  75. KALTER SS. *Viral and Immunological Diseases in Nonhuman Primates*. Monographs in primatology, Volume 2. Alan Liss Co., New York, 1982.
  76. KALTER SS. *Primate Viruses : Their Significance in Viral and Immunological Diseases in Nonhuman Primates* (SS Kalter, ed.). AR Liss, Inc., New York, 1983, p. 67.
  77. KANNAGI M, CHALIFOUX LU, LORD CI, LETVIN NL. Suppression of simian immunodeficiency virus replication *in vitro* by CD8<sup>+</sup> lymphocytes. *J Immunol*, 1988, 140 : 2237.
  78. KEEVER CA, HEISE ER. The major histocompatibility complex of the cynomolgus monkey : absorption analysis of 24 CyLA antisera. *Human Immunology*, 1985, 12 (2) : 75.
  79. KELLER RH, CALVANICO NJ, STEVENS JO. Hypersensitivity pneumonitis in nonhuman primates : studies on the relationship of immunoregulation and disease activity. *J Immunol*, 1982, 128 : 116.
  80. KESSLER SW, VEMBY DF, BLACK AT. Large scale purification and characterization of CD34-positive hematopoietic progenitor cells. *Blood*, 1987, 70 : 321a.
  81. KING NW. Simian models of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). A Review. *Vet Pathol*, 1986, 23 : 345.
  82. KING FA, YARBROUGH CJ. *Physiologist*, 1985, 28 : 75.
  83. KING FA, YARBROUGH CJ, ANDERSON DC et al. *Primates*. *Science*, 1988, 240 : 1475-1482.
  84. KLEIN J, FIGUEROA RF, NAGY ZA. Genetics of the major histocompatibility complex : The Final Act. *Ann Rev Immunol*, 1983, 1 : 119.
  85. LETVIN NL, DANIEL MD, SEHGAL PK et al. Induction of AIDS-like disease in macaque monkeys with T-cell tropic retrovirus STLV-III. *Science*, 1985, 130 : 71.
  86. LETVIN NL, EPSTEIN MA, YETZ JM et al. Development of large granular lymphocytes in owl monkeys following EBV inoculation. *J Infectious Dis*, 1985, 156 (6) : 1352.
  87. LETVIN NL, KING NW, REINHERZ EL et al. T Lymphocyte surface antigens in primates. *Eur J Immunol*, 1983, 13 : 345.
  88. LETVIN NL, TODD RF, PALLEY LS et al. Conservation of myeloid surface antigens on primate granulocytes. *Blood*, 1983, 61 : 408.
  89. LILLY F. *National Cancer Institute Monograph*, 1966, 22 : 631.
  90. LUSSO P, MARKHAM PD, RANKI A et al. Cell mediated immune response toward viral envelope and core antigens in gibbon apes chronically infected with human

- immunodeficiency virus. *J Immunol*, 1988, *141* : 2467.
91. MALE D, CHAMPION B, COOKE A. In : *Advanced Immunology*, Gower Medical Publishing, New York, 1987.
  92. MARTIN LN, GORMUS BJ, BOZELKA BE. Functional analysis of monkey lymphocyte subsets defined by OKT4 and OKT8 monoclonal antibodies. *Cellular Immunol*, 1983, *77* : 338.
  93. MARTIN LN, LESLIE GA. Lymphocyte surface IgD and IgM in Macacca monkeys : ontogeny, tissue distribution and occurrence on individual lymphocytes. *Immunology*, 1977, *33* : 865.
  94. MAYER WE, JONKER M, KLEIN D et al. Nucleotide sequences of chimpanzee MHC Class I alleles : evidence for trans species mode of evolution. *EMBO Journal*, 1988, *7* : 2765.
  95. MAUL DH, MILLER CH, MARX PA et al. Immune defects in simian acquired immunodeficiency syndrome. *Vet Immunol Immunopathol*, 1985, *8* : 201.
  96. MCCLURE HM. Unpublished results.
  97. MCCLURE HM, BRODIE AR, ANDERSON PC, SWENSON RB. Bacterial infections of nonhuman primates : the road to self sustaining populations (K Benirschke, ed.). Springer-Verlag, New York, 1986, p. 531.
  98. MENDELOW B, GROBICKI M, DE LA HUNT M et al. Normal cellular and humoral immunologic parameters in the baboon (*Papio ursinus*) compared to human standards. *Lab Anim Sci*, 1980, *30* (6) : 1018.
  99. NIGAKI G. Mycotic Infections in Nonhuman Primates. In : K Benirschke, ed. *Primates : The Road to Self Sustaining Populations*, Springer-Verlag, New York, 1986, p. 557.
  100. MONROY RL, MACVITTIE TJ, DARDEN JH et al. The rhesus monkey : a primate model for hematopoietic stem cell studies. *Exp Hematol*, 1986, *14* : 904.
  101. MONTE-WICHER V, WICHER K, ARBESMAN CE. Comparative studies of monkey and human immunoglobulins. *Immunochemistry*, 1970, *7* : 839.
  102. MURAYAMA Y, FUKAO K, NOGUCHI A, TAKENAKA O. Epitope expression on primate lymphocyte surface antigens. *J Med Primatol*, 1986, *15* : 215.
  103. MURAYAMA Y, NOGUCHI A, TAKENADA O. Comparative study of mitogenic responses in man and Japanese monkeys (*Macacca fuscata*) ; responses of T-cell subsets, accessory cell dependency and interleukin 2 receptor expression. *J Med Primatol*, 1987, *16* : 373.
  104. NEEFE JR, ELLIS EB, ROGENTINE GN. Rhesus lymphocyte alloantigens III. Identification of new antigens. *Tissue Antigens*, 1975, *6* : 195.
  105. NEUHAUS P, BORLEFFS JCC, MARQUET RL, BALNER H. Results of kidney transplantation in rhesus monkeys treated with cyclosporin A and standard immunosuppression. *Transpl Proc*, 1982, *14* : 111.
  106. NICKERSON DA, GENGOZIAN N. Functional capabilities of marmoset T and B lymphocytes in primary *in vitro* antibody formation. *Cellular Immunol*, 1981, *57* : 408.
  107. NOOJ FSM, JONKER M, BALNER H. Differentiation antigens on rhesus monkey lymphocytes II : characterization of RhT3, a CD3 antigen on T-cells. *Eur J Immunol*, 1986, *16* : 981.
  108. O'NEILL PA, LEVY BM. Lymphocyte subsets in the young and aging marmoset (*Callithrix Jacchus*). *J Med Primatol*, 1986, *15* : 409.
  109. PARHAM P, BRODSKY FM. Anti HLA-ABC monoclonal antibodies with no alloantigenic specificity in humans define polymorphisms in other primate species. *Nature*, 1979, *279* : 639.
  110. PICUS J, ALDRICH WR, LETVIN NL. A naturally occurring bone marrow chimeric primate. *Transplantation*, 1985, *39* (3) : 297.
  111. PICUS J, HOLLEY K, ALDRICH WR et al. A naturally occurring bone marrow chimeric primate II. *J Exp Med*, 1985, *162* : 2035.
  112. POWELL JD, MCCLURE HM, ANDERSON D et al. Phenotypic and functional differences in NK and LAK cells in the peripheral blood of sooty mangabeys and rhesus macaques, 1989 (submitted for publication).
  113. QAZZAZ ST, MAMATTAH JHK, ASHCROFT T, MCFARLANE H. The development and nature of immune deficit in primates in response to malnutrition. *Brit J Exp Pathol*, 1981, *62* : 452.
  114. RAUM D, BALNER H, PETERSEN BH, ALPER CA. Genetic polymorphism of serum complement components in the chimpanzee. *Immunogenetics*, 1980, *10* : 455.
  115. ROITT IM, BROSTOFF J, MALE DK. In : *Immunology*, Gower Medical Publishing, New York, 1985.
  116. SADEGHI AM, ROBBINS RC, SMITH CR et al. Cardiac survival in baboons treated with cyclosporin in combination with conventional immunosuppression. *Transpl Proc*, 1987, *19* (1) : 1149.
  117. SAKAKIBARA I, SUGIMOTO Y, SASAGAWA A et al. Spontaneous malignant lymphoma in an african green monkey naturally infected with simian T lymphotropic virus. *J Med Primatol*, 1986, *15* : 311.
  118. SAMPSON D. The Role of the Primate in Hepatic Transplantation. In : GP Murphy, ed. *Transplantation in Primates*, S Karger, New York, 1972, p. 72.
  119. SANDUSKY GE, HORTON PJ, WIGHTMAN KA. Use of monoclonal antibodies to human lymphocytes to identify lymphocyte subsets in lymph nodes of the rhesus monkey and the dog. *J Med Primatol*, 1986, *15* : 441.
  120. SCHOOLEY RT, BYINGTON R, FALK LA. Phenotypic analysis of new world primate mononuclear cell surface antigens. *J Med Primatol*, 1983, *12* : 30.
  121. SCHUR PH, CONNELLY A, JONES TC. Phylogeny of complement components in nonhuman primates. *J Immunol*, 1975, *114* (1) : 270.
  122. SHAPIRO ME, KIRKMAN RL, REED MH et al. Monoclonal anti-IL-2 receptor antibody in primate renal transplantation. *Transplantation Proc*, 1987, *XIX* : 594.
  123. SIBLEY CG, AHLQUIST JE. *J Mol Evol*, 1987, *26* : 99.
  124. STASNEY J, HIGGINS GM. The bone marrow of the monkey. *Anat Rec*, 1936, *67* : 219.
  125. SUNDAR SK, LEVINE PH, ABLASHI DU et al. Epstein-Barr virus induced malignant lymphoma in a white-lipped marmoset. *Int J Cancer*, 1981, *27* : 107.
  126. SWITZER JW. Bone marrow composition in the adult rhesus monkey. *J Am Vet Med Assoc*, 1967, *155* (7) : 823.
  127. TATSUMI M, KOHASE M, YAMAZAKI S. Inhibitory effects of human interferons on lymphocyte proliferation induced by phytomitogens in cynomolgus monkeys. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1983, *72* : 316.
  128. TERAOKA K, ROSE LM, SACKETT GP, CLARK EA. Development of lymphocyte subsets in pig-tailed macaques. *Human Immunol*, 1988, *21* : 33.
  129. THOMAS JM, CARVER FM, HAYSCH CE et al. Suppressor cells in rhesus monkeys treated with antithymocyte globulin. *Transplantation*, 1982, *34* : 83.
  130. TODO S, UEDA Y, DEMETRIS JA et al. Immunosuppression of canine, monkey and baboon allografts by FK506 : with special reference to synergism with other drugs and tolerance induction. *Surgery*, 1988, *104* : 239.

131. TOFT JD. The Pathoparasitology of Nonhuman Primates. A Review in *Primates: The Road to Self Sustaining Populations*, (K Benirschke, ed.), Springer-Verlag, New York, 1986, p. 571.
132. TSUJIMOTO H, NODA Y, ISHIKAWA K et al. Development of adult T-cell leukemia-like disease in african green monkeys associated with clonal integration of simian T-cell leukemia virus I. *Cancer Res*, 1987, 47 : 269.
133. VAN BEKKUM DW. The rhesus monkey as a preclinical model for bone marrow transplantation. *Transplant Proc*, 1978, X (21) : 105.
134. VAN ES AA, BALNER H. The major histocompatibility complex of rhesus monkeys XII. Cellular typing for D locus antigens in families. *Tissue Antigens*, 1979, 13 : 239.
135. VAN ES AA, MARQUET RL, VAN VREESWIJK W et al. The influence of matching for RbLA (SD) antigens and of mixed lymphocyte reactivity on allograft survival in unrelated rhesus monkeys. *Transplant Proc*, 1977, 9 (1) : 257.
136. VOORMOLEN-KALOVA M, VAN DER BERG P, RADL J. Immunoglobulin levels as related to age in nonhuman primates in captivity, I. *J Med Primatol*, 1974, 3 : 343.
137. VOORMOLEN-KALOVA M, VAN DER BERG P, RADL J. Immunoglobulin levels as related to age in nonhuman primates in captivity, II. *J Med Primatol*, 1974, 3 : 335.
138. WALDMANN H, POPE H, BRENT L, BIGHOUSE K. Influence of the major histocompatibility complex on lymphocyte interactions in antibody formation. *Nature*, 1978, 274 : 166.
139. WILLIMAN UL, HANLON CR. Heart transplantation in primates. *Ann NY Acad Sci*, 1969, 162 (1) : 156.
140. WILSON BJ, PORTER G, KOCUARA H, LEO G. Rhesus monkey micro mixed lymphocyte and mitogen reactivity : optimal conditions and normal variability. *Primates*, 1978, 19 : 195.
141. WISLOCK GB. Observations on twinning in marmosets. *Am J Anat*, 1939, 64 : 445.
142. YAMAMOTO N, HINUMAY ZW, HAUSEN H et al. African green monkeys are infected with adult T-cell leukemia virus or a closely related agent. *Lancet*, 1983, i : 240.
143. ZARLING JM, EICHBERG JW, MORAN PA et al. Proliferative and cytotoxic T-cells to AIDS virus glycoproteins in chimpanzees immunized with a recombinant vaccinia virus expressing AIDS virus envelope glycoproteins. *J Immunol*, 1987, 139 (4) : 988.
144. ZIEGLER JB, ALPER CA, BALNER H. Properdin Factor B and histocompatibility loci linked in the rhesus monkey. *Nature*, 1975, 254 : 609.

C. Sa

Les g  
ensembl  
brane d  
génétiqu  
Chacun  
groupes  
peut rec  
groupes  
d'une p  
Kidd et

SYSTÈ  
Hh Se

Les a  
dans de

C. Salmon

## GROUPES SANGUINS DE L'HOMME

Les groupes sanguins du globule rouge sont des ensembles d'antigènes allotypiques de la membrane du globule rouge génétiquement induits et génétiquement indépendants les uns des autres. Chacun des ensembles définit un système de groupes sanguins, par exemple ABO ou Rh. On peut reconnaître deux grandes catégories parmi les groupes sanguins humains : ABO et ses associés d'une part et Rh et ses semblables (Kell, Duffy, Kidd et MNSs) d'autre part.

### SYSTÈME ABO ET SES ASSOCIÉS : Hh Sese ET LEWIS

Les antigènes du système ABO sont présents dans de très nombreux tissus ou organes, en

dehors du sang où ils ont été découverts. Il en est de même des antigènes produits par les systèmes Hh Sese et Lewis. De plus, les gènes correspondant à ces systèmes de groupes sanguins fonctionnent les uns à la suite des autres pour construire les extrémités N-terminales des molécules glycoprotéiques ou glycolipidiques qui sont produites sur la membrane des cellules, par exemple du globule rouge, ou bien sécrétées dans les liquides biologiques comme la salive. En réalité, les gènes *ABO*, *H*, *Se* et *Lewis* produisent des enzymes, des glycosyltransférases capables de transporter chacune un sucre particulier, ces unités s'accumulant ainsi les unes après les autres sur les chaînes glucidiques des glycoprotéines ou des glycolipides. Ces systèmes sont donc associés au système ABO dans le fonctionnement génétique de l'érythroblaste et des nombreuses autres cellules où ils travaillent ensemble.



## BIOCHIMIE GÉNÉTIQUE DES ANTIGÈNES ABH, LEWIS ET ASSOCIÉS

### Hydrolyse enzymatique des glycoprotéines salivaires

Des expériences déjà anciennes des biochimistes (depuis 1950) avaient montré qu'une même molécule de glycoprotéine de sécrétion, pouvait porter plusieurs spécificités de groupe A ou B, H, Lewis. Les premières substances de groupes sanguins qui ont été isolées étaient en effet des glycoprotéines de sécrétion. Il a été montré que l'on pouvait enlever *in vitro*, les unes après les autres, les spécificités de groupe d'une même molécule en faisant agir des glycosydases. Prenons par exemple la salive d'un sujet de groupe A, sécréteur de substance A, H, Lewis. La présence des antigènes signifie qu'il possède les gènes *A*, *Se* et *Le*.

Si l'on traite la molécule de glycoprotéine extraite de sa salive, par l'enzyme *NAC galactosaminidase*, on élimine la *NAC galactosamine*, sucre immunodominant pour l'antigène A, et on fait du même coup disparaître la spécificité A. On observe alors une nouvelle spécificité qui est H.

A l'aide d'un autre enzyme, la *2 $\alpha$ -L fucosidase*, on peut de même faire disparaître la spécificité H; on observe alors une spécificité résiduelle *Le<sup>a</sup>*.

Celle-ci peut à son tour être enlevée grâce à l'action d'une autre fucosidase : la *4 $\alpha$ -L fucosidase*. Ainsi, la spécificité Lewis est perdue et une spécificité de base apparaît qui est un disaccharide : *galactose 1-3 NAC glucosamine* (Gal 1-3 Glc NAc). Ce disaccharide est présent chez tous les êtres humains sous la forme : Gal 1-3 Glc NAc (chaîne de type 1) ou Gal 1-4 Glc NAc (chaîne de type 2). Ces expériences démontrent que l'antigène A est une N-acétylgalactosamine, l'antigène B un galactose, l'antigène H un *2 $\alpha$ -L fucose* et l'antigène Lewis (*Le<sup>a</sup>*), un *4 $\alpha$ -L fucose*.

### Biosynthèse des antigènes de groupes sanguins

Puisque les groupes sanguins ABO et associés sont des sucres ils ne peuvent être les produits primaires des gènes, ceux-ci ne sachant produire que des protéines. Cela a permis de comprendre que, dans les cellules vivantes, l'ordre des

Tableau 48-1 Les gènes et les enzymes des systèmes ABO, Hh Sese et Lewis.

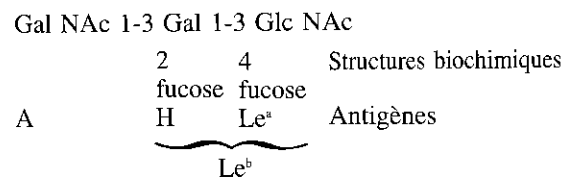
Gènes	Produits des gènes (enzymes)	Sucres immunodépendants
A	$\alpha$ -N-acétyl-D-galactosaminyl-transférase	N-acétylgalactosamine
B	$\alpha$ -D-galactosyltransférase	Galactose
H*	<i>2<math>\alpha</math>-L-fucosyltransférase</i>	Fucose
Se	<i>2<math>\alpha</math>-L-fucosyltransférase</i>	Fucose
Le	<i>4<math>\alpha</math>-L-fucosyltransférase</i>	Fucose

\* Le gène *H* est actif dans l'érythroblaste. Le gène *Se* dans la cellule muqueuse salivaire.

constructions devait être l'inverse de celui de la destruction des macromolécules *in vitro*. Cela démontrait que les gènes des groupes ABO et associés produisaient des glycosyltransférases spécifiques qui, ensuite, ont en effet été identifiées avec précision (Tableau 48-1).

### Dans la cellule des glandes salivaires

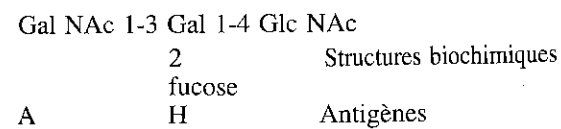
A partir de la spécificité de base Gal 1-3 Glc NAc (type 1), un gène *Le* accole un fucose au carbone 4 de la glucosamine et parallèlement, on sait maintenant que c'est le gène *Se* qui accole un autre fucose au carbone 2 du galactose terminal.



En l'absence du gène *Se*, il n'y aura pas de substance ABH dans la salive. Il est cependant désormais admis que dans la salive, à la fois le type 1 (Gal 1-3 Glc NAc) et le type 2 (Gal 1-4 Glc NAc) sont convertibles en substance H et, ensuite, en A ou B.

### Dans l'érythroblaste

A partir de la spécificité de base Gal 1-4 Glc NAc (type 2), un gène *H* accole un fucose au carbone 2 du galactose. Enfin, un gène *A* ou *B* accole au carbone 3 du galactose terminal, soit une *NAC galactosamine*, soit un galactose.



Les g  
product  
qui, les  
dernière  
ques de  
fiques

Ces a  
fonction  
indépen  
excellen  
fondam  
On rem  
particip  
tion de  
contrain  
product  
dans l'é  
final, p  
voies g  
somatic  
génom  
activités  
définitio

Les c  
Le la su  
gène *Se*  
génom  
solubles

L'éry  
des gly  
brane  
qu'inter  
est inad

Une  
*glycolip*  
plasma  
rouge.

L'éry  
process  
synthéti  
spécific  
plasma,  
y a d  
muqueu  
protéine  
Lewis  
molécul  
synthés  
« incon  
gènes  
spécific

## Diversité des cellules en cause

Les gènes de groupes sanguins sont donc des producteurs d'enzymes, les glycosyltransférases, qui, les unes à la suite des autres, construisent les dernières séquences des chaînes latérales glucidiques des glycoprotéines ou glycolipides spécifiques.

Ces analyses ont ainsi clairement démontré le fonctionnement synergique d'unités génétiques indépendantes, et ont fourni d'autre part une excellente définition du phénomène biologique fondamental qu'est la différenciation cellulaire. On remarque en effet que les gènes *Se* et *Le* participent dans la cellule muqueuse à l'élaboration de la spécificité immunologique, alors qu'au contraire ils ne participent nullement à celle de la production des antigènes de groupes sanguins dans l'érythroblaste. Ainsi, pour un même produit final, par exemple le groupe A, on observe deux voies génétiques différentes pour ces deux cellules somatiques différenciées : à partir d'un même génome, la différenciation a sélectionné des activités génétiques spécifiques, et ceci est sa définition même.

Les cellules muqueuses fabriquent par leur gène *Le* la substance Lewis, et grâce à l'intervention du gène *Se*, les substances H, puis A et/ou B selon le génome : ces antigènes sont des glycoprotéines solubles.

L'érythroblaste fabrique des glycoprotéines et des glycolipides ABH qui confèrent à la membrane le groupe sanguin ABO classique sans qu'intervienne le gène *Se*. Le gène *Le* également est inactif dans l'érythroblaste.

Une cellule non encore identifiée produit les glycolipides Lewis qui sont déversés dans le plasma et secondairement adsorbés sur le globule rouge.

L'érythroblaste adsorbe à sa surface, par un processus inconnu, des antigènes qu'il n'a pas synthétisés. Ce sont des glycosphingolipides à spécificité Lewis. Ces substances proviennent du plasma, mais on ignore quelle est la cellule qui les y a déversées. Ce ne peut être la cellule muqueuse, puisqu'elle ne fabrique que des glycoprotéines et non des glycolipides. Les phénotypes Lewis du globule rouge représentent donc des molécules fabriquées par une autre cellule. La synthèse de ces glycolipides dans la cellule « inconnue » s'effectue sous la dépendance des gènes de sécrétion *Se* et *Le*. En effet, les spécificités glycolipidiques ABH et Lewis plasma-

tiques sont remarquablement identiques à celles des glycoprotéines salivaires.

Beaucoup d'autres cellules de nos tissus ou organes fabriquent aussi des substances de groupes. Les techniques d'immunofluorescence ont permis la localisation histologique précise des substances de groupes ABH et Lewis, dans de nombreuses cellules, par exemple les lymphocytes, les cellules endothéliales des vaisseaux, les cellules rénales, les fibroblastes, etc.

Les substances ABH apparaissent très tôt au cours de l'embryogenèse dans de très nombreux tissus, et à partir du 3<sup>e</sup> mois de la vie embryonnaire, on constate qu'elles régressent, ne persistant que dans certains organes. Il est possible que leur rôle biologique se situe à ce moment de la différenciation des organes.

## LES PHÉNOTYPES COURANTS DU SYSTÈME ABO

Par convention, les phénotypes érythrocytaires du système ABO sont définis par le ou les antigènes présents sur les hématies. Ces antigènes sont révélés par l'agglutination des hématies par les anticorps correspondants. Il existe de façon constante dans le sérum des anticorps (dits naturels) correspondant à l'antigène absent du globule rouge.

Les phénotypes sont donc définis à la fois par l'antigène globulaire et l'anticorps sérique :

- les sujets A ont toujours un anticorps anti-B;
- les sujets B ont toujours un anticorps anti-A;
- les sujets O ont toujours des anticorps anti-A et anti-B;
- les sujets AB n'ont aucun anticorps : ni anti-A, ni anti-B.

Lors du groupage, ces deux épreuves : recherche de l'antigène (ou des antigènes) du globule rouge, recherche de l'anticorps (ou des anticorps) du sérum, doivent aboutir à une conclusion concordante qui définit le phénotype. Cette double détermination constitue une règle absolue pour le biologiste. Pour le groupage des globules rouges on dispose maintenant de réactifs préparés à partir d'anticorps monoclonaux de souris. Le tableau 48-II donne ces caractéristiques avec leur fréquence en France.

Les anticorps qui leur correspondent sont formés d'une manière spontanée. Ce sont des

Tableau 48-II Caractéristiques des groupes sanguins ABO avec leur fréquence en France.

Groupe sanguin	Antigène sur le GR	Anticorps dans le sérum	Fréquence en France (p. cent)
A	A	Anti-B	45
B	B	Anti-A	9
AB	A et B	Aucun	3
O	Aucun	Anti-A et anti-B	43

hétéro-anticorps. Ceci est dû au fait que les antigènes A et B sont aussi présents dans notre environnement, en particulier les bactéries de la flore intestinale normale. De ce fait, un sujet A rencontrera toujours l'antigène B, un sujet B l'antigène A, etc., et ils produiront « naturellement » des anticorps. Cependant, pour le système Lewis, les anticorps naturels n'apparaissent pas régulièrement, certains individus seulement parmi ceux qui n'ont pas le gène Lewis seront capables de produire un anticorps anti-Lewis.

L'existence de ces anticorps naturels aura une conséquence fondamentale pour les transfusions. Ces anticorps (anti-B chez un sujet A, par exemple) seraient à l'origine d'accidents par destruction des globules rouges dès la première transfusion si les globules rouges transfusés portaient l'antigène incompatible.

#### TRANSFUSION SANGUINE : LES RÈGLES DE COMPATIBILITÉ

L'importance du système ABO en matière de transfusion sanguine est essentielle, en raison de la présence constante de l'anticorps correspondant à l'antigène absent : en cas d'incompatibilité, l'accident est inévitable. La règle est donc de ne jamais transfuser de globules rouges correspondant à l'anticorps présent dans la circulation du receveur. En effet, cet anticorps se fixerait sur les hématies incompatibles et les hémolyserait.

#### LE SYSTÈME Rh ET SES « SEMBLABLES »

Les systèmes de groupes sanguins Rhésus et ses « semblables » : Kell, Duffy, Kidd et MNSs,

s'opposent sur ces points au système ABO et à ses associés.

Ces antigènes ne se retrouvent que sur le globule rouge et ces systèmes méritent donc bien leur nom de groupes sanguins.

Il n'y a pas d'anticorps naturels. Un individu qui n'a pas l'antigène Rh classique (D) et qui, de ce fait, est appelé Rh négatif, ne fabrique pas normalement d'anticorps anti-Rh, car il n'y a aucune raison qu'il ait été en contact avec des globules rouges Rh<sup>+</sup>. Par contre, si des globules rouges Rh<sup>+</sup> sont introduits dans son sang, il va reconnaître cet antigène, et pourra alors fabriquer un anticorps anti-Rh.

Les antigènes de ces systèmes sont responsables de l'allo-immunisation. Cette introduction de globules rouges étrangers peut se produire dans deux circonstances : la transfusion sanguine (il faudra donc éviter de transfuser un individu Rh négatif avec des globules rouges Rh positif), et la grossesse. En effet, à la fin de la grossesse, quelques globules rouges du fœtus peuvent traverser le placenta et s'introduire dans le sang de la mère : si celle-ci est Rh négatif et si le fœtus est Rh positif, l'antigène Rh porté par les globules rouges du fœtus sera reconnu comme étranger et déclenchera la réponse immunitaire maternelle. C'est l'équivalent d'une microtransfusion.

#### SYSTÈME Rh

L'antigène Rh et l'antigène LW : une confusion historique. Seul le terme de Rh doit être retenu. En constatant, dans le sérum d'une femme venant d'accoucher d'un enfant atteint de maladie hémolytique, la présence d'un anticorps agglutinant les globules rouges de son enfant, Ph. Levine démontra en 1939, la première allo-immunisation fœto-maternelle. Cet alloanticorps agglutine les globules rouges de 85 p. cent des individus de race blanche et définit ainsi un nouvel antigène de groupe érythrocytaire : Rh. L'appellation d'antigène « Rhésus » qui lui a été donnée résulte de travaux effectués l'année suivante par Landsteiner et Wiener qui, en injectant à un animal (lapin ou cobaye) des hématies de singe *Macacus Rhésus*, obtinrent un hétéroanticorps agglutinant les hématies de *Macacus Rhésus*, ainsi que la plupart des hématies humaines. Il se trouve que cet anticorps, convenablement dilué, n'agglutine plus que les hématies Rh<sup>+</sup> définies par l'alloanticorps de Levine.

Rh<sup>+</sup>  
Rh<sup>-</sup>

L'anti-  
mentale.  
responsa  
voie fœt  
sionnelle

L'anti-  
défini p  
l'injecti  
Rhésus,  
humaine  
moins, c  
dans les  
Rh négat  
importan

#### Phénot

On a  
hématies  
Rh des  
défini es  
par le gè  
France.  
hématies  
des fem  
le gène  
en Fran

Les d  
très simp  
gènes D  
système  
négatif  
contre,  
enfant R  
zygotes

Rh et  
observe  
d'antico  
transfusi  
négatif  
anticorps  
en cas de  
L'antigè  
immuno  
formatio  
négatif

	Anti-Rh	Anti-LW	Anti-LW dilué
Rh <sup>+</sup>	+	+++	+
Rh <sup>-</sup>	-	+	-

L'antigène Rh est d'une importance fondamentale en pathologie humaine, puisqu'il est responsable d'allo-immunisation provoquée par voie fœto-maternelle, et aussi par voie transfusionnelle.

L'antigène LW (pour Landsteiner-Wiener) défini par l'hétéroanticorps non dilué produit par l'injection à l'animal d'hématies de Macacus Rhésus, est présent dans toutes les hématies humaines, à de très rares exceptions près. Néanmoins, cet antigène est beaucoup plus abondant dans les hématies Rh positif que dans les hématies Rh négatif. Cependant, l'antigène LW n'a qu'une importance limitée.

### Phénotypes Rh standard

On appelle Rh positif les sujets dont les hématies sont agglutinées par l'alloanticorps anti-Rh des femmes enceintes, et l'antigène ainsi défini est par convention appelé D. Il est produit par le gène *D*; 85 p. cent d'individus sont Rh<sup>+</sup> en France. On appelle Rh négatif les sujets dont les hématies ne sont pas agglutinées par cet anticorps des femmes enceintes. Ces sujets ne possèdent pas le gène *D*; 15 p. cent d'individus sont Rh négatif en France.

Les deux phénotypes ainsi définis de manière très simple sont génétiquement transmis : les deux gènes *D* et *non D* (appelé aussi *d*) représentent un système allélique mendélien : des parents Rh négatif ont toujours des enfants Rh négatif. Par contre, des parents Rh positif peuvent avoir un enfant Rh négatif : il suffit qu'ils soient hétérozygotes *Dd*.

Rh et transfusion : contrairement à ce que l'on observe dans le système ABO, il n'existe pas d'anticorps anti-Rh naturel. Par contre, toute transfusion de sang Rh positif chez un sujet Rh négatif comporte un risque élevé d'apparition d'un anticorps immun anti-Rh qui serait très dangereux en cas de transfusion ultérieure de sang Rh positif. L'antigène Rh standard (*D*) est en effet tellement immunogène que la probabilité de provoquer la formation d'un anticorps chez un receveur Rh négatif est très grande, plus que pour tout autre

système. Ceci explique que la détermination du phénotype Rh standard fasse partie intégrante du groupage courant, et qu'il soit impératif de ne transfuser un receveur Rh négatif qu'avec du sang Rh négatif.

### Autres antigènes courants du système Rh

Après les sérums anti-Rh standard, d'autres anticorps révélant des déterminants antigéniques différents de *D* ont été mis en évidence chez des femmes enceintes ou les polytransfusés.

### Antigènes C et E

L'antigène C est présent chez 70 p. cent des individus, l'antigène E chez 30 p. cent. Les antigènes C et E ne sont pas distribués de manière équivalente chez les sujets Rh positif et les sujets Rh négatif; des associations sont observées entre *D*, *C* et *E* : ainsi, les antigènes C et E se rencontrent beaucoup plus souvent lorsque *D* est présent : il s'agit d'une relation statistique. Les réactions observées avec l'anti-*D*, l'anti-*C* et l'anti-*E* permettent de distinguer 5 subdivisions phénotypiques (Tableau 48-III).

Tableau 48-III Caractéristiques des groupes sanguins Rhésus avec leur fréquence en France.

Phénotypes	Réactifs			Fréquences approximatives (race blanche)
	anti-D	anti-C	anti-E	
Rh+	+	+ ou -	+ ou -	0,85
Rh-	-	-	-	0,15
rh'	-	+	-	0,01
rh''	-	-	+	0,02
rh'rh''	-	+	+	très faible

### Les antigènes c et e sont antithétiques de C et E

Il n'y a pratiquement jamais de réaction négative à la fois avec l'anti-*C* et l'anti-*c* ou l'anti-*E* et l'anti-*e* : *C* et *c*, *E* et *e* sont des antigènes antithétiques : si l'un est absent, l'autre est nécessairement présent. La théorie de Fisher et Race, dès 1945, a postulé l'existence de trois couples d'allèles étroitement liés : *D* ou *non D* (*d*) (il n'y a pas d'anticorps anti-*d*), *C* ou *c*, et *E* ou *e*. Ces trois loci, situés sur le chromosome 1,

forment un complexe génique ou « haplotype », qui se transmet en bloc lors de la méiose. Il s'agit ici d'une liaison génétique. Cet haplotype, en termes DCE, induit donc la formation sur la membrane du globule rouge, d'une combinaison spécifique de 3 antigènes. Chaque individu hérite de 2 haplotypes qui peuvent être identiques : l'individu sera homozygote, ou bien différents : l'individu sera hétérozygote.

Le tableau 48-IV indique les haplotypes les plus courants.

Tableau 48-IV Haplotypes Rh en DCE et R.

DCE	R <sup>1</sup>	dce	r
DcE	R <sup>2</sup>	dCe	r'
Dce	R <sup>0</sup>	dcE	r''
DCE	R <sup>z</sup>	dCE	r <sup>y</sup>

La biochimie de l'antigène Rh standard est maintenant connue : il est porté par un polypeptide non glycosylé de la membrane du globule rouge. L'antigène Rh standard est donc probablement un produit primaire du gène D.

En réalité, le système Rh est plus complexe qu'il ne peut apparaître dans ce texte : 44 antigènes sont identifiés, ainsi que des phénotypes exceptionnels dépourvus d'un fragment de l'antigène Rh standard et sont dits « Rh partiels ». De plus, d'autres sujets aussi exceptionnels n'ont pas d'antigènes C et c ou E et e. Enfin des sujets n'ayant aucun antigène Rh ont été identifiés et sont appelés Rh nul. Tous ces sujets peuvent donner lieu à des allo-immunisations transfusionnelles ou fœto-maternelles.

#### SYSTÈMES SEMBLABLES À Rh :

KELL, DUFFY, KIDD, MNSs

Les antigènes de ces systèmes sont cependant moins aptes à provoquer la formation d'anticorps chez les sujets qui en sont dépourvus. On dit qu'ils sont moins immunogènes. Les anticorps qui leur correspondent vont apparaître plus tardivement, et il faudra un plus grand nombre de transfusions ou de grossesses, ou la réunion de grossesses et de transfusions chez une femme pour les voir apparaître.

## AUTRES SYSTÈMES DE GROUPES SANGUINS DU GLOBULE ROUGE

Le globule rouge humain porte d'autres antigènes correspondant à d'autres systèmes de groupes sanguins; au total, plus de 20 systèmes, outre ceux qui ont été étudiés dans ce texte, sont maintenant identifiés, parmi lesquels on peut citer les systèmes suivants : Dombrock, Cartwright, Scianna, Diego, Xg, etc. Il ne s'agit pas de « sous-groupes » comme on l'écrit parfois. Au contraire, chacun d'entre eux exprime l'activité d'unités génétiques particulières, présentes chez chacun d'entre nous, et du point de vue biologique, ils ont le même intérêt que les systèmes déjà cités. Ces autres systèmes de groupes sanguins du globule rouge contribuent à la définition génétique de l'individu. Certains antigènes de groupes ont une très grande valeur anthropologique, par exemple : l'antigène Di<sup>a</sup> du système Diego, qui n'a été trouvé jusqu'à présent que dans les races mongoloïdes. Le système Xg présente un intérêt particulier pour la biologie humaine, puisqu'il est porté par le chromosome X. Les règles de son hérédité sont celles des caractères liés à l'X. Par exemple : pour un couple « homme Xg(a+) × femme Xg(a-) », les garçons dont le chromosome X est nécessairement d'origine maternelle sont Xg(a-), et les filles dont un chromosome X est nécessairement d'origine paternelle sont Xg(a+).

## CONCLUSION

Si l'on ajoute aux systèmes de groupes sanguins du globule rouge, les systèmes de groupes tissulaires, de protéines sériques et d'enzymes, chacun d'entre nous peut être identifié avec une précision telle qu'on ne puisse absolument pas le confondre avec un autre. Le calcul montre que le plus banal d'entre nous, à qui l'on aurait donné le phénotype le plus courant dans chacun des 25 ou 30 systèmes disponibles n'aurait qu'une chance sur un milliard de trouver son semblable dans une population donnée, par exemple la race blanche.

## BIBLIOGRAPHIE

SALMON CH. « Les groupes sanguins chez l'Homme », Revue du Palais de la Découverte, vol. 15, n° 149, 1987.

S. D

HIST

Le  
de l'o  
les ger  
ment  
seule  
connu  
tocène  
l'Antic  
la Mé  
Phénic  
C'est l  
dans la  
transp  
en Nou  
facteur  
considé  
lapins  
comme

S. Dubiski, L. Charpentier

## IMMUNOLOGIE DU LAPIN

### HISTOIRE NATURELLE

Le lapin appartient à la famille des léporidés, de l'ordre des lagomorphes. Cette famille inclut les genres *Sylvilagus* et *Lepus*, appelés communément lièvres et *Oryctolagus*, le lapin, avec une seule espèce *O. cuniculus*. Le plus ancien fossile connu d'*O. cuniculus* date du milieu du pléistocène et a été découvert en Espagne. Dans l'Antiquité, cette espèce existait sur les bords de la Méditerranée et a été transportée par les Phéniciens sur diverses îles méditerranéennes. C'est l'homme qui, plus tard, l'a aussi introduite dans la plupart des pays d'Europe de l'Ouest et transportée en Amérique du Sud, en Australie et en Nouvelle-Zélande. Au cours des siècles, deux facteurs principaux ont contribué à une réduction considérable du polymorphisme génétique des lapins domestiques : la domestication qui commença durant le Moyen Age, au sud de la

France et plus tard, l'industrialisation de l'élevage. Enfin, les épizooties de myxomatose qui, depuis 1949, ont déferlé régulièrement à travers l'Europe, ont décimé les populations sauvages, de façon répétée. Chaque fois, une nouvelle population s'est reconstituée à partir d'un noyau limité d'individus, sous la sévère pression de sélection d'une résistance accrue à la myxomatose.

Le fond génétique actuel des lapins domestiques et sauvages est donc le résultat d'événements combinés. La plupart du polymorphisme a été perdu dans les populations domestiquées, par comparaison à celles restées à l'état sauvage. De plus, le polymorphisme des lapins sauvages actuels n'est probablement qu'une partie de celui qui existait avant l'intervention de l'homme et de la myxomatose. Un des exemples les plus significatifs de cette évolution est celui du polymorphisme des immunoglobulines (Ig), un sujet revu et discuté par Cazenave et al. [4].

## IMMUNOLOGIE CELLULAIRE

Les connaissances relatives à l'immunologie du lapin stagnent loin derrière celles accumulées chez l'homme et la souris. Cependant, il n'y a aucune raison de suspecter que le lapin diffère radicalement de ces deux espèces et de n'importe quelle autre espèce animale. Les lymphocytes B et T portent respectivement « l'antigène lymphocytaire équivalent à la bourse » (RABELA pour « Rabbit Bursal Equivalent Lymphocyte Antigen ») et « l'antigène lymphocytaire équivalent au thymus » (RTLA pour « Rabbit Thymus Lymphocyte Antigen »). Ces antigènes sont détectés par un test de cytotoxicité dépendant du complément à l'aide d'antisérum de chèvre spécifiquement absorbé [5, 11]. Comme dans les autres espèces, les cellules T, positives pour l'antigène RTLA, peuvent être caractérisées par leur formation de rosettes E et leurs réponses à des stimulations *in vitro* par la concanavaleine A et la phytohémagglutinine [3]. Les cellules B, positives pour l'antigène RABELA, peuvent être activées *in vitro* par les mitogènes B. Elles portent à leur surface des immunoglobulines (sIg) et n'expriment pas les déterminants des lymphocytes T. Le thymus du lapin est constitué de 99 p. cent de cellules T et de plus ou moins 1 p. cent de cellules à sIg, positives pour l'antigène RABELA [12]. L'appendice semble être un organe lymphoïde majeur du lapin : il possède de nombreux centres germinatifs dans lesquels les cellules se divisent et se différencient [18]. Jusqu'à 20 p. cent des cellules B de l'appendice sont positives pour l'antigène RABELA et sIg négatives.

Un certain nombre d'anticorps monoclonaux ont été développés contre les cellules lymphoïdes du lapin. Ils réagissent avec certains déterminants qui sont présents sur les cellules T et B, avec des densités différentes [6]. Aucun anticorps monoclonal donnant une réaction semblable à celle des anticorps polyclonaux anti-RABELA ou anti-RTLA n'a été obtenu.

### ANTIGÈNES D'HISTOCOMPATIBILITÉ

A ce jour, l'étude la plus complète du système d'histocompatibilité du lapin a été effectuée par Carl Cohen [8]. Au cours des ans, il a montré

que, dans sa colonie, deux locus liés entre eux, RLA-A et RLA-D sont identifiables. Ils contrôlent respectivement des antigènes analogues à ceux du CMH de classes I et II des autres espèces. Cinq allèles d'antigènes de classe I et 4 de classe II, constituant cinq haplotypes RLA-A-D, ont été découverts dans sa colonie. Les deux classes d'antigènes sont détectables par des tests de cytotoxicité dépendant du complément. De plus, les antigènes RLA-D peuvent être mis en évidence par des cultures lymphocytaires mixtes unidirectionnelles.

L'effet de l'élevage en consanguinité sur la survie des greffes a révélé l'existence de locus mineurs d'histocompatibilité. L'accroissement de la consanguinité n'a apporté qu'une légère augmentation de la survie des greffes, indiquant soit un nombre élevé de locus d'histocompatibilité non RLA, soit une pression élevée de sélection pour l'hétérozygotie au cours de l'élevage consanguin.

Des études au niveau moléculaire [15] ont montré qu'il y avait approximativement, par haplotype, 8 à 13 gènes de classe I et au moins 5 gènes de classe II, correspondant à ceux appelés HLA-D dans l'espèce humaine. Il existe des indications permettant de dire que les séquences et les systèmes d'expression des gènes RLA sont similaires à leurs analogues humains, faisant du lapin un excellent modèle pour les études de génétique moléculaire du complexe majeur d'histocompatibilité.

Sa taille, la faisabilité et l'efficacité des prélèvements dans cette espèce et son élevage non consanguin font du lapin un excellent modèle pour les transplantations.

### ANTIGÈNES ÉRYTHROCYTAIRES

La plupart des données concernant les groupes sanguins du lapin sont dues aux travaux de Carl Cohen [7]. Les sept groupes sanguins connus sont répertoriés au tableau 49-I. Aucun anticorps naturel (analogue aux anti-A et anti-B humains) n'a été trouvé. Le système Hg est de loin le plus complexe. L'analyse la plus complète en Hg a été réalisée par Cohen, bien que deux antigènes de ce système aient été décrits par Levine et Landsteiner dès 1929 et, plus tard, redécouverts plusieurs fois

Tableau 49-I  
d'après [7].

Locus
Hg
Hb
Hc
He
Hh
Hq
Hu

par divers locus Hg contrôler antigène respectifs sont détectés anti-D, et sont sous et peuvent anti-P et catégorie, exprimés, raison de Cohen a s

Tableau 49-II

Génotype

A/A
A/D
A/F
A/N
D/D
D/F
D/N
F/F
F/N
N/N

\* Antigène c  
 a Les anticorps  
 aussi se com  
 b D/D et D/F

**Tableau 49-I** Les systèmes de groupes sanguins du lapin, d'après [7].

Locus	Allèles	Sérum de typage (Anti-)	Nombre de phénotypes
Hg	A, D, F, N	A, D, F, I, J, K, N, P, R, T, V, W	10
Hb	B, M	B, M	3
Hc	C, L	C, L	3
He	E, e	E	2
Hh	H, h	H	2
Hq	Q, S	Q, S	3
Hu	U, Y	U, Y	3

par divers chercheurs. Actuellement, 4 allèles du locus Hg ont été décrits, chacun semblant contrôler la présence ou l'absence de plus d'un antigène (Tableau 49-II). Quand leurs allèles respectifs sont présents, les 4 antigènes privés sont détectés par les réactifs spécifiques anti-A, anti-D, anti-F et anti-N. Les antigènes publics sont sous le contrôle de deux allèles indépendants et peuvent être détectés par des antisérums anti-K, anti-P et anti-R. Les antigènes de la troisième catégorie, les antigènes d'interaction, sont exprimés uniquement quand il existe une combinaison de deux allèles spécifiques au locus Hg. Cohen a suggéré que le produit du locus Hg est

composé d'au moins trois domaines, chacun d'entre eux étant capable d'induire un épitope spécifique. Les antigènes d'interactions seraient conformationnels.

## STRUCTURE ET ALLOTYPES DES IMMUNOGLOBULINES

Le phénomène de l'allotypie se rapporte au polymorphisme génétique détecté grâce à des différences de la structure antigénique des produits des gènes. Cette définition inclut le polymorphisme des antigènes d'histocompatibilité et des antigènes des globules rouges. Cependant, pour des raisons historiques, le terme allotypie est généralement et uniquement utilisé pour le polymorphisme des protéines sériques et, en particulier, des immunoglobulines. Les allotypes des Ig du lapin sont le plus souvent détectés en employant des antisérums homologues précipitants ou, parfois, par des techniques plus sensibles comme l'inhibition de l'hémagglutination passive, l'ELISA, etc.

Plusieurs séries d'allotypes du lapin ont été décrites. Ils peuvent être classés, suivant leur localisation, en allotypes des chaînes légères d'Ig, des parties variables des chaînes lourdes, des chaînes gamma, des chaînes mu, des chaînes

**Tableau 49-II** Le système Hg des groupes sanguins, d'après [7].

Génotype	Antigènes privés				Antigènes publics			Antigènes d'interaction				Phénotype	
	A	D	F	N	K	P	R	I	J <sup>a</sup>	T	V		W
A/A	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	A, P, R, W*
A/D	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	A, D, I*, J, K, N, P, R, T*, V*
A/F	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-	A, F, J*, K, P, R, T*
A/N	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	A, I*, J, K, N, P, R, T*, V*
D/D	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	D, J, K, N, R <sup>b</sup>
D/F	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	D, F, I, K, N, P, R, V*
D/N	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	D, J, K, N, R <sup>b</sup>
F/F	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	F, K, P
F/N	-	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	F, J, K, P, N, R, V*
N/N	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	J, K, N, R

\* Antigène d'interaction.

<sup>a</sup> Les anticorps anti-J détectent un antigène qui se comporte comme un antigène d'interaction dans les hétérozygotes A/F, mais aussi se comporte comme un antigène privé des allèles D ou N.

<sup>b</sup> D/D et D/N ne sont pas distinguables par des tests seuls.



Tableau 49-III Allotypes des immunoglobulines du lapin.

Groupe de liaison	Isotype ou type de la chaîne	Locus	Spécificité	Remarques
Chaîne kappa	$\kappa 1$ $\kappa 2$	<i>b</i> $\kappa 2$	b4, b5, b6, b9, bas bas1, bas2	bas est une mutation silencieuse de b9 $\kappa 2$ est seulement exprimé en présence du gène $\kappa 1$ -b <sup>bas</sup>
Chaîne lambda	$\lambda$	<i>c</i>	c7, c21	c7 et c21 sont contrôlés par des pseudo-allèles
Chaîne lourde	V <sub>H</sub> <sup>a</sup>	<i>a</i>	a1, a2, a3, ali	—
	V <sub>H</sub> ' non a'	<i>x</i>	x32, x32 <sup>-</sup>	—
	V <sub>H</sub> ' non a'	<i>y</i>	y30, y33, y <sup>-</sup>	contrôlés par des pseudo-allèles
	C <sub>H</sub> $\gamma$	<i>de</i>	d11, d12, e14, e15	simple substitution d'acide aminé en 225 (d) et en 309 (e)
	C <sub>H</sub> $\mu$ C <sub>H</sub> $\alpha$	<i>n (Ms)</i> <i>f</i>	n80 (Ms17), n81 (Ms16) f69, f70, f71, f72, f73	— les spécificités de la série f apparaissent sur les molécules appartenant à deux sous-classes d'IgA
		<i>g</i>	g74, g75, g76, g77	les spécificités de la série g apparaissent sur les molécules d'une troisième sous-classe d'IgA
Composant sécrétoire	CS	<i>t</i>	t61, t62, t63	—

alpha et du composant sécrétoire (Tableau 49-III). Des revues détaillées ont été publiées sur ce sujet [9, 10, 13, 19].

Les recherches sur l'allotypie des immunoglobulines du lapin ont non seulement fourni des marqueurs très utiles pour la plupart des fragments des Ig de lapin, mais ont été à la source de nombreux concepts concernant la structure des anticorps et leurs gènes. L'impact de ces études a été particulièrement marquant dans la découverte de la notion de la recombinaison V-D-J-C qui découle directement du concept « deux gènes-une chaîne d'Ig », développé en 1961, à la suite des travaux de Jacques Oudin et Charles Todd. Ces chercheurs découvrirent que des caractéristiques allotypiques spécifiques des régions variables des chaînes lourdes d'IgM ou d'IgG d'un même individu peuvent être identiques [17].

Les Ig du lapin et leurs allotypes ont plusieurs caractéristiques qui leur sont propres comme, par exemple, la présence de trois ponts disulfures intra-chaînes légères. Dans les autres espèces, chaque chaîne légère n'en a que deux; chez le lapin, toutes les chaînes kappa 1, quel que soit leur allotype, ont un pont disulfure supplémentaire, attachant les régions variables et constantes. Cette uniformité de structure, en dépit des différences allotypiques, est particulièrement remarquable, car des différences importantes existent

entre les allèles de chaînes légères, portant jusqu'à 47 acides aminés.

Les chaînes légères d'Ig de lapin peuvent être de trois (sous)types : kappa 1, kappa 2 et lambda. Les chaînes kappa 1 sont caractérisées par les allotypes b4, b5, b6 et b9. Le gène kappa 2, lié au gène kappa 1, est généralement exprimé à un degré très faible. Une mutation du gène b9 (*Basilea*), conduisant à une absence de production des chaînes kappa 1, a été décrite. En compensation de cette perte, les Ig porteuses des chaînes légères kappa 2 sont davantage synthétisées. Elles sont caractérisées par les allotypes bas1 et bas2. Les allotypes c7 et c21 sont situés dans les chaînes lambda; ils sont probablement contrôlés par des pseudo-allèles.

Phylogéniquement, les allotypes de chaînes légères ont évolué probablement à partir d'un ancêtre commun à *Oryctolagus*, *Lepus* et *Sylvilagus*, car ces allotypes sont présents dans les trois génomes. Il est cependant curieux de constater que des spécificités allotypiques qui sont le produit de différents allèles chez le lapin (et qui, de ce fait, ne peuvent apparaître que sur des molécules différentes), peuvent exister sur une même molécule dans les deux autres génomes (lièvres).

Les allotypes des chaînes lourdes forment un groupe important de liaison. Les produits des

allèles d'  
haplotyp  
qui appa  
de leur  
seuleme  
domesti  
lourdes  
variable  
premiers  
tous les  
d'un is  
régions  
lourdes  
c'est-à-d  
(sous-cl  
native,  
négatifs  
parenté  
Un var  
mutation  
*Basilea*  
tisent d  
lourdes  
semble  
négative

Les  
contrôlé  
possibil  
de la  
expressi  
pour le  
observé  
pas été  
allotype  
(prévu)  
non all  
contrôlé  
L'appar  
observé  
des allo  
gamma.

Des  
alpha sé  
lapin, il  
deux sé  
la série  
classes,  
troisièm  
d'épitop  
les port  
neuf ma  
f70, f71  
deux lo  
que les

allèles de ces six loci sont exprimés comme des haplotypes, c'est-à-dire des groupes d'allotypes qui apparaissent et sont transmis ensemble du fait de leur liaison. De tous les haplotypes possibles, seulement 13 ont été retrouvés chez le lapin domestique. Parmi les marqueurs de chaînes lourdes d'Ig, on doit distinguer ceux des parties variables et ceux des parties constantes. Les premiers sont communs aux chaînes lourdes de tous les isotypes, les seconds sont caractéristiques d'un isotype donné, c'est-à-dire  $\alpha$ ,  $\gamma$ ,  $\mu$ . Les régions variables de la majorité des chaînes lourdes portent les allotypes de la série *a*, c'est-à-dire *a*1, *a*2 et *a*3. Un faible pourcentage (sous-classe) de chaînes lourdes portent une alternative, c'est-à-dire des allotypes appelés « négatifs » (*x*32, *x*32-, *y*30, *y*32, *y*-). Leur parenté génétique avec la série *a* n'est pas claire. Un variant (*Alicia*), résultat possible d'une mutation, est probablement analogue à la mutation *Basilea* : les animaux homozygotes *ali/ali* synthétisent des taux anormalement bas de chaînes lourdes de la série *a*; la compensation de ce déficit semble être une production accrue de chaînes « négatives ».

Les allotypes de la série *a* semblent être contrôlés par une série de gènes alléliques, mais la possibilité d'un mécanisme au niveau du contrôle de la régulation n'a jamais été exclue : des expressions à bas niveau d'allotypes inattendus pour le génome connu d'un animal donné, ont été observées. Le mécanisme de ce phénomène n'a pas été élucidé. Il n'est pas impossible que les allotypes « latents » (imprévus) et « nominaux » (prévus) soient l'expression de gènes structuraux non alléliques et que cette expression soit contrôlée par des gènes alléliques de régulation. L'apparence d'allotypes latents a également été observée pour des spécificités de la série *b* et pour des allotypes de la partie constante de la chaîne gamma.

Des marqueurs  $C_H$ , les allotypes de la chaîne alpha sont, de loin, les plus complexes. Chez le lapin, il y a au moins trois sous-classes d'IgA et deux séries allotypiques, *f* et *g*. Les marqueurs de la série *f* apparaissent sur deux des trois sous-classes, les marqueurs de la série *g*, sur la troisième. Ces marqueurs sont composés d'épitopes allotypiques multiples, apparaissant sur les portions Fab ou Fc de la chaîne alpha. Il y a neuf marqueurs contrôlés aux loci *f* et *g* : *f*69, *f*70, *f*71, *f*72, *f*73, *g*74, *g*75, *g*76 et *g*77. Ces deux loci sont étroitement liés, de telle manière que les marqueurs *f* et *g* sont groupés en

haplotypes. Cinq sur les 20 haplotypes possibles ont été identifiés chez le lapin domestique.

Un polymorphisme génétique a aussi été décrit pour le composant sécrétoire, une glycoprotéine qui facilite le transport des molécules polymériques d'Ig (IgA dimérique ou IgM pentamérique) à travers certaines cellules. Les études de famille sont compatibles avec un système à trois allèles (*t*61, *t*62 et *t*63). Le composant sécrétoire apparaît sous deux formes moléculaires (avec un poids moléculaire bas ou élevé), qui diffèrent par la délétion interne d'une partie de la chaîne. Une microhétérogénéité existe à l'intérieur de chaque espèce moléculaire apparemment en relation avec les variations allotypiques. Il a été montré que les molécules d'IgA-g sont seulement associées au composant sécrétoire par des liens non covalents, tandis que les IgA-f le sont de façon covalente.

Le polymorphisme génétique des chaînes lourdes autres qu'alpha est relativement simple. Chaque marqueur  $C\gamma$ , *d*11, *d*12, *e*14 et *e*15, correspond à une simple substitution (méthionine en thréonine, en position 225 pour *d*11-*d*12 et thréonine-alanine en position 309 pour *e*14-*e*15, respectivement). Deux marqueurs alléliques de la région  $C\mu$ , *n*80 et *n*81 (appelés aussi *Ms*17 et *Ms*16, respectivement) ont été décrits.

Les interactions entre les chaînes lourdes et légères peuvent donner naissance à une autre catégorie de spécificités allotypiques. La nature conformationnelle de ces épitopes a été confirmée par des expériences dans lesquelles la réassociation de chaînes isolées lourdes et légères d'allotypes donnés a créé de nouveaux déterminants. Des résultats, un peu plus compliqués, ont montré que de nouveaux épitopes peuvent apparaître à la suite d'interactions entre les portions constantes et variables des chaînes  $\mu$ . Les spécificités de ces déterminants dépendent des allotypes des deux fragments, constants et variables, de la chaîne  $\mu$ .

Comme cela a déjà été mentionné, le lapin domestique est beaucoup plus homogène au niveau de son génome que son homologue sauvage. C'est aussi vrai au niveau des allotypes d'Ig. Un certain nombre de spécificités aussi bien dans la série *a* que dans la *b* n'ont été décrites que chez le lapin sauvage. Les allotypes dans ces séries correspondent à de multiples substitutions en acides aminés, de telle sorte que différents degrés de similitude antigénique existent entre les allotypes de chaque série.

Les études génétiques de populations relatives aux allotypes d'Ig suggèrent de façon évidente

que la diversité structurale allélique est le résultat d'une adaptation évolutive et que les forces de sélection sur les allotypes des Ig sont très élevées. Cependant, jusqu'à présent, aucune indication n'est donnée sur la nature de ces forces ou sur les mécanismes par lesquels les associations de certains allèles d'Ig peuvent influencer la viabilité.

## TRANSFERT MÈRE-ENFANT DES IMMUNOGLOBULINES

Dans chaque espèce de mammifères, il existe des mécanismes par lesquels l'animal nouveau-né reçoit des anticorps produits par sa mère [1]. Le transfert transplacentaire peut permettre le passage d'IgG; le passage d'IgG et d'IgA peut s'effectuer par le colostrum et la muqueuse intestinale du nouveau-né. Chez le lapin, une voie particulière existe, par laquelle les immunoglobulines sont transférées par l'intermédiaire de la splanchnopleure du sac vitellin [2]. Cette voie permet non seulement le passage des IgG, mais également des molécules d'IgM. Son efficacité relative est démontrée par les taux élevés d'IgM maternelles dans le sérum des nouveau-nés (48 p. cent de la valeur de l'adulte) [16].

## COMPLÉMENT

Chez le lapin, plusieurs composants du complément ont été caractérisés : C4, C3, C5, C6, C8, C9 et P. Un polymorphisme C3 et C6 ainsi que des déficiences en C3, C6 et C8 ont été décrits [14]. La déficience en C8 affecte la synthèse des chaînes C8 $\alpha$ - $\gamma$  qui sont liées de façon covalente l'une à l'autre et de manière non covalente à la chaîne C8 $\beta$ . La déficience C8 $\alpha$ - $\gamma$ , dont le gène unique est autosomal récessif (fréquence >0,005), affecte non seulement les niveaux de C8 $\alpha$ - $\gamma$ , mais également le taux de survie, le poids corporel (nanisme) et la taille des portées. Les homozygotes déficients en C8 $\alpha$ - $\gamma$  présentent plusieurs défauts physiques et fonctionnels : paresse, déformation des os longs et de la colonne vertébrale, œdème des paupières et poil piqué. Leurs fèces molles adhèrent souvent à leur fourrure en région anale, formant des masses fécales. Ils ont des

thymus plus petits mais des réponses immunes humorales normales; leurs réactions d'hypersensibilités retardées sont augmentées.

Il est admis que le nanisme observé chez les sujets déficients en C8 $\alpha$ - $\gamma$  est un effet combiné d'un gène « nain » discret lié au locus de déficience C8 $\alpha$ - $\gamma$  et d'un effet pléiotropique du gène C8 $\alpha$ - $\gamma$  lui-même.

Les homozygotes déficients en C3 possèdent seulement 10 p. cent de l'activité normale du complément. Au niveau moléculaire, ils ont des taux insuffisants du composant majeur C3 identifié par électrofocalisation en gel d'agarose (pI 6,2), mais ils ont des taux normaux du composant mineur (pI 6,5). Le gène « taux bas de C3 » est lié au locus C8 $\alpha$ - $\gamma$  (à 17 centimorgans).

Au locus C6, deux allèles normaux et un allèle déficient ont été décrits dans plusieurs souches non apparentées. L'allèle déficient est un gène simple autosomal d'une fréquence d'au moins 0,003. Le défaut affecte non seulement la séquence du complément, mais conduit également à une augmentation du temps de coagulation et à une diminution de la consommation de prothrombine.

## BIBLIOGRAPHIE

- BRAMBELL FWR. The transmission of passive immunity from mother to young, Amsterdam, North Holland, 1970, 385 pages.
- BRAMBELL FWR, HEMMINGS WA, HENDERSON M et al. The selective admission of antibodies to the fetus by the yolk-sac splanchnopleur in rabbits. *Proc Roy Soc Lond (Biol)*, 1950, 137 : 239.
- BONA C, CINADER B, DUBISKI S. Cellular immunology of the rabbit. *Ann Immunol (Paris)*, 1977, 128 : 571-598.
- CAZENAVE PA, BENAMMAR A, SOGN JA et al. Immunoglobulin genes in the feral rabbit. *In* : S Dubiski. *The Rabbit in Contemporary Immunological Research*, Longman Scientific & Technical, 1987, 148-163.
- CHOU CT, CINADER B, DUBISKI S. A membrane antigen of rabbit bursal equivalent cells. *Cell Immunol*, 1977, 28 : 334-340.
- CINADER B, DUBISKI S, CHOU CT et al. Fluorescence activated cell sorter (FACS) analysis of rabbit cells. *Cell Immunol*, 1988, 112 : 293.
- COHEN C. Erythrocyte antigens. *In* : S Dubiski. *The Rabbit in Contemporary Immunological Research*, Longman Scientific & Technical, 1987, 1-12.
- COHEN C. Histocompatibility and transplantation. *In* : S Dubiski. *The Rabbit in Contemporary Immunological Research*, Burnt Mill, Longman Scientific & Technical, 1987, 13-26.
- DUBISKI S. Genetics and regulation of immunoglobulin allotypes. *Med Clin North Am*, 1972, 56 : 557-575.
- DUBISKI S. *The Rabbit in Contemporary Immunological Research*, Burnt Mill, Longman Scientific & Technical, 1987, 206 pages.

- FRADELIN antigen 484-501.
- JENTZ P. synthesis 275-282.
- KELUS A. experime
- KOMATS ment cor porary I Scientifi
- REBIERE

11. FRADELIZI DP, CHOU CT, CINADER B et al. A membrane antigen of rabbit thymus cells. *Cell Immunol*, 1973, 7 : 484-501.
12. JENTZ P, CHOU CT, SZYMANSKA I et al. Immunoglobulin synthesis by thymus B cells. *Immunology*, 1979, 38 : 275-282.
13. KELUS AS, GELL PGH. Immunoglobulin allotypes of experimental animals. *Prog Allergy*, 1967, 11 : 141.
14. KOMATSU M. Polymorphism and deficiencies of complement components. *In* : S Dubiski. *The Rabbit in Contemporary Immunological Research*, Burnt Mill, Longman Scientific & Technical, 1987, 148-163.
15. REBIERE MC, MARCHE PN, LE GUERN C et al. Molecular studies of the rabbit major histocompatibility complex. *In* : S Dubiski. *The Rabbit in Contemporary Immunological Research*, Burnt Mill, Longman Scientific & Technical, 1987, 42-64.
16. SHEK PN, DUBISKI S. Maternal-fetal transfer of normal IgM in the rabbit. *Immunology*, 1975, 29 : 365-369.
17. TODD CW. Allotypy in rabbit 19S protein. *Biochem Biophys Res Commun*, 1963, 11 : 170-175.
18. WAKSMAN BH, OZER H, BLYTHMAN HE. Appendix and the  $\gamma$ M-antibody formation. VI. The junctional anatomy of the rabbit appendix. *Lab Invest* 1976, 28 : 614-626.
19. ZALESKI MB, DUBISKI S, NILES EG et al. *Immunogenetics*. Boston, Pitman, 1983, 514 pages.

# **IMMUNOLOGIE DES RONGEURS**

## **LA SOURIS**

**M. Dardenne, H. Bazin, X. Montagutelli,  
J.L. Guenet**

La souris est l'animal de laboratoire le plus employé en immunologie. Les données accumulées dans cette espèce sont très considérables et permettent l'analyse la mieux documentée des phénomènes observés. Cependant, dans certains domaines, les mécanismes immunologiques sont mieux connus chez l'homme que chez la souris.

L'immunologie de la souris ayant déjà fait l'objet de descriptions approfondies dans plusieurs chapitres de cet ouvrage, seules seront présentées ici des données synthétiques et quelques informations complémentaires.

## *LIGNÉES DE SOURIS*

Il existe un nombre très important de lignées consanguines de souris, dont certaines présentent des caractéristiques originales qui en font des modèles d'études de phénomènes particuliers (auto-immunité, réponses immunes vis-à-vis d'antigènes, tumeurs spontanées du système lymphoïde, etc.). Des listes peuvent être consultées dans Altman and Katz [1], Festing [7], Lyon et Searle [13] ou en s'adressant au « Jackson Laboratory, Bar Harbour, Maine 04609, USA » qui possède la plus grande collection de lignées de souris et de mutations dans cette espèce.

## *COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ*

Le complexe majeur d'histocompatibilité ayant été décrit au chapitre 7, nous renvoyons le lecteur à celui-ci.

Tableau 50-I Propriétés physicochimiques des immunoglobulines de la souris.

Classes ou isotypes Sous-classes	IgM	IgD	IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3	IgE	IgA
Chaînes lourdes	mu	delta	(2H+2L)	gamma-1	gamma-2a	gamma-2b	gamma-3	epsilon	alpha
Poids moléculaire de la chaîne lourde (kd)	70	62	(2H+2L)	50	50	50	60	72	55
Chaînes légères				95 p. cent de chaînes kappa pour 5 p. cent de chaînes lambda					
Formule chimique	(2H+2L) <sub>5</sub> , J	(2H+2L)	(2H+2L)					(2H+2L)	(2H+2L) ou (2H+2L) <sub>2</sub> , J, CS
Poids moléculaire de la molécule (kd)	900	180	150					187	160 à 400
Constante de sédimentation	19	7-8	6-7					8,2	7 à 13

H : chaîne lourde; L : chaîne légère; J : pièce de jonction; CS : composant sécrétoire.  
Références : [10, 16].

Tableau 50-II Propriétés biologiques des immunoglobulines de la souris.

Classes ou isotypes Sous-classes	IgM	IgD	IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG3	IgE	IgA
Concentrations sériques (ng/ml)									
adulte	0,2	<0,001		0,5-2,5	0,4-1,5	0,2-0,6	0,1-0,2	0,001	0,4-1,3
BALB/c 2 mois	2	-		0,9	0,4	0,2	-	-	0,45
BALB/c 8 mois	2	-		1,9	1,5	0,6	-	-	1,3
Demi-vie (jours)	0,5	-		4,0	5,4	2,5	4,0	0,5	1,3
Attachement aux macrophages	-	-		+	+	+	+	+	-
Adhérence au récepteur placentaire	-	-		+	+	+	-	-	-
Fixation du complément	+	-		+	+	+	+	-	+(VA)*
Attachement à la protéine A (p. cent)	14 et 29**	0		99,8	100	100	100	0	0 à 3
				(a pH 8,1)					

\* Voie alterne.

\*\* S'accroche peu ou pas à la protéine A-Séparose.

Références : [2, 6, 12, 16, 18].

Che  
d'imm  
sées e  
IgG3.  
été ré  
l'analy  
thétisé  
souris  
IgD o  
physic  
des Ig  
présen  
lymph  
ment +  
Les  
propri  
immu

Princ  
de di  
T et

L'an  
est pré  
présen  
l'épidé  
moléc  
queme  
allèles  
Thy-1  
souché

L'an  
les th  
contrô  
chrom  
du con  
retrou  
leucém  
Leuke

L'an  
Thy-1  
abond  
les cel  
L'an  
surface

**IMMUNOGLOBULINES**

Chez la souris, il existe 5 isotypes principaux d'immunoglobulines. Les IgG peuvent être divisées en quatre sous-classes IgG1, IgG2a, IgG2b et IgG3. L'identification de ces immunoglobulines a été réalisée durant les années soixante, grâce à l'analyse d'immunoglobulines monoclonales synthétisées par des plasmocytomes induits chez la souris BALB/c [4, 5, 6, 8]. Seules les IgE et les IgD ont été découvertes grâce à leurs propriétés physiologiques très particulières : l'attachement des IgE à la surface des mastocytes [17] et la présence d'IgD sur la membrane de la plupart des lymphocytes B, deux données acquises antérieurement chez l'homme.

Les tableaux 50-I et 50-II donnent quelques propriétés physicochimiques et biologiques de ces immunoglobulines.

**LYMPHOCYTES**

**Principaux antigènes de différenciation des cellules T et B chez la souris**

**L'antigène Thy-1** (anciennement appelé thêta) est présent sur toutes les cellules T. Il est aussi présent sur certaines cellules du cerveau et l'épiderme. C'est une glycoprotéine d'un poids moléculaire de 25 kd dont l'expression est génétiquement déterminée par un locus comportant deux allèles, Thy-1.1 présent chez la souris AKR et Thy-1.2, présent chez la plupart des autres souches de souris.

**L'antigène TL** est exclusivement exprimé sur les thymocytes corticaux. Il est génétiquement contrôlé par quatre gènes situés au locus TL sur le chromosome 17, près de l'extrémité télomérique du complexe H-2. L'antigène TL est également retrouvé à la surface des cellules de certaines leucémies de la souris d'où son nom « Thymus Leukemia antigen » (TLa).

**L'antigène Lyt-1** est présent, comme l'antigène Thy-1, sur la totalité des cellules T mais plus abondant sur les cellules T périphériques que sur les cellules T auxiliaires (L3T4<sup>+</sup>).

L'antigène Lyt-1 est également présent à la surface d'une sous-population de cellules B.

**L'antigène Lyt-2** est présent sur la majorité des thymocytes corticaux, sur la fraction L3T4<sup>-</sup> des thymocytes médullaires et sur 30 p. cent des cellules T périphériques, en majorité de type suppresseur ou cytotoxique, qui reconnaissent les antigènes d'histocompatibilité de classe I. Il définit la population CD8<sup>+</sup>, complémentaire de la population CD4<sup>+</sup> définie par l'antigène L3T4. Son poids moléculaire est de 35 kd.

**L'antigène L3T4** est un xénoantigène de différenciation des cellules T, de poids moléculaire de 49 kd, exprimé sur tous les thymocytes corticaux, sur une fraction importante de thymocytes médullaires et 60 p. cent de cellules T périphériques dont il définit une population majeure CD4<sup>+</sup>, en majorité de type inducteur ou auxiliaire, reconnaissant les antigènes d'histocompatibilité de classe II. Cet antigène se retrouve aussi sur certaines cellules du cerveau [3].

**Des antigènes de différenciation** ont également été décrits sur les cellules B (Lyb-1 à Lyb-5). Les alloantigènes Lyb-3 et Lyb-5 sont présents seulement sur les cellules B mûres.

La répartition des cellules B et T chez la souris, étudiée par ces marqueurs est représentée aux tableaux 50-III et 50-IV.

**Tableau 50-III** Principaux antigènes de différenciation des lymphocytes T chez la souris.

Classe de différenciation	Nom	Poids moléculaire	Populations lymphocytaires
—	Thy-1	12,25 kd	Toutes les cellules T
CD1	TL	45 kd	Thymocytes corticaux
CD4	L3T4	55-62 kd	Thymocytes corticaux Cellules T périphériques Lyt-2 <sup>-</sup>
CD5	Lyt-1	67 kd	Toutes les cellules T
CD8	Lyt-2	35 kd	Thymocytes corticaux Cellules T périphériques L3T4 <sup>-</sup>

**Tableau 50-IV** Répartition des cellules B et T étudiées par quelques marqueurs chez la souris.

	Thy-1	L3T4	Lyt-2	Igs
Thymus	>95	>90	>90	<2
Ganglions	75-80	45-50	30-35	20-25
Rate	30-40	20-25	12-16	60-65
Moelle osseuse	<5	<5	<5	10-15

\* Voie alternée.  
 \*\* S'accroche peu ou pas à la protéine A-Séparose.  
 Références : [2, 6, 12, 16, 18].

### Maturation intrathymique des cellules T chez la souris

On peut distinguer quatre régions à l'intérieur du thymus : la région sous-capsulaire contenant les cellules les plus immatures, le cortex qui contient la majorité des thymocytes qui prolifèrent, la jonction sous-capsulaire, et la médullaire qui contient relativement peu de cellules; toutefois, les cellules de cette dernière région expriment les marqueurs de surface des cellules T mûres. Chez la souris, les cellules-souches lymphoïdes ou les cellules pré-T, déjà prédéterminées à entrer dans la lignée T, pénètrent dans le cortex thymique, dépourvues des deux antigènes CD4 et CD8 (on dit qu'elles sont double-négatives). Elles acquièrent rapidement ces deux antigènes (elles sont alors double-positives) et vont donner naissance à deux populations complémentaires  $CD4^+ CD8^-$  et  $CD4^- CD8^+$  qui représentent les formes différenciées sous lesquelles les cellules T quittent le thymus. Parallèlement, les cellules T acquièrent le récepteur pour l'antigène ainsi que la molécule CD3 [14]. On suppose que les thymocytes corticaux migrent vers la médullaire avant de quitter le thymus; cependant, un certain nombre de thymocytes corticaux sont reconnus par un anticorps monoclonal (MEL14). Cet anticorps reconnaît à la surface du thymocyte un récepteur impliqué dans la colonisation des organes lymphoïdes par les cellules T, ce qui impliquerait que les thymocytes corticaux et médullaires sont tous deux capables de migrer vers les organes lymphoïdes périphériques [9, 11, 15].

### Expression du récepteur des cellules T chez la souris

Le récepteur T est une glycoprotéine hétérodimérique d'un poids moléculaire de 90 kd constitué d'une chaîne  $\alpha$  et d'une chaîne  $\beta$ , reliées par un pont disulfure. Dans les thymocytes de souris, après réarrangement des gènes codant pour les chaînes  $\beta$  et  $\alpha$ , les ARN sont exprimés entre le 14<sup>e</sup> et le 16<sup>e</sup> jour de la vie fœtale (la chaîne  $\beta$  apparaissant la première, dès le 14<sup>e</sup> jour). Le récepteur T avec une chaîne  $\alpha$  et  $\beta$  est décelable au 17<sup>e</sup> jour à la surface des thymocytes fœtaux.

Cet hétérodimère assure la reconnaissance de l'antigène. Une autre structure est responsable de la transduction d'un signal d'activation à l'intérieur de la cellule, déclenchant la fonction effectrice. Cette structure est appelée Ti chez la souris.

C'est l'équivalent du complexe CD3 chez l'homme. Il existe un autre récepteur qui est composé d'un hétérodimère de chaînes  $\gamma$  et  $\delta$ , lié au même complexe, équivalent au CD3 humain. Les lymphocytes T qui expriment ce récepteur forment une sous-population minoritaire souvent associée à des structures épithéliales.

## ORGANES LYMPHOÏDES

### Thymus

Le thymus est constitué initialement par une ébauche endo-ectodermique colonisée ultérieurement par des cellules précurseurs venant de la moelle osseuse. L'ébauche endo-ectodermique va donner le stroma épithélial thymique, alors que les cellules de la moelle osseuse vont se différencier en lymphocytes et en cellules accessoires qui sont les macrophages et les cellules interdigitées. Macroscopiquement, le thymus est constitué de deux lobes reposant sur le péricarde, à la naissance des gros vaisseaux. Sur les coupes, deux zones distinctes sont visibles : une zone corticale très dense, riche en cellules lymphoïdes et une zone médullaire claire, contenant peu de cellules lymphoïdes (Fig. 50-1).

Le stroma épithélial constitue un réseau cellulaire lâche dans la zone corticale enserrant de nombreux lymphocytes. Dans la médulla, le réseau épithélial est plus dense, les cellules sont plus grandes et largement accolées. La présence de tonofilaments dans le cytoplasme des cellules et de desmosomes liant leurs membranes permet



Figure 50-1 Coupe de thymus montrant l'organisation lobulaire. Dans les lobules, on reconnaît deux zones : le cortex externe, très riche en lymphocytes immatures et une médulla centrale contenant des lymphocytes plus mûres.

de les  
corpus  
et cor  
épithél  
nisées,

Les  
thymiq  
dans la  
très lo  
lympho  
leur st  
nombre  
Birbec  
cellule  
chez l  
dans t

Les  
distinct  
sous l  
immat  
tion et  
reste d  
médial  
mourir  
termin  
Le cor  
ques. L  
( $CD4^+$   
périph

### Rate

Con  
unique  
cellule  
structu  
réseau  
étant t  
spléni  
phoïde  
se ran  
jettent  
cordon  
pulpe  
rouge  
d'écha

La p  
réseau  
sont m  
laire  
zones  
pulpe  
dite,



D3 chez  
r qui est  
y et  $\delta$ , lié  
humain.  
récepteur  
souvent

par une  
ultérieure-  
ant de la  
mique va  
rs que les  
fférencier  
s qui sont  
rdigitées.  
stitué de  
à la nais-  
pes, deux  
corticale  
es et une  
e cellules

eau cellu-  
errant de  
dulla, le  
lules sont  
présence  
s cellules  
es permet

organisation  
es : le cortex  
une médulla

de les caractériser en cellules épithéliales. Les corpuscules de Hassal, localisés dans la médulla et constitués de la superposition de cellules épithéliales dont les plus centrales sont kératinisées, sont rares et petits chez la souris.

Les cellules accessoires complètent le stroma thymique. Les cellules interdigitées sont localisées dans la médulla. Ce sont des cellules ayant de très longs prolongements qui s'insinuent entre les lymphocytes et les cellules épithéliales et qui, par leur structure, ont des contacts étroits avec de nombreuses autres cellules. Les granules de Birbeck, qui permettent de caractériser certaines cellules chez l'homme et chez le rat, sont absents chez la souris. Les macrophages sont présents dans tous les compartiments.

Les lymphocytes. Dans le cortex, deux zones distinctes peuvent être décrites. Une zone étroite, sous la capsule, contient les cellules les plus immatures ( $CD4^- CD8^-$ ), qui sont en multiplication et qui ne sont pas encore différenciées. Le reste du cortex contient de petites cellules intermédiaires ( $CD4^+ CD8^+$ ) dont la majorité va mourir dans le cortex et dont une partie va terminer sa maturation et migrer dans la médulla. Le cortex contient 85 p. cent des cellules thymiques. La médulla contient les lymphocytes mûrs ( $CD4^+$  ou  $CD8^+$ ) qui vont migrer vers les organes périphériques.

### Rate

Contrairement au thymus, la rate a un stroma uniquement mésenchymateux colonisé par les cellules provenant de la moelle et du thymus. La structure de la rate est organisée autour de son réseau vasculaire sanguin, son réseau lymphatique étant très peu développé. Les branches de l'artère splénique ramifiée s'entourent d'un manchon lymphoïde qui constitue la pulpe blanche. Ces artères se ramifient en artérioles « pénicillées » qui se jettent dans les sinus veineux, séparés par les cordons de Billroth. Cet ensemble constitue la pulpe rouge. Entre la pulpe blanche et la pulpe rouge se trouve la zone marginale qui est une zone d'échange (voir chapitre 5).

La pulpe blanche est donc organisée autour du réseau artériel. Les lymphocytes qui la constituent sont maintenus dans un réseau de fibres réticulaires qui les isole de la zone marginale. Deux zones distinctes peuvent être décrites dans la pulpe blanche : la zone périartériolaire proprement dite, qui contient des lymphocytes T, et les

follicules lymphoïdes qui contiennent des lymphocytes B et des centres germinatifs.

La pulpe rouge est constituée par de larges sinus veineux séparés par un tissu réticulaire lâche.

Dans la zone marginale, les sinus sont orientés d'une façon circulaire autour de la pulpe blanche, permettant les échanges cellulaires et antigéniques entre les deux zones.

### Ganglions

Les ganglions sont des structures arrondies comportant une zone corticale située sous la capsule et une zone médullaire. Dans le cortex externe sont situés les follicules lymphoïdes et leurs centres germinatifs. Cette zone est essentiellement colonisée par des lymphocytes B. Dans le cortex profond sont principalement localisés les lymphocytes T. Le parenchyme médullaire est une zone mixte contenant des lymphocytes T et B. La structure et la fonction du ganglion sont organisées autour de sa structure vasculaire sanguine et lymphatique. Les vaisseaux sanguins pénètrent par le hile dans le parenchyme et gagnent le cortex où ils se ramifient en capillaires autour des follicules lymphoïdes. Les veinules post-capillaires qui les contiennent sont les zones d'échanges cellulaires. Ce réseau sanguin est doublé par un réseau lymphatique qui comprend un sinus périphérique drainant la lymphe afférente, des sinus intermédiaires qui drainent le parenchyme et ramènent les cellules dans la circulation générale.

### Système lymphoïde du tube digestif

Il comporte deux zones distinctes :

— la muqueuse digestive elle-même qui contient des lymphocytes T et B. Les plasmocytes sont presque uniquement de type IgA chez la souris;

— les plaques de Peyer qui contiennent des follicules lymphoïdes identiques à ceux du ganglion, contenant des lymphocytes B et séparés par des zones colonisées par des lymphocytes T.

### MUTATIONS AFFECTANT LE SYSTÈME IMMUNITAIRE DE LA SOURIS

Il existe chez la souris un très grand nombre de mutations qui interfèrent plus ou moins directe-

ment et plus ou moins intensément avec la physiologie de la réponse immunitaire. Certaines de ces mutations comme nude (*nu/nu*) ou scid (*scid/scid*) ont des effets très sévères et représentent des outils très intéressants pour l'analyse expérimentale du système immunitaire. D'autres ont, au contraire, des effets plus discrets et/ou plus ponctuels. Etant donné qu'il n'est pas possible de présenter ici une liste exhaustive de ces anomalies, nous nous limiterons aux plus importantes en renvoyant les lecteurs intéressés au livre édité par Lyon et Searle [13], qui présente une description complète de chaque mutation.

Il faut enfin savoir que la plupart des mutations affectant le système immunitaire, si elles ont à elles seules un effet relativement discret, peuvent être additionnées dans un même génome pour produire un syndrome plus sévère.

***nu*, nude, mutation récessive, chromosome 11.** Cette mutation très populaire et très utilisée se caractérise par une absence complète de pelage (d'où son nom) et par une agénésie plus ou moins totale du thymus qui reste à l'état d'ébauche. Chez les homozygotes *nu/nu*, il n'y a pratiquement pas de lymphocytes T et de ce fait, les réactions immunes T-dépendantes sont considérablement diminuées. Par contre, l'activité des macrophages et des cellules tueuses naturelles est augmentée. Les souris *nu/nu* acceptent les transplantations allogéniques et parfois même les transplantations xénogéniques. Elles représentent donc le porte-greffe idéal pour la transplantation de tumeurs humaines et la mise au point de traitements antitumoraux.

Pour la même raison, les souris nude *nu/nu* sont beaucoup plus sensibles aux infections bactériennes et virales que leurs congénères normales. Il convient donc de les élever dans un milieu protégé.

***bg*, beige, mutation récessive, chromosome 13.** La mutation beige de la souris entraîne une profonde modification de la coloration du pelage et une diminution importante de la résistance naturelle aux infections chez les individus homozygotes.

Selon certains auteurs, elle représenterait l'équivalent chez la souris de la maladie de Chediak-Higashi de l'homme tandis que pour d'autres, les effets de la mutation beige dépendraient fortement de l'environnement génétique. Le granulocyte semble être la cellule-cible de cette mutation.

***xid*, X-linked immune deficiency, mutation récessive, chromosome X.** Cette mutation a été découverte par hasard dans la lignée consanguine CBA/N où elle est fixée à l'état homozygote. Elle se caractérise par une considérable diminution de la réponse immunitaire vis-à-vis des antigènes thymo-indépendants, dont le polysaccharide du pneumocoque de type III est le prototype. Contrairement à ce qui se passe chez la souris nude *nu/nu* c'est le lymphocyte B qui constitue ici la cible de la mutation.

Les effets de cette mutation sont curables par greffe de cellules B syngéniques.

***scid*, severe combined immune deficiency, mutation récessive, chromosome 16.** Les souris *scid/scid* présentent un sévère déficit immunitaire caractérisé par une réduction très importante du nombre de lymphocytes T et B accompagnée d'une forte hypogammaglobulinémie. Ces animaux peuvent cependant survivre environ un an en milieu protégé. Il est possible de les guérir définitivement en leur greffant des cellules de moelle osseuse provenant d'une souris normale syngénique. L'absence de maturation des lymphocytes est due à un défaut du système enzymatique (recombinase) responsable du réarrangement des gènes codant pour les récepteurs à l'antigène des lymphocytes T et B. Récemment, des chercheurs sont parvenus à greffer dans des souris *scid/scid* un système immunitaire humain complet, de sorte qu'il est possible d'étudier certains aspects de la réponse immunitaire humaine avec de tels animaux.

***me*, motheaten, mutation récessive, chromosome 6.** Cette mutation se traduit par un déficit immunitaire grave, affectant les lymphocytes et les cellules non lymphoïdes, associé à un syndrome auto-immun d'apparition précoce portant essentiellement sur les cellules lymphocytaires et la peau. Le taux des immunoglobulines (IgM surtout) est considérablement augmenté comme s'il y avait chez les *me/me* une activation polyclonale des lymphocytes B.

***Lps*, Lipopolysaccharide response, mutation récessive, chromosome 4.** Les souris de laboratoire, stimulées par le lipopolysaccharide de la paroi des bactéries à Gram négatif, se classent en deux catégories :

- celles qui, entre autres réactions, montrent une activation polyclonale des cellules B avec stimulation mitogénique de ces mêmes cellules;
- celles qui ne réagissent pas à cette stimulation.

Les souris du premier type portent l'allèle *Lps*<sup>r</sup> au locus *Lps*, les autres, l'allèle défectif *Lps*<sup>d</sup>. En conditions de vie normales cet allèle ne semble pas avoir d'effet délétère marqué mais en cas d'infection des animaux par les antérobactéries (ou d'autres bactéries à Gram négatif), il représente sûrement un des très nombreux facteurs de sensibilité.

ont été utilisées pour des raisons particulières, comme la « sensibilité aux caries », l'« hypertension », l'« incidence en immunocytomes », etc. Des mises à jour régulières concernant les lignées de rats et leurs caractéristiques sont publiées dans « Rat News Letters ».

## LE RAT

H. Bazin

Le rat brun, *Rattus norvegicus*, originaire d'Asie, a envahi l'Europe vers 1728-1730. Dès le début du XIX<sup>e</sup> siècle, il servit à des concours de chiens ratiers. Mis en présence de 100 à 200 rats fraîchement attrapés, ces chiens devaient en tuer le plus grand nombre possible en un minimum de temps. Parmi les rats capturés, certains étaient albinos. Préservés, ils étaient montrés dans les foires et furent probablement à l'origine des élevages de rats. Le plus ancien décrit est peut-être celui du pavillon des reptiles du Muséum d'histoire naturelle de Paris où, dès 1856, un élevage de rats « hooded » blancs et noirs servait pour nourrir... les reptiles [21]!

Il est possible, sinon probable, que Philipeaux [32] qui publia, en 1856, la première expérience connue, réalisée avec un animal de laboratoire, en l'occurrence une adrénalectomie, ait utilisé un de ces rats, étant donné qu'il travaillait à cette époque chez M. Flourens, professeur de physiologie comparée dans ce même Muséum.

Les rats, depuis cette époque, ont été très utilisés en recherche, dans différents domaines allant de la psychologie à la toxicologie, en passant par l'immunologie, où certaines de leurs caractéristiques sont appréciées.

### LIGNÉES DE RATS

Il existe une bonne centaine de lignées consanguines de rats de laboratoire. Certaines ont été employées dans le monde entier comme les rats Wistar ou les Sprague-Dawley et les lignées dérivées des « stocks » de même nom. D'autres

### COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ (CMH) DU RAT [26, 31]

Les études sur le CMH du rat ont dérivé de celles concernant les groupes sanguins, puis l'histocompatibilité et la transplantation d'organes. Plusieurs nomenclatures difficiles à suivre ont été simplifiées au cours d'ateliers qui se tiennent tous les deux ans et dont les travaux sont régulièrement publiés dans le journal « Transplantation Proceedings » [26, 31].

Il semble exister deux types d'organisation du CMH chez les mammifères : celui de l'homme et de la plupart des espèces animales et celui de la souris et du rat où une inversion d'un segment du chromosome, survenue avant la spéciation des muridés, a rapproché les gènes  $\alpha$  de classe I du centromère. On trouve dès lors à partir du centromère, quelques gènes de classe I, les gènes de classe II, puis le reste des gènes de classe I. Dans le type humain comme chez les muridés, des gènes sans relation avec le CMH sont insérés dans le segment chromosomal concerné.

Le CMH du rat est appelé Rt-1 et comporte plusieurs gènes identifiés dans l'ordre A, Pa, F, B, D, E, G et C en parcourant le chromosome 14 du centromère au télomère. Les gènes A, Pa, F, E, G et C codent pour des antigènes de classe I, alors que B et D sont des gènes codant pour des antigènes de classe II. Il existe un troisième gène codant pour un antigène de classe II localisé entre A et B. Un polymorphisme élevé du CMH est considéré comme avantageux pour la survie de l'espèce par de très nombreux auteurs. Il semble que celui du rat, au niveau des antigènes de classe II du CMH soit limité, mais il est possible que nos connaissances actuelles soient encore incomplètes. Par contre, le polymorphisme des antigènes de classe I du rat est limité. Il est difficile de concilier ce fait avec l'hypothèse souvent émise que la résistance aux maladies et les capacités de reproduction seraient liées à un polymorphisme élevé du CMH.

## GROUPES SANGUINS DU RAT

Les rats possèdent deux antigènes appelés A et B sur leurs érythrocytes et, dans leur plasma, les agglutinines correspondant à l'agglutinogène manquent. Ils peuvent donc être A, B, AB ou O. Les antigènes A et B sont hérités indépendamment l'un de l'autre [29]. Cette situation est semblable à celle connue dans l'espèce humaine.

## IMMUNOGLOBULINES DU RAT

L'étude des immunoglobulines du rat (Fig. 50-2) a bénéficié, comme chez la souris, d'un modèle expérimental exceptionnel : les immunocytomes ou tumeurs spontanées des lymphoblastes B ou des plasmocytes du ganglion iléo-cæcal. Les rats consanguins Louvain ont fourni de telles tumeurs synthétisant des immunoglobulines monoclonales de toutes les classes et sous-classes de chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines. Parmi celles-ci figurent les premières IgE et IgD monoclonales caractérisées chez l'animal [22, 23]. De plus, ces mêmes tumeurs ont donné les lignées cellulaires de fusion permettant la création d'hybridomes et l'obtention d'anticorps monoclonaux de rat. Un résumé des propriétés physicochimiques et biologiques des anticorps de rat est donné aux tableaux 50-V et 50-VI. Le tableau 50-VII résume les données connues sur l'allotypie des Ig du rat.

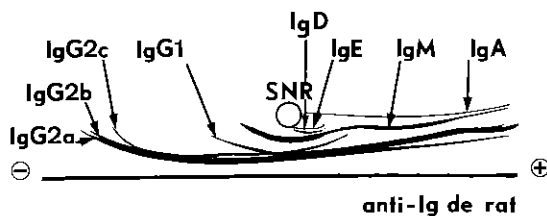


Figure 50-2 Représentation schématique des immunoglobulines du rat analysées en immunoelectrophorèse.

Le métabolisme de l'IgA chez le rat a été très étudié. Un important transport actif d'IgA sériques vers la bile a été mis en évidence dans cette espèce [28]. L'IgA, chez le rat adulte, est présente à des concentrations sériques d'environ

0,05 mg/ml dont au moins 50 p. cent est sous forme polymérique [34]. L'apport d'IgA de la *lamina propria* de l'intestin à la circulation sanguine est très substantiel : 2 à 8 mg d'IgA par jour. Cette IgA est rapidement soustraite du sérum au niveau du foie par un système de transport hépatobiliaire qui la déverse dans la bile, par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique synthétisé par les hépatocytes.

L'allotypie des Ig du rat a été étudiée depuis 1967, date à laquelle Barabas et Kelus [20] publièrent le premier travail concernant ce problème. Depuis, 4 allotypies ont été décrites : les chaînes kappa (locus IgK-1 avec deux allèles : a, souche de référence, LOU/C et b, souche de référence, DA); les chaînes alpha (locus IgH-1 avec l'allèle a, souche de référence LOU/C, et l'allèle non a, souche de référence OKA); les chaînes gamma 2b (locus IgH-2 avec l'allèle a, souche de référence LOU/C, et l'allèle b, souche de référence OKA); et les chaînes gamma 2c (locus IgH-3 avec deux allèles : a, souche de référence COP, et b, souche de référence SHR).

Les homologies entre les isotypes d'immunoglobulines de l'homme, du rat et de la souris sont certaines. Celles des sous-classes d'IgG le sont moins. La figure 50-3 reprend les données établies et les homologies possibles entre les immunoglobulines de souris et de rat.

## LYMPHOCYTES

Les marqueurs leucocytaires du rat ont été étudiés les premiers grâce à la technologie des anticorps monoclonaux. Le tableau 50-VII donne quelques marqueurs des lymphocytes T du rat et leurs équivalents chez l'homme et la souris. Le tableau 50-VIII rapporte des valeurs obtenues dans des populations lymphocytaires de rat Louvain. Des données similaires ont été trouvées dans toutes les lignées normales testées.

## ORGANES LYMPHOÏDES

Il n'existe aucune différence majeure entre les organes lymphoïdes du rat et ceux de la plupart des autres espèces animales. Cependant, par comparaison à la souris, qui est l'espèce de référence, le rat possède dans sa rate un sinus marginal bien défini et toujours visible au

Tableau 50-V Les immunoglobulines du rat : propriétés physicochimiques.

Classes ou isotypes	IgM	IgD	IgG	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG2c	IgE	IgA
Sous-classes	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Formule chimique	(2H+2L) <sub>5</sub>	(2H+2L)	(2H+2L)	—	—	—	—	(2H+2L)	(2H+2L) <sub>n</sub>
Chaîne lourde	mu	delta	—	—	—	—	—	epsilon	alpha
Chaîne légère	—	—	—	gamma-1	gamma-2a	gamma-2b	gamma-2c	—	—
Chaîne J	1	0	0	0	0	0	0	0	0 ou 1 (IgA polymérique)
Composant sécrétoire	0	0	0	0	0	0	0	0	0 ou 1 (IgA de sécrétion)
Poids moléculaire	900 kd	140 kd	—	156 kd	—	—	190 kd	—	160-320 kd

Tableau 50-VI Les immunoglobulines du rat : propriétés biologiques.

	IgM	IgD	IgG1	IgG2a	IgG2b	IgG2c	IgE	IgA
Concentration sérique (mg/ml)	0,90	—	0,65	1,17	0,96	2,51	—	0,03
animaux élevés sans germes pathogènes	0,83	0,008	1,48	2,38	2,61	1,40	—	0,05
animaux élevés conventionnellement	—	—	—	—	—	—	0,0001	—
Valence	5+5	2	2	2	2	2	2	2
Demi-vie (en jour)	1,4-2,6	1,6	13	5	15	3	0,5	1,1
Adhésion à la protéine A	non	—	oui <sup>+</sup>	non	oui <sup>+</sup>	oui	non	non
Fixation du complément	—	—	—	—	—	—	—	—
de rat	oui	—	oui	oui	oui	oui	—	—
humain	oui	—	oui	oui	oui	non	oui (VA)	oui (VA)
de lapin	oui	—	oui	oui	oui	oui	—	—
de cobaye	oui	—	non	oui	oui	oui	—	—
Possibilité de traverser le placenta	non	—	oui	oui	—	—	non	non
Présence dans le colostrum ou le lait	non	—	oui	oui	—	—	oui	oui
Absorption par le tractus intestinal (chez le raton)	non	—	oui (?)	oui	non (?)	—	oui	non

+ : faible attachement.  
VA : voie alterne.

**Tableau 50-VII** Quelques marqueurs des lymphocytes du rat, avec certains de leurs homologues chez l'homme et la souris. De nombreux autres marqueurs ont été décrits et peuvent être trouvés dans la littérature.

Désignation CD	Espèces			Poids moléculaire	Cellules normales caractérisées
	Rat	Homme	Souris		
CD2	MRC-OX-34 MRC-OX-54 MRC-OX-55	OKT11/Leu5	—	50 kd	Thymocytes + T (récepteur des GRM*)
CD4	W3/25 MRC-OX-35 MRC-OX-38	OKT4/Leu3	L3T4	60 kd	T auxiliaires et macrophages
CD5	MRC-OX-19	OKT1/Leu1	Lyt-1	67 kd	Lymphocytes T
CD6	MRC-OX-52	OKT12	—	120 + 95 kd	Pan T
CD8	MRC-OX-8	OKT8/Leu2	Lyt-2	30-35 kd	T suppresseurs/cytotoxiques
CD25	MRC-OX-39 NDS 61	IOT-14	—	55 kd	Récepteur pour l'IL-2
CD45R	MRC-OX-22 + MRC-OX-22 -	2H4	16A	200-220 kd	T auxiliaires Ta1 T auxiliaires Ta2
CD45	MRC-OX-1	HLe-1	—	L-CA	Pan leucocytes
—	W3/13	—	—	gp 110	Lymphocytes T et polynucléaires

\* GRM : globules rouges de mouton.

**Tableau 50-VIII** Pourcentage des différentes spécificités lymphocytaires chez les rats Louvain adultes\*.

Anticorps monoclonaux	Spécificité**	Sang circulant	Rate	Ganglion mésentérique
		(p. cent)	(p. cent)	(p. cent)
MARM-7*	anti-mu	5-6	37-39	22-32
MARD-3*	anti-delta	5-6	30-38	20-28
W3/13*	pan T	65-74	ND	54
MRC-OX-19*	pan T	40-55	42	51
MRC-OX-52*	pan T	56-62	ND	56
W3/25*	CD4	25-30	ND	31
MRC-OX-8*	CD8	33-41	ND	15-16
Témoin*	—	1-2	1-2	2
Témoin*	—	1-2	1-2	1-2

ND : non déterminé.

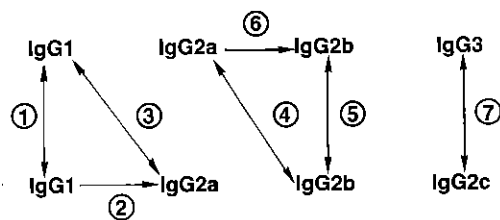
\* Etude réalisée par immunofluorescence indirecte, le deuxième anticorps marqué à la fluorescéine étant un anticorps monoclonal de rat anti-chaîne légère kappa de souris (LO-MK-1).

\* Etude réalisée par immunofluorescence directe, l'anticorps biotinylé étant révélé par de l'Avidine-FITC.

\*\* Voir les spécificités reprises au tableau 50-VII.

Sous-classes d'IgG de souris

Sous-classes d'IgG de rat



**Figure 50-3** Homologies entre les sous-classes d'IgG de souris et de rat. Les homologues sont basées sur 1, 2 : réactions antigéniques croisées et homologues de séquence; 3 : réactions antigéniques croisées, propriétés biologiques communes (réaction anaphylactique cutanée passive) et homologues de séquence; 4, 5, 6 : homologues de séquence; 7 : homologues de propriétés physicochimiques et biologiques.

microscope. De même, la zone marginale contient une population de lymphocytes B toujours bien établie et qui semble nettement plus importante que la population correspondante chez la souris (Planche couleurs Fig. 3).

### RATS IMMUNODÉFICIENTS

#### Lignées de rats présentant des défauts d'immunocompétence

**Lignée BB.** Caractéristiques : les rats consanguins de lignée BB ont une incidence de diabète insulino-dépendant de 50 p. cent entre l'âge de 60 et 120 jours. Ces rats présentent une lymphopénie caractérisée par un appauvrissement des populations de lymphocytes T totaux (marqueur : W3/25) et suppresseurs/cytotoxiques (marqueur MRC-OX-8) [27].

**Lignée BUF.** Caractéristiques : développe des thyroïdites auto-immunes spontanées chez 26 p. cent des animaux âgés de plus d'un an. L'incidence en est augmentée par thymectomie néonatale [33].

#### Mutations entraînant des défauts d'immunocompétence

**Mutation *rn* (Rowett nude).** La mutation est apparue en 1953, a été perdue, puis retrouvée environ 20 ans plus tard. Le défaut implique l'absence de thymus et des cellules qui en dérivent [25].

**Mutation *nznu* (New Zealand nude).** Une seconde mutation « nude » est apparue en 1976 dans un élevage non consanguin de rats albinos élevés à la Victoria University de Wellington (Nouvelle-Zélande). Cette mutation appelée « *nznu* » est caractérisée par une absence du thymus et un profond appauvrissement en lymphocytes T des animaux. La mutation a été introduite dans un certain nombre de lignées consanguines [24].

**Mutation *mK* (masquée).** La mutation a été induite par irradiation. Elle est caractérisée par des anomalies de pelage et une grande sensibilité aux infections [30].

**Mutation, déficience du facteur C4 du complément.** Elle a été découverte chez des rats Wistar en 1974. La déficience en C4 est transmise comme un caractère récessif autosomal [19].

## LE COBAYE

T. Neveu

Chez le cobaye, les connaissances concernant les divers marqueurs cellulaires, les interactions cellulaires et les libérations de médiateurs sont beaucoup moins approfondies que chez l'homme ou la souris. Dans ce court exposé, seules seront rapportées les données spécifiques au cobaye.

### COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ : GPL-A

Deux lignées consanguines de cobayes sélectionnées depuis près d'un siècle, S2 (Strain 2 ou NIH 2) et S13 (Strain 13 ou NIH 13) histoincompatibles entre elles (rejet réciproque de greffes cutanées), ont permis à Bénacerraf et al. [37] de découvrir le premier gène (Ir) associé à la réponse immune chez les mammifères, à l'aide d'antigènes polypeptidiques de synthèse. Ce gène est transmis selon les lois de Mendel d'une façon autosomale, dominante et est lié au complexe majeur d'histocompatibilité appelé GPL-A (guinea pig leucocyte antigens). Pour le moment, il y a peu d'allèles connus.

Comme dans les autres CMH, on distingue des antigènes de classe I et de classe II.

Les glycoprotéines de classe I sont composées d'une chaîne  $\alpha$  de 40 kd et d'une chaîne  $\beta$  de 12 kd qui est équivalente à la  $\beta_2$ -microglobuline. Ces chaînes sont codées par deux régions B et S distinctes et indépendantes. Les antigènes de classe I sont ubiquitairement distribués dans l'organisme mais, comme chez l'homme, ils ne sont pas exprimés sur les globules rouges.

Les glycoprotéines de classe II (Ia), de distribution plus restreinte, sont représentées sur 80 p. cent des lymphocytes sanguins, des thymocytes, 15 à 20 p. cent des macrophages, la majorité des cellules B, les cellules de Langerhans, les entérocytes et les cellules leucémiques L2C; elles dépendent de la région I (Ir). Actuellement, cette région comprend 3 loci qui codent pour les antigènes Ia; elle n'a été étudiée en détail que chez les cobayes S2 et S13. Deux loci codent pour des molécules Ia de 58 kd composées d'une chaîne de 33 kd ( $\alpha$ ) et d'une

autre de 25 kd ( $\beta$ ). Les chaînes produites par l'un des loci ne sont pas liées de façon covalente (Ia2 des S2 et Ia3, 5 des S13), pour l'autre elles sont liées de façon covalente à l'aide de ponts S-S (Ia4,5 des S2, Ia7 des S13). Le dernier locus code pour une molécule de 26 kd (Ia6 de S2 et Ia1,6 de S13). Les molécules Ia portent une ou deux spécificités parmi les 8 actuellement connues, présentes sur la partie protéique de la molécule.

Les antigènes de classe II du cobaye ont des épitopes communs avec ceux de l'homme, de la souris et du rat. L'activité fonctionnelle de ces Ia a été étudiée en comparant la transformation blastique : de lymphocytes T sensibilisés par l'antigène spécifique, ou de cellules normales en présence de cellules allogéniques (CLM) ou de mitogènes (PHA, Con A), avec ou sans alloanticorps anti-Ia. Pour certains antigènes, la réponse immune est contrôlée par plusieurs gènes non liés au GPL-A.

En plus des S2 et des S13, il existe d'autres lignées de cobayes présentant divers degrés de consanguinité, leurs caractères génétiques et immunologiques ont été décrits ailleurs [35, 45].

## COMPLÉMENT

Le système du complément du cobaye a été très étudié. Il est semblable à celui de l'homme tant pour la voie classique que pour la voie alterne. Ses diverses protéines et leurs séquences d'activation ont été décrites [35]. Plusieurs composants polymorphiques de mobilités électrophorétiques différentes sont identifiés. Ils sont codés par 1 gène à 2 allèles. Il y a 3 variants allotypiques qui codent pour C2 : un composant basique (C2B), un très acide (C2A1) et un autre intermédiaire (C2A). Pour C4 il y a 1 molécule à migration rapide (F) et deux à migration lente (S et S1). Pour la properdine (voie alterne : facteur B) il y a 2 molécules, à migration rapide (F) ou lente (S) codées par le locus Bf. Il existe une relation étroite entre les mobilités Bf et C4 : chaque molécule lente de properdine est associée à une molécule rapide de C4 et vice versa [38]. Les loci Bf et C4 paraissent représenter une région équivalente à celle de la région SS de la souris, provisoirement appelée région Cp. Ces loci sont liés à ceux du GPL-A. Comme il n'y a pas de cobaye recombinant, il est difficile de situer l'emplacement de ces différentes régions sur le

chromosome portant les gènes du GPL-A. Les cobayes C4D, C2D [38] et C3D [40] sont génétiquement déficients, respectivement en C4, C2 et C3; ce déficit est codé par un gène autosomal récessif lié au GPL-A, tous les autres composants étant normaux. Ces lignées ont permis d'apprécier le rôle du complément dans la réponse immune. Pour cela, des cobayes de chacune de ces souches, y compris des cobayes appauvris en C3 par le venin de cobra, ont été immunisés par différentes doses d'un antigène T-dépendant : le bactériophage  $\Phi$  X 174. Les modifications de la réponse immune ont été les mêmes pour tous ces animaux : pour les petites doses d'antigènes les anticorps produits ne représentent qu'un dixième de la réponse normale, et sont tous des IgM. Il n'y a pas de réponse secondaire après un rappel antigénique. Pour les fortes doses d'antigène, les réponses sont identiques à celles des cobayes normaux. Ceci met en évidence le rôle-clé du C3. La restauration, chez les C4D et C2D, de C4 et de C2 par du sérum normal de cobaye permet d'obtenir des réponses normales. Bien que les cobayes C3D n'aient que 5 p. cent de l'activité normale de C3 ils ne présentent pas d'infection sévère et récurrente comme le font les rares hommes C3D.

Burger et al. [39] ont identifié des déterminants fonctionnels de C3 grâce à 8 anticorps monoclonaux anti-C3. Bitter-Suerman et al. [38] possèdent une colonie de cobayes génétiquement déficients en récepteurs de C3a. Les anaphylatoxines C4a, C3a et C5a ont une activité anaphylactique après s'être fixés sur les mastocytes et les basophiles.

## GROUPES SANGUINS

Jusqu'à présent aucun antigène de groupes sanguins n'a été mis en évidence.

## SYSTÈME IMMUNITAIRE DU COBAYE

La moelle osseuse fournit les cellules B, les précurseurs des lymphocytes T, les macrophages, les cellules de Langerhans, et des cellules effectrices (mastocytes, polynucléaires...). Le thymus est le lieu de maturation des lymphocytes T. Ces cellules migrent et vont peupler les divers organes lymphoïdes (ganglions, rate, bronches, intes-

## Cellules

### Lymphocytes

Les lymphocytes des IgM, des IgG1, de la genèse de la réponse immunitaire.

### Macrophages

Les macrophages de la moelle osseuse, leur migration, leur population, phagocytose, production de facteurs de croissance.

Les macrophages récepteurs des Ig ont une affinité plus faible pour les macrophages GPL-A, les anticorps des antigènes du cobaye ont deux formes [13] [42].

Plusieurs macrophages d'un hybridome communs aux macrophages [44]. Ils sont à partir de la cavité péritonéale des antigènes.

Les macrophages tentent l'antigène de l'homme, de la souris. Ils libèrent l'histamine.

### Cellules

La cellule dendritique, les lymphocytes straussiens, la cavité vaginale, etc.



tins...) selon un processus identique à celui des autres espèces animales.

## Cellules de la moelle osseuse

### Lymphocytes B

Les lymphocytes B de la moelle osseuse portent des IgM de surface et certains d'entre eux des IgG1, des IgG2, des IgA, des IgE. Cette ontogenèse des cellules B est relativement mal documentée. Un anticorps monoclonal (Ms9p 9) reconnaît spécifiquement les lymphocytes B.

### Macrophages

Les macrophages dérivent des monocytes de la moelle osseuse et évoluent différemment selon leur micro-environnement. Ils constituent une population hétérogène aux fonctions variées : phagocytose, présentation de l'antigène, opsonisation, production de monokines, d'interféron, de facteurs du complément.

Les macrophages possèdent de nombreux récepteurs de surface. Les récepteurs pour le Fc des Ig ont une forte affinité pour les IgG2, une plus faible affinité pour les IgG1 et les IgE. Tous les macrophages ont des antigènes de classe I du GPL-A, seuls ceux qui présentent l'antigène ont des antigènes de classe II. Des macrophages de cobaye ont un antigène de surface pour lequel deux formes ont été trouvées (gp 98-2 et gp 98-13) [42].

Plusieurs anticorps monoclonaux anti-macrophages ont été obtenus. Le MR 1 provient d'un hybridome murin anti-macrophages de ganglions. Il reconnaît des épitopes cytoplasmiques communs aux monocytes sanguins et à la majorité des macrophages, à l'exception du cortex thymique [44]. D'autres anticorps monoclonaux obtenus à partir d'hybridomes de souris anti-cellules péritonéales de cobaye reconnaissent des antigènes de différenciation des macrophages.

Les macrophages alvéolaires du cobaye présentent l'antigène aux cellules T comme le font ceux de l'homme, contrairement à ceux du rat et de la souris. Ils sont très riches en récepteurs de l'histamine.

### Cellules de Langerhans

La cellule de Langerhans est une cellule dendritique migratrice de l'épiderme, des épithéliums stratifiés (muqueuses buccale, anale, vaginale, vésicale) des épithéliums bronchiques et

de la cornée. Elle présente les antigènes T-dépendants aux lymphocytes T [36].

### Cellules à activités tueuses naturelles (NK)

Des activités NK ont été retrouvées chez le cobaye sans identification de la cellule responsable, ou en rapport avec la cellule de Kurloff. C'est une cellule mononucléée particulière au cobaye, facilement reconnaissable par une énorme inclusion cytoplasmique contenant des protéoglycans. Elle est hormono-dépendante, sa population augmente considérablement dans le sang et la rate au cours de la gestation, d'un traitement par les œstrogènes ou d'une infestation parasitaire. On ne connaît actuellement ni son origine ni son rôle biologique.

### Thymus et lymphocytes T

Chez le cobaye, le thymus est une structure transitoire présente chez l'animal immature et qui involue au fur et à mesure de la maturation. C'est une glande lobulée comprise dans le médiastin précordiac et qui s'étend dans le cou où elle entoure la trachée ventralement et latéralement. La différenciation des cellules T a lieu précocement puisque des fonctions de lymphocytes T (sensibilisation anti-BCG, transformation blastique par la PHA) sont déjà observées chez l'embryon de 40 jours, et que l'activité augmente pour atteindre un pic à 56 jours (la durée de la gestation est de 65 jours environ). Les nouveau-nés ont un complexe myéloïde mûr. Les lymphocytes corticaux fœtaux sont sensibles aux œstrogènes mais pas les lymphocytes médullaires.

L'étude de la différenciation des thymocytes et de la distribution des lymphocytes T dans les différents organes lymphoïdes (rate, ganglions) a été longtemps retardée car la thymectomie néonatale est pratiquement sans effet, l'irradiation aux rayons X est mal supportée et la restauration de la moelle ne pouvait se faire qu'avec des cellules allogéniques étant donné l'absence de lignées consanguines.

L'hétérogénéité de l'épithélium thymique nécessaire à la maturation des thymocytes a été étudiée grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-kératine humaine réagissant de façon croisée chez le cobaye.

Les lymphocytes T (auxiliaires, cytotoxiques, suppresseurs, responsables de l'hypersensibilité retardée tuberculique ou de contact) [46], peuvent être reconnus par des anticorps monoclonaux

[36]. Ces anticorps distinguent soit tous les lymphocytes T (CT7, Msg7), soit uniquement les T suppresseurs ou cytotoxiques (CT6, Msg6), soit enfin les T auxiliaires (Msg12). Des anticorps [41] détectent des épitopes spécifiques des thymocytes mûrs (8BE6 et 5CDE), ou apparaissant seulement sur les lymphocytes T extrathymiques (11AE3).

La plupart des lymphocytes T forment des rosettes avec les globules rouges de lapin. Une glycoprotéine de 75 kd synthétisée par les lymphocytes T est l'homologue de Lyt-1; il y a aussi des glycoprotéines homologues de TL et Qa de la souris mais aucun polymorphisme n'a été mis en évidence parmi les lignées de cobayes étudiées.

Des récepteurs pour le Fc des immunoglobulines sont présents sur certains lymphocytes. Les lymphocytes T RF $\mu$  représentent 50 p. cent des lymphocytes T du sang, 35 p. cent de ceux des ganglions et 75 p. cent de ceux de la rate. Après une incubation in vitro de 24 heures, le nombre de cellules RFc augmente de 25, 300 et 180 p. cent respectivement dans le sang, les ganglions et la rate. Les lymphocytes T RF $\gamma$  ne constituent que 12 p. cent des lymphocytes T sanguins et ganglionnaires mais 100 p. cent de ceux de la rate qui se partagent à parties égales entre RF $\gamma$ 1, et RF $\gamma$ 2. Ces deux types cellulaires sont distincts. Les récepteurs peuvent être modulés in vitro au cours d'une culture en présence d'immunocomplexes contenant des anticorps dont l'isotype est spécifique de celui des récepteurs. Après cette modulation, quelques lymphocytes T ont irréversiblement perdu leurs récepteurs tandis que d'autres les réexpriment lentement.

L'existence de lymphocytes T avec des récepteurs pour le Fc des IgE et des IgA est très probable, mais cela n'a pas été formellement démontré.

Une mutation semblable à celle des souris nu/nu est apparue en 1979 [47]. Ces cobayes ont peu ou pas de poils, présentent une aplasie primaire thymique sans corpuscule de Hassal, tandis que dans les ganglions et le tissu lymphoïde, les follicules germinaux sont réduits ou absents. Ces cobayes sont très sensibles aux infections et leur mortalité est importante.

Les études sur les lymphocytes T utilisent des cellules isolées du thymus, du sang périphérique, de la rate, des ganglions ou d'un exsudat péritonéal. Chez un animal immunisé, l'exsudat est

prélevé 4 jours après une injection intrapéritonéale d'huile minérale, les cellules adhérentes sont éliminées par passage sur de la laine de nylon et les cellules restantes contiennent 90 p. cent de lymphocytes T. Il est indispensable d'incuber les macrophages avec les antigènes ou avec la Con A et de les laver avant de les mettre en contact avec les lymphocytes T pour obtenir une transformation blastique.

## IMMUNOGLOBULINES

Les immunoglobulines (Ig) du cobaye sont classées en IgM, IgG1, IgG2, IgA et IgE. Par contre, on ne sait pas s'il existe des IgD.

Les IgM sont produites après une immunisation avec un antigène thymo-indépendant chez le cobaye normal ou un antigène thymo-dépendant chez les cobayes C2D, C4D et C3D. Les autres Ig résultent d'une collaboration de diverses cellules T et B. Les IgG1 et les IgE sont les Ig responsables de l'anaphylaxie, qui revêt les mêmes modalités que chez l'homme [46]. Elles n'activent pas la voie classique du complément, mais les Fab'2 des IgG1 activent la voie alterne. Les IgG2 fixent le complément. La fixation du complément sur des immunocomplexes contenant des IgG1 et des IgG2 détermine la production de nombreuses molécules chimiotactiques pour les polynucléaires et l'activation du système de la coagulation, à l'origine des réactions d'hypersensibilité de type III [46]. Les IgG sont transmises par voie placentaire de la mère au fœtus avant la naissance mais pas par le colostrum [35]. Les IgA ont été très peu étudiées.

Les allotypes des Ig ne sont pratiquement pas étudiés. Kellus a défini un gène Igy2-1 en 1969 [43].

## CONCLUSION

Il existe de grandes ressemblances immunologiques entre l'homme et le cobaye, qui reste l'animal de choix pour l'étude de l'hypersensibilité retardée de contact, responsable de processus pathologiques en dermatologie, ophtalmologie, odontologie et pneumologie.

Les ha  
la sous-f  
genres p  
nément é  
dans 2  
chinois (c  
auratus c  
2n = 44)  
système  
cellules s  
en raison

Le ha  
occupe u  
l'Europe  
Jusqu'en  
dans les  
vendus d  
femelles  
d'Alep d  
israélien  
été publi

Le ha  
rapidem  
travaux s  
diverses r  
également  
mentale p  
mettre en  
chimiques  
Cette poc  
ligié perm  
et des x  
essentielle  
phatique d  
du système  
lement rej

Le ham  
brève - 1  
étudier l'or  
cytaire et d  
est encore

## LE HAMSTER SYRIEN

C. de Vaux St.-Cyr

### HISTORIQUE

Les hamsters de l'Ancien Monde font partie de la sous-famille des *Cricetinae* et sont groupés en 5 genres principaux. Les hamsters les plus communément étudiés dans les laboratoires se retrouvent dans 2 genres : *Cricetulus griseus* ou hamster chinois (chromosomes  $2n = 22$ ) et *Mesocricetus auratus* ou hamster syrien ou doré (chromosomes  $2n = 44$ ). Peu de travaux ont été réalisés sur le système immunitaire du hamster chinois; ses cellules sont utilisées pour des études de cytologie en raison de leur petit nombre de chromosomes.

Le hamster syrien ou *Mesocricetus auratus* occupe une aire géographique étroite qui couvre l'Europe de l'Est, l'Asie Mineure et l'Iran. Jusqu'en 1970, tous les hamsters syriens utilisés dans les différents laboratoires ainsi que ceux vendus dans le commerce provenaient de deux femelles et d'un mâle capturés en 1930 près d'Alep dans le désert syrien par un zoologue israélien Aharoni [50]. Les premières études ont été publiées par Adler en 1948 [48].

Le hamster syrien, plus facile à élever, a rapidement remplacé le hamster chinois pour les travaux sur le Kala Azar, la leishmaniose et diverses maladies bactériennes ou virales. Il est également très utilisé en cancérologie expérimentale pour sa poche jugale qui a permis de mettre en évidence le rôle des cancérogènes chimiques dans l'apparition de certaines tumeurs. Cette poche représente également un lieu privilégié permettant une longue survie des allogreffes et des xénogreffes. Ce fait remarquable est essentiellement dû au manque de drainage lymphatique de ce tissu. Si on établit une continuité du système lymphatique, la xénogreffe est normalement rejetée.

### ORGANES LYMPHOÏDES

Le hamster ayant une période de gestation brève - 16 jours - est un animal très utile pour étudier l'ontogenèse de la différenciation lymphocytaire et de la réponse immune. A la naissance, il est encore immunologiquement immature. Adler

et coll. [49] ont décrit les étapes de la maturation des différents organes lymphoïdes après la naissance : le thymus atteint la morphologie de type adulte à l'âge de 2 semaines et les premiers anticorps peuvent être décelés à ce moment-là. Il faut attendre 4 semaines pour observer la maturation des ganglions lymphatiques et 6 semaines pour la rate. La maturation tardive du thymus permet de faire des thymectomies chez des animaux âgés de 2 semaines et d'obtenir les mêmes résultats que chez la souris thymectomisée dans les premières 24 heures après la naissance, c'est-à-dire une réduction du nombre des lymphocytes dans le sang et les organes lymphoïdes, une diminution de la synthèse des immunoglobulines, etc.

Le hamster passe par les mêmes étapes de développement du système immunitaire que les autres espèces tout en présentant la particularité d'une vie fœtale courte. Il est donc immunologiquement en retard à la naissance et rattrape le temps perdu en 4 semaines, âge auquel il est sexuellement mûr.

### CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

On trouve chez le hamster les mêmes familles de cellules que chez les autres mammifères : lymphocytes, macrophages et tueuses naturelles (NK). Par contre, il a été très difficile d'identifier les sous-populations T et B par manque de marqueurs spécifiques. Les cellules B ont été distinguées des non B par l'expression d'Ig de surface [55] et par l'équivalent chez le hamster des antigènes de classe II du CMH. Des anticorps monoclonaux dirigés contre les antigènes membranaires des lymphocytes ont été préparés; l'un d'entre eux a permis de mettre en évidence une glycoprotéine de 29 kd [62].

L'hétérogénéité des cellules T [62, 63] a été également étudiée en utilisant des anticorps monoclonaux spécifiques de certains antigènes de surface de la souris donnant des réactions croisées avec des lymphocytes de hamster. On a pu ainsi montrer la présence de 4 sous-populations dont l'une est responsable de la cytotoxicité à médiation cellulaire. Une particularité du système immunitaire du hamster réside dans le fait que lorsqu'il est infecté par un virus (influenza, variole, Sendai) des cellules cytotoxiques se développent dans la rate et les ganglions. Cette

toxicité est spécifique du virus mais son mécanisme effecteur n'est pas basé sur des cellules T cytotoxiques mais est plutôt dû à une cytotoxicité anticorps-dépendante [60]. De même, au cours d'expériences destinées à évaluer l'immunité antitumorale [55], il s'est avéré que la fraction cytotoxique la plus active était celle qui avait été débarrassée des cellules T et qui portait des IgG de surface. Les cellules T et B définies par des antisérums spécifiques réagissent normalement aux différents mitogènes [51-53] : la concanavalline A et la phytohémagglutinine sont des mitogènes pour les cellules T, le carragenan et la protéine A pour les cellules B.

L'étude de l'immunité antitumorale a permis d'établir, dans la rate des porteurs de tumeurs, la présence de cellules possédant une activité suppressive et également cytostatique non spécifique due probablement à l'activité de macrophages [56].

Les cellules tueuses naturelles (NK) sont responsables d'une activité cytotoxique naturelle contre des cellules tumorales avant immunisation de l'hôte [57]. La seule différence importante entre le hamster et les autres rongeurs est la persistance d'une activité NK de niveau élevé même chez des animaux âgés ce qui explique peut-être la faible incidence de tumeurs spontanées dans cette espèce.

#### COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ Hm-1

L'étude du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) a été longue [60]. Il semble que la principale difficulté provienne du fait que jusqu'en 1970 tous les hamsters utilisés dans les différents laboratoires descendaient des trois animaux capturés en Syrie en 1930. Dans les années 1950, quelques souches isogéniques ont été créées : MHA, CB, LSD, PD4 et LHC qui ont permis de mettre en évidence les faits suivants : 1) ces hamsters de différentes souches rejettent les greffes de peau provenant d'autres souches, ce que ne faisaient pas les hamsters tout-venant; 2) malgré différents procédés d'immunisation, des alloanticorps n'ont jamais pu être mis en évidence; 3) les cellules lymphocytaires pouvaient provoquer une vigoureuse réaction lymphocytaire mixte et de fortes réactions du type greffon contre l'hôte. Duncan, en utilisant ces différentes techniques et sans l'aide d'alloanticorps, montra que le

rejet de greffe, la réaction lymphocytaire mixte et la réaction du greffon contre l'hôte étaient gouvernés chacun par un seul locus génique fort et que les trois réponses étaient fortement liées. Cette région a été considérée comme formant le CMH du hamster ou Hm-1. Il a aussi identifié un gène Ir gouvernant la production d'anticorps envers l'albumine sérique bovine ainsi qu'un autre locus responsable du taux de complément dans le sérum, mais ces loci n'étaient pas liés à ceux gouvernant l'alloréactivité.

En 1970, Murphy captura une douzaine de hamsters sauvages en Syrie avec lesquels on obtint rapidement des lignées consanguines, et pour la première fois il fut possible de produire des anticorps dirigés contre les alloantigènes d'autres hamsters. Les faits suivants furent établis : toutes les souches congéniques anciennes (MHA, etc.) étaient sérologiquement identiques et partageaient quelques spécificités avec les animaux nouvellement capturés. Le hamster syrien a un CMH (Hm-1) comprenant au moins 6 allèles [60-62].

#### Molécules de classe I

Puisque aucun alloantisérum ne détecte de molécule de classe I, on a [60] émis l'hypothèse qu'il pourrait n'y avoir aucun polymorphisme dans ce segment de Hm-1. Plusieurs auteurs ont utilisé des antisérums hétérologues dirigés contre la  $\beta_2$ -microglobuline humaine qui donne une réaction croisée avec une molécule similaire sur les cellules de hamster et ont obtenu, en immunoprécipitant des lysats de lymphocytes de hamster, la coprécipitation d'une molécule de 45 kd. Le fait qu'aucun alloantisérum ne soit capable d'identifier ces molécules a amené les auteurs à postuler que le polymorphisme de classe I n'existe pas.

#### Molécules de classe II

En utilisant des alloantisérums, des antigènes codés par le CMH ont pu être étudiés par la méthode SDS-PAGE qui a mis en évidence 2 chaînes polypeptidiques de 29 et 39 kd. Un antisérum de souris reconnaissant la spécificité Ia-7 reconnaît également les chaînes de 29 et 39 kd du hamster. Deux autres chaînes ont été reconnues par un alloantisérum de hamster et ce complexe serait différent du précédent [61]. Ces 2 groupes de molécules ont une distribution dans les différents tissus qui permet de les considérer

comme des r  
des gènes la  
le rat ou l'h  
chacun capab  
riante, et res  
lymphocytaire  
non lymphoc  
se II présente

#### IMMUNOC ET IMMUN

Divers trav  
hamster poss  
IgM, IgA et I  
en trois sous-  
fractionnemen  
montre que l'  
L'obtention  
chacune des s  
les IgG1 et les  
tumeurs et de  
fraction la ph  
A notre con  
significatifs n  
transmission d

#### HAMSTERS

Des mutant  
colonie de har  
Recherches sur  
ni fourrure n  
anti-thymocyte  
ment ne lyse  
spléniques. Par  
cellules étaient  
complément, et  
la protéine A  
stimulées par l  
lymphocytes T  
ou NK est un  
chez les hams  
rejoint le taux  
5 mois.

En résumé,  
système immu  
intéressantes, q  
cancérologie ex  
logie et parasit

mixte et  
ient gou-  
e fort et  
ent liées.  
ormant le  
entifié un  
anticorps  
un autre  
t dans le  
s à ceux

zaine de  
quels on  
uines, et  
produire  
antigènes  
s furent  
anciennes  
ntiques et  
avec les  
hamster  
moins 6

éctecte de  
ypothèse  
orphisme  
uteurs ont  
és contre  
onne une  
ilaire sur  
immuno-  
hamster,  
5 kd. Le  
le d'iden-  
à postuler  
iste pas.

antigènes  
és par la  
vidence 2  
0 kd. Un  
spécificité  
de 29 et  
s ont été  
ster et ce  
1]. Ces 2  
n dans les  
considérer

comme des molécules de classe II et les produits des gènes la du hamster. Comme chez la souris, le rat ou l'homme on trouve 2 complexes  $\alpha\beta$ , chacun capable de s'associer à une chaîne invariante, et restreints à certaines sous-populations lymphocytaires et quelques rares types de cellules non lymphocytaires [61]. Ces antigènes de classe II présentent un certain polymorphisme.

### IMMUNOGLOBULINES ET IMMUNITÉ TUMORALE

Divers travaux [52, 54-58] ont montré que le hamster possède 3 classes d'immunoglobulines IgM, IgA et IgG. Cette dernière peut être divisée en trois sous-classes : IgG1, IgG2a et IgG2b. Le fractionnement sur protéine A sépharose [54] montre que l'IgG2 s'élué à pH 6 et l'IgG1 à pH 5. L'obtention d'antisérums spécifiques pour chacune des sous-classes d'IgG a permis de doser les IgG1 et les IgG2 chez des hamsters porteurs de tumeurs et de montrer que les IgG2 étaient la fraction la plus riche en anticorps [58].

A notre connaissance, il n'y a pas eu de travaux significatifs ni sur le complément ni sur la transmission de l'immunité passive.

### HAMSTERS « NUS »

Des mutants nus [59] sont apparus dans la colonie de hamsters syngéniques de l'Institut de Recherches sur le Cancer à Villejuif. Ils n'avaient ni fourrure ni thymus. Un sérum de lapin anti-thymocytes de hamster ajouté à du complément ne lyse que 3,5 p. cent de leurs cellules spléniques. Par contre, 55 p. cent de ces mêmes cellules étaient lysées par un sérum anti-IgG et du complément, et 60-70 p. cent d'entre elles fixaient la protéine A fluorescente mais n'étaient pas stimulées par les mitogènes spécifiques pour les lymphocytes T. L'activité cytotoxique naturelle ou NK est un peu au-dessous du niveau normal chez les hamsters nus âgés de 2 mois et elle rejoint le taux normal lorsque ces animaux ont 5 mois.

En résumé, le hamster syrien possède un système immunitaire ayant des spécificités très intéressantes, qui en font un modèle très utilisé en cancérologie expérimentale, en virologie, toxicologie et parasitologie.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

#### — Le rat

- ALTMAN PL, KATZ DD. Inbred and genetically defined strains of laboratory animals. Part 1. Mouse and rat. Fed Am Soc Exp Biol, Bethesda, USA, 1979, 418 pages.  
BAZIN H. Rat Hybridomas and Rat Monoclonal Antibodies. CRC Press, Boca Raton, Florida (in press).  
BAZIN H, PEAR WS, SUMEGI J. Louvain rat immunocytomas. Adv Cancer Res, 1988, 50 : 279-310.  
BUREK JD. Pathology of aging rats. CRC Press Inc., Florida, USA, 1978, 230 pages.  
HEBEL R, STROMBERG MW. Anatomy of the laboratory rat. The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1976, 173 pages.

### Références

#### — La souris

1. ALTMAN PL, KATZ DD. Inbred and genetically defined strains of laboratory animals. Part 1. Mouse and rat. Federation of American Societies for Experimental Biology, Bethesda, Maryland, 1979, 418 pages.
2. BAZIN H, MALET F. Metabolism of different immunoglobulin classes in irradiated mice. I. Catabolism. Immunology, 1969, 17 : 345-365.
3. DIALYNAS DP, QUAN ZS, WALL KA et al. Characterization of murine T cell surface molecule designated L3T4, identified by monoclonal antibody GK 1.5. J Immunol, 1983, 131 : 2445-2452.
4. FAHEY JL, WUNDERLICH J, MISHELL R. The immunoglobulins of mice. I. Four major classes of immunoglobulins : 7S gamma2-, 7S gamma1-, gamma1A (bêta2A)- and 18S gamma1M-globulins. J Exp Med, 1964, 120 : 223-242.
5. FAHEY JL, WUNDERLICH J, MISHELL R. The immunoglobulins of mice. II. Two subclasses of mouse 7S gamma2-globulins : gamma2a- and gamma2b-globulins. J Exp Med, 1964, 120 : 243-251.
6. FAHEY JL, SELL S. The immunoglobulins of mice. V. The metabolic (catabolic) properties of five immunoglobulin classes. J Exp Med, 1965, 122 : 41-58.
7. FESTING MFW. International Index of Laboratory Animals. Laboratory Handbooks n° 10. Laboratory Animals Ltd, 1987, 119 pages.
8. GREY HM, HIRST JW, COHN M. A new mouse immunoglobulin : IgG3. J Exp Med, 1971, 133 : 289-304.
9. HEDRICK SM, COHEN DI, NIELSEN EA et al. Isolation of cDNA clones encoding T cell specific membrane associated proteins. Nature, 1984, 308 : 149-153.
10. ISHIZAKA K. Immunoglobulin E. Meth Enzymol, 1985, 116 : 76-94.
11. LEDBETTER JA, HERZENBERG LA. Xenogeneic monoclonal antibodies to mouse lymphoid differentiation antigens. Immunol Rev, 1979, 47 : 63-71.
12. LUNDMARK R, THOREN-TOLLING K, SJOQUIST J. Binding of immunoglobulins to protein A and immunoglobulin levels in mammalian sera. J Immunol Method, 1983, 62 : 1-13.
13. LYON MF, SEARLE AG. Genetics variants and strains of the laboratory mouse. Oxford, University Press, 1989.
14. OETTGEN HC, PETTEY CL, MALOY WL et al. A T3-like protein complex associated with the antigen receptor on murine T cells. Nature, 1986, 320 : 272-275.

15. OWEN JTT, JENKINSON EJ. Early events in T lymphocyte genesis in the fetal thymus. *Am J Anatomy*, 1984, 170 : 301-310.
16. POTTER M. Immunoglobulins and immunoglobulin genes. In : HL Foster, JD Small, J Fox. *Mouse in Biomedical Research*, Academic Press, New York, 1984, 2 : 347-380.
17. PROUVOST-DANON, BINAGHI R, ROCHAS S et al. Immunochemical identification of mouse IgE. *Immunology*, 1972, 23 : 481-491.
18. SMITH-GILL SJ, FINKELMAN FD, POTTER M. Plasmacytomas and murine immunoglobulins. *Meth Enzymol*, 1985, 116 : 121-145.
- *Le rat*
19. ARROYAVE CM, LEVY RM, JOHNSON JS. Genetic deficiency of the fourth component of complement (C4) in Wistar rats. *Immunology*, 1977, 33 : 453-457.
20. BARABAS AZ, KELUS AS. Allotypic specificity of serum protein in inbred strains of rats. *Nature (London)*, 1967, 215 : 155-156.
21. BAZIN H. A small contribution to the history of laboratory rats. *Rat News Letter*, 1988, 20 : 14.
22. BAZIN H, BECKERS A, QUERINJEAN P. Three classes and four subclasses of rat immunoglobulins : IgM, IgA, IgE and IgG1, IgG2a, IgG2b, IgG2c. *Eur J Immunol*, 1974, 4 : 44-48.
23. BAZIN H, BECKERS A, URBAIN-VANSANTEN G et al. Transplantable IgD immunoglobulin-secreting tumours in rats. *J Immunol*, 1978, 121 : 2077-2087.
24. BERRIDGE MV, MOORE R, HESLOP BF et al. Another nude rat (nzu). *Rat News Letter*, 1978, 4 : 23-26.
25. FESTING MFW, MAY D, CONNORS TA et al. An athymic nude mutation in the rat. *Nature (London)*, 1978, 274 : 365-366.
26. GILL III TJ, KUNZ HW, MISRA DN et al. The major histocompatibility complex of the rat. *Transplantation*, 1987, 43 : 773-785.
27. GRENIER DL. The spontaneously diabetic bio-breeding (BB) rat : T cell subset deficiencies and their possible relationship to diabetes. *Rat News Letter*, 1986, 17 : 11-18.
28. JACKSON GDF, LEMAIRE-COELHO I, VAERMAN JP et al. Rapid disappearance of serum of intravenously injected rat myeloma IgA and its secretion into bile. *Eur J Immunol*, 1978, 8 : 123-126.
29. KEELER CE. Blood groups of the rat. In : EJ Farris, JQ Griffith. *The Rat in Laboratory Investigation*, Hafner Publishing Company, New York, USA, 1967, 415-420.
30. KENT RL, LUTZNER MA, HANSEN CT. The masked rat : an X-ray induced mutant with chronic blepharitis, alopecia and pasteurellosis. *J Hered*, 1976, 67 : 3-5.
31. KLEIN J, FIGUEROA F. Evolution of the major histocompatibility complex. *CRC Critical Reviews in Immunology*, 1986, 6 : 295-386.
32. PHILIPPEAUX JM. Note sur l'extirpation des capsules surrénales chez les rats albinos (*Mus rattus*). *CR Hebd Séances Acad Sci*, 1856, 43 : 904-906.
33. SILVERMAN DA, ROSE NR. Spontaneous and methylcholanthrene-enhanced thyroiditis in BUF rats. I. The incidence and severity of the disease and the genetics of susceptibility. *J Immunol*, 1975, 114 : 145-147.
34. VAERMAN JP, ANDRE C, BAZIN H et al. Mesenteric lymph as a major source of IgA in guinea pigs and rats. *Eur J Immunol*, 1973, 3 : 580-584.
- *Le cobaye*
35. ALTMAN PL, KATZ DD. Inbred and genetically defined strains of laboratory animals. Part 2, FASEB, 1979, p. 539.
36. BAKER D, HEALEY DG, VERGHESE S et al. Phenotypic analysis of guinea pigs Langerhans cells with antibodies directed against leucocyte surface antigens. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, 1988, 86 : 530-555.
37. BENACERRAF B, McDEWITT HO. Histocompatibility linked immune genes. *Science NY*, 1972, 175 : 273-279.
38. BITTER-SUERMAN D, HOFFMANN T, BURGER R et al. Linkage of total deficiency of the second component (C2) of the complement system and of genetic C2-polymorphism to the major histocompatibility complex of the guinea pig. *J Immunol*, 1981, 127 : 608-612.
39. BURGER R, DEUBEL U, HADDING U et al. Identification of functionally relevant determinant on the complement component C3 with monoclonal antibodies. *J Immunol*, 1982, 129 : 2042-2050.
40. BURGER R, GORDON J, STEVENSON G et al. An inherited deficiency of the third component of complement C3 in guinea pig. *Eur J Immunol*, 1986, 16 : 7-11.
41. ELIAS JM, CHIBA J, SHEVACH EM et al. Guinea pig T lymphocyte development analyzed by enzyme histochemistry, monoclonal antibodies and flow cytometry. *Lab Invest*, 1985, 52 : 270-277.
42. JENSEN LA, SCHWARTZ BD. A novel guinea pig macrophage specific polymorphic molecule. I. Biochemistry, genetics and tissue distribution. *J Immunol*, 1988, 140 : 1198-1205.
43. KELUS AS. Allotypic marker GP2-1 of guinea pig immunoglobulins. *Nature (London)*, 1969, 223 : 398-399.
44. KRAAL G, SHIAMATEY-KOOLMA R, HOFFER M et al. Histochemical identification of guinea pig macrophages by monoclonal antibody MR-1. *Immunology*, 1988, 65 : 523-528.
45. LEFROIT-JOLLY M, NEVEU T. Differences in the immune responses of three inbred guinea-pig strains. *Fed Proc*, 1986, 45 : 490.
46. NEVEU T. Les différentes hypersensibilités chez le cobaye. *Méthodes d'analyses. Comparaisons. Sc Tech Anim Lab*, 1985, 10 : 251-260.
47. REED C, O'DONOGHUE JL. A new guinea pig mutant with abnormal hair production and immunodeficiency. *Lab Anim Sc*, 1979, 29 : 744-748.
- *Le hamster syrien*
48. ADLER S. Origin of the golden hamster, *Cricetus auratus*, as a laboratory animal. *Nature*, 1948, 162 : 256-257.
49. ADNER MM, SHERMAN JD, DAMESHEK W. The normal development of the lymphoid mass in the golden hamster and its relationship to the effects of thymectomy. *Blood*, 1965, 25 : 511-521.
50. AHARONI J. Die Muriden von Palästina und Syria. *Z Saugetier*, 1932, 7 : 160-240.
51. CHEN H, QUAN P, ZUINGHEDAU J et al. Changes in the population of lymphocytes and their response to mitogens during the growth of a Simian virus 40-induced fibrosarcoma in hamsters. *Eur J Immunol*, 1978, 9 : 80-84.
52. COE JE. Humoral immunity and serum proteins in the Syrian hamster. *Fed Proc*, 1978, 37 : 2030-2031.
53. DUTHU A, HADDADA H, LEGOFFIC N et al. Protein A : a B cell mitogen for hamster splenic lymphoid cells. *Develop Compar Immunol*, 1980, 4 : 331-340.
54. ESCRIBANO MJ, HADDADA H, VAUS ST CYR C. Isolation

- ally defined  
EB, 1979,
- Phenotypic  
antibodies  
Int Arch
- compatibility  
: 273-279.
- ER R et al.  
ponent (C2)  
C2-polymor-  
plex of the  
2.
- atification of  
complement  
J Immunol,
- An inherited  
ement C3 in  
1.
- guinea pig T  
ne histoche-  
ometry. Lab
- guinea pig  
I. Bioche-  
unol, 1988,
- guinea pig  
3 : 398-399.
- R M et al.  
macrophages  
, 1988, 65 :
- the immune  
. Fed Proc,
- és chez le  
.s. Sc Tech
- mutant with  
ciency. Lab
- etius auratus*,  
: 256-257.
- The normal  
den hamster  
omy. Blood,
- nd Syria. Z
- anges in the  
to mitogens  
ced fibrosar-  
9 : 80-84.
- teins in the  
-2031.
- Protein A : a  
phoid cells.  
40.
- C. Isolation
- of two immunoglobulin G subclasses IgG2 and IgG1 from hamster serum using protein A-Sepharose. J Immunol Methods, 1982, 52 : 63-72.
55. HADDADA H, VAUX ST CYR C, DUTHU A. *In vivo* studies of spleen lymphoid cells implicated in antitumor immunity in hamster. Cancer Immunol Immunother, 1983, 15 : 96-100.
56. HADDADA H, VAUX ST CYR C. Suppressive and cytostatic activities in the spleen of tumor-bearing hamsters. Eur J Cancer, 1980, 16 : 841-848.
57. HADDADA H, DUTHU A, VAUX ST CYR C. Activité cytotoxique naturelle dans différentes conditions expérimentales chez le hamster. Ann Immunol (Inst Pasteur), 1980, 131 D : 187-198.
58. HADDADA H, ESCRIBANO MJ, VAUX ST CYR C et al. Variations in the levels of IgG1 and IgG2 subclasses in the sera of normal, immunized and tumor-bearing hamsters. Eur J Cancer Clin Onc, 1984, 20 : 553-560.
59. HADDADA H, CHOUROULINKOV, VAUX ST CYR C. Nude Syrian hamsters : some immunological and histological characteristics. Immunol Lett, 1982, 4 : 327-333.
60. STREILEIN JW, DUNCAN WR. On the anomalous nature of the major histocompatibility complex in Syrian hamsters, Hm-1. Transplant Proc, 1983, 15 : 1540-1545.
61. SUNG E, DUNCAN WR, STREILEIN JW et al. Detection of two distinct class II  $\alpha\beta$  : Ii complexes in the Syrian hamster. Immunogenetics, 1982, 16 : 425-433.
62. WITTE PL, STREILEIN JW. Monoclonal antibodies to hamster class II MCH molecules distinguish T and B cells. J Immunol, 1983, 130 : 2282-2286.
63. WITTE PL, STREILEIN JW. Development and ontogeny of hamster T cell subpopulations. J Immunol, 1986, 137 : 45-54.

M.-F. Van Bressem, P.-P. Pastoret

## IMMUNOLOGIE DES CÉTACÉS

### Taxonomie

Longtemps considérés comme des poissons, les cétacés n'ont été définitivement classés parmi les mammifères qu'en 1758 par le naturaliste Karl Linnaeus (Linné). Si la plupart des espèces se retrouvent dans les mers et les océans, certaines, telles les platanistes, ne fréquentent que les eaux douces.

Deux sous-ordres sont à distinguer parmi les cétacés : les odontocètes (baleines à dents) et les mysticètes (baleines à fanons).

Les premiers se nourrissent principalement de poissons et de céphalopodes alors que les seconds consomment surtout du plancton qu'ils filtrent grâce aux lames cornées qui constituent les fanons. Les odontocètes comprennent 6 familles : les platanistidae ou dauphins d'eau douce, les delphinidae ou dauphins marins, les phoeconidae ou marsouins, les monodontidae ou baleines blanches, les ziphiidae ou baleines à bec et les physeteridae ou cachalots.

Parmi les mysticètes, on distingue trois

familles : les eschrichtidae dont l'unique représentant est la baleine grise, les balaenoptiridae ou rorquals et les balaenidae ou baleines franches.

### Organes lymphoïdes

Le thymus est constitué de deux lobes asymétriques et inégaux. Situé au-dessus du péricarde, il est selon les espèces, uniquement intrathoracique ou prolongé vers l'avant par 2 expansions cervicales.

La rate est particulièrement petite, ronde et très ferme. Étant donné sa petite taille, il est peu probable qu'elle serve de réservoir sanguin; ce sont probablement les nombreux réseaux artérioveineux présents chez ces animaux qui assurent ce rôle. Elle se trouve au niveau du sillon séparant la première et la deuxième chambre de l'estomac. Des rates accessoires plus petites sont décrites chez certaines espèces. On observe peu de follicules secondaires au niveau de la rate et des ganglions.

Le tissu lymphoïde intestinal est bien déve-



loppé; des structures analogues aux plaques de Peyer sont présentes au niveau de l'intestin (grêle). De plus, dans certaines espèces (*Physeter macrocephalus*, *Eschrichtius robustus*), des formations lympho-épithéliales sont décrites au niveau du rectum ou de l'anus (anal tonsils).

### Cellules participant à la réponse immune

Les différents types de leucocytes se retrouvent chez les cétacés. Un haut pourcentage d'éosinophiles circulants est décrit chez plusieurs espèces. Ce pourcentage tend à décroître en captivité mais se maintient toutefois au-dessus des valeurs rapportées chez les mammifères terrestres.

### Immunoglobulines

Trois classes d'immunoglobulines antigéniquement comparables aux IgG, IgM et IgA ont été identifiées dans le sérum de différentes espèces de delphinidés par immunodiffusion double en gel d'Agar. L'existence de deux sous-classes d'IgG est suggérée par l'observation de deux arcs de précipitation en présence d'antisérums spécifiques. Les IgA sont présentes sous les formes monomérique et dimérique. Dans ce dernier elles sont associées à un composant sécrétoire.

### Placentation et sécrétion lactée

Le placenta est de type épithélio-chorial diffus. Comme celui des pinnipèdes, le lait des cétacés est très riche en lipides.

### Complexe majeur d'histocompatibilité

Les gènes du CMH de deux espèces de rorquals (baleines) [rorqual commun (*Balaenoptera*

*physalus*); rorqual de Rudolphi (*Balaenoptera borealis*)] ont été étudiés récemment par analyse de la longueur des fragments de restriction (RFLP). Des sondes préparées à partir de gènes des régions codant pour les glycoprotéines de classes 1 et 2 du CMH humain ont été utilisées pour identifier l'ADN extrait de leucocytes sanguins de différents individus des espèces précitées. Les résultats de ces recherches ont montré que les gènes du CMH de ces animaux sont proches de ceux du HLA mais qu'ils montrent très peu de polymorphisme. La signification biologique de ce défaut de polymorphisme mériterait d'être étudiée.

### BIBLIOGRAPHIE

- COWAN DF, BROWNELL RL. Gut Associated-lymphoepithelial Organ (Anal Tonsil) in the Gray Whale. In : RJ Harrison, Functional Anatomy of Marine Mammals, London Academic Press, 1974, Vol. II, pp. 320-327.
- GERACI JR. Marine Mammals; Introduction and Identification. In : Zoo and Wild Animal Medicine, Philadelphia, WB Saunders Co, 1978, pp. 568-572.
- HOWARD EB. In : Pathobiology of Marine Mammal Diseases, CRC Press, Boca Raton, 1983, Vol. II.
- HYNE RJ et al. Clinical Significance of Hematologic Examinations of the Dolphin (*Tursiops truncatus*) in captivity. J Zool An Med, 1982, 13 : 95-100.
- NASH DR, MASH JP. Immunoglobulin classes in Aquatic Mammals. Journal of Immunology, 1971, 107, (5) : 1424-1430.
- RIDGWAY et al. Hematologic Findings in Certain Small Cetaceans JAVMA, 1970, 157, (5) : 566-575.
- SIMPSON JG, GARNER MB. Comparative Microscopic Anatomy of Selected Marine Mammal. In : SH Ridgway, Mammals of the Sea : Biology and Medicine, Charles C Thomas, Springfield, 1972, pp. 298-418.
- TROWSDALE J et al. Limited MHC Polymorphism in Whales. Immunogenetics (sous presse), 1988.

LE C

J.-M.

ONTO

Diffé  
des org  
réaction  
[11].

Mise e

Chat  
moyens  
thymus  
Des p  
basophi  
gestatio  
complè

tenoptera  
r analyse  
restriction  
de gènes  
cées de  
utilisées  
eucocytes  
espèces  
ches ont  
animaux  
is qu'ils  
a signifi-  
orphisme

hoepithelial  
Harrisson,  
s, London

entification.  
elphia, WB

al Diseases,

ic Examina-  
captivity. J

in Aquatic  
(5) : 1424-

ertain Small

Microscopic  
H Ridgway,  
Charles C

in Whales.

## IMMUNOLOGIE DES CARNIVORES

### LE CHIEN ET LE CHAT

J.-M. Person

#### ONTOGENÈSE

Différents travaux ont décrit la mise en place des organes lymphoïdes et le développement des réactions immunes chez le fœtus des carnivores [11].

#### Mise en place des organes lymphoïdes

**Chat :** des cellules ayant l'allure de grands et moyens lymphocytes sont observables dans le thymus de chat dès les 27-30<sup>e</sup> jours de gestation. Des petits lymphocytes à cytoplasme très basophile apparaissent entre le 33<sup>e</sup> et le 38<sup>e</sup> jour de gestation. La colonisation du thymus semble complète vers le 40<sup>e</sup> jour.

**Chien :** le thymus commence à être identifiable morphologiquement chez le fœtus de chien vers le 25<sup>e</sup> jour de gestation et présente à partir du 40<sup>e</sup> jour une structure histologique identique à celle du thymus d'un jeune adulte. Au 40<sup>e</sup> jour, le thymus est le seul organe lymphoïde présentant des cellules morphologiquement identifiables à des lymphocytes. Cependant, dès le 38<sup>e</sup> jour, des ganglions lymphatiques se sont formés et des lymphocytes peuvent être identifiés dans la rate vers le 54<sup>e</sup> jour de gestation.

A la naissance (60 à 63<sup>e</sup> jour de gestation), les plaques de Peyer sont identifiables au niveau de l'intestin.

La thymectomie pratiquée durant la gestation, entre 40 et 48 jours, est responsable de l'installation chez le nouveau-né d'un déficit immunitaire mixte se traduisant par une diminution de la capacité de rejeter les allogreffes et de synthétiser des immunoglobulines. En revanche, la thymectomie pratiquée à la naissance n'entraîne pas un tel déficit et n'empêche pas le développement des organes lymphoïdes périphériques. Ceci indique

que la migration des lymphocytes thymiques vers les organes lymphoïdes périphériques commence bien avant la naissance et est déjà largement accomplie à ce moment.

## Développement des réponses immunes

### Rejet des allogreffes

On sait que le rejet des allogreffes est un bon reflet de la mise en œuvre des réactions immunes cellulaires, c'est-à-dire des cellules T.

Chez le chien, la mise en place d'une allogreffe de peau chez des fœtus âgés de 40 à 48 jours (c'est-à-dire aux trois quarts de la gestation) s'accompagne 9 jours plus tard des modifications histologiques classiques du rejet (infiltrats de cellules mononucléées). Le rejet intervient, mais plus lentement (42 jours) que dans le cas où la greffe est réalisée chez le nouveau-né ou l'adulte (11 jours).

### Effet mitogène des lectines

Les cellules spléniques du chien répondent à l'action mitogène de la phytohématagglutinine dès le 45<sup>e</sup> jour de gestation et les thymocytes dès le 50<sup>e</sup>. La réponse proliférative des lymphocytes s'accroît régulièrement jusqu'au 3<sup>e</sup> jour après la naissance où elle atteint les valeurs rencontrées chez l'adulte.

### Synthèse d'immunoglobulines

Nous ne disposons que d'informations peu nombreuses ou fragmentaires sur le début de la phase de biosynthèse des immunoglobulines chez le fœtus de chien ou de chat. Chez le chien, il semble que les premières cellules synthétisant des anticorps (identifiées par la technique des cellules formant plages d'hémolyse après immunisation avec des hématies de mouton), apparaissent lorsque la stimulation anti-génique est effectuée après le 48<sup>e</sup> jour de gestation, alors qu'une immunisation plus précoce (40<sup>e</sup> jour) n'induit pas l'apparition de ces cellules. L'intensité de la réponse reste cependant, à ce stade du développement (48<sup>e</sup> jour), nettement inférieure à celle du nouveau-né ou de l'adulte (environ 1 p. cent de cette dernière).

Les nouveau-nés manifestent une réaction immune humorale après stimulation avec des antigènes particuliers (notamment bactériens),

mais non avec des antigènes solubles comme l'albumine sérique bovine. Une situation analogue a été observée chez le chaton nouveau-né.

## ORGANES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

L'histogenèse des organes lymphoïdes secondaires a fait l'objet de quelques études chez le chien [2].

Les ganglions lymphatiques les plus importants apparaissent vers le 35-38<sup>e</sup> jour de gestation. Les petits ganglions ne sont identifiables que plus tardivement, à partir du 46<sup>e</sup> jour, alors que l'ébauche splénique est observée à peu près au même stade de développement que le thymus (26-28<sup>e</sup> jour). La prolifération et le développement des populations lymphoïdes débutent dans les ganglions et dans la rate vers les 52-53<sup>e</sup> jours de gestation, soit environ 2 à 3 semaines après la colonisation thymique (35-36<sup>e</sup> jour).

L'existence d'une granulocytopoïèse, présente uniquement dans le paracortex et la medulla, est

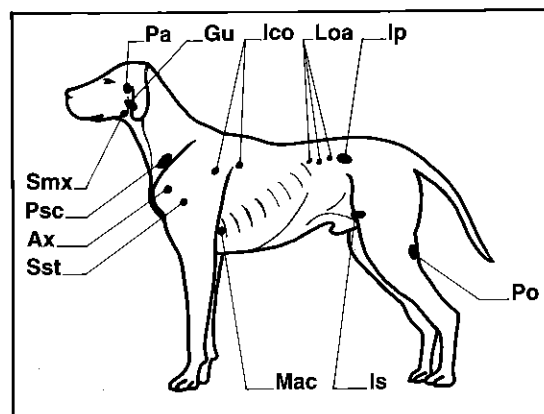


Figure 52-1 Diagramme des ganglions lymphatiques du chien. Noter le petit nombre de groupes et de ganglions par rapport au chameau ou à la vache (voir chapitres 5 et 55). Ax : ganglion axillaire; Gu : ganglion rétropharyngien; Ico : ganglions intercostaux; Ip : ganglions iliaques médiaux; Is : ganglions inguinaux superficiels ou scrotaux; Loa : ganglions lombo-aortiques; Mac : ganglion axillaire accessoire; Pa : ganglion parotidien; Po : ganglion poplité; Psc : ganglions cervicaux superficiels caudaux ou précapsulaires; Smx : ganglions mandibulaires; Sst : ganglion sus-sternal (PP Grassé, Traité de Zoologie, tome XVI, Mammifères, fasc. IV, Système nerveux, organes des sens, appareil circulatoire, sang et lymphé, Masson, Paris, 1972. Reproduit avec autorisation, d'après Bourdelle et Bressou).

Figure  
chiques  
Bd : b  
bronche  
lymphat  
ganglion  
trajet in  
lymphat  
ganglion  
trajet :  
médiast  
pulmon  
bronchi  
trachéo-  
glion tra  
tronc p  
veines p  
de Zool  
fasc. IV  
des sens  
lymphe  
duit ave

caracté  
lymph  
rempla  
tions l  
ment a  
des ve  
lisées  
notabl  
la nai  
follicu  
retrou  
gangli  
naissat  
52-2).

CELL  
IMM

Les  
les car  
mam  
phago

Héma

La t  
une p  
(c'est-

comme analogue né.

s second chez le

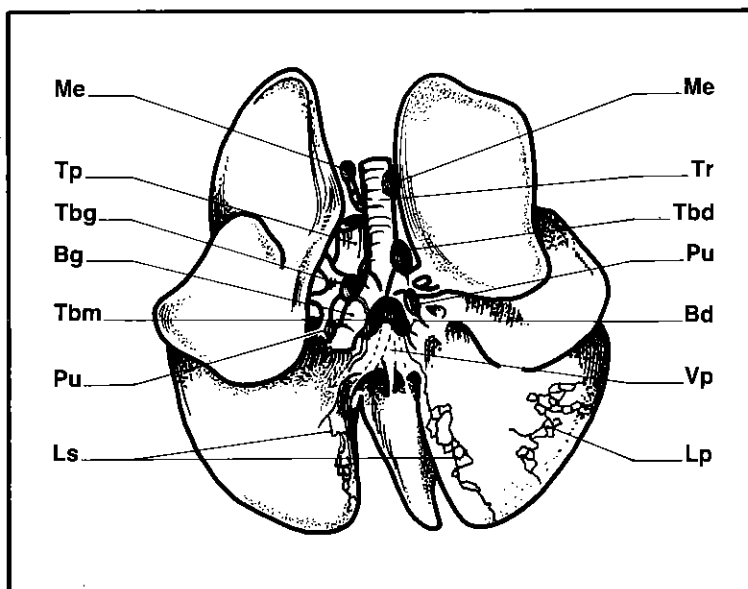
portants ion. Les que plus lors que près au thymus ppeement dans les jours de après la

présente ulla, est



atiques du ngliions par s 5 et 55). ngien; Ico :édiaux; Is : gangliions soire; Pa : gangliions Smx : gan- PP Grassé, fasc. IV, atoire, sang utorisation,

**Figure 52-2** Gangliions trachéo-bronchiques et pulmonaires du chien. Bd : bronche souche droite; Bg : bronche souche gauche; Lp : vaisseaux lymphatiques superficiels rejoignant les gangliions trachéo-bronchiques après un trajet intrapulmonaire; Ls : vaisseaux lymphatiques superficiels rejoignant les gangliions trachéo-bronchiques par un trajet sous-pleural; Me : ganglion médiastinal crânial; Pu : ganglion pulmonaire; Tbd : ganglion trachéo-bronchique droit; Tbg : ganglion trachéo-bronchique gauche; Tbm : ganglion trachéo-bronchique médian; Tp : tronc pulmonaire; Tr : trachée; Vp : veines pulmonaires (PP Grassé, Traité de Zoologie, tome XVI, Mammifères, fasc. IV, Système nerveux, organes des sens, appareil circulatoire, sang et lymph, Masson, Paris, 1972. Reproduit avec autorisation, d'après Baum).



caractéristique des gangliions avant la colonisation lymphoïde. Dans les gangliions mésentériques, le remplacement des granulocytes par des populations lymphoïdes peu avant le terme est intimement associé au développement de l'endothélium des veinules post-capillaires. Ces veinules spécialisées et les cellules lymphoïdes se développent notablement durant les trois premiers jours après la naissance et plus modérément ensuite. Des follicules primaires et des centres germinatifs sont retrouvés après la naissance seulement dans les gangliions et la rate, mais sont présents avant la naissance dans le tissu iléo-cæcal (Fig. 52-1 et 52-2).

cléaires neutrophiles), plus marqué chez le chien que chez le chat (Tableau 52-1). La lymphocytose est habituellement modérée et assez stable. Une valeur inférieure à 1 000/mm<sup>3</sup> chez le chien et à 1 500 chez le chat indique l'existence d'une lymphopénie périphérique qui, si elle est persistante, doit orienter vers l'existence d'un déficit immunitaire.

Comme pour les autres espèces, il n'est pas possible de distinguer morphologiquement les différentes sous-populations lymphocytaires fonctionnelles. Cette distinction peut toutefois être faite, dans une certaine mesure, grâce à l'existence de marqueurs.

**CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE**

Les cellules du système immunitaire sont, chez les carnivores comme chez les autres espèces de mammifères, les lymphocytes et les cellules phagocytaires mono- et polynucléées.

**Hématologie**

La formule leucocytaire des carnivores présente une particularité : elle est de type neutrocytaire (c'est-à-dire dominée en nombre par les polynu-

**Tableau 52-1** Valeurs hématologiques normales chez le chien et le chat.

Cellules		Chien	Chat
Erythrocytes	10 <sup>12</sup> /l	5,5 à 8,5	5,5 à 10
Leucocytes	10 <sup>9</sup> /l	7 à 17	6 à 18
PNNéutro	p. cent 10 <sup>9</sup> /l	60-70 3 à 12	40-80 3 à 13
PNEéosino	p. cent 10 <sup>9</sup> /l	2-10 0,1 à 1	2-12 0 à 1,5
Lymphocytes	p. cent 10 <sup>9</sup> /l	12-30 1 à 4	20-55 1,5 à 7
Monocytes	p. cent 10 <sup>9</sup> /l	3-10 0,2 à 1,3	1-4 0 à 1

## Marqueurs lymphocytaires

Ce sont soit des glycoprotéines dont certaines sont restreintes à une lignée ou à une population, ou encore à un stade de différenciation cellulaire, soit des résidus glucidiques, ancrés dans la membrane cellulaire. Une des difficultés de l'étude des marqueurs tient à l'obtention de populations lymphocytaires purifiées : la sédimentation différentielle sur Ficoll-Isopaque donne des résultats inconstants; la sédimentation sur Percoll conduit à une excellente pureté (95 p. cent) mais au prix d'un rendement relativement médiocre.

### Lectines [4]

**Lectines mitogènes.** La *phytohémagglutinine* (PHA) reconnaît spécifiquement la N-acétylgalactosamine et ses dérivés. Comme pour les lymphocytes d'autres espèces de mammifères, la PHA apparaît comme une lectine mitogène pour les lymphocytes T. Bien que reconnaissant (au moins chez l'homme) une glycoprotéine de poids moléculaire 42 kd présente à la surface des lymphocytes B comme des lymphocytes T, la PHA n'a d'action mitogène que sur les lymphocytes T. Son effet paraît lié à sa fixation sur le complexe CD3 (T3) des lymphocytes T, molécule associée au récepteur de l'antigène et responsable du déclenchement de la transformation lymphoblastique avec division cellulaire. Chez le chat, divers auteurs ont montré que la PHA n'activait que modérément la prolifération lymphoblastique des lymphocytes T. Les concentrations optimales seraient de 5  $\mu\text{g/ml}/10^6$  lymphocytes T chez le chien et de 50  $\mu\text{g/ml}/10^6$  lymphocytes T chez le chat.

La *concanavaline A* (Con A) a un effet mitogène prédominant sur les lymphocytes T, tant chez le chien que chez le chat, espèces pour lesquelles elle présente un fort pouvoir mitogène. En outre, la Con A semble induire, au moins chez les félins, des lymphocytes T suppresseurs. Rappelons que chez la souris, la Con A paraît stimuler les lymphocytes B sans pour autant induire leur prolifération. Les concentrations optimales seraient de 15  $\mu\text{g/ml}/10^6$  lymphocytes T chez le chien et de 100  $\mu\text{g/ml}/10^6$  lymphocytes T chez le chat.

Le « *pokeweed mitogen* » (PWM) ou phyto-laque (famille des phytolaccacées, ordre des centrospermales) est, chez les carnivores comme pour beaucoup d'autres espèces de mammifères et d'oiseaux, un puissant mitogène aussi bien pour

les lymphocytes T que pour les lymphocytes B. La concentration optimale serait de 80  $\mu\text{g/ml}/10^6$  lymphocytes T chez le chat.

Les *lipopolysaccharides bactériens* (LPS), cousins des lectines, représentent les mitogènes bactériens les mieux étudiés. Leur pouvoir mitogène a été établi chez la souris. Il est beaucoup plus modeste chez les carnivores où le LPS est faiblement mitogène pour les lymphocytes du sang périphérique. Il semble, au moins chez le chien, stimuler plus intensément les lymphocytes provenant des organes lymphoïdes secondaires.

**Lectines marqueurs.** D'autres lectines, dépourvues d'effet mitogène notable mais reconnaissant des structures membranaires associées soit à un état fonctionnel particulier, soit à un état de différenciation cellulaire, peuvent être utilisées en tant que marqueurs.

La « *peanut agglutinin* » ou agglutinine d'arachide (PNA) se fixe spécifiquement sur la N-acétylgalactosamine et ses dérivés. Elle est, chez le chien, un bon marqueur des lymphocytes essentiellement T [9]. Ces auteurs ont montré une bonne corrélation entre les méthodes d'enrichissement en cellules T ou B et le pourcentage de cellules PNA<sup>+</sup> ou PNA<sup>-</sup> (Tableau 52-II).

**Tableau 52-II** Distribution des cellules fixant la PNA, un xénoantisérum anti-T et des cellules possédant un récepteur pour le C3 du complément dans des populations appauvries ou enrichies en cellules T ou en cellules PNA<sup>+</sup>, d'après [9].

Populations cellulaires	Cellules PNA positives	Cellules marquées par sérum anti-T	cellules Igs <sup>+</sup>
Appauvrie en cellules PNA <sup>+</sup>	<1	<1	68
Enrichie en cellules PNA <sup>+</sup>	96	95	2
Appauvrie en cellules T	3	2	55
Enrichie en cellules T	92	94	3
Appauvrie en cellules EAC <sup>+</sup>	92	94	5
Enrichie en cellules B	6	5	89

Igs : Cellules présentant des immunoglobulines de surface révélées par immunofluorescence de membrane.

EAC : Cellules formant des rosettes avec le complexe érythrocyte/anticorps/complément.

*Immunoglobulines de membrane ou de surface (Igs)*

La mise en évidence d'Igs reste à l'heure actuelle la technique de référence pour l'identification des lymphocytes B chez le chien comme chez le chat. La technique habituellement utilisée est l'immunofluorescence de membrane, plus rarement la cytofluorométrie. La distribution des cellules Igs<sup>+</sup> (supposées B) dans les différents tissus lymphoïdes est rapportée dans le tableau 52-III.

**Tableau 52-III** Distribution des sous-populations lymphocytaires dans différents territoires lymphoïdes, d'après [9].

Tissus ou organes	Cellules marquées par un sérum anti-T	Cellules PNA <sup>+</sup>	Cellules Igs <sup>+</sup>	Cellules EAC <sup>+</sup>
Sang	72±7	70±11	15±6	22±7
Thymus	97±5	95±6	<1	4±0,5
Rate	46±10	49±8	29±4	39±7
Ganglions	62±5	65±9	22±2	29±6
Moelle osseuse	<1	<1	70±10	91±9

Igs : Cellules présentant des immunoglobulines de surface révélées par immunofluorescence de membrane.  
 EAC : Cellules formant des rosettes avec le complexe érythrocyte/anticorps/complément.  
 PNA : Agglutinine d'arachide.

*Récepteurs pour le Fc*

La technique des rosettes EAC a été proposée chez le chien comme procédé de marquage de la population B. En fait, le récepteur est présent sur d'autres types cellulaires, en particulier sur les cellules NK (26-51 p. cent).

*Récepteurs pour le C3 du complément*

Ce récepteur est parfois utilisé comme marqueur B chez le chien où il semble présent sur les cellules Igs<sup>+</sup> et sur une population de cellules ne présentant pas d'Igs (voir Tableau 52-II).

*Récepteurs pour les érythrocytes*

La technique des rosettes érythrocytaires (rosettes E) proposée pour d'autres espèces a fait l'objet de plusieurs études chez le chien. Elle ne semble pas applicable ou fiable dans cette espèce. Divers auteurs ont montré que les érythrocytes de cobaye ou d'homme, préconisés il y a quelques années, n'étaient pas plus spécifiques des lymphocytes T ou ne révélaient qu'une sous-population de lymphocytes T. Chez le chat, une situation analogue a été observée.

*Antigènes membranaires*

Les lymphocytes de chien présentent sur leur membrane des antigènes spécifiques révélables soit par des antisérums hétérologues, soit par des anticorps monoclonaux.

**Tableau 52-IV** Spécificités de quelques anticorps monoclonaux dirigés contre des épitopes de lymphocytes de chien.

Anticorps monoclonal	Cellules marquées	Cellules non marquées	Spécificité	Auteurs
Aby 6C6	Thymocytes médullaires Ly périphériques T/B Monocytes	Thymocytes corticaux	Antigènes thymocytaires de différenciation	Krawiec, 1984 [7]
DT-2	Ly T périphériques Thymocytes Ly canal thoracique	Ly Igs <sup>+</sup> PNN Erythrocytes Plaquettes	Lymphocytes T mûrs	Wulff, 1982 [14]
Aby 1A1	Ly T périphériques Tissu nerveux Cellules Igs <sup>-</sup>	Lymphocytes B Cellules Igs <sup>+</sup>	Lymphocytes T mûrs	Krawiec, 1984 [6]
03-20-7	Thymocytes Cellules Igs <sup>-</sup> Rein, peau	Cellules Igs <sup>+</sup>	Lymphocytes T mûrs	McKenzie, 1981 [8]

Ly : Lymphocytes.  
 PNN : Polynucléaires neutrophiles.

**Sérums hétérologues anti-T** : plusieurs sérums, généralement obtenus chez le lapin, ont été proposés. La principale difficulté réside dans la standardisation de leur méthode de préparation et donc dans la reproductibilité des résultats obtenus avec ce type de réactif. Selon les auteurs, ces sérums marquent de 60 à 80 p. cent des lymphocytes T périphériques et 95 à 100 p. cent des thymocytes (voir Tableau 52-III).

**Anticorps monoclonaux** : plusieurs anticorps monoclonaux dirigés contre des déterminants des cellules lymphoïdes ont été produits et ont fait l'objet de publications (Tableau 52-IV).

### COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ

Seul le chien a fait l'objet de recherches significatives dans ce domaine. Après l'étude du système H-2 de la souris, divers auteurs se sont intéressés au complexe majeur d'histocompatibilité du chien, dénommé DLA (Dog Leucocyte Antigens).

Les antigènes du complexe DLA [10] sont définis sur une base analogue à celle utilisée chez l'homme et la souris. On décrit de cette façon :

— des antigènes sérologiquement définis ou de classe I;

— des antigènes définis en culture lymphocytaire mixte (CLM) et apparentés, ou de classe II.

Les premiers sont déterminés par trois loci polymorphes A, B et C. Les seconds sont contrôlés par deux loci, D et E.

Bien que les techniques d'étude du système DLA soient analogues à celles utilisées pour les systèmes H-2 et HLA, les connaissances concernant le système canin sont loin d'être aussi complètes que chez l'homme et la souris.

### Spécificités sérologiquement définies

Seize spécificités au moins ont été définies, chacune étant reconnue par des sérums de référence mono- ou polyspécifiques. Le tableau 52-V rapporte les fréquences phénotypiques et génotypiques des antigènes des deux séries alléliques A et B, étudiées dans des populations de chiens non apparentés et admises lors du second atelier d'immunogénétique canine. Les spécificités DLA-A11, B12 et R15 sont contrôlées par des allèles du troisième locus DLA-C tandis que R16 et P17

**Tableau 52-V** Fréquence phénotypique et génique des antigènes DLA chez 253 chiens non apparentés (résultats du deuxième atelier d'immunogénétique canine).

Séries	Fréquence phénotypique	Fréquence génique
Première série (DLA-A)		
A1	0,055	0,028
A2*	0,202	0,106
A3	0,462	0,267
A7*	0,352	0,195
A8	0,095	0,049
A9	0,225	0,120
A10*	0,296	0,161
Blanc	—	(0,074)
Deuxième série (DLA-B)		
B4	0,130	0,068
B5	0,250	0,135
B6	0,296	0,161
B12	0,091	0,047
B13	0,257	0,138
Blanc	—	0,451
Candidat éventuel pour la troisième série (DLA-C)		
DLA 11	0,182	0,096
Antigènes DLA non localisés		
R15	0,194	0,102
R16	0,134	0,070
P17	0,147	0,076

\* Ces fréquences sont surestimées.

seraient des allèles du second locus DLA-B. En comparant les résultats de plusieurs laboratoires, aucune différence de fréquence génique n'est apparue entre chiens européens et nord-américains, ce qui pourrait s'expliquer par leur origine ancestrale commune.

Enfin, il apparaît que des liaisons géniques (déséquilibre de liaison) existent entre les loci A et B, ce qui explique les différences observées lors d'études intrafamiliales entre les fréquences attendues des haplotypes et les fréquences observées. Les associations préférentielles seraient : A10-B4, A2-B5, A9-B6, A7-B13, A8-B13.

### Spécificités définies en CLM

Huit déterminants au moins ont été identifiés au locus ou aux loci de classe II du complexe DLA et désignés DLA 50 à 57. Chaque allèle présente une association préférentielle avec un haplotype sérologiquement défini. Deux loci au moins contrôlèrent l'expression génétique de ces spécificités. Le locus DLA-D comporterait les

allèles 50, 51, 52 et 55; les autres déterminants n'ont pas encore été attribués à un locus précis.

**Gènes de réponse immune Ir**

Les méthodes d'analyse ont été les mêmes que pour la souris : immunisation par des molécules polypeptidiques linéaires, notamment les polymères d'acide L-glutamique et de L-alanine (GA), L-lysine (GL) ou L-tyrosine (GT) injectés avec de l'adjuvant complet de Freund. Pour chacun de ces trois antigènes, on a trouvé des animaux « répondeurs » et « non répondeurs », ce qui suggère, d'une part, l'existence de gènes gouvernant la réponse immune et, d'autre part, leur liaison avec le complexe DLA.

**Antigènes Ia et composants du complément**

La question de l'existence ou non d'antigènes Ia similaires à ceux de la souris ou de l'homme n'a pas encore été définitivement tranchée chez le chien. Cependant un anticorps monoclonal spécifique d'un déterminant Ia reconnaît un complexe bimoléculaire (29 et 34 kd) similaire à celui reconnu sur les lymphocytes humains et dont la distribution (notamment sur la majorité des lymphocytes T mûrs) suggérerait des particularités intéressantes de l'espèce canine au plan du fonctionnement du système immunitaire [3].

Quant aux facteurs du complément, un facteur polymorphe (sans doute C3) a été décrit sans liaison connue avec le DLA.

**Organisation génétique du DLA**

La carte chromosomique du DLA est représentée sur la figure 52-3. La définition et l'empla-

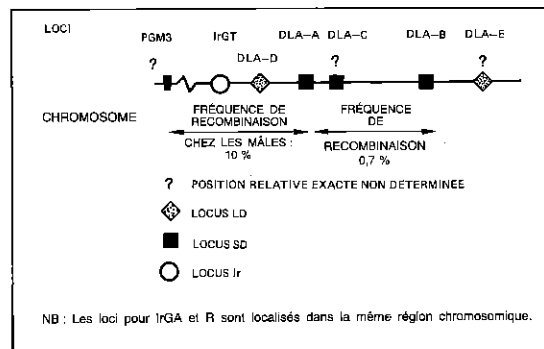


Figure 52-3 Organisation génétique du système DLA.

cement précis de ces loci les uns par rapport aux autres n'ont pu être précisés que pour certains d'entre eux.

**ANTIGÈNES DE GROUPES SANGUINS**

**Groupes sanguins du chien**

Huit antigènes au moins de groupes sanguins (ou antigènes allo-érythrocytaires) ont été décrits chez le chien sous l'appellation de DEA (Dog Erythrocyte Antigens) ou CEA (Canine Erythrocyte Antigens). Ils sont désignés sous les dénominations de DEA 1.1 (anciennement dénommé A1), 1.2 (anciennement dénommé A2), 3, 4, 5, 6, 7 et 8. Les antigènes DEA 1.1 et 1.2 sont gouvernés par des allèles et par conséquent ne peuvent se retrouver ensemble sur le même haplotype. Ils sont par ailleurs considérés comme étant les plus immunogènes et sont à l'origine de la majorité des accidents transfusionnels observés en clinique. L'antigène DEA 1.7 présente un pouvoir immunogène moins important que 1.1 et 1.2, mais encore suffisant pour être responsable d'incompatibilités; il représente ainsi la troisième cause d'accidents cliniques. Les antigènes 3, 5 et 8 ont une immunogénicité plus réduite ou une fréquence faible, ce qui explique qu'ils ne sont qu'exceptionnellement incriminés dans ce type d'accident.

Aucun système de groupe sanguin canin ne comporte d'agglutinines naturelles. Les accidents transfusionnels ne sont donc observés que chez des animaux polytransfusés, lors de la deuxième et plus fréquemment lors de la troisième transfusion de sang incompatible.

**Groupes sanguins du chat**

Trois groupes sanguins sont décrits chez le chat sous le nom de système AB félin : A, B et AB. Ils sont antigéniquement différents du système ABO de l'homme, mais présentent comme ce dernier la particularité de comporter des agglutinines naturelles sériques. Toutefois, les agglutinines naturelles du chat diffèrent de celles du système ABO de l'homme par le fait qu'elles appartiennent à la classe des IgG et non des IgM. Ce fait a diverses implications, notamment en ce qui concerne les incompatibilités fœtomaternelles dans l'espèce féline.



Les groupes A, B et AB sont définis comme suit :

— les chats du groupe A (75 à 90 p. cent de la population féline selon les pays) présentent l'antigène A à la surface de leurs érythrocytes et des agglutinines naturelles sériques anti-B à titre faible ou nul;

— les chats du groupe B (10 à 25 p. cent selon les pays) présentent l'antigène B à la surface de leurs érythrocytes et des agglutinines naturelles sériques anti-A à titre élevé;

— les chats du groupe AB (0,5 p. cent de la population féline) présentent les antigènes A et B à la surface de leurs érythrocytes et sont dépourvus d'agglutinines naturelles sériques.

Des incompatibilités transfusionnelles peuvent être observées lors d'une primo-transfusion, essentiellement lors de transfusion de sang d'un chat de groupe A à un chat de groupe B. La transfusion de sang de groupe B à un chat de groupe A ne s'accompagne que rarement de choc transfusionnel lors de primo-transfusion en raison des titres faibles en agglutinines naturelles anti-B dans le sérum des chats A.

## IMMUNOGLOBULINES DES CARNIVORES

### Immunoglobulines du chien

#### Mise en évidence

Quatre classes d'immunoglobulines sont décrites chez le chien : les IgG, IgM, IgA et IgE. Les IgD n'ont pas encore pu être caractérisées dans cette espèce.

Six classes ou sous-classes d'immunoglobulines ont été caractérisées et dénommées 7S $\gamma$ 2a, 7S $\gamma$ 2b, 7S $\gamma$ 2c, 7S $\gamma$ 1 intermédiaire, 7S $\gamma$ 1 et  $\gamma$ M [5].

Les  $\gamma$ 2 ont la mobilité électrophorétique la plus lente. L'arc leur correspondant en immunoélectrophorèse se sépare en 2 à son extrémité cathodique (2a et 2b). Les  $\gamma$ 2c, de mobilité électrophorétique légèrement plus rapide, forment un éperon rejoignant l'arc des  $\gamma$ 2ab.

Les  $\gamma$ 1 sont des  $\gamma$ -globulines rapides et leur arc en immunoélectrophorèse est parallèle à celui des  $\gamma$ 2. L'arc des Int $\gamma$ 1 est intermédiaire entre celui des  $\gamma$ 1- $\gamma$ 2 et celui des  $\gamma$ M.

Vaerman et Heremans [12, 13] reprenant les travaux de Johnson et Vaughan et comparant les immunoglobulines du chien à celles de l'homme

ont défini une nouvelle nomenclature : les  $\gamma$ 2a et  $\gamma$ 2b ont le même coefficient de sédimentation (6,7 S) et sont exclus d'une DEAE cellulose à pH = 8 et à faible force ionique (0,01 M). Elles se rapprochent des IgG humaines. Elles sont actuellement considérées comme une seule sous-classe d'IgG (-IgG2ab). Les  $\gamma$ 2c et  $\gamma$ 1 sont assimilées à deux sous-classes d'IgG : IgG2c et IgG1. Les IgG1 et IgG2ab sont deux sous-classes d'IgG car des déterminants antigéniques communs ont été mis en évidence. La 7S $\gamma$ 1 a été aussi appelée IgG1 ou par certains auteurs IgGd (voir chapitre 41).

Les  $\gamma$ M correspondent aux IgM et possèdent des déterminants antigéniques communs avec les IgM humaines.

Les int. $\gamma$ 1 sont des IgA, dont elles ont les caractéristiques biologiques; elles ont des déterminants antigéniques communs avec les IgA humaines.

Les anticorps anaphylactiques présents chez le chien semblent être des IgE.

#### Purification

L'obtention d'IgG pure de chien est moins aisée que dans le cas d'autres espèces en raison des difficultés de séparation de la transferrine. Les techniques font habituellement appel à la précipitation par des sels neutres suivie par une chromatographie sur DEAE cellulose. Les préparations obtenues sont riches en IgG2ab, souvent presque pure. En revanche l'obtention d'IgG1 est délicate en raison de la contamination importante par l'IgG2. L'IgG2c n'a pu être obtenue qu'à partir d'un sérum de myélome.

Les méthodes d'obtention d'IgM et d'IgA sont analogues à celles préconisées pour d'autres espèces.

#### Structure (voir Tableau 52-VI)

Les immunoglobulines de chien ont une structure analogue à celle des immunoglobulines des autres mammifères.

Les IgG sont formées de deux chaînes lourdes (H)  $\gamma$  et de deux chaînes légères (L) kappa ou lambda que l'on peut séparer par filtration sur gel après réduction et alkylation. Peu d'informations sont disponibles pour les chaînes  $\gamma$ . Le séquençage des acides aminés de la partie variable d'une chaîne  $\gamma$  a permis de les rapprocher du sous-groupe VH III de l'homme. Les chaînes L sont en majorité de type lambda. Leur PM varie de 22,5 à 24,8 kd et leur composition en acides

Tableau 52-VI Propriétés physico-chimiques des immunoglobulines du chien.

	IgG	IgM	IgA sériques	IgA sécrétoires
Poids moléculaire (daltons)	150 000-160 000	880 000-941 000	376 000	380 000-392 000
Constante de sédimentation	6,7 S = IgG2 7 S = IgG1	17,6-18,8 S (21 S = IgM sécrétoire)	9,8-11 S (60 p. cent) + hauts polymères (40 p. cent)	11,7-11,8 S + hauts polymères
Mobilité électrophorétique	γ lent à α <sub>2</sub>	β	γ rapide à β	γ rapide à β
Teneur en glucide (pourcentage)	—	6,8-10,37	5,68	—
Extinction*	1,34-1,39 IgG1, IgG2a, b = 1,43 IgG2c = 1,50	1,19	—	1,22
Fixation à la protéine A de <i>Staphylococcus aureus</i>	++ (G2 + G1)	+	+	—

\* 0,1 p. cent, 1 cm, 280 nm.

aminés semble voisine de celle des chaînes L de l'homme. Seule la séquence de la partie variable d'une chaîne kappa a été menée à bien. Elle rapproche les chaînes L canines du sous-groupe VK II de l'homme, contrairement aux autres mammifères, plutôt apparentés au sous-groupe VK I.

Les IgM sériques ont une structure pentamérique, chaque monomère étant formé de deux chaînes lourdes μ et de deux chaînes L kappa ou lambda. Une pièce « J » de jonction y est associée. Les chaînes μ ont un PM compris entre 65 et 75 kd, elles comprennent cinq domaines et sont apparentées au sous-groupe VH III humain. Une chaîne μ a été complètement séquencée : une homologie de 81 p. cent est observée avec les chaînes μ humaines. Cette homologie est significativement plus élevée que celle normalement observée entre les chaînes μ provenant de deux espèces différentes. Il existe des IgM sécrétoires isolées du colostrum ou des sécrétions bronchiques. Elles présentent une glycoprotéine supplémentaire, le composant sécrétoire, lié de façon covalente au pentamère.

Les IgA sériques sont présentes sous forme de dimères, deux chaînes H liées à deux chaînes L. La chaîne α a un PM de 69,3 kd. La séquence en acides aminés des régions variables de plusieurs chaînes α les rapproche du sous-groupe VH III humain, comme cela a déjà été noté pour les chaînes γ et μ. Il apparaît que le sous-groupe VH III est nettement dominant parmi les immunoglobulines canines quelle que soit leur classe. Trois acides aminés, l'acide aspartique en position 10, la sérine en position 21 et la valine en position 23 sont caractéristiques du chien. Les IgA sécrétoires sont à majorité dimériques (10 p. cent monomériques) associées à la pièce J et, de façon inconstante, au composant sécrétoire.

Propriétés biologiques

Les concentrations en Ig des liquides biologiques sont reproduites dans le tableau 52-VII. Les IgG sont les immunoglobulines dominantes du sérum (79 à 86 p. cent), suivies des IgM (6 à 14 p. cent) et des IgA (4 à 7 p. cent). Parmi les IgG, les IgG2ab sont très dominantes (plus de 50 p. cent), avant les IgG1 et les IgG2c.

Tableau 52-VII Concentrations moyennes des classes d'immunoglobulines dans divers liquides biologiques (en mg/ml).

	IgG	IgG1	IgG2a b	IgG2c	IgM	IgA
Sérum (pure race)	9,25	3,00	5,12	1,13	1,56	0,83
Sérum (croisés)	14,45	5,62	7,71	1,12	1,45	0,79
Colostrum	14,53	6,94	6,70	0,89	2,17	3,13
Salive de la glande parotide	0,015	—	—	—	0,03	0,52
Sérum de chien adulte	15,00±5,00	—	—	—	1,50±0,50	1,00±0,60

Le colostrum contient lui aussi une majorité d'IgG (appartenant surtout aux deux sous-classes IgG2ab et IgG2c). Les concentrations en IgA dépassent dans ce liquide celles des IgM.

Le transfert passif d'immunoglobulines de la mère au jeune assure au chiot une immunité humorale transitoire. Il est surtout assuré par voie colostrale (90 à 96 p. cent) et secondairement par voie transplacentaire.

Seules les IgG peuvent traverser la barrière placentaire à partir du 45<sup>e</sup> jour de gestation jusqu'à la naissance. Les IgG colostrales peuvent traverser la barrière intestinale pendant 12 à 72 heures après la naissance. La concentration du sérum du jeune chiot peu après la naissance dépend essentiellement du taux des IgG maternelles et de la qualité du transfert colostrale. Le transfert semble par ailleurs plus efficace chez les petites portées que chez les grandes. La demi-vie des immunoglobulines colostrales est de 9 jours.

Les IgG2ab présentent des propriétés de précipitation et d'agglutination, alors qu'il semble que les IgG1 ne soient pas précipitantes.

### Immunoglobulines du chat

Trois classes d'immunoglobulines ont été décrites chez le chat [1] : les IgG, les IgM et les IgA.

Les IgG se présentent selon un schéma général analogue à celui des immunoglobulines du chien ou d'autres espèces. Les deux chaînes lourdes  $\gamma$  sont réunies dans la molécule par un seul pont disulfure intercaténaire, situé à la charnière des deux chaînes. Les IgG sont scindées en deux sous-classes, IgG1 et IgG2, d'après la mise en évidence d'un dédoublement de l'arc de précipitation en immunoelectrophorèse. Elles représentent la grande majorité des immunoglobulines sériques (80-85 p. cent).

Les chaînes lourdes ont un PM variant de 53 à 57 kd. La séquence totale d'une chaîne lourde  $\gamma$  n'est pas encore disponible, mais des séquences partielles sont connues : on sait ainsi que la chaîne du copule glucidique est fixée sur une molécule d'acide aspartique située à environ 150 résidus de l'extrémité C-terminale, donc très près de la zone charnière. De même, la séquence des 30 premiers acides aminés de l'extrémité amino-terminale de trois chaînes  $\gamma$  différentes a été publiée : des substitutions n'ont été observées que dans trois sites pour les 3 paraprotéines étudiées. Il faut noter que ce fragment, correspondant à la zone V, présente des homologies importantes avec les

régions analogues des chaînes du chien et de l'homme.

Les chaînes légères ont un PM de 22 à 24 kd. Elles sont unies par un pont disulfure à la chaîne lourde.

## MUSTÉLIDÉS ET MALADIE ALÉOUTIENNE

M. Remond

Les mustélidés appartiennent à l'ordre des carnivores. Phylogéniquement, ils sont plus proches des *Procyonidés* (raton laveur) et des *Canidés* que des *Félidés*, comme le démontrent les réactions immunologiques croisées [47, 48].

Parmi les mustélidés, les seules espèces dont le système immunitaire a été étudié sont le vison et le furet; le vison comme espèce d'élevage mais aussi parce qu'il peut être atteint d'une affection virale ayant une composante immunopathologique (la maladie du vison aléoutien appelée plus brièvement la maladie aléoutienne), le furet davantage comme animal de laboratoire en recherche biomédicale (pharmacologie, toxicité, modèle de l'infection à virus influenza) [36].

### Ontogenèse du système immunitaire

A l'exception d'études sur l'acquisition des immunoglobulines, aucune description ne fait état de l'ontogenèse des organes lymphoïdes. La transmission des anticorps maternels et la synthèse des immunoglobulines ont été étudiées chez les visonneaux [27]. A la naissance, ils possèdent très peu d'immunoglobulines décelables : leur origine pourrait être maternelle (par voie placentaire) ou autologue, car dès ce moment, ils sont capables de synthétiser des IgM et des IgG. A 8 jours, les taux d'IgM et d'IgG sont identiques à ceux des adultes, ils décroissent entre 19 et 31 jours pour remonter ensuite. Les IgA ne sont décelable qu'à partir du 75<sup>e</sup> jour. Le lait de la femelle du vison contient assez peu d'IgA, comparé aux IgG, mais cependant 3 fois plus que dans le sérum. Les IgA ne sont pas décelables chez le visonneau (taux trop faible ou incapacité du jeune à les absorber). Des données identiques ont été obtenues chez le furet, quoique la

transmission des IgA au jeune soit plus efficace que chez le vison [49].

### Cellules du système immunitaire

C'est surtout dans la maladie aléoutienne chez le vison et dans l'infection à virus influenza chez le furet que les fonctions immunes cellulaires ont été étudiées [21, 39, 40, 43]. Une revue détaillée de l'hématologie du vison en fonction de la race [31] rapporte une variation importante du nombre total de leucocytes alors que les proportions de neutrophiles et de lymphocytes sont équivalentes. Pour le furet, les données hématologiques réunies dans une revue [41] montrent aussi d'importantes variations dans cette espèce.

Les marqueurs des lymphocytes ont été étudiés chez le furet à l'aide de méthodes classiques : récepteur pour le complément (rosettes zymosan), récepteurs pour les immunoglobulines, immunoglobulines de surface, rosettes T [38]. Les conditions de réponse aux mitogènes [phytohémagglutinine (PHA), pokeweed-mitogen (PWM), concanavaleine A (Con A)] ont été déterminées (doses, durée). La production de MIF et l'hypersensibilité retardée cutanée ont été recherchées à la suite d'une immunisation avec la streptokinase [37, 40]. La mesure de l'hypersensibilité retardée cutanée ainsi que le test de l'œdème de la patte sont toutefois inexploitable.

Chez le vison, les réactions immunes cellulaires ont été étudiées en relation avec le génotype aléoutien et avec l'infection par le parvovirus de la maladie aléoutienne [21, 43, 44]. Le génotype aléoutien se caractérise par une couleur particulière du pelage mais aussi par une anomalie des polynucléaires rappelant celle du syndrome de Chediak-Higashi et survenant chez les visons homozygotes pour ce gène autosomal, récessif. Aucune différence n'est observée entre les visons aléoutiens et les non aléoutiens quant aux index de stimulation des leucocytes circulants par la Con A et la PHA, et des cellules des ganglions par la Con A. L'enrichissement en cellules T (par élimination des cellules adhérentes) n'augmente pas la réponse à la Con A mais accroît la réponse aux antigènes du virus aléoutien.

Les anticorps monoclonaux anti-CD8 et anti-CD4 humains reconnaissent des lymphocytes du vison [6]. L'analyse fonctionnelle des populations cellulaires ainsi marquées et la caractérisation biochimique des antigènes doivent encore être réalisées avant de conclure à une éventuelle utilisation de ces réactifs.

### Antigènes de groupes sanguins et antigènes d'histocompatibilité

Les groupes sanguins ont été étudiés [45, 46] : 3 facteurs et on a décrit, donnant lieu à 5 phénotypes. Aucune hémagglutinine ou hémolyse naturelle n'a été trouvée. Quant aux antigènes d'histocompatibilité, en dehors d'une communauté antigénique avec le système HLA humain [16] ils n'ont encore fait l'objet d'aucune étude systématique.

### Immunoglobulines

Trois classes d'immunoglobulines (IgM, IgG et IgA) ont été caractérisées dans le sérum [28]. Les IgM ont des déterminants communs avec les IgM humains. Les IgA et IgM ont des coefficients de sédimentation et des mobilités électrophorétiques analogues à celles des autres mammifères. Les IgA sont prépondérantes dans les sécrétions et au niveau de la lumière intestinale. Cinq classes ou sous-classes d'IgG ont été décrites :  $\gamma 2A$ ,  $\gamma 2B$ ,  $\gamma 2C$ ,  $\gamma 1$  et  $\gamma A$  [51]. Les chaînes légères présentent un dimorphisme analogue au marqueur OZ des chaînes  $\lambda$  humaines [29]. Deux allotypes ont été décrits [23, 52]. L'allotypie des chaînes lourdes des IgG a été étudiée. Huit allotypes ont été décrits. Leur distribution chez le vison et leur existence chez les autres mustélidés ont fait l'objet de publications [22, 24, 25, 26].

### Maladie aléoutienne

Affection persistante provoquée par un parvovirus, cette maladie s'exprime pleinement chez les visons qui possèdent le gène aléoutien à l'état homozygote. Rappelons que ces visons présentent d'importantes anomalies des polynucléaires. Toutes les souches de vison, ainsi que le furet, sont cependant sensibles au virus. Celui-ci entraîne un dysfonctionnement de la synthèse des immunoglobulines (hypergammaglobulinémie intense) s'accompagnant d'une prolifération importante des plasmocytes (d'où l'autre nom de la maladie : plasmocytose) (Fig. 52-4).

Le virus n'exerce pas directement d'effet cytopathogène évident, à l'exception d'une atteinte pulmonaire chez les visonneaux [8] et de morts fœtales lors de l'infection de femelles gravides [34]. Les animaux succombent à une débilitation progressive : amaigrissement, néphrite, lésions vasculaires, anémie et hémorragies, en rapport

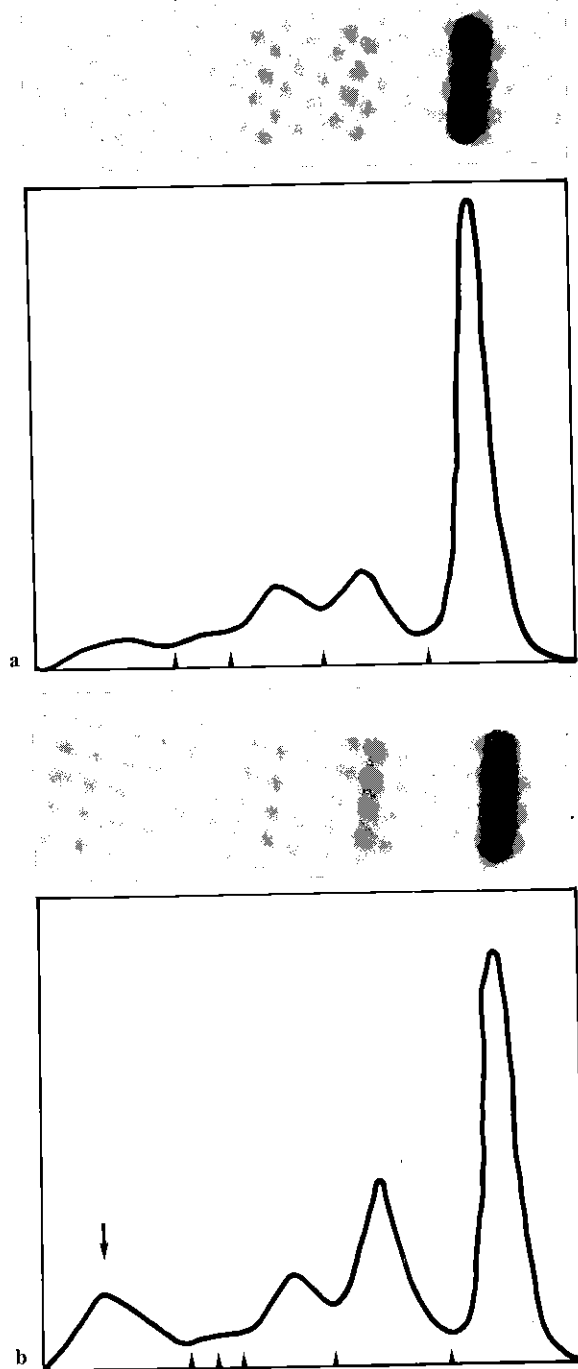


Figure 52-4 Electrophorèse de sérums de vison.  
a) Vison indemne de maladie aléoutienne.  
b) Vison malade.

direct avec l'hypergammaglobulinémie. Les aspects cliniques et épizootiologiques de la maladie sont bien documentés dans les revues [15, 30, 32, 36], les aspects immunologiques dans les revues [15] et [39].

Les animaux atteints ne sont pas réellement immunodéprimés ni pour les réponses cellulaires vis-à-vis du parvovirus ADV (Aleutian Disease Virus), responsable de la maladie, ni pour d'autres antigènes ou mitogènes. La réponse anticorps aux antigènes hétérologues, si elle est diminuée, est loin d'être abolie. L'hypergammaglobulinémie est constituée surtout d'anticorps anti-ADV, de haute affinité, mais aussi d'autoanticorps (anticorps anti-ADN notamment) reflétant une activation polyclonale. Le profil électrophorétique des IgG montre leur hétérogénéité mais on observe, chez quelques très jeunes visons et certains plus âgés, un pic monoclonal [19]. Les anticorps ne sont pas neutralisants : les complexes Ag-Ac demeurent infectieux. La majorité de ces complexes sont de taille inférieure à celle du virion et probablement composés de protéines virales dégradées.

Plusieurs hypothèses ont été émises : ou bien la multiplication virale interfère avec la régulation des cellules B, ou bien la présentation continue de certains antigènes stimule fortement ces cellules. La connaissance du site de multiplication du virus paraît donc essentielle pour éclairer la pathogénie.

L'observation d'antigènes viraux dans les noyaux cellulaires (virus à multiplication intranucléaire), la présence de précurseurs des protéines virales et de formes répliquatives de l'ADN viral (ADN bicaténaire et formes dimériques) permettent de conclure sans ambiguïté à la multiplication du virus. C'est ainsi qu'*in vivo*, le virus se multiplie dans les cellules alvéolaires au niveau du poumon chez les visonneaux [20]. Par contre chez les adultes, la multiplication est limitée à quelques cellules dans les centres germinatifs des ganglions mésentériques [17].

On a obtenu, *in vitro*, la multiplication d'une souche virale SL<sub>3</sub> dans les lymphocytes B [35]. Des formes répliquatives de l'ADN viral ont été mises en évidence dans les cellules de la moelle osseuse [33].

Il semble urgent de posséder des marqueurs des populations lymphocytaires si l'on veut améliorer notre compréhension de la pathogénie de cette maladie. La recherche des antigènes liés aux immunocomplexes peut aider à élucider les phénomènes d'auto-immunité [15] mais aussi à caracté-

ie. Les  
s de la  
vues [15,  
dans les

ellement  
ellulaires  
Disease  
ni pour  
réponse  
elle est  
rgamma-  
anticorps  
d'autoan-  
reflétant  
trophoré-  
mais on  
isons et  
[19]. Les  
complexes  
té de ces  
celle du  
protéines

ou bien la  
régulation  
continue  
ment ces  
plication  
clairer la

dans les  
intranu-  
protéines  
DN viral  
permet-  
plication  
virus se  
niveau du  
entre chez  
quelques  
ganglions

on d'une  
s B [35].  
l ont été  
la moelle

ueurs des  
améliorer  
de cette  
liés aux  
les phé-  
i à carac-

tériser les déterminants responsables de la stimulation des lymphocytes B ou des T auxiliaires.

## LE RENARD

### J. Blancou

Le terme général de « renard » recouvre de très nombreuses espèces de carnivores sauvages réparties en plusieurs genres. C'est le renard roux (*Vulpes vulpes*, Linné, 1758) qui est le plus répandu et le mieux connu. Mais il faut savoir qu'il existe, outre sa sous-espèce américaine (*Vulpes vulpes fulva*) quatre genres de renards :

- les renards au sens strict, dont douze espèces vivant dans le Nord et le Sud de l'Amérique, en Europe, en Asie et en Afrique. Les plus connus sont le renard gris ou argenté (*Urocyon cinereoargenteus*), le renard véloce (*Vulpes velox*), le fennec (*V. zerda*) et le renard du Bengale (*V. bengalensis*);

- les renards sud-américains du genre *Dusicyon* (sept espèces);

- le renard polaire (*Alopex lagopus*);

— le renard à grandes oreilles (*Otocyon megalotis*) d'Afrique orientale ou australe.

L'immunologie de chacune de ces espèces peut différer de celle des autres autant que de celles d'un chien et d'un chacal. C'est pourquoi les données fournies se rapportent-elles essentiellement au genre *Vulpes*.

### ONTOGÉNÈSE

Il n'existe pas de donnée précise publiée sur l'ontogénèse des organes immunitaires des renards, à l'exception de celles concernant le thymus. Mais, compte tenu de la grande similitude des réactions immunes dans la famille des canidés, il est peu probable que, dans son ensemble, la mise en place de ces organes, leur développement et la synthèse des immunoglobulines diffèrent sensiblement de ce qui est décrit chez le chien.

### ORGANES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

L'histogénèse des organes lymphoïdes secondaires n'a fait l'objet d'aucune étude d'ensemble

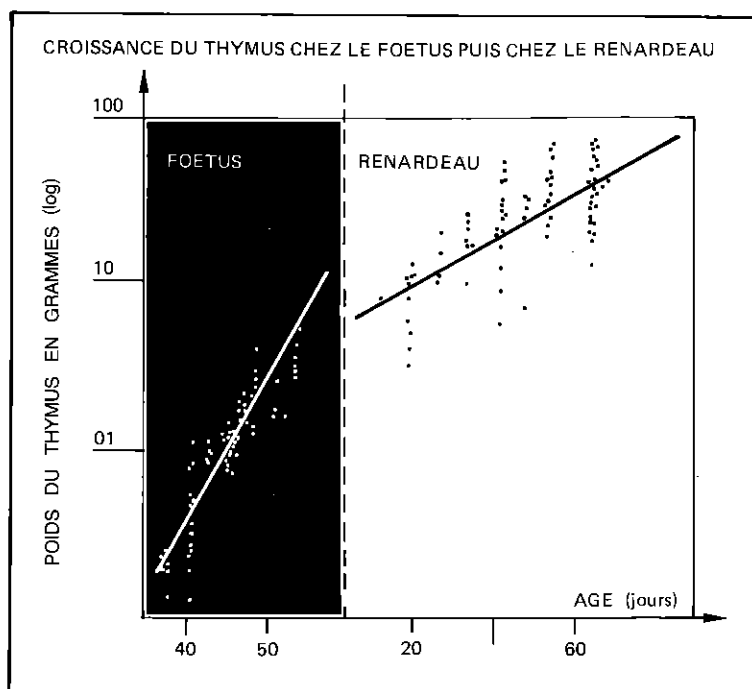


Figure 52-5 Evolution du poids du thymus en fonction de l'âge du fœtus ou du renardeau (d'après Twigg et al, 1982).

chez le renard. Toutefois, l'évolution du thymus et de sa structure histologique a été particulièrement bien décrite chez le renard roux (*Vulpes vulpes*) (Fig. 52-5). Cet organe atteint sa taille maximale à l'âge de 20 semaines. Chez l'adulte, des variations existent ensuite en fonction de la saison d'observation : dans les deux sexes le poids de l'organe baisse régulièrement pour atteindre un minimum au début de la première saison de reproduction (en hiver). Le thymus reprend son poids vers la deuxième année, où il présente une structure lobulaire semblable à celle du jeune. Chez le renard mâle, il regagne son poids à partir du milieu de la période du rut alors que celui de la femelle ne le fait qu'en fin de lactation. L'organe involue alors avant la seconde saison de reproduction : il n'atteindra plus jamais les poids observés durant les deux premières années de vie.

### CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Les seules données actuellement disponibles concernent l'hématologie (et les valeurs biochimiques annexes) et certains marqueurs lymphocytaires stimulés par des lectines mitogènes.

#### Hématologie

Plusieurs travaux récents se sont attachés à définir les valeurs « normales », hématologiques et biochimiques rencontrées chez les renards roux ou argentés. Les résultats sont rapportés et comparés au tableau 52-VIII. La comparaison, à conditions équivalentes (âge, sexe, saison), des résultats obtenus chez le chien et le renard montre chez ce dernier une tendance à posséder moins d'hématies que le chien (mais, par contre, plus d'hémoglobine) et plus de leucocytes. Parmi ces derniers, les lymphocytes et les éosinophiles sont en pourcentages plus importants que ceux classiquement observés chez le chien, cet accroissement étant compensé par une diminution du pourcentage des neutrophiles. Chez le renard comme chez le chien, les jeunes sujets présentent un nombre d'hématies inférieur à celui des adultes.

#### Marqueurs lymphocytaires

Comme chez les autres mammifères, diverses sous-populations lymphocytaires peuvent être

**Tableau 52-VIII a** Valeurs hématologiques extrêmes chez le renard roux (jeune et adulte) d'après différents auteurs.

Hématies (millions/mm <sup>3</sup> )	2-6
Hématocrite (p. cent)	46-53
Hémoglobine (g/100 ml)	14-18
Leucocytes/mm <sup>3</sup>	8 000-18 000
Lymphocytes (p. cent)	30-45
Polynucléaires neutrophiles (p. cent)	35-55
Polynucléaires éosinophiles (p. cent)	13-18
Polynucléaires basophiles (p. cent)	0,1-0,5
Monocytes (p. cent)	2-5

**Tableau 52-VIII b** Variations observées en Europe en fonction de l'âge et de la saison chez 25 sujets, d'après Blancou et al, 1982.

	Date du prélèvement	
	Septembre	Janvier
Age des renards	5 mois	9 mois
Nombre d'individus	8	17
Hématies ( $\times 10^2/\text{mm}^3$ )	24 375 $\pm$ 19 811	33 415 $\pm$ 23 262
Hématocrite (p. cent)	46,6 $\pm$ 10,7	50,8 $\pm$ 10,7
Hémoglobine (g/100 ml)	14,3 $\pm$ 3,7	15,7 $\pm$ 4,6
Leucocytes/mm <sup>3</sup>	16 972 $\pm$ 13 758	12 541 $\pm$ 9 272
Lymphocytes (p. cent)	34,8	42,2
Neutrophiles (p. cent)	48,2	41,3
Eosinophiles (p. cent)	14,5	14,5
Basophiles (p. cent)	0	0
Monocytes (p. cent)	2,5	2

distinguées, chez le renard, par des marqueurs spécifiques de leur structure membranaire. Malheureusement aucune étude complète de ces structures n'a encore été publiée.

Les seules données disponibles concernent la réaction de leurs lymphocytes à diverses lectines, à l'occasion de la réalisation de tests de transformation lymphoblastique chez le renard roux. L'examen des valeurs observées montre que si

mes chez le  
auteurs.

2-6  
46-53  
14-18  
000-18 000  
30-45  
35-55  
13-18  
0,1-0,5  
2-5

Europe en  
ets, d'après

ent  
nvier

mois  
17  
5±23 262  
8±10,7

7±4,6

1±9 272  
42,2

41,3

14,5

0

2

marqueurs  
branaire.  
te de ces

cernent la  
s lectines,  
e transfor-  
ard roux.  
re que si

elles sont très différentes de celles de l'homme, elles sont par contre très proches de celles du chien. Cela autorise, dans une certaine mesure, à extrapoler du chien au renard.

### Antigènes d'histocompatibilité, antigènes sériques et antigènes de groupes sanguins

Aucun travail n'a été publié sur les antigènes d'histocompatibilité chez le renard. Les groupes sanguins ont été étudiés au cours des années 1960. Les résultats publiés devraient cependant être revus et complétés, compte tenu de l'évolution très rapide des techniques de groupage survenue depuis cette date. Nous résumons, toutefois, les conclusions tirées de ces premiers travaux : aucune trace d'anticorps naturels (agglutinants ou hémolysants) n'a été observée dans les sérums de 49 renards argentés âgés de un an. En revanche il existait des hétéroanticorps naturels dans leurs sérums vis-à-vis des hématies de nombreuses espèces, le chien excepté.

### IMMUNOGLOBULINES

Les immunoglobulines ont été mises en évidence chez le renard par les techniques classiques à l'occasion de divers travaux de recherches sur les réactions immunes des renards aux agents pathogènes ou après stimulation. Elles n'apparaissent pas avant l'âge de cinq jours chez les renardeaux argentés. Elles comprennent les classes déjà décrites chez le chien : IgG, IgM, IgA et IgE. Cependant aucune étude n'a encore été publiée sur leurs sous-classes.

Leurs propriétés biologiques sont similaires à celles des autres canidés, notamment leurs concentrations sériques et leur mode de transfert passif de la mère au jeune.

## LE BLAIREAU D'EURASIE

P.-P. Pastoret, B. Brochier, I. Thomas

Le blaireau européen (*Meles meles*) est une espèce peu étudiée du point de vue immunologique. Elle est néanmoins intéressante à plusieurs

égards puisque le blaireau est une des principales victimes de la rage vulpine et que, notamment en Grande-Bretagne, il constitue le réservoir actuel de la tuberculose bovine.

### SYSTÉMATIQUE ET RÉPARTITION

La sous-famille des blaireaux (*Melinae* et *Mellivorinae*) comporte neuf espèces et sept genres; elle fait partie de la famille des mustélidés. L'espèce qui nous intéresse (*Meles meles*) occupe les zones boisées et les steppes de l'Europe de l'Ouest jusqu'à la Chine méridionale.

### IMMUNOLOGIE

Les connaissances sur l'immunologie du blaireau sont extrêmement sommaires et résultent de quelques études menées dans le cadre de sa sensibilité à certaines maladies infectieuses comme la rage et la tuberculose. Le blaireau eurasiatique répond sérologiquement très mal à une grande variété d'antigènes, comparativement au lapin (*Oryctolagus cuniculus*).

Une expérience réalisée par inoculation orale d'un virus recombinant vaccine-rage a également montré une mauvaise réponse du blaireau eurasiatique par rapport au renard roux (*Vulpes vulpes*) et une immunité protectrice faible à l'égard des inoculations d'épreuve.

La réponse immune du blaireau à l'égard du bacille tuberculeux bovin (*Mycobacterium bovis*) a également été étudiée. Au début de l'infection, la réponse humorale spécifique est faible alors que la réponse cellulaire estimée par un test d'hypersensibilité retardée est normale. A la phase finale de la maladie, le taux d'anticorps spécifiques augmente soudainement alors que l'immunité cellulaire décline.

Du fait de l'importance de cette espèce en tant que victime de la rage et de réservoir de la tuberculose bovine, il serait souhaitable d'approfondir nos connaissances sur son système immunitaire pour mieux comprendre la faiblesse de sa réponse à de nombreux antigènes.



## LES PINNIPÈDES

J.R. Baker, S.D. Carter

Le système immunitaire des pinnipèdes n'a pas encore été très étudié, bien qu'il suscite actuellement l'intérêt, en raison d'effets immunodépresseurs potentiels de nombreux polluants des mers. Le petit nombre de pinnipèdes maintenus en captivité oblige l'expérimentateur à recourir aux populations sauvages pour obtenir des échantillons statistiquement significatifs. Seules deux espèces ont été étudiées avec quelque détail, le phoque gris (*Halichoerus grypus*) et l'otarie à fourrure septentrionale (*Callorhinus ursinus*). Ces espèces ne se rassemblent en nombre important que durant la période de reproduction sur des plages isolées, de telle sorte que le travail qui a été fait s'est limité à l'étude des nouveau-nés, de leur mère et de quelques mâles reproducteurs adultes.

### LE PHOQUE GRIS (*Halichoerus grypus*)

Les bébés phoques sont sevrés à l'âge de 18 à 21 jours. De la naissance au sevrage, on décrit 5 phases de développement (la première étant la période néonatale et la cinquième celle qui suit le 21<sup>e</sup> jour).

#### Immunité humorale

La grande sensibilité des nouveau-nés de cette espèce aux infections opportunistes a suscité des recherches sur leur système immunitaire [53, 54, 55]. L'analyse des immunoglobulines [57] du phoque gris montre qu'elles comportent trois classes : IgG, IgA et IgM, avec des chaînes légères de 26 kd et des chaînes lourdes de respectivement 52 kd, 60 kd et 75 kd. L'IgG est la principale immunoglobuline du sérum; elle représente plus de 90 p. cent des immunoglobulines. Deux sous-classes d'IgG ont été décrites et se retrouvent en quantité égale dans le sérum normal. Baker [53] a montré que les bébés phoques possédaient des taux très faibles de gammaglobulines. En effet, les taux d'IgG sériques restent très faibles jusqu'au 28<sup>e</sup> jour post-natal (Fig. 52-6), ce qui laisse supposer que les bébés phoques reçoivent un apport faible d'IgG

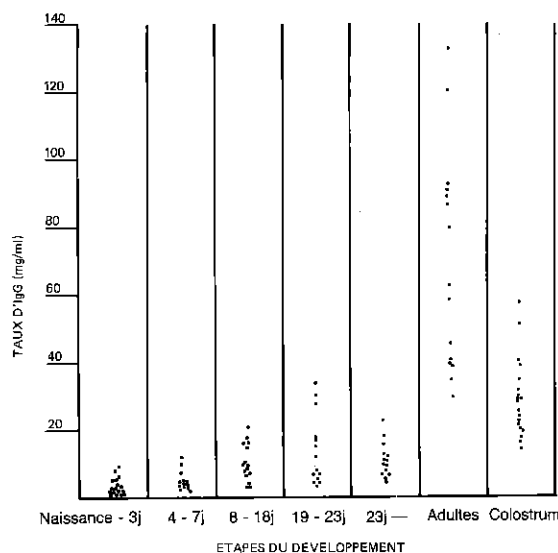


Figure 52-6 Teneur en IgG dans le sérum et le colostrum du phoque gris (mesurée par immunodiffusion radiale).

soit au travers du placenta soit par le biais du colostrum. Ce dernier est très riche en lipides, ce qui pourrait contrarier l'absorption intestinale des immunoglobulines.

#### Structure des organes lymphoïdes

##### Ganglions lymphatiques

Le ganglion sous-mandibulaire pèse en moyenne 0,52 g à la naissance et grossit très rapidement de telle sorte qu'à la cinquième étape du développement du jeune phoque, son poids a été multiplié par 4,3 et atteint 20 p. cent du poids de l'animal adulte. Les follicules des ganglions (Tableau 52-IX) s'accroissent en taille avec l'âge. Au premier stade du développement, les cellules blastiques sont rares ou non apparentes, aux étapes 2 et 3, leur nombre augmente et elles sont disséminées dans les follicules; à partir de la fin de la troisième étape, elles augmentent encore en nombre et s'agrègent pour former des centres germinatifs distincts, constitués d'une majorité de cellules B. Le nombre de follicules par unité de longueur du cortex diminue, mais comme la taille du ganglion augmente, le nombre total de follicules augmente. La part de la zone paracorticale (cellules T) augmente légèrement par rapport à la

masse du  
paracorti  
au départ

Le dé  
laire pe  
antigène  
tatif de l  
l'organis

Une ex  
en effet  
reprodu  
urinent,  
reproduc  
des oise  
contamin

Rate

La rat  
pèse en  
lymphati

Tableau 5

Stade

1

2

3

4

5

Adulte

Tableau 52-IX Structure des ganglions lymphatiques.

Stade	Follicule lymphoïde diamètre, en mm	Séparation des follicules, en mm	Nombre de follicules par millimètre de cortex	Pourcentage de tissu paracortical
1	0,291	2,0	1,53	22
2	0,332	2,6	1,20	25
3	0,395	2,7	1,12	21
4	0,386	2,5	1,16	27
5	0,419	3,0	0,55	32
Adultes	0,439	4,4	0,13	71

masse du ganglion. Le développement de la zone paracorticale suggère un ensemencement précoce au départ du thymus.

Le développement du ganglion sous-mandibulaire peut résulter d'expositions précoces à des antigènes [63] et n'est probablement pas représentatif de l'ensemble des ganglions lymphatiques de l'organisme.

Une exposition massive à des antigènes survient en effet à cette période; les phoques gris se reproduisent en colonies denses, et défèquent, urinent, mettent bas et meurent sur les aires de reproduction (qui sont également fréquentées par des oiseaux détritivores) qui sont ainsi fortement contaminées par des bactéries.

#### Rate

La rate, à la première étape du développement, pèse en moyenne 73 g et, tout comme le ganglion lymphatique, elle croît rapidement; à la 5<sup>e</sup> étape,

elle a augmenté de 3,3 fois son poids initial et atteint 25 p. cent du poids de l'animal adulte.

La structure de la rate montre l'accroissement progressif de la taille des follicules et de leur séparation (chez les adultes exceptés, où ils sont plus proches l'un de l'autre que chez le nouveau-né) (Tableau 52-X). Le nombre de follicules augmente avec l'âge de même que le contenu en cellules blastiques qui, aux étapes 4 et 5, s'agrègent pour former une médullaire distincte. Le développement des follicules spléniques est tributaire de stimulations antigéniques systémiques [67] ce qui ne peut s'expliquer sans une très forte pression antigénique, qui résulte probablement du degré extrême de contamination de la plupart des colonies de reproduction.

#### Thymus

Il n'y a de modification marquante du poids du thymus chez le phoque en période post-natale; cependant, on note une légère diminution chez les bébés phoques plus âgés. Le rapport corticomédullaire à la naissance est de 1 : 0,26 et se modifie pour atteindre 1 : 0,40 à la cinquième étape du développement. La quantité de tissu de soutien évolue de 12,2 p. cent à la naissance à 22,4 p. cent au 5<sup>e</sup> stade, ce qui suggère une involution rapide et précoce de l'organe comparativement à la plupart des mammifères terrestres.

Tableau 52-X Structure de la rate.

Stade	Diamètre moyen des follicules lymphoïdes en mm	Séparation moyenne des follicules lymphoïdes en mm
1	0,188	2,22
2	0,184	2,74
3	0,20	2,92
4	0,202	3,39
5	0,213	3,38
Adultes	0,306	1,97

#### Lymphocytes

Les connaissances sur les cellules immuno-compétentes sont très limitées. Aucun marqueur des lymphocytes B ou T n'a encore été décrit mais certaines réactions croisées à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigés contre des marqueurs humains ont été observées, de même que l'existence d'antigènes de classe II du CMH.

### LE PHOQUE VEAU MARIN (*Phoca vitulina*)

Comme pour le phoque gris, l'immunoglobuline dominante est l'IgG qui se répartit en deux sous-classes. La dramatique épizootie qui a décimé l'espèce a provoqué un regain d'intérêt pour son système immunitaire et pour l'influence éventuelle du milieu sur celui-ci.

La forte mortalité, principalement observée chez les juvéniles, a été provoquée par un morbillivirus voisin de celui responsable de la maladie de Carré [61] (Canine Distemper Virus, CDV) et de la peste bovine [64]; c'est le Phocid Distemper Virus (PDV). La maladie de Carré provoque une immunodépression chez le chien et le PDV pourrait exercer des effets similaires chez son hôte. Un test ELISA qui donne des résultats comparables à ceux fournis par une réaction de neutralisation a été mis au point pour la mesure des anticorps anti-CDV ou des morbillivirus antigéniquement apparentés. Il a montré que les phoques malades et mourants n'avaient pas produit une réponse adéquate anti-morbillivirus alors que les phoques qui avaient surmonté la maladie possédaient des titres plus élevés (Fig. 52-7). La vaccination engendre également l'apparition de titres élevés d'anticorps (Fig. 52-8).

### L'OTARIE À FOURRURE SEPTENTRIONALE (*Callorhinus ursinus*)

La période de lactation de cette espèce est de 3 mois [62]. Des auteurs [59] ont montré que les immunoglobulines des classes IgG, IgM et IgA sont présentes et possèdent des caractéristiques similaires à celles observées chez les mammifères terrestres; ils ont aussi décrit l'existence de deux sous-classes d'IgG et étudié [60] les taux sériques des immunoglobulines chez le jeune et l'adulte et ils ont obtenu des résultats similaires à ceux enregistrés pour le phoque gris au cours du développement.

Un de ces auteurs a en outre décrit [58] la présence de nombreux centres germinatifs qui se développent vers l'âge de 4 mois dans les ganglions lymphatiques des adultes. Les follicules spléniques se développent un peu plus tard et seraient généralement dépourvus de centres germinatifs.

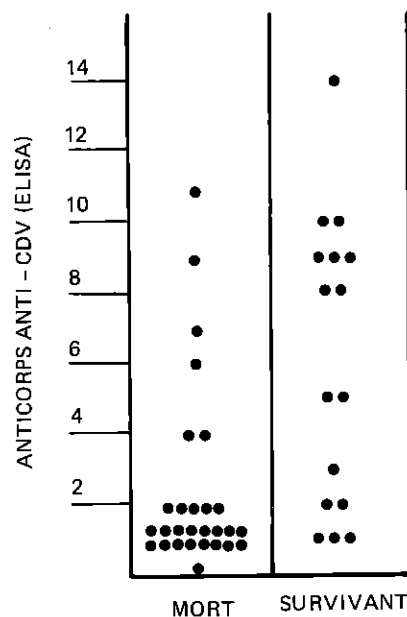


Figure 52-7 Anticorps anti-virus de la maladie de Carré (ELISA) dans des sérums de phoques veaux marins mourant ou ayant surmonté l'infection par le *Phocid morbillivirus*.

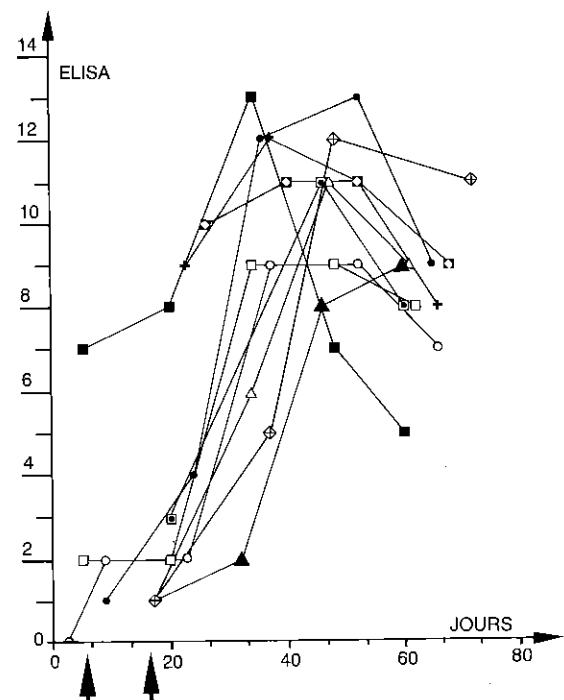


Figure 52-8 Anticorps anti-virus de la maladie de Carré dans le sérum de phoques veaux marins vaccinés à deux reprises (flèches) à l'aide d'un vaccin contre la maladie de Carré, inactivé à la chaleur (1988).

## AUTRES ESPÈCES

La structure de la rate du phoque de Weddell (*Leptomychotes weddelli*), du phoque crabier (*Lobodon carcinophagus*) et de l'otarie des îles Kerguelen (*Arctocephalus gazella*) a été également décrite [66]. De nombreux plasmocytes y sont présents, vraisemblablement dus à la forte infestation de ces espèces par différents parasites.

Les lions de mer de Californie (*Zalophus californianus*) présentent des IgG, IgM et IgA [65] et une activité réduite de leurs centres germinatifs en comparaison de celle observée chez les otaries à fourrure septentrionale. Ceci peut être dû à la présence de fortes concentrations de composés chlorés biphényles polluant le milieu marin du littoral californien [56]. L'IgE n'a pas encore été décrite.

## BIBLIOGRAPHIE

## Références générales

## — Le chat et le chien

VON DUNGERN E, HIRSCHFELD L. I. Vererung biochemischer Strukturen. Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, 1910, pp. 531-546; II. Ueber Vererbung gruppenspezifischer Strukturen des Blutes. Zeitschrift für Immunitätsforschung und experimentelle Therapie, 1910, pp. 284-292.

## — Le renard

- AVRAM N, NEMTEANU S, SAVA O. Normal hematologic values in the silver fox (*Vulpes fulvus*). Lucr Inst Cerc Vet Bioprep Pasteur, 1982, 16 : 279-287.
- BALBIERZ HM, NIKOLAJCZUK M, PISANSKI W. An immunogenetic characteristic of polar foxes. Prace Mat Zootech, 1977, 13 : 7-13.
- BENN DM, MCKEOWN DB, LUMSDEN JH. Haematology and biochemistry reference values for the ranch fox. Can J Vet Res, 1986, 50 (1) : 54-58.
- BIEGUSZEWSKI H, NOWICKA J. Erythrocyte system in polar foxes during the first weeks and months of life. Med Vet, 1968, 24 (7) : 427-428.
- BLANCOU J, AUBERT MFA, BLOCH G. Contribution à l'étude sur la biologie du renard roux (*Vulpes vulpes*). Note 2 : quelques données sur la physiologie et la pathologie de l'espèce. Rev Med Vet, 1982, 133 (5) : 315-328.
- DIETERICH RA. Hematologic values of some arctic mammals. J Am Vet Med Ass, 1970, 157 : 604-606.
- JANOT C, BLANCOU J, AUBERT MFA. Immunité à médiation cellulaire du renard vacciné contre la rage. Etude par le test de transformation lymphoblastique. Comp Immun Microbiol Infect Dis, 1982, 5 (1-3) : 129-137.
- KAMINSKI M, PODLIACHOUK L, NIKOLAJCZUK M et al. Groupes sanguins et sériques des renards. In : Polymorphismes biochimiques des animaux. Proc 10th Eur Conf

Anim Blood Groups Bioch Polymorph, Paris, 1966 : 315-318.

KENNEDY H. A graphical study of the blood of normal foxes. Can J Vet Res, 1935, 12 (6) : 796-802.

TWIGG GI, HARRIS S. Seasonal and age changes in the thymus gland of the red fox, *Vulpes vulpes*. J. Zool Lond, 1982, 196 : 355-370.

## — Le blaireau d'Eurasie

HENRY C, LAFONTAINE L, MOUCHES A. Le blaireau (*Meles meles*, Linnaeus, 1758), Encyclopédie des carnivores de France. Société française pour l'Etude et la Protection des Mammifères. Paris, 1988.

MCDONALD D. Les carnivores et les édentés. In : Les animaux du monde entier. France Loisirs, Paris, 1986.

STUART FA, WILESMITH JW. Tuberculosis in badgers : a review. Rev Sci Tech Off Int Epiz, 1988, 7 (4) : 929-935.

BROCHIER B, LANGUET B, BLANCOU J, THOMAS I, KIENY MP, COSTY F, DESMETTRE P, PASTORET PP. Use of recombinant vaccinia-rabies virus for oral vaccination of wildlife against rabies : innocuity to several non-target bait consuming species. J Wildl Dis, 1989, in press.

HIGGINS DA, GATRILL AJ. A comparison of the antibody responses of badgers (*Meles meles*) and rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) to some common antigens. Int Archs Allergy Appl Immun, 1984, 75 : 219-226.

MAHMOOD KH, ROOK GAW, STANFORD JL, STUART FA, PRITCHARD DG. The immunological consequences of challenge with bovine tubercle bacilli in badgers (*Meles meles*). Epidem Inf, 1987, 98 : 155-163.

## Références

## — Le chat et le chien

1. BARLOUGH JE, JACOBSON RH, SCOTT W. The immunoglobulins of the cat. Corn Vet, 1981, 71 : 397-407.
2. BRYANT BJ, SHIFRINE M. Histogenesis of lymphnodes during development of the dog. J Reticulo Soc, 1972, 12 : 96-107.
3. DEEG JH et al. Unusual distribution of Ia-like antigens on canine lymphocytes. Immunogenetics, 1982, 16 : 445-457.
4. DJILALI S, BOULOUIS HJ, MONTAGUTELLI X. Les marqueurs des lymphocytes chez les animaux domestiques. I. Les lectines mitogènes et les lectines non mitogènes. CIMID, 1987, 10 : 187-204.
5. JOHNSON JS, VAUGHAM JH. Canine immunoglobulins. 1. Evidence of six immunoglobulin classes. J Immunol, 1967, 98 : 923-934.
6. KRAWIEC DR, MUSCOPLAT CC. Development and characterisation of a monoclonal antibody (Aby 1A1) with specificity to canine thymocytes and peripheral T lymphocytes. AJVR, 1984, 45 : 491-498.
7. KRAWIEC DR, MUSCOPLAT CC. Development and characterisation of a monoclonal antibody (Aby 6C6) that distinguishes medullary from cortical thymocytes. AJVR, 1984, 45 : 499-505.
8. MCKENZIE JL, FABRE JW. Studies with a monoclonal antibody on the distribution of THY-1 in the lymphoid and extracellular connective tissues of the dog. Transplantation, 1981, 31 : 275-282.
9. RIGAL D et al. Identification of canine T lymphocytes membrane receptor to Peanut agglutinin : T lymphocytes identification in dogs with lupus-like syndrome. AJVR, 1983, 44 : 1782-1785.

NT

die de Carré  
arins mourant  
orbillivirus.

→

JOURS  
80

de Carré dans  
deux reprises  
die de Carré,

10. SEBBAG H. Contribution à l'étude du complexe majeur d'histocompatibilité : revue des connaissances et étude chez le chien. Thèse Doct Vét, Lyon, 1984, n° 106.
11. SOLOMON JB. Fetal and neonatal immunology. North Holland Publishing Company, Amsterdam-London, 1971.
12. VAERMAN JP, HEREMANS JF. The immunoglobulins of the dog. 1. Identification of canine homologous to human IgA and IgM. *Immunochemistry*, 1968, 5 : 425.
13. VAERMAN JP, HEREMANS JF. The immunoglobulins of the dog. 2. The immunoglobulins of canine secretions. *Immunochemistry*, 1969, 6 : 779.
14. WULFF JC, DEEG HJ, STORB R. A monoclonal antibody (DT-2) recognizing canine T lymphocytes. *Transplantation*, 1982, 33 : 616-620.
- *Les mustélidés et la maladie aléoutienne*
15. AASTED B. Aleutian disease of mink. *Virology and Immunology. Acta Path Microbiol Imm Scand (C)*, 1985, 93, supplément n° 287.
16. AASTED B, BLIXENKRONE-MOLLER M, LARSEN EB et al. Reactivity of eleven anti-human leucocyte monoclonal antibodies with lymphocytes from several domestic animals. *Vet Imm Immunopath*, 1988, 19 : 31-38.
17. ALEXANDERSEN S, BLOOM ME, WOLFINBARGER J. Evidence of restricted viral replication in adult mink infected with aleutian disease of mink parvovirus. *J Virol*, 1988, 62 : 1495-1507.
18. ALEXANDERSEN S. Acute interstitial pneumonia in mink kits : experimental reproduction of the disease. *Vet Pathol*, 1986, 23 : 579-588.
19. ALEXANDERSEN S, AASTED B. Restricted heterogeneity of the early antibody response to Aleutian disease in mink kits. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand Sect C*, 1986, 94 : 137-143.
20. ALEXANDERSEN S, BLOOM ME, WOLFINBARGER J et al. In situ molecular hybridization for detection of Aleutian mink disease parvovirus DNA by using strand specific probes : identification of target cells for viral replication in cell cultures and in mink kits with virus induced interstitial pneumoniae. *J Virol*, 1987, 61 (8) : 2407-2419.
21. AN SH, WILKIE BN. Mitogen and viral antigen induced transformation of lymphocytes from normal mink and from mink with progressive or non progressive aleutian disease. *Inf Imm*, 1981, 34 (1) : 11-14.
22. BARANOV OK. The organization and evolution of the immunogenetic systems in the American mink. *J An Breed Genet*, 1988, 105 : 91-102.
23. BARANOV OK, BELYAEV DK, VOLKOVA OY et al. Immunogenetics of the mink immunoglobulin. IV. Identification and genetic control of the L<sub>1</sub>B allotype of light chains. *Genetika*, 1984, 20 (5) : 826-834.
24. BARANOV OK, FOMICHEVA II, TERNOVSKY DV et al. Interspecific distribution of allotypic mink Ig Antigens. *J Immunogenetics*, 1981, 8 : 249-256.
25. BELAYEV DK, FOMICHEVA II et al. Genetic polymorphism of IgG in mink. II. A genetic analysis of allotypes. *Exp Clin Immunogenet*, 1986, 3 : 65-74.
26. BELAYEV DK, FOMICHEVA II, TARANIN AV et al. Genetic polymorphism of IgG in mink : identification of 8 allotypes. *Exp Clin Immunogenet*, 1986, 3 : 10-19.
27. COE JE, RACE RE. Ontogeny of mink IgG, IgA and IgM. *Soc Exp Biol Med*, 1978, 157 : 289-292.
28. COE JE, HADLOW WJ. Studies on immunoglobulins of mink : definition of IgG, IgA and IgM. *J Imm*, 1972, 108 (2) : 530-537.
29. COE JE. Studies on immunoglobulins of mink : definition of two populations of light chains. *Immunochemistry*, 1972, 9 : 147-151.
30. EKLUND CM, HADLOW WJ, KENNEDY RC et al. Aleutian disease of mink : properties of the etiologic agent and the host responses. *J Inf Dis*, 1968, 118 : 510-526.
31. FLETCH SM, KARSTAD LH. Blood parameters of healthy mink. *Can J Comp Med*, 1972, 36 (3) : 275-281.
32. GORHAM JR, HENSON JB, CRAWFORD TB et al. The epizootiology of Aleutian disease. Slow virus diseases of animals and man. Ed. Kimberly, 1976, North Holland Publishing Company-Amsterdam, pp. 135-156.
33. HAAS L, LOCHELT M, KAADEN OR. Detection of Aleutian disease virus DNA in tissues of naturally infected mink. *J Gen Virol*, 1988, 69 : 705-710.
34. HANSEN M, LUND E. Pregnancy rate and fetal mortality in Aleutian disease virus infected mink. *Acta Vet Scand*, 1988, 29 (2) : 271.
35. KAADEN OR, HAS L, LOCHELT M et al. Replication of aleutian disease virus in mink lymphocytes infected *in vitro*. *Intervirology*, 1986, 25 : 201-209.
36. HENSON JB, GORHAM JR, MCGUIRE TC et al. Pathology and pathogenesis of Aleutian disease. Slow virus diseases of animals and man. Ed. Kimberly, 1976, North Holland Publishing Company, Amsterdam, pp. 175-204.
37. KAUFFMAN CA. Cell mediated immunity in ferrets, delayed dermal hypersensitivity, lymphocyte transformation and macrophage migration inhibitory factor production. *Dev Comp Imm*, 1981, 5 : 125-134.
38. KAUFFMAN CA, BERGMAN AG. Lymphocyte subpopulations in the ferret. *Dev Comp Imm*, 1981, 5 : 671-678.
39. LODMELL DL, PORTIS JL. Immunologic and genetic aspects of aleutian disease. Immunologic defects in laboratory animals. ME Gerschwinn, B Merchant (Ed.), Plenum, New York, 1981, pp. 39-75.
40. McLAREN C, BUTCHKO GM. Regional T and B cell responses in influenza infected ferrets. *Inf Imm*, 1978, 22 (1) : 189-194.
41. MOODY KD, BOWMAN TA, LANG CM. Laboratory management of the ferret for biomedical research. *Lab An Sci*, 1985, 35 (3) : 272-278.
42. PERRYMAN LE, BANKS KL, MCGUIRE TC. Lymphocyte abnormalities in aleutian disease virus infection of mink : decreased T lymphocyte responses and increased B lymphocyte levels in persistent viral infection. *J Imm*, 1975, 115 (1) : 22-27.
43. RACE RE, COE JE, BLOOM ME. Blastogenesis of lymphocytes from mink infected with aleutian disease virus. *Fed Proc*, 1980, 39 (3, part 1) : 356.
44. RACE RE, BLOOM ME, COE JE. Demonstration of aleutian disease virus. Specific lymphocyte response in mink with progressive aleutian disease : comparison of sapphire and pastel mink infected with different virus strain. *J Imm*, 1983, 131 (3) : 1558-1564.
45. RAPACZ J, BUDLA ZH, ROLNICZA WS et al. Immunogenetics of the domestic mink : blood group factors A, B<sub>1</sub> and B<sub>2</sub>. *Nature*, 1962, 196 (4861) : 1340-1341.
46. SAISON R, INGRAM DG. A preliminary report of blood groups in mink. *Ann NY Acad Sci*, 1962, 97 (1) : 233-234.
47. SARICH VM. Pinniped origins and the rate of evolution of carnivore albumins. *Syst Zool*, 1969, 18 : 286-295.
48. SEAL US, PHILLIPS NI, ERICKSON AW. Carnivora systematics : immunological relationships of bear serum albumins. *Comp Biochem Physiol*, 1970, 32 : 33-48.
49. SUFFIN SC, PRINCE GA, MUCK KB et al. Ontogeny of the ferret humoral immune response. *J Immunol*, 1979, 123 (1) : 6-9.

- biochemistry,  
al. Aleutian  
gent and the  
526.  
s of healthy  
75-281.  
et al. The  
diseases of  
rth Holland  
66.  
of Aleutian  
ected mink. J
- mortality in  
Vet Scand,  
plication of  
infected in  
Pathology  
rus diseases  
orth Holland  
04.  
in ferrets,  
nsformation  
production.  
subpopula-  
: 671-678.  
and genetic  
defects in  
chant (Ed.),  
and B cell  
n, 1978, 22  
Laboratory  
rch. Lab An  
Lymphocyte  
n of mink :  
ncreased B  
on. J Imm,  
genesis of  
ian disease  
of aleutian  
mink with  
pphire and  
in. J Imm,  
Immunoge-  
ctors A, B<sub>1</sub>  
41.  
rt of blood  
2, 97 (1) :  
evolution of  
86-295.  
vora syste-  
ear serum  
: 33-48.  
geny of the  
1979, 123
50. SWINYARD C, HOAR RM. Conference of the ferret as an alternative species in teratology and toxicology. Stanford Calif USA, June, 25, 1981. *Teratology*, 1981, 24 : 9A-18A.
51. TABEL H, INGRAM MD. Immunoglobulins of mink. Evidence for five immunoglobulin classes of 7S type. *Immunology*, 1972, 22 : 933-942.
52. VOLKOVA OY, FOMICHEVA II, TANANIN AV et al. Genetic polymorphism of IgG in the mink. IV. Identification and genetic control of L3 allotype of the light chains. *Exp Clin Immunogenet*, 1987, 4 : 81-88.
- *Les pinnipèdes*
53. BAKER JR. Mortality and morbidity in Grey seal pups (*Halichoerus grypus*). Studies on its causes, effects of environment, nature and sources of infectious agents and the immunological status of pups. *J Zool, London*, 1974, 203 : 28-48.
54. BAKER JR. Further studies on Grey seal (*Halichoerus grypus*), pup mortality on North Rona, *B Vet J*, 1988, 144 : 497-506.
55. BAKER JR, BAKER R. Effects of environment on Grey Seal (*Halichoerus grypus*) pup mortality. Studies on the Isle of May. *J Zool, London*, 1988, 216 : 529-530.
56. BRITT JD, HOWARD EB. In : EB Howard (Ed.), *Pathobiology of Marine Mammal Diseases*, 1983, Vol II : 66-81, CRC Press Inc., Boca Raton, USA.
57. CARTER SD, HUGHES DE, BAKER JR. Characterisation and measurement of immunoglobulins in the Grey Seal (*Halichoerus grypus*). *J Comp Path* (in press), 1989.
58. CAVAGNOLO RZ. The immunology of marine mammals. *Dev Comp Immunol*, 1979, 3 : 245.
59. CAVAGNOLO RZ, VEDROS NA. Identification and characterization of three immunoglobulin classes in the Northern fur seal (*Callorhinus ursinus*). *Dev Comp Immunol*, 1978, 2 : 689-697.
60. CAVAGNOLO RZ, VEDROS NA. Serum and colostrum immunoglobulins in the Northern fur seal (*Callorhinus ursinus*). *Dev Comp Immunol*, 1979, 3 : 89-146.
61. COSBY SL, MCQUAID S, LYONS C et al. Characterisation of a seal morbillivirus. *Nature*, 1988, 336 : 115-116.
62. KING JE. *Seals of the World*. 2nd edition British Museum (Natural History), London, 1983, p. 63.
63. LUSCIETTI P, HUSCHIMIT T, COTTIER H et al. Human lymphnodes morphology as a function of age and site. *J Clin Path*, 1986, 33 : 454-461.
64. MAHY BWJ, BARRETT T, EVANS S et al. Characterization of a seal morbillivirus. *Nature*, 1988, 336 : 115.
65. NASH DR, MACH JP. Immunoglobulin classes in aquatic mammals. *J Immunol*, 1971, 107 : 1424-1430.
66. SCHUMACHER U, WELSCH U. Histological, histochemical and fine structure observations of the spleen of seals. *Am J Anat*, 1987, 179 : 356-368.
67. SILVERSTEIN AM, LUKES DA. Fetal response to antigenic stimulus. I. Plasmacellular and lymphoid reaction in the human fetus to intrauterine infection. *Lab Invest*, 1962, 918-932.

F. Dudan, H. Gerber, S. Lazary

## IMMUNOLOGIE DU CHEVAL

### ONTOGENÈSE

La connaissance de l'ontogenèse du système immunitaire du cheval offre un intérêt pratique puisque la sensibilité du fœtus aux infections utérines est influencée par le degré d'immuno-compétence. Ainsi, la découverte du syndrome d'immunodéficiency combinée (IDC) chez les chevaux de race arabe, syndrome comparable à celui découvert chez l'homme et caractérisé par une absence totale de lymphocytes fonctionnels, a stimulé la recherche sur l'ontogenèse des cellules lymphocytaires du cheval [21, 22, 27, 39].

Le développement immunologique du cheval peut être divisé en trois phases :

- celle du développement in utero;
- la phase post-natale qui est celle de la protection colostrale;
- celle de l'achèvement complet de la compétence immunitaire.

### Développement histologique des tissus lymphoïdes du fœtus [4] (Fig. 53-1)

Les structures lymphoïdes du thymus deviennent visibles chez le fœtus entre la 11<sup>e</sup> et la 12<sup>e</sup> semaine de gestation. A ce moment, outre des cellules épithéliales, mésenchymales et des lymphocytes, des corpuscules différenciés de Hassal peuvent être observés. Ils sont souvent associés à des éosinophiles dont beaucoup sont en mitose. La masse thymique, par rapport à la masse corporelle, augmente nettement au cours de la seconde moitié de la gestation et le thymus représente à peu près 0,35 p. cent de la masse corporelle totale chez les fœtus à terme.

Vers la 12<sup>e</sup> ou la 13<sup>e</sup> semaine de gestation, on rencontre les premiers lymphocytes dans la circulation sanguine, et c'est à peu près au même moment que des lymphocytes deviennent visibles dans les ganglions mésentériques aux endroits où se développeront ultérieurement des follicules

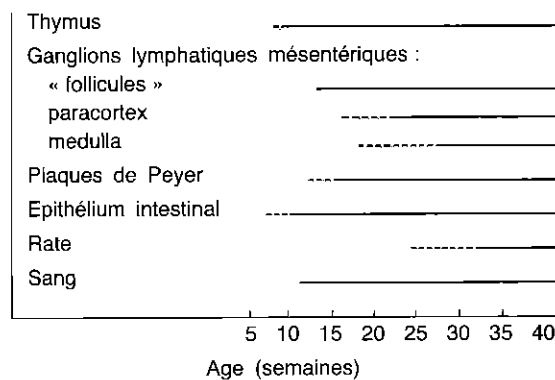


Figure 53-1 Apparition de cellules lymphoïdes dans les tissus fœtaux, d'après MacKenzie, 1975.

primaires. Alors que des foyers de cellules hématopoïétiques sont visibles dans le foie relativement tôt, ces cellules ne sont visibles dans la rate qu'à partir de la 12<sup>e</sup> semaine de gestation. Étrangement, bien que la rate soit un des sites majeurs de production d'anticorps chez l'animal à maturité, on n'y trouve pas réellement de tissu lymphoïde avant la 32<sup>e</sup> semaine de gestation.

Les lymphocytes intraépithéliaux sont présents dans l'intestin dès la 10<sup>e</sup> semaine de gestation, époque où le thymus est infiltré par les cellules lymphocytaires souches; ceci est en faveur de l'hypothèse qui considère l'épithélium intestinal comme un organe lymphoïde primaire. Des agrégats lymphocytaires apparaissent près de la membrane basale du jéjunum entre la 13<sup>e</sup> et la 14<sup>e</sup> semaine de gestation. De plus, des structures folliculaires sont reconnaissables dès la 18<sup>e</sup> ou la 20<sup>e</sup> semaine. Le développement de ces agrégats lymphocytaires coïncide avec celui des ganglions mésentériques.

### Indication histologique de stimulation antigénique in utero

Des centres germinatifs, connus pour se développer à partir de follicules primaires à la suite de stimulation(s) antigénique(s), sont présents dans les ganglions lymphatiques mésentériques dès la quatrième semaine de gestation et même parfois plus tôt. Des processus de granulopoïèse sont parfois observés dans les cordons médullaires de ces ganglions chez des fœtus à l'approche du

terme. D'autres centres germinatifs apparaissent quelquefois dans la rate ou dans les plaques de Peyer, dès la 19<sup>e</sup> semaine de gestation.

### Ontogenèse de l'activité lymphocytaire

L'ontogenèse de l'activité lymphocytaire a été étudiée dans divers tissus de fœtus équins, dont l'âge variait de 61 à 200 jours [27, 28] (Tableau 53-1). Il apparaît que des lymphocytes fonctionnels sont déjà présents chez le fœtus qui est notamment capable de produire des anticorps contre les coliphages T2 ou actifs contre le virus de l'encéphalomyélite vénézuélienne [23, 25].

Tableau 53-1 Ontogenèse de l'activité lymphocytaire dans les tissus fœtaux\*

Observations	Age de gestation minimum (jours)
Lymphocytes phénotypiquement différenciés dans le thymus	75
Lymphocytes répondant à des phytolectines dans du thymus	80
Thymocytes capables d'induire une réaction de rejet de transplantation	94
Prolifération de thymocytes en cultures lymphocytaires mixtes	100-110
Lymphocytes sanguins répondant à des phytolectines	120
Lymphocytes ganglionnaires répondant à des phytolectines	160
IgM et IgG détectables dans le plasma	180
Présence de follicules dans la rate	200
Lymphocytes de la rate répondant à des phytolectines	200
Synthèse d'anticorps spécifiques	200-232

\* D'après Perryman, 1987.

### Aspect clinique

Bien que, d'une manière générale, les poulains soient agammaglobulinémiques à la naissance, il est parfois possible de détecter des concentrations variables d'IgG sériques chez certains fœtus au cours du dernier trimestre de gestation et chez quelques nouveau-nés avant l'ingestion de colostrum [27]. On peut penser que ces fœtus ont subi

un co  
à un  
patho  
poula  
in ut  
humo  
dès l  
infect  
ment  
bien  
proba  
prima  
encor  
rante  
des r

Figure  
sous-d  
12) g.  
bronch  
Peyer;



paraissent  
plaques de  
n.

cytaire

aire a été  
ins, dont  
(Tableau  
fonction-  
s qui est  
anticorps  
le virus  
[23, 25].

aire dans les

Age de  
gestation  
minimum  
(jours)

- 75
- 80
- 94
- 100-110
- 120
- 160
- 180
- 200
- 200
- 200-232

s poulains  
ssance, il  
ntrations  
fœtus au  
n et chez  
de colos-  
s ont subi

un contact antigénique in utero, probablement dû à une infection épigénétique par des germes pathogènes. Ces observations indiquent que le poulain développe sa compétence immunologique in utero et est capable d'avoir une réponse humorale satisfaisante avant sa naissance. Il est dès lors quelque peu surprenant que la plupart des infections fœtales se manifestent par des avortements au cours des derniers stades de la gestation, bien que le fœtus soit immunocompétent. Il est probable que l'infection est rarement la cause primaire de l'avortement et que d'autres facteurs, encore mal connus exercent une action prépondérante sur les mécanismes de défense de l'utérus et des membranes placentaires.

**ORGANES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE** (Fig. 53-2)

Le thymus est un organe multiple chez le cheval. Chez le fœtus et les tout jeunes sujets on trouve, inclus entre les deux lames pleurales, les lobes postérieurs droit et gauche de cet organe qui s'étend crânialement en une série de lobules localisés le long de la trachée. On peut supposer que l'épithélium intestinal est un organe lymphoïde primaire car, comme il est indiqué précédemment, on y trouve déjà des lymphocytes au moment où le thymus est infiltré par des cellules lymphocytaires souches. La rate est située dans la

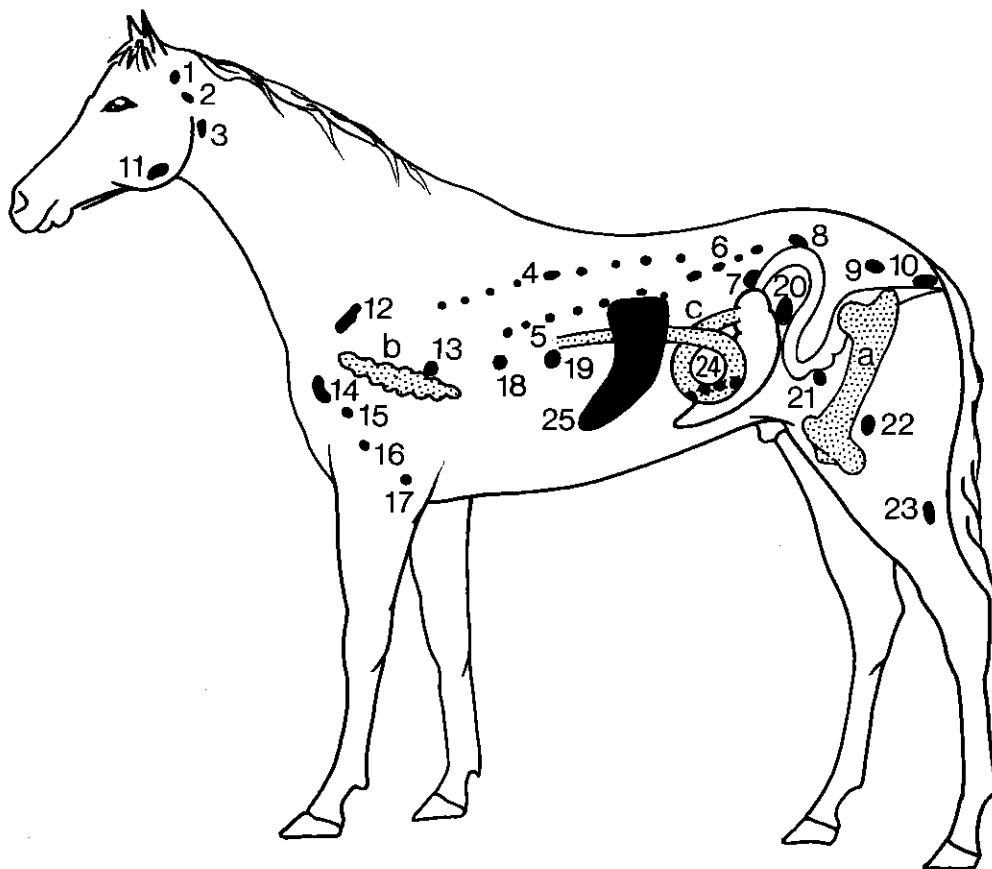


Figure 53-2 Représentation schématique des organes lymphoïdes du cheval (d'après [6 et 29]).

■ Organes lymphoïdes primaires a) moelle osseuse; b) thymus; c) épithélium intestinal (voir texte).

■ Organes lymphoïdes secondaires. 1) ganglion (g.) guttural sup.; 2) g. parotidien; 3) g. guttural inf.; 4) g. intercostaux; 5) g. sous-dorsaux; 6) g. lombaires; 7) g. circonflexes iliaques; 8) g. ilio-pelvien; 9) g. ischiatique; 10) g. anal; 11) g. sous-maxillaire; 12) g. préscapulaire; 13) g. trachéal; 14) g. pré-pectoral; 15) g. brachial sup.; 16) g. sus-sternal; 17) g. brachial inf.; 18) g. bronchique; 19) g. œsophagien; 20) g. pré-crural; 21) g. inguinal profond; 22) g. inguinal sup.; 23) g. poplité; 24) plaques de Peyer; 25) rate.

région hypocondriaque gauche. Elle est allongée, falciforme, sa base étant supérieure, sa pointe inférieure; son bord interne, concave, aminci, orienté vers l'estomac, s'attache à l'épiploon et est longé par les vaisseaux spléniques. Sa taille et son poids diffèrent largement suivant la quantité de sang contenue, qui varie selon les conditions physiologiques [6, 29].

### CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

Toutes les cellules d'origine lymphoïde et myéloïde (phagocytaires mononucléées, polynucléaires) sont présentes chez le cheval. Environ 15 à 25 p. cent des lymphocytes présentent des immunoglobulines à leur surface, caractéristiques de la population lymphocytaire B synthétisant les anticorps. Le reste est représenté par les cellules T. Deux antigènes membranaires spécifiques des lymphocytes T ont été décrits chez le cheval [15], permettant de reconnaître ces cellules, dans une population mixte, à l'aide des anticorps correspondants.

L'activité d'enzymes impliquées dans le métabolisme de certains nucléosides et/ou nucléotides, comme la déoxynucléotidyl-transférase terminale, l'adénosine déaminase et la purine nucléoside phosphorylase, peut être mesurée pour caractériser le degré de différenciation des lymphocytes T [22, 39, 40]. En outre, six anticorps monoclonaux dirigés contre les cellules lymphoïdes en culture sont également utilisables : EqT12 et EqT13 identifient des cellules dont les caractéristiques sont celles des prothymocytes; EqT6 et EqT7 reconnaissent les thymocytes du cortex thymique; EqT2 n'identifie qu'une sous-population de lym-

phocytes T différenciés alors qu'EqT3 les identifie tous [40]. Une population de grands lymphocytes à granules non B et non T, et possédant certaines caractéristiques des cellules tueuses naturelles, a été mise en évidence chez les sujets atteints du syndrome d'immunodéficience combinée [22].

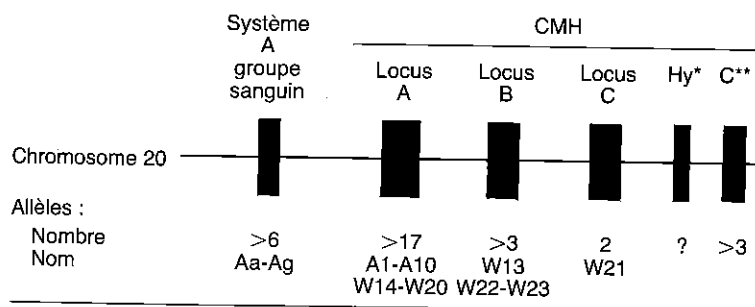
### COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ ET GROUPES SANGUINS

#### ANTIGÈNES D'HISTOCOMPATIBILITÉ

Les antigènes leucocytaires équins d'histocompatibilité (ELA), qui sont les produits des gènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), et deux types d'antigènes lymphocytaires (ELY) n'appartenant pas à ce système, ont été caractérisés grâce à l'utilisation d'anticorps obtenus par allo-immunisation et à celle de sérums de juments poulinières primipares. Le test utilisé pour mettre ces antigènes en évidence au niveau des membranes leucocytaires est adapté de la méthode originale de Terasaki. Il s'agit d'un test de microcytotoxicité nécessitant la présence de complément de lapin.

#### Antigènes leucocytaires équins (ELA)

Le CMH du cheval est situé au niveau du chromosome 20 [1]. Pour l'instant, 3 séries alléliques appartenant à ce système et déterminant les ELA ont été mises en évidence sérologiquement. Le locus A qui contrôle la première



Hy\* : 21-hydroxylase.  
C\*\* : Facteur C4 du complément.

Figure 53-3 Systèmes géniques localisés près du — ou appartenant au — complexe majeur d'histocompatibilité équin.

série comp  
contrôle la  
3 allèles e  
troisième s  
(Fig. 53-3  
Bien qu  
sing-overs  
graphie gé

#### Antigène

Les deu  
— le sy  
ELY 1.1 e  
exprimés d  
— le sy  
ELY 2.1 e  
démontrabl  
sont expr  
érythrocyte

#### Différenc caractéris des prod

(Tableau 5  
L'express  
capacité d'in  
culture mi  
daltons son  
d'assimiler

Tableau 53-1  
et ELY.

Exprimés par  
lymphocytes  
lymphocytes  
thrombocyte  
érythrocytes

Inhibition de  
par sérums  
ques

Induction de C  
cas d'incom

CLM : culture

série comporte au moins 17 allèles [5]. Le locus B contrôle la deuxième série et, actuellement, seuls 3 allèles en sont connus. Le locus C contrôle une troisième série d'allèles dont un seul a été reconnu (Fig. 53-3).

Bien que l'on ait déjà reconnu plusieurs « crossing-overs », il n'existe pas encore de cartographie génique précise de cette région.

### Antigènes lymphocytaires équins (ELY)

Les deux systèmes reconnus sont les suivants :  
— le système ELY 1 qui comporte 2 allèles : ELY 1.1 et ELY 1.2. Ces alloantigènes ne sont exprimés que par les lymphocytes T;

— le système ELY 2 n'a qu'un allèle défini : ELY 2.1 et un allèle nul qui n'est pas encore démontrable sérologiquement. Ces alloantigènes sont exprimés par toutes les cellules sanguines, érythrocytes compris.

### Différenciation, caractérisation et particularités des produits génomiques ELA et ELY (Tableau 53-II)

L'expression limitée à certaines cellules, l'incapacité d'inhiber l'activité des lymphocytes en culture mixte et une chaîne d'environ 42 000 daltons sont des caractéristiques qui permettent d'assimiler les produits génomiques du locus A à

Tableau 53-II Caractérisation des produits génomiques ELA et ELY.

	Alloantigènes				
	ELA			ELY	
	A	B	C	1	2
Exprimés par :					
lymphocytes T	+	+	+	+	+
lymphocytes B	+	+	+	-	+
thrombocytes	+	-	+	-	+
érythrocytes	-	-	-	-	+
Inhibition de la CLM par sérums spécifiques	-	+	-	-	-
Induction de CLM en cas d'incompatibilité	-	+	-	-	-

CLM : culture lymphocytaire mixte.

la classe I du CMH. Il semblerait que ceux du locus C appartiennent également à cette classe I alors que ceux du locus B se comportent comme des antigènes de la classe II bien que leurs poids moléculaires n'aient pas encore été déterminés.

Le CMH du cheval offre une particularité supplémentaire : déjà après la première gestation, pratiquement 100 p. cent des juments élaborent des anticorps contre les antigènes de classe I paternels dont le fœtus a hérité. Ces anticorps ont parfois un très haut titre; cependant ils ne semblent pas affecter le nouveau-né. Aucun anticorps spécifique de classe II n'a pu être mis en évidence dans les sérums de juments multipares.

### Association entre CMH et maladies

L'existence d'une étroite association entre le CMH et l'apparition de sarcoïdes, tumeurs fibroblastiques de la peau, a été démontrée aussi bien au sein d'une même famille qu'au niveau de la population. Les antigènes ELA B-W13 et B-W23 et/ou le produit d'un gène porteur de cette sensibilité qui serait en déséquilibre de liaison avec les allèles du locus B, doivent compter parmi les facteurs responsables du développement de ces tumeurs. Il est probable que de futures recherches permettront de mettre en évidence d'autres associations de ce type.

### GROUPES SANGUINS

#### Histoire et statut actuel

L'étude systématique des groupes sanguins du cheval a débuté par la découverte de la maladie hémolytique du nouveau-né et par le besoin des éleveurs de tester les origines et de contrôler l'identité de leurs produits de haute valeur. Les principaux travaux dans ce domaine sont ceux de Stormont et coll. [35, 36] qui ont obtenu des anticorps spécifiques par iso- et hétéro-immunisations et mis en évidence de nombreux facteurs dont l'analyse génétique a permis de reconnaître 8 systèmes génétiquement indépendants (A, C, D, K, P, Q, T, U). Les systèmes A, D, P, T et Q sont contrôlés par de multiples allèles tandis que C, K et U sont des systèmes dialléliques [4, 37]. Actuellement, plus de 30 alloantigènes érythrocytaires ont été identifiés (Tableau 53-III). Chacun est désigné par une lettre majuscule indiquant le

système auquel il appartient, et une lettre minuscule (ou le signe « moins » en cas d'absence) caractérisant le facteur sérologique. Il

est clair que beaucoup d'autres facteurs ne sont pas encore identifiés. On observe des différences considérables de fréquence de ces alloantigènes érythrocytaires entre des races équines (Tableau 53-IV).

Tableau 53-III Groupes sanguins actuellement connus chez le cheval\*.

Système	Facteurs démontrables sérologiquement	Phénogroupes connus	Type de réaction sérologique
A	Aa, Ab, Ac, Ad, Ae, Af, Ag	A <sup>a</sup> , A <sup>adf</sup> , A <sup>ADG</sup> , A <sup>b</sup> , A <sup>bc</sup> , A <sup>bce</sup> , A <sup>c</sup> , A <sup>cd</sup> , A <sup>ce</sup> , A <sup>e</sup> , A <sup>-</sup>	HE + AG
C	Ca	C <sup>a</sup> , C <sup>-</sup>	HE
D	Da, Db, Dc, Dd, De, Df, Dg, Dh, Di, Dk, Dl, Dm, Dn, Do, Dp	D <sup>adi</sup> , D <sup>adin</sup> , D <sup>bcm</sup> , D <sup>cf</sup> , D <sup>ccfgm</sup> , D <sup>egm</sup> , D <sup>ecgimn</sup> , D <sup>egmp</sup> , D <sup>efgkm</sup> , D <sup>del</sup> , D <sup>deio</sup> , D <sup>dki</sup> , D <sup>dghm</sup> , D <sup>dki</sup> , D <sup>dln</sup> , D <sup>-</sup>	AG
K	Ka	K <sup>a</sup> , K <sup>-</sup>	AG
P	Pa, Pb, Pc, Pd	P <sup>a</sup> , P <sup>ac</sup> , P <sup>acd</sup> , P <sup>ad</sup> , P <sup>b</sup> , P <sup>bd</sup> , P <sup>d</sup> , P <sup>-</sup>	HE
Q	Qa, Qb, Qc, R, S**	Q <sup>abc</sup> , Q <sup>b</sup> , Q <sup>c</sup> , Q <sup>ac</sup> , Q <sup>-</sup>	HE
U	Ua	U <sup>a</sup> , U <sup>-</sup>	HE
T**	—	—	—

\* D'après [4, 37].

\*\* Facteurs non reconnus par l'ISABR (International Society of Animal Blood Grouping Research).  
HE : hémolyse; AG : agglutination.

## Sérologie

Les réactifs nécessaires pour la caractérisation des groupes sanguins sont préparés à partir d'antisérums iso- ou hétéro-immuns absorbés [35]. Les tests utilisés, agglutination et/ou hémolyse (nécessitant une source externe de complément de lapin), dépendent de l'alloanticorps lui-même (voir Tableau 53-III).

Les anti-R et anti-S (système Q) n'induisent pas de réactions visibles (lyse) et doivent donc être utilisés avec une antiglobuline [4, 32].

## Systèmes génétiques

Chacun des antigènes sanguins est déterminé génétiquement et transmis selon le mode dominant. Le tableau 53-III montre toutefois que, le plus souvent, la transmission se fait par groupes de deux ou plusieurs antigènes que l'on appelle phénogroupes. Une liaison entre les loci contrôlant certains systèmes sanguins et les caractères suivants a été observée : système K/enzyme 6-phosphogluconate-déshydrogénase (PGD) et système A/complexe majeur d'histocompatibilité [30].

Tableau 53-IV Fréquence de divers alloantigènes chez cinq races de chevaux\*.

Groupe sanguin	Alloantigène	Poney Shetland	Pur-sang	Arabe	« Quarter horse »	Trotteur américain
A	A <sup>a</sup>	0,534	0,942	0,983	0,728	0,829
	A <sup>b</sup>	0,583	0,052	0,094	0,362	0,564
	A <sup>c</sup>	0,181	0,007	0,028	0,052	0,050
C	C <sup>a</sup>	0,879	0,921	0,972	0,872	0,886
D	D <sup>a</sup>	0,250	0,000	0,000	0,152	0,050
K	K <sup>a</sup>	0,327	0,113	0,005	0,076	0,350
	K <sup>-</sup>	—	—	—	—	—
P	P <sup>a</sup>	0,567	0,351	0,552	0,479	0,271
	P <sup>b</sup>	0,094	0,170	0,028	0,090	0,057
Q	Q <sup>a</sup>	0,519	0,742	0,398	0,262	0,029
T	T <sup>a</sup>	0,698	0,892	0,819	0,843	0,633
U	U <sup>a</sup>	0,534	0,248	0,354	0,490	0,429
Nombre de chevaux testés		391	407	181	290	140

\* D'après Suzuki Y, Stormont C, Trommershausen-Smith A. In : Proceedings of the First International Symposium on Equine Hematology, 1975, 34-41.

urs ne sont  
différences  
loantigènes  
s (Tableau

actérisation  
s à partir  
s absorbés  
tion et/ou  
externe de  
l'alloanti-

duisent pas  
donc être  
].

déterminé  
le mode  
tefois que,  
par groupes  
on appelle  
oci contrô-  
caractères  
K/enzyme  
(PGD) et  
mpatibilité

Trotteur  
méricain

0,829  
0,564  
0,050  
0,886  
0,050  
0,350  
0,271  
0,057  
0,029  
0,633  
0,429  
140

m on Equine

## Structure et fonction

La fraction membranaire glycoprotéique des érythrocytes du cheval est associée aux antigènes Ac et Dc ou Dd mais non aux autres [10]. La caractérisation d'autres associations entre antigènes de groupes sanguins et composants membranaires spécifiques nécessite des études complémentaires.

## Applications

Les deux grandes applications de la détermination des groupes sanguins sont :

- le contrôle de filiation et d'identité;
- la prévention de réactions transfusionnelles allogéniques et de la maladie hémolytique du poulain nouveau-né.

Chez le cheval, les anticorps naturels sériques sont très rares et s'il y en a, leur titre ne dépasse guère 1/4. C'est pourquoi une transfusion sanguine allogénique initiale s'accompagne rarement de complications et les cas de maladie hémolytique du poulain ne se manifestent en général pas chez des nouveau-nés de juments primipares.

De plus, l'antigénicité des alloantigènes érythrocytaires est assez variable et la présence d'anticorps ne provoque pas nécessairement des réactions immunes perceptibles. La détermination des groupes sanguins des animaux concernés permet donc, avant toute transfusion sanguine ou croisement particulier jument/étalon, d'en prévoir les conséquences possibles.

Les alloantigènes Aa, Ae, Qa et Ca sont, de loin, les plus immunogènes [38]. En cas de maladie hémolytique du nouveau-né, les érythrocytes du poulain sont détruits par les anticorps maternels présents dans le colostrum, dirigés contre des antigènes érythrocytaires dont le poulain a hérité de son père et qui sont absents chez la mère. Ce sont les anticorps anti-Aa et Qa qui sont responsables de la majorité des cas (les poulains de juments négatives pour ces facteurs sont à haut risque). Bailey [2] a toutefois récemment montré que la présence d'anticorps anti-Ca chez les juments négatives pour ce facteur diminue de manière significative l'incidence de la maladie. Il a émis l'hypothèse que ces anticorps anti-Ca, naturels ou induits, pourraient détruire les globules rouges passant du fœtus dans la circulation de la jument (hémorragies transplacentaires), avant que celle-ci n'ait le temps d'élaborer une réponse immune contre d'autres antigènes érythro-

cytaires. Il s'agirait donc du phénomène d'immunodépression par anticorps qui pourrait trouver une application pratique dans la prévention de cette affection.

Comme il est peu probable de trouver 2 chevaux ayant des groupes sanguins identiques, un cheval réputé donneur universel devrait en tout cas être négatif pour les facteurs sanguins Aa et Qa.

## IMMUNOGLOBULINES

### Classes et sous-classes

Les immunoglobulines (Ig) du cheval ont fait l'objet d'études particulièrement attentives. La raison principale de cet intérêt résidait dans l'usage fait, pendant de nombreuses années, de préparations d'Ig et d'immunsérums de cheval pour la prophylaxie et/ou l'immunothérapie des maladies infectieuses bactériennes ou toxiques de l'homme. L'absence de protéines de référence provenant de myélomes a rendu difficile la caractérisation biochimique et structurale de certaines classes et sous-classes d'Ig du cheval. Cependant, les premières études avaient déjà mis en évidence l'hétérogénéité des Ig du cheval quant à leur poids moléculaire et à leur mobilité électrophorétique [11, 31]. L'électrophorèse et la sérologie (utilisation d'anticorps spécifiques de lapin), ont ainsi permis de reconnaître des IgA, IgM, IgE, IgG et cinq sous-classes de cette dernière [IgGa, IgGb, IgGc, IgGB et IgG(T)]. Ultérieurement, des différences localisées au niveau des chaînes lourdes des molécules IgGa, IgGb et IgG(T) ont été démontrées par cartographie peptidique. L'étude de chaque classe particulière a permis de constater que les Ig du cheval possèdent toutes 2 types de chaînes légères (alpha et bêta) qui sont analogues aux types kappa et lambda décrits chez l'homme [24].

Bien qu'il existe quelques différences entre les races, plus de 80 p. cent des Ig sériques sont représentées par les IgGa et les IgG(T) [18].

### Particularités fonctionnelles

La fonction biologique de chacune des classes et sous-classes des Ig a été testée in vitro et in

vivo [19]. Comme le tableau 53-V le montre, c'est surtout la sous-classe des IgG(T) qui offre certaines particularités. Dans le test de précipitation, cette molécule induit une réaction typique de floculation : elle n'est précipitante qu'en présence d'une concentration précise de l'antigène. D'autre part, l'incapacité des molécules IgG(T) et IgGc d'activer le complément de cobaye a une conséquence pratique lors de réactions de fixation du complément effectuées dans des buts diagnostiques : la présence relative d'une trop forte concentration de ces molécules dans le sérum à tester peut donner de faux résultats négatifs [20]. L'incapacité des anticorps IgG(T) à se lier aux récepteurs Fc des macrophages et des polynucléaires neutrophiles est une autre particularité de ces molécules [20]. Elle explique peut-être pourquoi le complexe toxine-antitoxine tétanique n'est éliminé que très lentement de la circulation du cheval.

Tableau 53-V Particularités fonctionnelles des Ig du cheval.

	IgA	IgGa/b	IgGc	IgG (T)	IgM	IgE
Activité anticorps	+	+	+	+	+	+
Précipitation	?	+	-	F*	+	?
Fixation du complément	?	+	-	-	+	?
Hémagglutination	?	+	?	+P**	+	-
Anaphylaxie cutanée passive	-	+	-	-	-	+
Interaction avec les récepteurs Fc des macrophages	?	+	+	-	+	?

F\* : Réaction peut être négative ou de type floculation-précipitation.

P\*\* : Phénomène de prozone (absence de réaction) en cas d'excès de l'anticorps.

Tableau 53-VI Concentrations approximatives (mg/ml) de diverses classes d'Ig dans différentes humeurs corporelles du cheval\*.

Echantillon	IgG	IgG(T)	IgM	IgA
Sérum	15,0	7,0	1,80	2,0
Colostrum	9,0	3,5	4,0	4,0
Lait	3,0	0,5	0,1	8,0
Larmes	0,12	0,03	0,04	2,0
Sécrétions nasales	0,08	0,04	trace	2,0
Salive	0,15	—	0,02	1,2
Fluide spermatique	0,04	—	trace	0,08

— : absence de donnée.

\* D'après Wilkie BN. In : Proc 28th annual Convention of the Am Ass Eq Pract, Atlanta, GA, 1982, 305.

## Distribution

Les concentrations des différentes sous-classes d'IgG ont été mesurées par immunodiffusion radiale dans divers liquides de sécrétion du cheval (Tableau 53-VI).

## Ig impliquées dans des réactions immunes anormales

**Réactions immunes adverses et/ou auto-immunes.** Plusieurs syndromes ont été décrits chez le cheval. La plupart d'entre eux sont idiopathiques mais peuvent aussi être secondaires ou associés à des processus infectieux, à des réactions médicamenteuses et/ou à des formations néoplasiques (Tableau 53-VII).

Tableau 53-VII Syndromes causés par réactions immunes adverses et/ou auto-immunes.

Syndromes	Anticorps présents	Aide au diagnostic	Autres constatations
Anémie hémolytique du nouveau-né	IgG et/ou IgM. Réaction de type II	Test de Coombs direct ou indirect	Autoagglutination des Ec, érythrophagocytose
Thrombocytopénie	IgG. Réaction de type II	Mesure indirecte de l'anticorps	—
Purpura hemorrhagica (fièvre pétéchiale)	IgA, IgG, C'3 retrouvés dans complexes immunes dans parois vasculaires. Réaction de type III (?)	Biopsie/histologie	La plupart des cas sont secondaires à des infections à streptocoques
Pemphigus foliaceus	IgG, $\pm$ C'3. Réaction de type II	Biopsie/histologie, immunofluorescence directe (peau) ou indirecte (sérum)	—

Ec = érythrocyte.

Tableau 53-VIII Syndromes allergiques connus chez le cheval.

Syndrome	Antigènes	Anticorps	Aide au diagnostic
Dermatite estivale	Sécrétions de culicoïdes et simuliés	IgG, prob. IgE. Réactions de type I et III	Test cutané. ACP. Désensibilisation
Maladie pulmonaire du fermier	Micropolyspora faeni, aspergillus fumigatus	IgG, IgM. Type III	Test (in vitro) de précipitation
POA avec composantes allergiques	Allergènes multiples peuplant les écuries	IgG, prob. IgE, IgA. Réactions de type I et III	Test cutané, test de dégranulation des basophiles (in vitro)

ACP : Anaphylaxie cutanée passive.

POA : Pneumopathie obstructive allergique.

**Réactions hyperergiques et allergiques.** Au moins trois syndromes sont reconnus chez le cheval (Tableau 53-VIII). Certains des allergènes responsables de ces réactions ont été mis en évidence. Malheureusement, la quantité d'antigènes présents dans les écuries est telle (foin, poussière, etc.) que bien souvent la nature exacte de l'antigène et celle du type de réaction immune ne sont que difficilement identifiables.

## TRANSMISSION DE L'IMMUNITÉ PASSIVE

Le placenta de la jument est de type diffus épithéliochorial (Fig. 53-4) et est imperméable aux immunoglobulines (Ig) présentes dans la

circulation maternelle [34]. Ceci explique pourquoi, à l'exception de concentrations très basses et endogènes d'IgM, le poulain est à la naissance essentiellement agammaglobulinémique. Le système immunitaire du poulain nouveau-né est capable de répondre à des stimulations antigéniques mais ces réponses primaires sont trop lentes pour être effectives. Il est donc de première importance que les anticorps maternels lui soient transmis par le colostrum dès la naissance.

La glande mammaire ne synthétise aucune Ig, à l'exception des IgA. Cependant, peu avant la parturition, elle concentre activement les Ig présentes dans la circulation sanguine, dont le taux se réduit peu à peu. Bien que cela fasse plus de 60 ans que l'extrême importance des Ig colostrales ait été reconnue, les mécanismes responsables de la formation du colostrum sont supposés être d'origine hormonale, mais restent en fait inconnus [12]. La composition en Ig du colostrum (et du

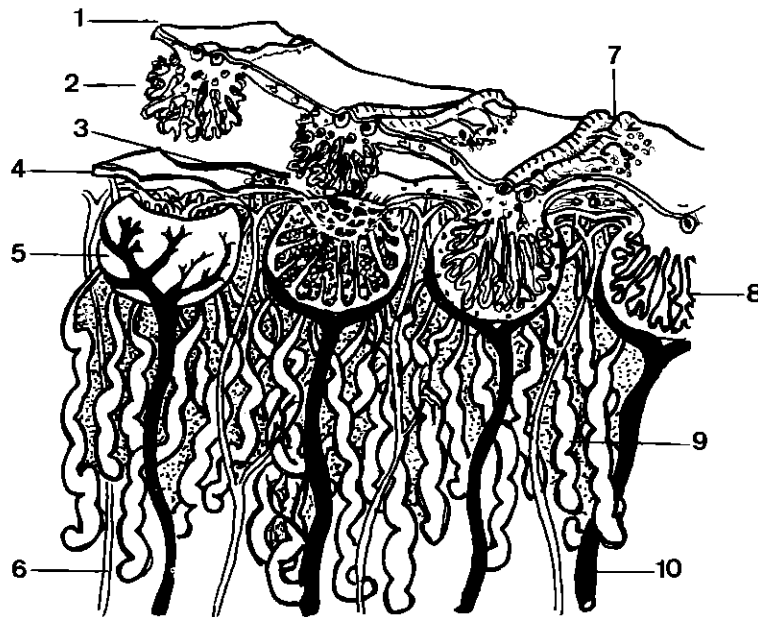


Figure 53-4 Représentation semi-schématique du placenta équin montrant la structure des microcotylédons d'après Steven S. Samuel CA. J Reprod Fert Suppl, 1975, 23 : 580. 1) chorioallantois; 2) côté fœtal du microcotylédon; 3) orifices des glandes utérines; 4) épithélium utérin; 5) côté maternel du microcotylédon; 6) artère utérine; 7) vaisseaux ombilicaux; 8) microcotylédon; 9) glandes de l'endomètre; 10) veine utérine.

lait) se modifie au cours de la lactation. Les IgG représentent la fraction majeure des Ig du colostrum (Fig. 53-5) et des travaux récents montrent que la protection immunitaire passive que reçoit le nouveau-né dérive d'une part des IgG colostrales résorbées et d'autre part des IgA ingérées avec le colostrum (puis le lait) qui vont directement revêtir les muqueuses orales et nasopharyngiennes [9].

#### Mécanisme de transmission de l'immunité passive

Une représentation simplifiée et théorique de l'absorption intestinale des Ig et d'autres macromolécules est donnée à la figure 53-6. La résorption se fait de manière continue tout au long de l'intestin grêle par des cellules spécialisées. Les macromolécules y pénètrent par pinocytose, sous forme de fines particules qui se dirigent vers la base de la cellule et fusionnent en un ou quelques gros globules. Il semble que les cellules absorbent un maximum de protéines avant de les libérer dans l'espace intercellulaire d'où elles passent dans les vaisseaux lymphatiques et, de là, dans la circulation sanguine. Il est probable que quelques molécules de petite taille (par ex. protéines du lait) passent directement dans les capillaires intestinaux et la circulation portale. La

capacité d'absorption de ces cellules spécialisées de l'intestin grêle est maximale juste après la naissance puis diminue rapidement de façon linéaire au cours des 24 premières heures de vie; elles sont remplacées par des cellules plus différenciées qui sont incapables d'absorption. Ce remplacement rapide et les changements de la perméabilité des cellules intestinales sont peut-être provoqués par les concentrations élevées d'hormones surrénaliennes au cours de la période post-natale. Une privation totale de nourriture du poulain nouveau-né peut éventuellement prolonger la période de résorption intestinale, alors que l'absorption de macromolécules est diminuée d'environ 10 p. cent si le poulain ne reçoit pas de colostrum.

#### Durée de l'immunité passive et initiation de l'immunité active

Il faut environ 24 heures pour que les anticorps reçus passivement atteignent leur concentration maximale dans le sang. La diminution progressive qui suit est due d'une part, à la dilution causée par l'augmentation du volume plasmatique du poulain en croissance et d'autre part, au catabolisme de ces anticorps. La demi-vie des Ig d'origine maternelle est d'environ 21 jours, elle varie selon la classe d'anticorps mais toutes les Ig d'origine

Figure 5  
tique d  
cheval,  
M. In :  
Medicin  
216.  
Les diffé  
loppemé  
aux sy  
suivants  
• 1 : In  
(IDC).  
• 2 : Ag  
• 3 : Dé  
• 4 : Hy  
toire.

TRAN  
(avec  
facte  
colos  
stimu  
l'abs

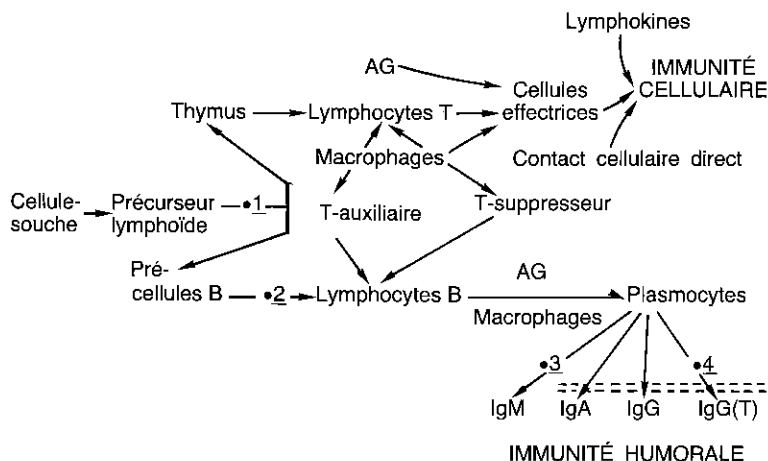
PROT  
du  
nouve



**Figure 53-5** Représentation schématique du système immunitaire du cheval, d'après Perryman LE, Crisman M. *In*: Current Therapy in Equine Medicine, 2. Ed. NE Robinson, 1987, 216.

Les différentes anomalies dans le développement des lymphocytes conduisent aux syndromes d'immunodéficience suivants :

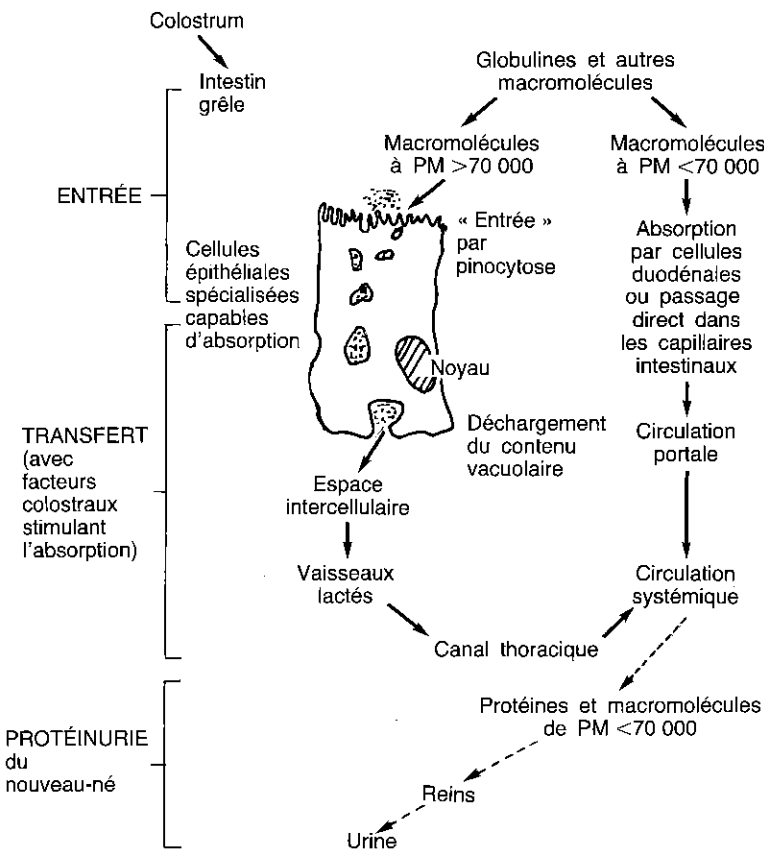
- 1: Immunodéficience combinée (IDC).
- 2: Agammaglobulinémie.
- 3: Déficience sélective en IgM.
- 4: Hypogammaglobulinémie transitoire.



ntation semi-  
enta équin  
microcotylé-  
samuel CA. J  
5, 23 : 580.  
té fœtal du  
es des glandes  
térin; 5) côté  
lon; 6) artère  
mbilicaux; 8)  
es de l'endo-

écialisées  
e après la  
de façon  
res de vie;  
plus diffé-  
ption. Ce  
ents de la  
nt peut-être  
s élevées  
la période  
urriture du  
t prolonger  
alors que  
diminuée  
çoit pas de

e  
s anticorps  
ncentration  
rogressive  
causée par  
du poulain  
polisme de  
d'origine  
varie selon  
g d'origine



**Figure 53-6** Représentation schématique de l'absorption des globulines et d'autres macromolécules au niveau de l'intestin grêle chez les ongulés, d'après Jeffcott LB. *Biol Rev*, 1972, 47 : 439-464.  
PM : Poids moléculaire.

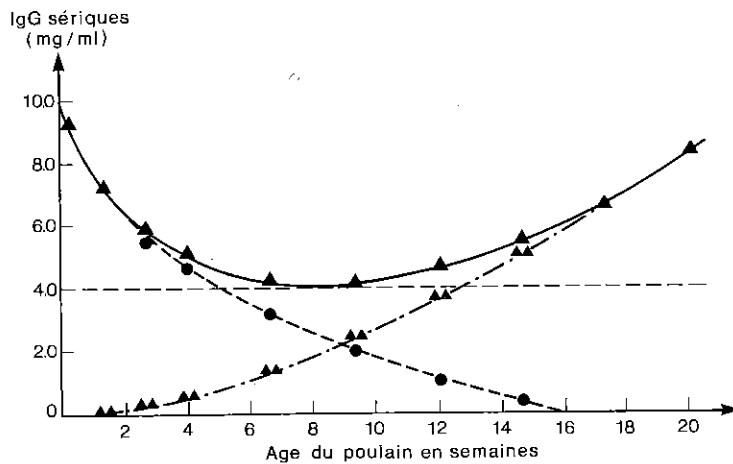


Figure 53-7 Le catabolisme des IgG maternelles (●) est compensé par la synthèse d'IgG du poulain (▲▲). Les IgG totales mesurées (▲) sont initialement d'origine maternelle, puis d'origine mixte (de la mère et du poulain), puis finalement ne proviennent plus que du poulain.

colostrale ont disparu chez le poulain de cinq à six mois. La capacité qu'a le poulain de synthétiser ses propres IgG peut déjà être mise en évidence au bout de deux semaines de vie et des concentrations suffisantes des diverses Ig sont atteintes au bout de quatre mois environ.

Dans des circonstances optimales, le chevauchement des immunités passive et active pendant 2 à 16 semaines, assure une protection efficace. Toutefois, si le transfert de l'immunité passive n'a pas été adéquat, il y aura une période particulièrement dangereuse pour le poulain autour de quatre semaines après la naissance ou même plus tôt (Fig. 53-7).

### Insuffisance du transfert passif de l'immunité (ITP)

On considère qu'il y a ITP lorsque la concentration sérique des IgG du poulain ne dépasse pas 4 mg/ml. Une concentration supérieure à 8 mg/ml est optimale (Tableau 53-IX). Une ITP peut avoir diverses causes : qualité insuffisante du colostrum, lactation prématurée, quantité insuffisante de colostrum absorbée par le poulain au cours des premières heures de vie et/ou défaut au niveau intestinal de la résorption des IgG colostrales. Dans des conditions normales, le taux des

Tableau 53-IX Concentrations des immunoglobulines (mg/ml) dans le sérum, le colostrum et le lait\*.

	IgA	IgGa	IgG(T)	IgM
Sérum (n=20)				
moyenne	1,53	13,34	8,21	1,20
valeurs extrêmes	0,60-3,50	7,20-19,20	2,14-15,00	0,82-2,00
Colostrum/lait (n=1)				
1 <sup>er</sup> jour p.p.	0,20	2,10	1,00	0,22
3 <sup>e</sup> jour p.p.	0,28	0,80	0,40	0,15
16 <sup>e</sup> jour p.p.	0,80	0,28	0,08	0,07
182 <sup>e</sup> jour p.p.	1,30	0,14	0,02	—

n : nombre d'échantillons examinés.

p.p. : Post partum.

\* D'après McGuire TC et al. In : JT Bryans, H Gerber. Equine Infectious Diseases III (Paris, 1972). Karger, Basel, 1973, 373.

**Tableau 53-X** Méthodes permettant de déterminer la qualité du transfert passif de l'immunité chez le poulain.

Facteurs déterminés/méthodes	Remarques
Protéines totales par réfractométrie	Méthode simple et rapide mais non spécifique
Protéines fractionnées par électrophorèse	Méthode précise mais nécessite temps et équipement spécial
Protéines totales :	
test de turbidité au sulfate de zinc	Méthode simple, rapide, efficace, bon marché mais non spécifique. Hémolyse est responsable de faux résultats positifs
test de turbidité au sulfite de sodium	Simple mais non spécifique et réactions souvent imprévisibles
IgG par immunodiffusion radiale monospécifique	Matériel pour tests sont sur le marché. Méthode spécifique utilisée comme référence mais nécessite temps (>24 h)
IgG par agglutination au latex	Matériel pour tests sont sur le marché. Méthode rapide et spécifique
IgG par test ELISA	Tests rapides, actuellement de choix pour la pratique

IgG sériques résorbées par le poulain est en corrélation directe avec la concentration des Ig colostrales [16]. On a estimé, chez le poney, qu'un poulain ingère environ deux litres de colostrum au cours des 12 premières heures de vie. Un colostrum contenant un minimum de 30 mg/ml d'IgG devrait être adéquat pour prévenir une ITP [16].

Il a été montré qu'à 24 degrés Celsius, la concentration du colostrum en IgG est en relation directe avec son poids spécifique. Il est donc possible d'évaluer, sur le terrain, la qualité du colostrum à l'aide d'un hydromètre modifié et de repérer ainsi les poulains à risques [16]. Les autres méthodes de dépistage de l'ITP sont reprises au tableau 53-X.

## COMPLÉMENT

Comme dans d'autres espèces, le complément apparaît relativement tôt au cours de la vie fœtale : des processus d'hémolyse et de conggluti-

nation ont pu être induits par le sérum d'un fœtus de 4 mois (le plus jeune fœtus équin qui ait été examiné); cette capacité augmente de 10 à 40 fois au cours des premiers jours qui suivent la naissance et devient maximale (c'est-à-dire équivalente à celle trouvée chez le cheval adulte) entre la première et la quatrième semaine post-natale.

## Facteurs

En utilisant des érythrocytes de mouton couplés à un seul ou à plusieurs facteurs purifiés du complément humain ou du cobaye, les facteurs suivants ont été mis en évidence dans le sérum du cheval : C1 à C5 à des titres relativement bas (moins de 1/20) et C6 et C9 à des titres élevés (1/1 600 ou davantage). La séparation chromatographique sur colonne de DEAE-cellulose s'est montrée particulièrement efficace pour l'isolement des facteurs C7 et C9 [3]. La détermination quantitative de C3 a été effectuée par immunodiffusion radiale en utilisant des anticorps monospécifiques de lapin. La concentration sérique de ce facteur (estimée d'après la moyenne des valeurs mesurées chez 22 chevaux en bonne santé) est de 1,55 mg/ml, soit de l'ordre de celle rapportée chez l'homme [26].

## Activité hémolytique

Chez le cheval, contrairement à ce qui est observé dans de nombreuses espèces, le système du complément n'induit pas d'hémolyse dans le test classique utilisant comme cellules-cibles des érythrocytes de mouton sensibilisés par des anticorps de lapin. Lorsque des érythrocytes d'autres espèces animales sont utilisés, l'effet lytique reste faible. Ainsi, des érythrocytes de porc sensibilisés par des anticorps de lapin ne sont lysés par le sérum frais de cheval que jusqu'à la dilution de 1/16 environ [3]. La faiblesse de cette activité lytique peut avoir différentes causes : la présence dans le sérum de cheval de fortes concentrations de substances inhibitrices du complément, l'absence ou l'insuffisance de certains facteurs du complément et/ou l'instabilité de certains facteurs ou complexes, comme il l'a été suggéré pour le complexe C4b2a3b [3]. D'autre part, cette faible activité lytique du complément in vitro suggère que son activité physiologique chez le cheval ne se fait pas, ou peu, selon la voie classique (activation du complément par la formation de complexes antigène-anticorps), mais plutôt selon

me des IgG  
pensé par la  
n (▲▲). Les  
sont initiale-  
nelle, puis  
mère et du  
ne provien-

concentra-  
passe pas  
à 8 mg/ml  
peut avoir  
sante du  
té insuffi-  
poulain au  
défaut au  
gG colos-  
e taux des

gM

,20  
2-2,00

,22  
,15  
,07

1973, 373.

la voie alterne (activation directe par les antigènes) [17]. Il semblerait que ce soit avant tout grâce à cette voie alterne d'activation que le cheval élimine les antigènes étrangers (spores de champignon, bactéries ou parasites) qui le contaminent. En effet, l'activité bactéricide du sérum frais de cheval est équivalente à celle observée dans le sérum d'autres espèces chez lesquelles la voie classique d'activation est prédominante [3].

### Induction de la congutination

Le système du complément du cheval possède une forte activité de congutination et d'immunocongutination. Au moyen d'un test simple et efficace (cellules-cibles : érythrocytes de mouton sensibilisés par des anticorps de lapin et placés dans un milieu tampon spécifique contenant des immunocongutininines de lapin), les titres du complément permettant d'obtenir 50 p. cent de congutination varient de 1/40 à 1/300 [3]. Le rôle biologique de cette capacité du complément d'induire la congutination et l'immunocongutination est encore inconnu [3].

### Fonction, polymorphisme et régulation génétique

Le troisième facteur du complément (C3) joue un rôle primordial dans les processus d'inflammation et d'opsonisation. On a constaté que 50 jours après leur inoculation, des chevaux infectés expérimentalement par le virus de l'anémie infectieuse avaient des valeurs sériques de C3 fortement diminuées : 0,44-1,6 mg/ml au lieu des valeurs normales 1,21-2,09 mg/ml. Les érythrocytes des chevaux malades étaient chargés de C3 et un dépôt de ce même facteur pouvait être observé au niveau des glomérules rénaux [26].

D'autres chercheurs [7] ont suggéré que la mesure des valeurs sériques du complément pourrait permettre d'identifier les chevaux allant développer des symptômes neurologiques et d'en évaluer la sévérité lors de l'infection par le virus herpès équin 1. En effet, après infection virale expérimentale, seuls les chevaux qui développent de graves parésies montrent une élévation du taux de complément.

Grâce aux techniques d'électrophorèse, un polymorphisme génétique du troisième facteur du complément (C3) a pu être démontré chez le cheval comme il l'avait déjà été chez l'homme, la souris et le chien [13]. Trois allèles codominants

nommés C3-1, C3-2 et C3-3 et contrôlés par un locus autosomal ont été mis en évidence chez les chevaux de race arabe et les trotteurs. Les analyses en gel de PAGE-SDS révèlent que la structure moléculaire du facteur C3 consiste en une chaîne alpha (PM env. 118 000 daltons) et une chaîne bêta (PM env. 63 000 daltons). Les poids moléculaires des différents variants électrophorétiques sont identiques [13]. Chez différentes espèces, il a été démontré que le quatrième facteur du complément (C4) est génétiquement contrôlé par un locus couplé à celui du complexe majeur d'histocompatibilité et qu'il présente un polymorphisme génétique.

Des méthodes d'analyse du gène (hybridation, au moyen d'une sonde humaine C4-ADNc, de l'ADN équin préalablement fractionné par une enzyme de restriction et mis en évidence par la technique de l'immunotransfert de Southern) ont montré un polymorphisme de la longueur des fragments de restriction (PLFR) pour le gène C4 du cheval [14]. Les analyses de ségrégation des bandes alléliques PLFR spécifiques de C4 et du système d'histocompatibilité majeur montrent que, chez le cheval aussi, le facteur C4 est contrôlé par un gène couplé à celui du complexe majeur d'histocompatibilité [14].

Comme on a observé chez quelques espèces (homme, souris, chien) que certains allèles des facteurs C3 et C4 sont associés à l'apparition d'arthrite rhumatoïdale et d'autres maladies auto-immunes, il est évident que la mise en évidence des allèles des facteurs C3 et C4 chez le cheval et leur association à diverses maladies suscitent un intérêt croissant.

### BIBLIOGRAPHIE

1. ANSARI HA, HEDIGER R, FRIES R, STRANZINGER G. Chromosomal localisation of the major histocompatibility complex of the horse by in situ hybridation. *Soumis Immunogenetics*, 1988.
2. BAILEY E, ALBRIGHT DG, HENNEY P. Equine neonatal isoerythrolysis; evidence for prevention by maternal antibodies to the Ca blood group antigen. *Am J Vet Res*, 1988, 49 (8) : 1218-1222.
3. BARTA O, BARTA V. The equine complement system. In : JT Bryans, H Gerber. *Equine infectious diseases IV*, Veterinary Publications, Princeton, New Jersey, 1978, 189-199.
4. BELL K. The blood groups of domestic mammals. In : NS Agar, P Board. *Red Blood cells of domestic mammals*, Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 1983, 133-164.

5. BER  
of  
allo  
19-  
6. Bou  
anir  
Fils  
7. BR  
Her  
65  
8. BY  
loc  
lym  
9. GA  
tran  
foa  
10. GU  
of  
fra  
Big  
11. HE  
of  
12. JER  
Cu  
Ro  
13. KA  
ret  
An  
14. KA  
the  
21  
Ge  
15. LA  
leu  
ge  
16. LE  
sh  
fo  
bu  
17. LE  
alt  
big  
71  
18. M  
ne  
19. M  
ch  
nd  
G  
K  
20. M  
I  
ed  
cd  
65  
21. M  
ar  
A

lés par un  
ce chez les  
eurs. Les  
ent que la  
onsiste en  
(daltons) et  
(tons). Les  
ats électro-  
différentes  
me facteur  
nt contrôlé  
xe majeur  
 polymor-

ybridation,  
ADNc, de  
é par une  
nce par la  
(thern) ont  
gueur des  
e gène C4  
gation des  
C4 et du  
montrent  
r C4 est  
complexe

es espèces  
allèles des  
apparition  
diés auto-  
évidence  
cheval et  
scitent un

ZNINGER G.  
compatibility  
on. Soumis

ine neonatal  
y maternal  
n J Vet Res,

system. In :  
diseases IV,  
rsey, 1978,

als. In : NS  
c mammals,  
33, 133-164.

5. BERNOCO D, ANTczAK DF, BARGER B et al. Joint report of the fourth international workshop on lymphocyte alloantigens of the horse, held in Lexington, Kentucky 19-22 October 1986. *Anim Genet*, 18 : 81-94.
6. BOURDELLE E, BRESSOU C. Anatomie régionale des animaux domestiques. I. Equidés. Librairie J-B Baillière et Fils, 1938.
7. BRIDGES CG, EDINGTON N. Innate immunity during Equid Herpesvirus (EHV-1) infection. *Clin Exp Immunol*, 1986, 65 : 172-181.
8. BYRNS G, CRUMP AL, LALONDE G et al. The ELY-1 locus controls a di-allelic alloantigenic system on equine lymphocytes. *J Immunogenet*, 1987, 14 : 59-71.
9. GALAN JE, TIMONEY JF, LENGEMANN FW. Passive transfer of mucosal antibody to *Streptococcus Equi* in the foal. *Infect Immun*, 1986, 54 : 202-206.
10. GUERTLER LG, SCHMID DO, YEBOA DA et al. Presence of horse blood group antigens in the major glycoprotein fraction of the erythrocyte membrane. *Anim Blood Grps Biochem Genet*, 1978, 9 : 41-45.
11. HEIDELBERGER M, PEDERSEN KO. The molecular weight of antibodies. *J Exp Med*, 1937, 65 : 393-401.
12. JEFFCOTT LB. Passive transfer of immunity to foals. In : Current therapy in equine medicine. 2. Edited by N Robinson, WB Saunders Company, 1987, 210-215.
13. KAY PH, DAWKINS RL, BOWLING AT et al. Electrophoretic polymorphism and molecular structure of equine C3. *Anim Genet*, 1986, 17 : 209-215.
14. KAY PH, DAWKINS RL, BERNOCO D et al. The genes for the fourth component of complement and the enzymes 21-hydroxylase are linked to the MHC in the horse. *Anim Genet*, 1987, 18 : 78-79.
15. LAZARY S, GERBER H, DE WECK AL et al. Equine leucocyte antigen system. III. Non MHC linked alloantigenic system in horses. *Immunogenet*, 1982, 9 : 327-334.
16. LEBLANC MM, McLAURIN BI, BOSWELL R. Relationships among serum immunoglobulin concentration in foals, colostrum specific gravity, and colostrum immunoglobulin concentration. *JAVMA*, 1986, 189 : 57-60.
17. LEID WR, COLEY CS, BLANCHARD DP et al. Equine alternative pathway activation by unsensitized rabbit red blood cells. *Vet Immunol Immunopathol*, 1985, 9 : 71-85.
18. McDougall DF. Immunoglobulin metabolism in the neonatal foal. *J Reprod Fert*, 1975, Suppl. 23 : 739-742.
19. McGUIRE TC, CRAWFORD TB, HENSON JB. The isolation, characterization and functional properties of equine immunoglobulin classes and sub-classes. In : JT Bryans, H Gerber. *Equine Infectious Diseases III* (Paris, 1972), Karger, Basel, 1973, 364-381.
20. McGUIRE TC. Immunoglobulin G subclass (IgG and IgG(T)) interaction with the group specific antigen of equine infectious anemia virus : immunodiffusion and complement fixation reactions. *Am J Vet Res*, 1977, 38 : 655-658.
21. MCKENZIE CD. Histological development of the thymic and intestinal lymphoid tissue of the horse. *J S Afr Vet Ass*, 1975, 46 : 47-55.
22. MAGNUSON NS, PERRYMAN LE, WYATT CR et al. Purine enzyme activities as markers of lymphocytic differentiation : studies of lymphocytes from horses with severe combined immunodeficiency. *Adv Exp Med Biol*, 1986, 195 : 421-427.
23. MARTIN BR, LARSON KA. Immune response of equine fetus to coliphage T2. *Am J Vet Res*, 1973, 34 : 1363-1364.
24. MONTGOMERY PC. Molecular aspects of equine antibodies. In : JT Bryans, H Gerber. *Equine Infectious Diseases III* (Paris, 1972), Karger, Basel, 1973, 343-363.
25. MORGAN DO, BRYANS JT, MOCK RE. Immunoglobulins produced by the antigenised fetus. *J Reprod Fert*, 1975, Suppl. 23 : 735-738.
26. PERRYMAN LE, McGUIRE TC, BANKS KL et al. Decreased C3 levels in a chronic virus infection : equine infectious anemia. *J Immunol*, 1971, 106 : 1074-1078.
27. PERRYMAN LE, McGUIRE TC, TORBECK RL. Ontogeny of lymphocyte function in the equine fetus. *Am J Vet Res*, 1980, 41 : 1197-1200.
28. PERRYMAN LE, BUE CM, MAGNUSON NS et al. Immunologic reconstitution of foals with combined immunodeficiency. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987, 17 : 495-508.
29. SAAR LI, GETTY R. Equine lymphatic system. In : R Getty. *The anatomy of the domestic animals. Volum 1.* WB Saunders company, 1975, 619-632.
30. SANDBERG K, ANDERSSON L. Genetic linkage in the horse. *Hereditas*, 1984, 100 : 199-208.
31. SCHEER J VAN DER, WYCLIFF RWG, CLARK FH. The electrophoretic analysis of tetanus antitoxic horse-sera. *J Immunol*, 1941, 40 : 73-177.
32. SCOTT M. Red cell groups of horses. In : JT Bryans, H Gerber. *Equine Infectious Diseases III* (Paris, 1972) Karger, Basel, 1973, 384-393.
33. STERZL J, SILVERSTEIN AM. Developmental aspects of immunity. *Adv Immunol*, 1967, 6 : 337-459.
34. STEVEN S, SAMUAL CA. Anatomy of the placental barrier in the mare. *J Reprod Fert Suppl*, 1975, 23 : 579-582.
35. STORMONT CJ, SUZUKI Y, RHODES EA. Serology of horse blood groups. *Cornell Vet*, 1964, 54 : 439-452.
36. STORMONT CJ, SUZUKI Y. Genetic systems of blood groups in horses. *Genetics*, 1964, 50 : 915-929.
37. STORMONT CJ. Identification and parentage verification of individual horses by blood typing tests. *Equine Vet Sci*, 1988, 8 : 176-179.
38. WONG PL, NICKEL LS, BOWLING AT et al. Clinical survey of antibodies against red blood cells in horses after homologous blood transfusion. *Am J Vet Res*, 1986, 47 : 2566-2571.
39. WYATT CR, MAGNUSON NS, PERRYMAN LE. Defective thymocyte maturation in horses with severe combined immunodeficiency. *J Immunol*, 1979 : 4072-4076.
40. WYATT CR, DAVIS WC, McGUIRE TC et al. T lymphocyte development in horses. I. Characterisation of monoclonal antibodies identifying three stages of T lymphocyte differentiation. *Vet Immunol Immunopathol*, 1988, 18 : 3-18.

H. Salmon, M. Vaiman, D. Schreuer

## IMMUNOLOGIE DU PORC

L'espèce porcine représente un modèle d'étude du développement de la compétence immune du fœtus en l'absence d'anticorps ou de stimulation antigénique d'origine maternelle, à cause de la présence d'un placenta épithélio-chorial comportant 7 couches histologiques, qui constituent autant de barrières entre les réseaux sanguins maternel et fœtal. En outre, le porcelet nouveau-né permet l'étude du développement du système immunitaire post-natal, dans la mesure où il peut être séparé de sa mère et élevé dans un environnement stérile, avec une alimentation non antigénique. Enfin, par sa taille et sa physiologie, assez proches de celles de l'homme, le porc représente un intéressant modèle d'étude, notamment de greffes d'organes. C'est aussi la seule espèce où l'on connaisse pour chaque organe, la production lymphocytaire et les voies de recirculation.

Mais le système lymphoïde du porc présente des particularités, telles qu'une quasi-absence de lymphocytes dans le canal thoracique (le nombre des lymphocytes transitant dans les lymphatiques efférents est cent fois plus faible qu'il ne l'est

dans les autres espèces) et une structure histologique « inversée » des ganglions lymphatiques.

### CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

#### Morphologie

Comme dans les autres espèces, on peut aisément subdiviser les lymphocytes :

— selon leur taille et leur morphologie en petits, moyens et grands lymphocytes, en lymphoblastes (ou lymphocytes activés), et en plasmocytes;

— selon la présence d'inclusions cytoplasmiques, révélée par la coloration de May-Grünwald-Giemsa. Ainsi, environ 2 p. cent des lymphocytes du sang et de la rate contiennent des granulations intracytoplasmiques azurophiles.

Comme chez la souris et l'homme, on trouve des lymphocytes granuleux parmi les lymphocytes intraépithéliaux de l'intestin;

— selon les activités enzymatiques telles que l'alpha-naphtyl-acétyl estérase (ANAE), présente dans chacune des sous-populations, quoiqu'à des degrés divers, peut-être en relation avec leur stade de différenciation ou de maturation.

Les macrophages possèdent une forte activité ANAE et les monocytes du sang sont aisément distingués des grands lymphocytes par la présence d'enzymes peroxydasiques.

### Récepteurs membranaires et sous-populations

#### Lymphocytes T

Les lymphocytes T porcins ont d'abord été identifiés par la mise en évidence de l'antigène membranaire spécifique des thymocytes, qui manifeste une affinité pour les globules rouges de mouton (GRM) et conduit à la formation de rosettes.

#### Lymphocytes à immunoglobuline membranaire

Classiquement, la technique de choix de révélation des lymphocytes B est l'immunofluorescence à l'aide de fragments  $F(ab')_2$  d'anticorps anti-immunoglobulines, ou d'anticorps complets sur des lymphocytes débarrassés au préalable de leurs immunoglobulines cytophiles par une préincubation à 37 °C. Plus simplement, comme les lymphocytes B présentent un récepteur C3b, ils sont identifiés par la formation de rosettes zymosan (grains de zymosan recouverts de C3b porcine par incubation du zymosan dans du sérum frais de

porc). Ce procédé appliqué sur coupes congelées d'organes, a permis de localiser les zones B dépendantes représentées par les follicules dans les ganglions (Fig. 54-1).

Dans certaines conditions opératoires, seule la population présentant des IgG labiles (d'où le terme de lymphocyte L), éluables à la surface du lymphocyte par une incubation préalable des lymphocytes à 37 °C, est apte à former des rosettes EA [globules rouges bovins (GRB) recouverts d'IgG anti-GRB]; cette population est indépendante des deux autres sous-populations T et des B, si bien qu'on peut parler d'une troisième lignée qui pourrait être responsable de la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante.

Cette sous-population est plus abondante dans la rate que dans les autres organes lymphoïdes. Ces lymphocytes se lient spécifiquement aux cellules humaines K562 (cellules-cibles couramment utilisées pour mettre en évidence le phénomène NK), suggérant leur participation dans la lyse cellulaire de type NK d'autant plus que leur cytoplasme est pourvu de granules azurophiles, sources d'enzymes lytiques. Sur coupe de ganglion cette sous-population se localise exclusivement dans la zone médullaire (voir Fig. 54-1).

#### Lymphocytes nuls

La somme des différentes sous-populations T + B + L ne réalise pas 100 p. cent de lymphocytes et cette différence correspond à une catégorie de lymphocytes dénués de tout marqueur, particulièrement abondante dans le sang et chez le sujet jeune (jusqu'à atteindre 30 p. cent). Comme ces lymphocytes répondent faiblement à la stimulation par les mitogènes T polyclonaux, ils représentent probablement des lymphocytes T immatures.

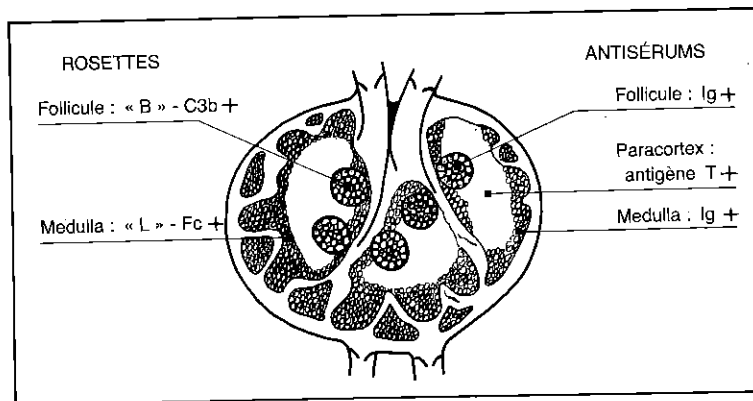


Figure 54-1 Aires histologiques du ganglion lymphatique et localisation des lymphocytes T, B, L et  $SIg^+$ , à gauche délimitées par la formation de rosettes ZC ou EA et, à droite, par l'application d'antisérums anti-T ou anti-immunoglobulines. Noter l'inversion de structure histologique, follicules au centre et médulla à la périphérie.

## Anticorps monoclonaux et sous-populations lymphocytaires

### Lignée T

Les lymphocytes T caractérisés par l'antigène CD2 (MSA4 ou pan T) ne présentent pas d'immunoglobulines de membrane, et comprennent pour 90 p. cent des lymphocytes CD4 et CD8 et pour 10 p. cent des lymphocytes dénués des antigènes CD4 et CD8.

Les lymphocytes T auxiliaires, identifiés par l'antigène CD4, sont stimulables par les antigènes solubles en association avec les allo-Ag de classe II du CMH. Dans une culture lymphocytaire mixte, les cellules T CD4 interviendraient en aidant la différenciation, jusqu'au stade effecteur, des précurseurs de lymphocytes T cytotoxiques.

Les lymphocytes T cytotoxiques, expriment généralement l'Ag CD8<sup>+</sup> aux stades précurseur et effecteur de leur activité cytolytique restreinte au CMH.

A la différence de l'homme et de la souris, les lymphocytes CD8<sup>+</sup> prédominent en nombre sur les CD4<sup>+</sup> dans la majorité des organes et on observe une proportion non négligeable (10-15 p. cent) de cellules doublement marquées CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> (bien que CD8 faiblement positifs), dont la fonction et la filiation demeurent inconnues.

### Lignée B

Les lymphocytes B et leurs dérivés plasmocytaires sont caractérisés par les anticorps de différents isotypes. Les Ag de classe II ne sont pas spécifiques des lymphocytes B car ils sont également retrouvés sur une fraction de lymphocytes T (CD8), même non activés.

### Lignées T et B

Chez le porc, à l'instar de l'homme et de la souris, on identifie un Ag (LFA-1 ou CD-18), constitué de deux chaînes de 180 et 94 kd, qui est associé à la majorité des fonctions des leucocytes, d'où son nom (Leucocyte Function Ag); ainsi l'Ac correspondant inhibe partiellement les réponses induites par les mitogènes à des doses suboptimales, inhibe complètement la réponse proliférative en culture lymphocytaire mixte à un stade précoce, et l'activité cytolytique au stade effecteur.

Bien que l'Ag Th-B ou CD-1 soit constitué comme les Ag de classe I d'une chaîne lourde de 45 kd et d'une chaîne légère de 12 kd, sa distribution tissulaire est inverse de celle des Ag

de classe I et restreinte aux lymphocytes du cortex thymique (90 à 100 p. cent des cellules corticales et 5-10 p. cent des cellules médullaires), à 50-75 p. cent des lymphocytes B périphériques et aux cellules de Langerhans de la peau.

## ORGANES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

### Thymus

Le thymus de porc comporte un cortex et une médullaire dont les lymphocytes répondent à la stimulation par la PHA et par la Con A, contrairement à ceux du cortex qui ne répondent qu'à la PHA. Les injections répétées de fortes doses de cortisone conduisent à une atrophie du thymus portant essentiellement sur le cortex : les lymphocytes corticaux sont immatures et corticosensibles. Environ 20 p. cent des thymocytes sont produits quotidiennement mais 1 p. cent seulement migre vers la périphérie; près de 30 p. cent d'entre eux sont des lymphocytes nuls, le reste étant représenté par des lymphocytes T formant des rosettes avec des globules rouges de mouton et dont 1/3 seulement (contre 2/3 dans le thymus) forment des autorosettes.

Les cellules épithéliales synthétisent un facteur (ou hormone) thymique qui disparaît du sang après thymectomie des porcelets. Ce nonapeptide est actuellement obtenu par synthèse et ses effets, non spécifiques d'espèce, ont été surtout étudiés chez la souris.

### Rate

On note peu de différences histologiques avec les autres espèces si ce n'est un système élastique très développé. Les lymphocytes sont disposés en zones adjacentes T et B, les manchons périartériolaires sont épais, accompagnés de follicules lymphoïdes renfermant des centres germinatifs. Chez le porcelet, la rate est un organe important de la lymphogénèse : 15 p. cent des lymphocytes de la rate sont formés quotidiennement et aussitôt exportés à la périphérie, ce sont en majorité des B avec quelques lymphocytes T. La rate intervient dans la recirculation des lymphocytes T :  $270 \times 10^9$  lymphocytes y transitent quotidiennement en empruntant la zone marginale, soit 40



fois la population totale des lymphocytes circulants. Seul, un contingent faible de lymphocytes nuls, non recirculants, ne traverse pas le parenchyme splénique.

## Ganglions lymphatiques

### Structure

La structure ganglionnaire chez le porc (et quelques autres espèces telles que les dauphins), est inversée; les follicules lymphoïdes, en général limités à la périphérie, se distribuent au centre du ganglion, si bien que la médulla occupe une position périphérique (voir Fig. 54-1). La zone corticale est riche en veinules post-capillaires et les lymphocytes en transit sont insérés entre les hautes cellules de l'endothélium.

La médulla se démarque nettement du cortex mais ne présente ni cordon médullaire, ni sinus. Sa structure fibreuse épaisse empêche tout trafic important de lymphocytes, ce qui explique leur petit nombre dans les conduits lymphatiques efférents. Les macrophages sont nombreux au niveau de la jonction corticomédullaire. Les plasmocytes, lorsqu'ils sont présents, se situent dans les régions du cortex immédiatement adjacentes à la médulla et sont donc directement en contact avec les vaisseaux sanguins médullaires [2]. La rareté des plasmocytes dans le ganglion semble accréditer la thèse que sa fonction majeure réside dans la formation de centres germinatifs et non dans la production d'anticorps. Voir également la figure 22 du chapitre 5.

### Circulation des lymphocytes

Chez les rongeurs, les lymphocytes sanguins pénètrent dans les ganglions lymphatiques en traversant les parois des veinules post-capillaires; après un séjour de durée variable dans les ganglions, ils les quittent par les vaisseaux lymphatiques efférents. Chez le porc, on trouve très peu de lymphocytes dans les vaisseaux lymphatiques efférents car leur recirculation est exclusivement sanguine, les lymphocytes quittant le sang et y revenant via l'endothélium des veinules post-capillaires des ganglions.

## Lymphocytes et formations lymphoïdes annexées à la muqueuse digestive

Des lymphocytes sont présents tout le long du tube digestif : entre les cellules épithéliales (lym-

phocytes T intra-épithéliaux, exclusivement de phénotype CD8) et dans la *lamina propria* (lymphocytes CD4, CD8 et plasmocytes). L'abondance des plasmocytes des isotypes IgA (prédominant chez l'adulte), IgM (prédominant chez le jeune) et IgG contraste avec la relative déficience de ces cellules dans les autres organes lymphoïdes, suggérant que, chez le porc, la *lamina propria* constitue un micro-environnement propice à la différenciation des plasmocytes. De grands agrégats de lymphocytes sont organisés en follicules sous l'épithélium, dans les amygdales, les plaques de Peyer (duodénum, jéjunum et iléum) et les nodules du côlon.

## IMMUNOGLOBULINES

Les immunoglobulines (Ig) IgG, IgA et IgM sont les trois classes principales d'immunoglobulines chez le porc. Relativement mal connues, ces classes d'Ig sont pourtant comparables d'un point de vue biochimique aussi bien qu'immunologique aux mêmes classes d'Ig d'autres mammifères tels que la souris, le rat et l'homme. Bien que le porc présente des réactions d'hypersensibilité de type I, l'Ig responsable de ces réactions n'a pas encore été caractérisée, et l'existence d'IgE porcine n'a pas encore été formellement démontrée.

L'IgG est l'Ig la plus abondante du sérum de porc; elle est constituée de deux chaînes lourdes et de deux chaînes légères. Cette molécule possède un coefficient de sédimentation de 7S et son poids moléculaire est de 140 kd.

Le porc possède au moins deux sous-classes d'IgG : IgG1 et IgG2. Les fonctions biologiques spécifiques de ces deux sous-isotypes n'ont pas encore été bien déterminées. Par conséquent, ce n'est que par des méthodes biochimiques que l'on peut distinguer l'IgG1 de l'IgG2. Le développement d'anticorps monoclonaux spécifiques de chacune de ces deux sous-classes a permis leur purification par immunoaffinité.

Une partie des IgG1 réagit avec la protéine A; elle est aussi reconnue par un anticorps monoclonal. Ceci permettra peut-être la caractérisation d'une troisième sous-classe d'IgG porcine. L'existence de quatre sous-isotypes d'IgG a été rapportée par Kaltreider, qui se base exclusivement sur des résultats obtenus par immunoelectrophorèse. L'existence de plus de deux

vement de  
ppria (lym-  
). L'abon-  
(prédomi-  
nt chez le  
déficience  
anes lym-  
la lamina  
ent propice  
De grands  
és en fol-  
gdales, les  
et iléum) et

isotypes d'IgGs porcine n'a cependant jamais été confirmée.

L'IgA est sans aucun doute la classe d'Ig porcine la plus étudiée. L'intérêt pour cette protéine découle sans aucun doute de son importance dans le transfert passif de l'immunité intestinale de la truie au porcelet via le colostrum et le lait.

L'IgA porcine existe sous trois formes : la forme monomérique sédimentant à 7S, la forme dimérique sédimentant à 10S et la forme dimérique associée au composant sécrétoire (IgAs) sédimentant à 11S. Dans le sérum, l'IgA dimérique est plus abondante que l'IgA monomérique. Dans les sécrétions on trouve essentiellement l'IgA sécrétoire. L'IgAs est constituée de quatre types de chaînes : les chaînes lourdes, les chaînes légères, la chaîne J et le composant sécrétoire.

L'IgM porcine est une molécule pentamérique sédimentant à 19S. Comme dans d'autres espèces l'IgM est la première classe d'Ig apparaissant au cours d'une infection ou après une immunisation.

Les réactivités des trois classes d'Ig porcines avec la protéine A et la Jacaline (une lectine isolée des graines de *Artocarpus integrifolia*) ont été étudiées. Ces deux protéines sont couramment employées pour la purification de certaines classes d'Ig murines et humaines par des techniques de chromatographie d'affinité.

La protéine A reconnaît les trois classes d'Ig porcine. On a montré les fragments Fc mais aussi Fab des Ig porcines réagissent avec la protéine A. Celle-ci peut donc être utile pour purifier ces Ig dans la mesure où une séparation par classe n'est pas recherchée. La Jacaline, qui présente une réactivité prononcée avec l'IgA1, l'IgD et dans une moindre mesure avec l'IgA2 humaine, ne réagit pas avec les IgA d'origine porcine.

### Transmission de l'immunité passive

Dépourvu d'anticorps maternels mais cependant immunocompétent, le porcelet nouveau-né, dans les conditions d'élevage conventionnel, est brusquement mis au contact d'un grand nombre de déterminants antigéniques qui provoquent l'apparition de plasmocytes de classe IgM, et l'augmentation du nombre de cellules immunologiquement compétentes et à mémoire, tous ces processus n'intervenant pas en l'absence de stimuli antigéniques, ainsi que l'ont montré les expériences sur porcelet axénique, n'ayant absorbé ni colostrum, ni lait.

Si l'exposition du nouveau-né est suivie de réponse immune, celle-ci est de type primaire si bien que l'agent pathogène a plus de temps et de possibilités de se multiplier et de se disséminer dans l'organisme. Dans les conditions naturelles toutefois, le nouveau-né reçoit de sa mère, par le colostrum et le lait, une protection immune efficace.

Les immunoglobulines colostrales et lactées proviennent, dans une mesure variable, du compartiment vasculaire et du parenchyme mammaire. Le colostrum est enrichi en IgG et IgM par rapport au plasma du fait d'une transsudation sélective de ces deux classes d'immunoglobulines, survenant en fin de gestation. En revanche, les IgA, immunoglobulines prédominantes du lait, proviennent indirectement du système immunitaire de l'intestin. La migration des lymphoblastes de l'intestin vers la mamelle (axe entéromammaire) est déclenchée par un équilibre hormonal (œstrogènes, prolactine et progestérone) qui s'établit chez la truie, vers le 80<sup>e</sup> jour de gestation. Cet axe entéromammaire explique l'existence de spécificités communes aux anticorps du lait et de l'intestin. Ainsi, le niveau de l'immunité transmis par le colostrum dépend étroitement de l'état d'immunisation systémique de la mère, tandis que celle transmise par le lait dépend de son état d'immunisation intestinale. Notons qu'il est cependant possible d'induire une immunité purement locale à IgA, par instillation de l'antigène dans le canal du trayon.

Les IgGs maternelles qui confèrent au porcelet l'immunité systémique passive sont présentes en grande concentration ( $\pm 60$  mg/ml) dans le colostrum (Tableau 54-1). L'intestin du porcelet nouveau-né présente une perméabilité extraordinaire qui permettra l'absorption d'IgG et d'autres protéines du colostrum. Ces protéines, non digérées, sont transportées intactes dans le sérum. Après quelques ingestions de colostrum le porcelet normal possède des taux d'IgG sérique comparables ou supérieurs à ceux de l'adulte (20 à 40 mg/ml). Après 24 heures, l'intestin du porcelet, ayant bu du colostrum immédiatement après la naissance, devient imperméable aux protéines et, parallèlement, le taux d'IgG dans le lait diminue ( $\pm 10$  mg/ml). Par contre l'intestin d'un porcelet privé de toute nourriture pendant les premières 24 heures après la naissance, présente la même perméabilité aux macromolécules que l'intestin d'un porcelet nouveau-né. La perméabilité intestinale du porcelet ne commence donc à diminuer qu'à partir de la première prise de

A et IgM  
munoglo-  
l connues,  
ables d'un  
l'immuno-  
d'autres  
l'homme.  
s d'hyper-  
le de ces  
érisée, et  
ncore été

sérum de  
lourdes et  
e possède  
son poids

ous-classes  
iologiques  
n'ont pas  
équent, ce  
s que l'on  
léveloppe-  
fiques de  
ermis leur

protéine A;  
ps mono-  
ctérisation  
e. L'exis-  
G a été  
exclusive-  
immuno-  
de deux

**Tableau 54-1** Concentrations en mg/ml des trois classes d'immunoglobulines dans le sérum, le colostrum et le lait de truies adultes (selon Curtis) et dans le sérum du porcelet (selon Klobasa).

		IgG	IgA	IgM
Sérum de porc adulte		18,31	1,44	3,15
Sérum de truie adulte		24,33	2,37	2,92
Colostrum	0h	61,80	9,66	3,19
Lait	24h	11,83	3,76	1,79
	2j	8,16	2,72	1,81
	3-7j	1,91	3,42	1,17
	8-35j	1,37	3,04	0,89
Sérum de porcelet	2h	2,8	0,5	0,3
	4h	14,6	2,8	1,0
	12h	42,5	12,6	3,7
	24h	36,3	9,1	2,9
	2j	33,2	6,6	2,3
	14j	14,4	0,2	0,6
	21j	9,1	0,2	1,1
	28j	6,7	0,2	1,5
	35j	6,4	0,4	1,8
	42j	7,5	0,6	2,2
	49j	8,6	0,7	2,2
	56j	10,4	0,9	2,3

colostrum. Il en résulte qu'un porcelet n'ayant pas absorbé de colostrum pendant les premières 24 heures a de très faibles chances de survie, ce qui s'explique d'une part par la baisse de concentration en IgG du lait après 24 heures et, d'autre part, par la diminution de perméabilité intestinale.

En même temps que les IgG le porcelet absorbe en grandes quantités d'autres protéines colostrales, telles que les albumines, l' $\alpha$ -foetoprotéine et les autres classes d'Ig. Parmi celles-ci, c'est l'IgG qui a la plus longue demi-vie ( $\pm 10$  jours) dans le sérum du porcelet par rapport à l'IgA ( $\pm 2$  jours) et l'IgM ( $\pm 3$  jours). La courte demi-vie de l'IgA peut s'expliquer par un catabolisme plus rapide de cette protéine et par une sécrétion. Celle-ci a été démontrée chez le porc au niveau des muqueuses du tractus respiratoire. Chez le jeune porc les concentrations en IgG, IgA et IgM dans le sérum sont minimales vers cinq, trois et deux semaines respectivement, après quoi les taux en Ig commencent à augmenter lentement pour atteindre les valeurs de l'adulte vers l'âge de cinq mois.

La concentration et la spécificité des anticorps dans le colostrum, l'absorption et la demi-vie de ces anticorps sont les quatre facteurs qui influencent particulièrement la qualité et la durée de l'immunité passive du goret. La concentration et la spécificité des anticorps peuvent être influen-

cées par les infections et/ou les vaccinations subies par la truie avant la mise-bas. La quantité d'anticorps absorbés dépend du temps écoulé entre la mise-bas et la première prise de colostrum. La demi-vie des Ig est essentiellement déterminée par leur classe. Le porcelet qui a bu suffisamment de colostrum est normalement protégé jusqu'au moment où il commence à développer des réponses immunes actives. On a cependant constaté que la présence d'une forte concentration en IgG maternelle ou en IgG bovine dans le sérum du porcelet retarde quelque peu le développement de l'immunité active.

### Effets des anticorps maternels chez le nouveau-né

#### Effet protecteur

**Immunité systémique :** comme aucune transmission d'anticorps n'a pu s'opérer durant la vie fœtale et que l'intestin du porcelet n'est perméable aux Ig que pendant 12 à 36 heures après la naissance (21 jours chez les rongeurs), le nouveau-né reçoit, dans le colostrum, un concentré d'immunoglobulines plasmatiques qui passent dans sa circulation sanguine. Quoique la proportion des IgG soit prédominante (85 p. cent), les IgA et les IgM jouent un rôle important dans l'élimination des germes pathogènes.

**Immunité locale :** le lait de la truie est particulièrement riche en IgA; celles-ci ne sont pas absorbées par l'intestin, mais restent dans la lumière ou se fixent sur l'épithélium et assurent une meilleure protection locale du porcelet contre les entérites que les IgG et les IgM du fait de leur plus grande résistance aux enzymes protéolytiques du tube digestif.

#### Effet régulateur des anticorps maternels sur la réponse immune propre au porcelet

On sait que chez les rongeurs, des anticorps administrés passivement peuvent avoir un effet régulateur sur la réponse immune. Chez le porcelet nouveau-né, les anticorps colostraux inhibent l'expansion des clones des lymphocytes B de même spécificité antigénique, soit par un mécanisme d'élimination de l'antigène, soit en se liant au récepteur Fc des lymphocytes T. Cependant, il apparaît que dans les conditions d'immunisation du porcelet non sevré, c'est la concentration des anticorps d'origine maternelle qui détermine le

niveau  
certain  
menter  
déprim  
se mar  
enregis  
réponse

ONT

Dével  
struct

Chron  
des ly  
et de

La d  
l'espèc  
sables  
thymus  
(J50) o  
(Fig. 5  
qui rep  
(Fig. 5

C'es  
premie  
pour c  
second  
seurs d  
plasme  
chaînes  
J55. C  
memb  
foie fo  
compo  
et du t  
le 80°  
ganglio  
seulem  
naissan  
mais c

Chron  
struct  
des d

Les  
structu  
— T  
médull

niveau de réponse du porcelet et que, dans certaines circonstances, des IgM peuvent augmenter une réponse primaire au lieu de la déprimer. Enfin, la réponse primaire peut ne pas se manifester, mais le stimulus antigénique est enregistré et, ultérieurement on assistera à une réponse d'emblée de type secondaire.

## ONTOGENÈSE

### Développement des cellules et des structures lymphoïdes chez le fœtus

#### *Chronologie d'apparition des lymphocytes et de leurs sous-populations*

La durée de gestation est de 114 jours dans l'espèce. Les premiers lymphocytes reconnaissables morphologiquement apparaissent dans le thymus (J28) puis dans la rate (J48) et l'intestin (J50) où ils sont soit disséminés dans l'épithélium (Fig. 54-2 A), soit associés sous forme d'agrégats qui représentent des ébauches de plaques de Peyer (Fig. 54-2 B) et de ganglions lymphatiques (J52).

C'est dans le thymus qu'apparaissent les premiers lymphocytes T qui vont ensuite migrer pour coloniser (vers J50) les organes lymphoïdes secondaires (Planche couleur, Fig. 4). Des précurseurs des lymphocytes B (cellules dont le cytoplasme, mais non la membrane contient des chaînes d'Ig) sont présents dans la rate du fœtus à J55. Cependant, des lymphocytes B à IgM membranaire ont été décrits dès le 44<sup>e</sup> jour dans le foie fœtal puis dans la moelle osseuse (J60). La composition en cellules T, B, L et Nulles du sang et du thymus est semblable à celle de l'adulte dès le 80<sup>e</sup> jour de gestation, celle de l'intestin et des ganglions mésentériques l'est à la naissance seulement; la rate est le seul organe qui, à la naissance, ne présente pas la structure adulte, mais ce retard est comblé 4 jours plus tard.

#### *Chronologie d'apparition des structures histologiques spécifiques des organes lymphoïdes*

Les principales étapes du développement de ces structures sont les suivantes :

— **Thymus.** Démarcation entre le cortex et la médulla dès le 50<sup>e</sup> jour de la gestation.

— **Ganglions mésentériques.** Le cortex s'isole de la médulla au 80<sup>e</sup> jour et on y observe la présence de veinules post-capillaires suggérant la possibilité, dès cette période, d'une recirculation des lymphocytes.

— **Intestin.** Dès le 50<sup>e</sup> jour, les lymphocytes sont présents dans l'épithélium et la lamina propria. Les plaques de Peyer sont visibles à l'œil nu au 80<sup>e</sup> jour, mais les zones thymo-dépendantes (interfolliculaires) sont peu développées; à la différence des ganglions mésentériques, on note la présence de nombreux follicules (zones B) (Fig. 3 B).

— **Rate.** La pulpe blanche apparaît vers le 150<sup>e</sup> jour mais ne se développe qu'après la naissance. Les follicules sont dépourvus de centres germinatifs, ce qui tendrait à montrer que le fœtus de porc se développe dans un milieu exempt de toute stimulation antigénique.

### Détermination du moment où le fœtus est immunocompétent

Pour qu'un lymphocyte soit immunocompétent il faut qu'il possède les récepteurs à l'antigène et qu'il soit inductible, ce qui peut être mis en évidence *in vitro* ou *in vivo*.

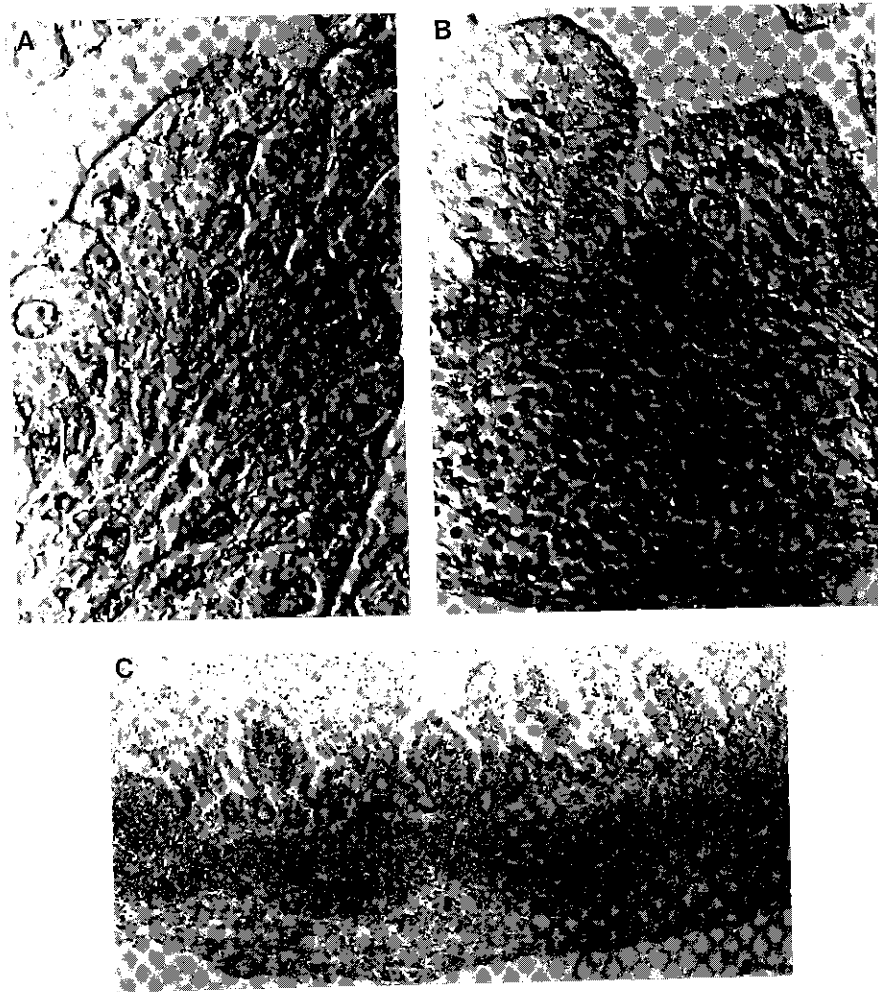
#### *In vitro*

**Réponse spécifique à la stimulation antigénique :** des cellules lymphoïdes cultivées en présence d'antigène sécrètent des anticorps, lorsqu'elles sont prélevées dans le foie au 24<sup>e</sup> jour de la vie fœtale, et au 69<sup>e</sup> jour dans la rate et les ganglions lymphatiques.

**Réponse proliférative non spécifique aux mitogènes :** à J60 les thymocytes et les lymphocytes du sang répondent à la stimulation par les mitogènes (PHA, Con A, PWM, Soja); les lymphocytes de la rate sont stimulant plus tardivement vers J90.

#### *In vivo*

**Tolérance et immunité de transplantation :** en pratiquant, à différentes périodes de la vie fœtale (de J60 à J80), des injections de cellules allogéniques, puis en examinant le devenir d'une greffe de peau du même donneur sur les receveurs nouveau-nés, on constate que la tolérance aux cellules allogéniques peut être induite à J60 et que cet état disparaît pour faire place à un état d'immunité de transplantation à J80;



**Figure 54-2** Structure histologique de l'intestin fœtal à 50 (A), 80 (B) et 105 (C) jours de vie fœtale.  
 A) Noter la présence d'un lymphocyte dans l'épithélium d'une villosité.  
 B) Ebauche d'une plaque de Peyer constituée d'un dôme et d'un follicule.  
 C) Plaques de Peyer avec dôme, follicule et zone interfolliculaire.

**Réponse anticorps :** la plus précoce apparition d'anticorps dans le sérum semble être le 70<sup>e</sup> jour de la vie fœtale; puis le fœtus est capable de répondre au parvovirus porcins (J72), à *E. rhusopathiae* (J73) et à *S. orientberg* (J80). Les anticorps formés sont de type IgM.

**Réponse locale :** l'injection du virus de la gastroentérite transmissible, par voie intramusculaire chez le fœtus de porc (J74), est suivie d'une multiplication du virus dans l'intestin fœtal; les villosités détruites sont vite régénérées et le fœtus élabore les 3 classes d'anticorps G, A et M.

Ces résultats montrent bien l'immunocompétence fœtale et la possibilité de vacciner le fœtus in utero.

#### Développement de l'immunité active du porcelet

La réponse immune primaire contre l'invasion microbienne ou la pénétration orale d'antigènes bactériens, est dominée par les IgM, puis vers l'âge de 2 mois, les plasmocytes à IgM laissent la place aux plasmocytes à IgA.

La production d'IgM représente cependant un mécanisme de défense efficace de la muqueuse intestinale par l'agglutination des germes pathogènes qui sont ultérieurement rejetés grâce au péristaltisme intestinal ou par l'opsonisation favorisant leur phagocytose par les polynucléaires présents dans l'intestin.

## COMPLÉMENT

Le complément (C) joue un rôle fondamental dans les processus de défenses non spécifiques et dans l'inflammation. Les deux voies d'activation, la voie classique ou immune, et la voie alterne non immune ont toutes deux fait l'objet d'un certain nombre d'études chez le porc.

### Ontogenèse de l'activité du porc

L'activité se développe tôt au cours de la vie fœtale. Les constituants C1 et C2 sont caractérisables dès le 40<sup>e</sup> jour de gestation. Le constituant C4 ainsi qu'une activité hémolytique sont décelables au 77<sup>e</sup> jour de gestation. Une activité faible des constituants C3, C5, C6 et C7 est mesurable dès la fin du second mois de gestation, mais elle augmente fortement après 100 jours. L'activité des composants C8 et C9 croît au contraire progressivement au cours de la vie fœtale et est déjà assez élevée dès la 7<sup>e</sup> semaine. Chez le porcelet nouveau-né l'activité hémolytique du C, que ce soit après activation par voie classique ou alterne, s'élève rapidement dans les 72 premières heures, mais ne paraît pas être directement liée à l'ingestion de colostrum, bien que celui-ci possède les différents constituants du C. Le colostrum pourrait néanmoins intervenir par des facteurs stimulants non identifiés. Ainsi l'essentiel de l'accroissement d'activité par la voie alterne et une part notable de l'accroissement par la voie classique paraissent-ils être liés aux régulations physiologiques propres au porcelet. Dès le 8<sup>e</sup> jour après la naissance, l'activité C est équivalente à celle de l'adulte.

### Spectre d'activité

Le C du porc a un spectre d'activité remarquablement large. Son activation par la voie classique est aisément mesurable avec des hématies de

mouton sensibilisées par des anticorps de lapin anti-hématies de mouton. Le C du porc s'accommode aussi de systèmes dans lesquels les hématies d'homme, de lapin ou de vache remplacent celles de mouton, et où les anticorps anti-hématies proviennent du chien, du mouton, de la chèvre, du lapin, du cobaye, du chat, de la vache, et même du poulet et du canard, ce qui n'est pas le cas pour la plupart des C de mammifères. Le constituant C1q du porc peut remplacer le C1q de l'homme lors des tests de dépistage d'immunocomplexes humains.

L'activité cytolytique du C de porc sur les lymphocytes de porcs sensibilisés par des allo-sérum anti-antigènes d'histocompatibilité SLA est faible. A cet égard, le C de lapin, et à un degré moindre celui du cobaye, sont beaucoup plus efficaces.

### Evaluation quantitative de l'activité C de porc

Dans le test d'activation classique, les valeurs définies en unités hémolytiques CH50/ml (une unité = 50 p. cent d'hémolyse par ml de sérum) pour les constituants C1, C2, C7, C8, C9 du porc sont proches des valeurs mesurées chez l'homme. Les niveaux d'activités sont par contre sensiblement plus faibles que chez l'homme pour C3, C6, mais surtout C4 pour lequel on a 250 U CH50/ml pour le porc, contre 20 000 U CH50/ml chez l'homme.

Les différences d'activité hémolytique du C chez le porc ont une part de déterminisme génétique. Les animaux porteurs de l'haplotype SLA-H10 à l'état homozygote ou hétérozygote expriment un niveau d'unités hémolytiques plus élevé que ceux porteurs de l'haplotype SLA-H12.

### Caractérisation biochimique de différents constituants du C

La purification des constituants C1q, C3 et C9 du porc a été réalisée. On connaît la structure primaire des fragments C3a à C5a qui sont générés lors de l'activation du complément.

Ces fragments ont, à l'instar des constituants homologues de l'homme, des propriétés anaphylactiques puissantes et comme chez l'homme le fragment C5a est le plus actif.

Le fragment C5a du porc comporte 74 acides

aminés, et présente une similitude remarquable avec le fragment C5a humain. Les segments COOH terminaux sont identiques et se caractérisent par la séquence : Glu-Leu-Gly-Arg-COOH. De même, 10 des 12 résidus NH<sub>2</sub> terminaux sont identiques dans les deux espèces. Le fragment C5a de porc stimule fortement la contraction des muscles lisses du tube digestif, provoque la libération d'histamine par les mastocytes et attire les polynucléaires.

Le fragment C3a du porc comprend 77 acides aminés, et a pratiquement la même structure secondaire que le fragment C3a de l'homme. Alors que les 5 résidus aminés COOH terminaux des C3a humain et porc sont identiques, et sont probablement responsables de l'activité anaphylactique, l'homologie globale n'est que de 70 p. cent. Cette divergence peut expliquer l'absence de réactivité immunologique croisée entre les 2 molécules. D'ailleurs, en règle générale, les anticorps anti-C3 ne croisent pas d'une espèce à l'autre. Le fragment C3b de porc est par contre capable de se fixer sur les récepteurs C3b des macrophages péritonéaux de souris. Le constituant C4 paraît conservé, les anticorps anti-C4 croisant entre les espèces.

### Localisation des gènes du complément

La localisation de la plupart des gènes du C de porc n'est pas connue, à l'exception des gènes C2, B et C4, qui sont tous portés par le chromosome 7, et en étroite association avec les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité. Ainsi le complexe SLA du porc contrôle-t-il les deux voies d'activation du C, la voie classique par la convertase C4-C2 et la voie alterne par le constituant B.

### Complément du porc et pathologie

Il n'a pas été décrit de symptomatologie associée à un défaut génétique de fonctionnement du C du porc. Le C de porc paraît être impliqué dans l'installation des lésions de glomérulonéphrite, alors que son rôle dans la symptomatologie des arthrites infectieuses à *Erysipelothrix rhusiopathiae* est mineure.

## COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ SLA DU PORC

### Localisation et organisation génétique

Ainsi qu'il a été mentionné précédemment, le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) SLA du porc est porté par le chromosome 7, dans une région proche du centromère. Au voisinage de SLA, se trouvent les groupes sanguins J et C, situés respectivement à 10 et 15 centimorgans de SLA, ainsi que le gène glyoxalase.

Le complexe SLA est constitué de différentes familles de gènes que l'on dénomme gènes de classe I, II et III. Ces gènes sont étroitement liés et, mis à part les rares cas de recombinaisons, sont transmis ensemble. Chaque combinaison particulière des différents gènes SLA constitue un haplotype.

### Sérologie des antigènes de classe I

Les antigènes SLA de classe I ont été les premiers à avoir été caractérisés à l'aide d'une technique de lymphotoxicité complément dépendante. Ces antigènes sont exprimés par toutes les cellules nucléées de l'organisme et les thrombocytes.

Par un travail collectif de plusieurs laboratoires, qui a consisté dans l'échange et l'analyse d'un grand nombre de sérums, il a été possible de définir une trentaine de spécificités SLA de classe I officielles.

A ces spécificités s'ajoutent une vingtaine d'autres qui n'ont pas encore été l'objet de comparaisons interlaboratoires.

Ces résultats illustrent le fait que les antigènes SLA de classe I sont très polymorphes. Ils sont sous le contrôle de trois séries alléliques distinctes.

### Liste des haplotypes SLA

L'étude de la transmission des antigènes SLA dans plus de cinq cent familles informatives a permis d'établir une liste des haplotypes les plus fréquemment rencontrés dans les races commerciales. Il faut y ajouter de nombreux haplotypes dont la caractérisation n'est encore que partielle, conduisant à un total d'environ 90 haplotypes.

Ce nombre est très inférieur au nombre théorique de combinaisons possibles qui dépasse le

aminés, et présente une similitude remarquable avec le fragment C5a humain. Les segments COOH terminaux sont identiques et se caractérisent par la séquence : Glu-Leu-Gly-Arg-COOH. De même, 10 des 12 résidus NH<sub>2</sub> terminaux sont identiques dans les deux espèces. Le fragment C5a de porc stimule fortement la contraction des muscles lisses du tube digestif, provoque la libération d'histamine par les mastocytes et attire les polynucléaires.

Le fragment C3a du porc comprend 77 acides aminés, et a pratiquement la même structure secondaire que le fragment C3a de l'homme. Alors que les 5 résidus aminés COOH terminaux des C3a humain et porc sont identiques, et sont probablement responsables de l'activité anaphylactique, l'homologie globale n'est que de 70 p. cent. Cette divergence peut expliquer l'absence de réactivité immunologique croisée entre les 2 molécules. D'ailleurs, en règle générale, les anticorps anti-C3 ne croisent pas d'une espèce à l'autre. Le fragment C3b de porc est par contre capable de se fixer sur les récepteurs C3b des macrophages péritonéaux de souris. Le constituant C4 paraît conservé, les anticorps anti-C4 croisent entre les espèces.

### Localisation des gènes du complément

La localisation de la plupart des gènes du C de porc n'est pas connue, à l'exception des gènes C2, B et C4, qui sont tous portés par le chromosome 7, et en étroite association avec les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité. Ainsi le complexe SLA du porc contrôle-t-il les deux voies d'activation du C, la voie classique par la convertase C4-C2 et la voie alterne par le constituant B.

### Complément du porc et pathologie

Il n'a pas été décrit de symptomatologie associée à un défaut génétique de fonctionnement du C du porc. Le C de porc paraît être impliqué dans l'installation des lésions de glomérulonéphrite, alors que son rôle dans la symptomatologie des arthrites infectieuses à *Erysipelothrix rhusiopathiae* est mineure.

### COMP aux loci D'HIS ent faible DU PO nser que un rôle ction est

#### Localisa

Ainsi d  
complexe  
SLA du p  
une région

SLA, se e 6 à 8  
situés resp de ces  
SLA, ain un même

Le comp  
familles e complète  
classe I, B, PD14 et  
et, mis à ncts. Les  
sont tran une forte  
particulière, tant au  
haplotype mposition

Sérologi tant de 73

Les an de moins  
premiers primaire.  
gènes de  
technique ns séparés  
dante. Ces le peptide  
cellules n domaines  
bocytes. fragment

Par un t ur la partie  
qui a cons ourrait ne  
grand nom région 5'  
définir une séquences  
I officielle e classe I,  
A ces e à l'inter-  
d'autres q , PD14 et  
comparais on situé au  
Ces résu alpha-1 et  
SLA de cl comportent  
sous le d environ 60  
distinctes. tion d'une

#### Liste des

L'étude ouve un tel  
dans plus aire.  
permis d'étl et PD14  
fréquemment grou-  
ciales. Il fac'est-à-dire  
dont la cara La plupart  
conduisant substitutions  
Ce nomblement pas  
rique de cpervariables

trouvés dans la molécule SLA soient situés, comme pour les autres molécules HLA de classe I, dans des zones impliquées dans la constitution du site putatif de présentation des antigènes. Les mutations observées dans l'exon 3 sont plus dispersées, avec cependant une tendance au regroupement.

Les séquences PD1 et PD14 présentent un polymorphisme de restriction élevé, alors que la séquence PD6 est constante pour tous les haplotypes analysés.

Les gènes PD1 et PD14 codent pour des molécules de classe I dont l'expression est ubiquitaire. On ne connaît pas le produit du gène PD6, qui est toutefois transcrit activement dans différents tissus, notamment dans les cellules T périphériques, mais apparemment pas dans les cellules thymiques.

### Région SLA de classe II. Molécules et gènes

La région de classe II ou SLA-D contrôle la réaction de culture lymphocytaire mixte et, à l'instar de la région SLA de classe I, est remarquablement polymorphe.

Les régions SLA de classes I et II sont distinctes. Jusqu'à présent neuf haplotypes issus d'une recombinaison entre ces deux régions ont été répertoriés, dont sept concernaient des races commerciales, et deux les porcs miniatures de l'élevage du National Institute of Health aux Etats-Unis.

Des allosérums ainsi que des anticorps monoclonaux spécifiques des molécules de classe II ont été produits. Les réactifs anti SLA de classe II (mais non ceux de classe I) sont capables de bloquer la stimulation en culture lymphocytaire mixte.

Il y a au moins deux familles de molécules SLA de classe II que l'on considère homologues aux molécules DR et DQ de l'homme. Ces molécules sont des hétérodimères constitués de deux chaînes glycoprotéiques transmembranaires, une lourde ou alpha de 32 kd et une légère ou bêta de 28 kd. Les molécules de classe II s'expriment principalement à la surface des lymphocytes B, des macrophages, et d'une large fraction des lymphocytes T circulants.

La sérologie des antigènes SLA de classe II n'est pas très développée et seules six spécificités ont été identifiées, mais il en existe à l'évidence beaucoup plus.



aminés, et présente une similitude remarquable avec le fragment C5a humain. Les segments COOH terminaux sont identiques et se caractérisent par la séquence : Glu-Leu-Gly-Arg-COOH. De même, 10 des 12 résidus NH<sub>2</sub> terminaux sont identiques dans les deux espèces. Le fragment C5a de porc stimule fortement la contraction des muscles lisses du tube digestif, provoque la libération d'histamine par les mastocytes et attire les polynucléaires.

Le fragment C3a du porc comprend 77 acides aminés, et a pratiquement la même structure secondaire que le fragment C3a de l'homme. Alors que les 5 résidus aminés COOH terminaux des C3a humain et porc sont identiques, et sont probablement responsables de l'activité anaphylactique, l'homologie globale n'est que de 70 p. cent. Cette divergence peut expliquer l'absence de réactivité immunologique croisée entre les 2 molécules. D'ailleurs, en règle générale, les anticorps anti-C3 ne croisent pas d'une espèce à l'autre. Le fragment C3b de porc est par contre capable de se fixer sur les récepteurs C3b des macrophages péritonéaux de souris. Le constituant C4 paraît conservé, les anticorps anti-C4 croisant entre les espèces.

### Localisation des gènes du complément

La localisation de la plupart des gènes du C de porc n'est pas connue, à l'exception des gènes C2, B et C4, qui sont tous portés par le chromosome 7, et en étroite association avec les gènes du complexe majeur d'histocompatibilité. Ainsi le complexe SLA du porc contrôle-t-il les deux voies d'activation du C, la voie classique par la convertase C4-C2 et la voie alterne par le constituant B.

### Complément du porc et pathologie

Il n'a pas été décrit de symptomatologie associée à un défaut génétique de fonctionnement du C du porc. Le C de porc paraît être impliqué dans l'installation des lésions de glomérulonéphrite, alors que son rôle dans la symptomatologie des arthrites infectieuses à *Erysipelothrix rhusiopathiae* est mineure.

## COMPLEXE MAJEUR D'HISTOCOMPATIBILITÉ SLA DU PORC

### Localisation et organisation génétique

Ainsi qu'il a été mentionné précédemment, le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) SLA du porc est porté par le chromosome 7, dans une région proche du centromère. Au voisinage de SLA, se trouvent les groupes sanguins J et C, situés respectivement à 10 et 15 centimorgans de SLA, ainsi que le gène glyoxalase.

Le complexe SLA est constitué de différentes familles de gènes que l'on dénomme gènes de classe I, II et III. Ces gènes sont étroitement liés et, mis à part les rares cas de recombinaisons, sont transmis ensemble. Chaque combinaison particulière des différents gènes SLA constitue un haplotype.

### Sérologie des antigènes de classe I

Les antigènes SLA de classe I ont été les premiers à avoir été caractérisés à l'aide d'une technique de lymphotoxicité complément dépendante. Ces antigènes sont exprimés par toutes les cellules nucléées de l'organisme et les thrombocytes.

Par un travail collectif de plusieurs laboratoires, qui a consisté dans l'échange et l'analyse d'un grand nombre de sérums, il a été possible de définir une trentaine de spécificités SLA de classe I officielles.

A ces spécificités s'ajoutent une vingtaine d'autres qui n'ont pas encore été l'objet de comparaisons interlaboratoires.

Ces résultats illustrent le fait que les antigènes SLA de classe I sont très polymorphes. Ils sont sous le contrôle de trois séries alléliques distinctes.

### Liste des haplotypes SLA

L'étude de la transmission des antigènes SLA dans plus de cinq cent familles informatives a permis d'établir une liste des haplotypes les plus fréquemment rencontrés dans les races commerciales. Il faut y ajouter de nombreux haplotypes dont la caractérisation n'est encore que partielle, conduisant à un total d'environ 90 haplotypes.

Ce nombre est très inférieur au nombre théorique de combinaisons possibles qui dépasse le

millier  
SLA-A  
Les  
ne son  
l'effet  
import  
égalem

### Régio Molé

Au  
séquen  
séquen  
haploty  
on disp  
sur tro  
PD6, e  
gènes  
homolo  
niveau  
en aci  
notable  
p. cent  
de 60 p  
Com  
classe  
par de  
signal,  
extrac  
transm  
termin  
posséd  
en am  
de rég  
ainsi q  
féron  
PD6 or  
niveau  
alpha-2  
chacun  
acides  
boucle  
domain  
résidu  
résidu  
La  
corresp  
pées d  
le dom  
de ces  
d'acide  
fortuit

millier, compte tenu du nombre d'allèles aux loci SLA-A, B et C.

Les raisons de cette diversité relativement faible ne sont pas connues, mais on peut penser que l'effet fondateur ou migratoire joue un rôle important. Un certain degré de sélection est également possible.

### Région SLA de classe I. Molécules et gènes

Au niveau génomique, il n'y a que 6 à 8 séquences SLA de classe I. Plusieurs de ces séquences ont été clonées à partir d'un même haplotype porté par un porc de race miniature, et on dispose actuellement de l'information complète sur trois d'entre elles désignées par PD1, PD14 et PD6, qui codent pour des gènes distincts. Les gènes PD1 et PD14 présentent entre eux une forte homologie qui atteint près de 86 p. cent, tant au niveau de la séquence ADN que de la composition en acides aminés. La séquence PD6 diverge notablement des 2 autres, l'homologie étant de 73 p. cent pour les séquences codantes et de moins de 60 p. cent pour la structure protéique primaire.

Comme dans les autres espèces, les gènes de classe I, PD1 et PD14 comportent 8 exons séparés par des introns. L'exon 1 code pour le peptide signal, les exons 2, 3 et 4 pour les trois domaines extracytoplasmiques, l'exon 5 pour le fragment transmembranaire et les exons 6 à 8 pour la partie terminale intracytoplasmique. PD6 pourrait ne posséder que les 7 premiers exons. La région 5' en amont des trois gènes comporte des séquences de régulation communes aux gènes de classe I, ainsi que la séquence consensus relative à l'interféron  $\gamma$ . Les molécules codées par PD1, PD14 et PD6 ont un site potentiel de glycosylation situé au niveau des résidus 86-89. Les domaines alpha-1 et alpha-2 des molécules PD1 et PD14 comportent chacun 2 résidus cystéine distants d'environ 60 acides aminés, permettant la formation d'une boucle stabilisée par un pont disulfure. Le domaine alpha-2 de PD6 ne comporte qu'un seul résidu de cystéine, par contre on trouve un tel résidu dans le segment transmembranaire.

La variabilité qui existe entre PD1 et PD14 correspond essentiellement à des mutations groupées dans trois segments de l'exon 2, c'est-à-dire le domaine N-terminal de la protéine. La plupart de ces mutations correspondent à des substitutions d'acides aminés et il n'est probablement pas fortuit que 2 des 3 segments hypervariables

trouvés dans la molécule SLA soient situés, comme pour les autres molécules HLA de classe I, dans des zones impliquées dans la constitution du site putatif de présentation des antigènes. Les mutations observées dans l'exon 3 sont plus dispersées, avec cependant une tendance au regroupement.

Les séquences PD1 et PD14 présentent un polymorphisme de restriction élevé, alors que la séquence PD6 est constante pour tous les haplotypes analysés.

Les gènes PD1 et PD14 codent pour des molécules de classe I dont l'expression est ubiquitaire. On ne connaît pas le produit du gène PD6, qui est toutefois transcrit activement dans différents tissus, notamment dans les cellules T périphériques, mais apparemment pas dans les cellules thymiques.

### Région SLA de classe II. Molécules et gènes

La région de classe II ou SLA-D contrôle la réaction de culture lymphocytaire mixte et, à l'instar de la région SLA de classe I, est remarquablement polymorphe.

Les régions SLA de classes I et II sont distinctes. Jusqu'à présent neuf haplotypes issus d'une recombinaison entre ces deux régions ont été répertoriés, dont sept concernaient des races commerciales, et deux les porcs miniatures de l'élevage du National Institute of Health aux Etats-Unis.

Des allosérums ainsi que des anticorps monoclonaux spécifiques des molécules de classe II ont été produits. Les réactifs anti SLA de classe II (mais non ceux de classe I) sont capables de bloquer la stimulation en culture lymphocytaire mixte.

Il y a au moins deux familles de molécules SLA de classe II que l'on considère homologues aux molécules DR et DQ de l'homme. Ces molécules sont des hétérodimères constitués de deux chaînes glycoprotéiques transmembranaires, une lourde ou alpha de 32 kd et une légère ou bêta de 28 kd. Les molécules de classe II s'expriment principalement à la surface des lymphocytes B, des macrophages, et d'une large fraction des lymphocytes T circulants.

La sérologie des antigènes SLA de classe II n'est pas très développée et seules six spécificités ont été identifiées, mais il en existe à l'évidence beaucoup plus.

La mise en œuvre des techniques de Southern et d'hybridation moléculaire à l'aide de sondes génomiques ou d'ADN complémentaire spécifiques des différents gènes HLA-DQ et -DR a révélé l'existence de 5 à 8 gènes DR bêta et 2 à 3 gènes DQ bêta par haplotype. Les gènes SLA codant pour les chaînes lourdes DR et DQ alpha sont limités à un ou deux gènes pour chacune des deux familles.

### Région SLA de classe III

La région de classe III du porc comporte les gènes C2, B et C4 du complément, ainsi que vraisemblablement le gène codant pour l'enzyme 21-hydroxylase.

### Rôle du complexe SLA en physiologie et en pathologie

#### Allogreffes

Il a été montré à maintes reprises que le complexe SLA représente l'obstacle principal aux allogreffes de tissus et d'organes. On a identifié, chez le porc, deux autres systèmes mineurs d'histocompatibilité qui sont les groupes sanguins A-O et E.

#### Contrôle de la réponse immune

Bien que la réponse immune soit un phénomène multigénique, l'influence du complexe SLA sur cette réponse a pu être prouvée, aussi bien chez les porcs des races commerciales que dans les troupeaux de porcs miniatures. Les antigènes utilisés étaient soit des antigènes relativement simples comme le lysozyme du blanc d'œuf de poule ou des peptides synthétiques, soit un antigène complexe, comme un vaccin préparé à partir de *Bordetella bronchiseptica*.

#### Association entre SLA, pathologie et caractères physiologiques

A l'instar de l'influence du complexe H-2 de la souris sur de nombreux paramètres physiologiques, les recherches de ces dernières années ont révélé l'existence de toute une série d'associations entre la région SLA et des caractères physiologiques et zootechniques, comme le montre le tableau 54-II.

Il n'est pas actuellement possible de proposer un modèle explicatif pour les associations obser-

**Tableau 54-II** Associations entre le complexe SLA et des traits physiologiques.

Caractères de développement et de reproduction	Caractères de croissance
Taux d'ovulation	Poids des porcelets à la naissance
Développement embryonnaire	Poids des porcelets au sevrage
Mortalité embryonnaire	Vitesse de croissance et indice de consommation
Distorsion de ségrégation de l'haplotype SLA	Composition en lipides de la carcasse
Déficit en homozygotes SLA	Qualité de la viande
Taille des portées	
Développement du tractus génital mâle	
Par ailleurs SLA influence le développement d'un mélanome malin cutané	

vées. Les gènes SLA de classes I et II et ceux du C jouant un rôle majeur dans la réponse immune, le rôle de SLA sur l'état sanitaire peut être important. A côté de ces gènes, on doit envisager le rôle du gène 21-hydroxylase, qui code pour un enzyme-clé dans la synthèse des hormones stéroïdes surrénaliennes. Des gènes codant pour des lymphokines, les facteurs nécrosants des tumeurs (TNF) ont été localisés dans les CMH HLA et H-2. Ces molécules ont des effets multiples et interviennent dans de nombreux métabolismes, notamment ceux mis en jeu dans les processus inflammatoires et dans les stress consécutifs aux agressions infectieuses et lésionnelles. Il existe une forte probabilité pour que des gènes TNF soient également associés à SLA. Si cela se révélait être le cas, l'influence de ces gènes sur les associations mentionnées devra être évaluée. Enfin la région est suffisamment étendue pour héberger d'autres gènes non encore identifiés.

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les données de l'ontogenèse confirment que le porc a acquis son immunocompétence avant la naissance. Capable de répondre à une stimulation antigénique, le porcelet nouveau-né n'élabore cependant, le plus souvent, qu'une réponse

primaire  
couvert  
apport  
Pratiqu  
antico  
une va  
de la  
mémo  
Dans  
présen  
interfé  
Des é  
nécess  
inject  
sation  
moins  
germe  
Le co  
compi  
manière  
canisr  
logiqu  
étrang  
système  
soient  
quels

### BIBL

1. Br...
2. Bl...
3. C...
4. D...
5. E...
6. K...
7. K...
8. K...

primaire. Dans les conditions naturelles, une couverture immune systémique et locale lui est apportée par le colostrum et le lait de sa mère. Pratiquement, on peut envisager d'augmenter les anticorps spécifiques du colostrum et du lait par une vaccination appropriée (systémique ou locale) de la mère, ou d'augmenter la compétence et la mémoire immunes du porcelet par sa vaccination. Dans ce cas, il est bon de se rappeler que la présence des anticorps passifs maternels peut interférer avec l'immunisation active du porcelet. Des études appropriées à chaque cas sont dès lors nécessaires pour juger de la dose d'antigènes à injecter, de la voie d'administration, et de l'utilisation d'un adjuvant. Après le sevrage, le porcelet moins sensible aux conséquences néfastes d'un germe pathogène, peut s'immuniser activement. Le complément et le complexe majeur d'histocompatibilité sont deux systèmes impliqués de manière importante et synergique dans les mécanismes de défense vis-à-vis des germes pathologiques ou plus généralement de substances étrangères. Aussi est-il fondamental que ces systèmes ne soient pas pris en défaut et qu'ils soient maintenus à leur état d'activité optimale, quels que soient les schémas de sélection retenus.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BINNS RM. Organisation of the lymphoreticular system and lymphocyte markers in the pig. *Vet Immunol Immunopathol*, 1982, 3 : 95-146.
2. BINNS RM, PABST R. Lymphoid cell migration and homing in the young pig : alternative immune mechanisms in action. *In* : AJ Husband. Migration and homing of lymphoid cells. CRC Press, Boca Raton, 1988, in press.
3. CURTIS J, BOERNE FJ. Immunoglobulin quantitation in sow serum, colostrum and milk and the serum of young pigs. *Biochim Biophys Acta*, 1971, 236 : 319-322.
4. DE BUYSSCHER EV, BERMAN DT. Isolation of porcine secretory immunoglobulin A by affinity chromatography and determination of its component chains. *Am J Vet Res*, 1975, 36 : 1659-1661.
5. EHRLICH R, LIFMITZ R, PESCOVITZ MD et al. Tissue specific expression and structure of a divergent member of a class I MHC gene family. *J Immunol*, 1987, 139 : 593-602.
6. KALTREIDER HB, JOHNSON JS. Porcine immunoglobulins II. Antibody response of adult swine to bovine globulin. *J Immunol*, 1972, 109 : 999-1002.
7. KIM YB, BRADLEY SG, WATSON DW. Antibody synthesis in germ-free colostrum-deprived miniature piglets. *In* : LK Bustad, RO McCellan. Swine in biomedical research, Battelle Memorial Institute, Pacific Northwest Labor, Richmond, Washington, 1966, 273-284.
8. KIM YB, STCAVAGE TM, KIM DJ et al. Ontogenic development and differentiation of the immune system in the gnotobiotic miniature swine. *In* : Fliedner et al, Clin Experim Gnotobiotics, Zbl. Bakt Suppl 7, Gustav Fischer Verlag-Stuttgart, New York, pp. 203-213.
9. KLOBASA F, WERHAHN E, BUTLER JE. Regulation of humoral immunity in the piglet by immunoglobulins of maternal origin. *Res Vet Sci*, 1981, 31 : 263-266.
10. LECCE JG. Effects of dietary regimen on cessation of intestinal absorption of large molecules (closure) in the neonatal pig and lamb. *J Nutr*, 1962, 263-266.
11. LIE WR, ROTSCCHILD MF, WARNER CM. Mapping of C2 and C4 genes to the swine major histocompatibility complex (swine leukocyte antigen). *J Immunol*, 1987, 139 : 3388-3395.
12. LINSKOTT WD. Biochemistry and biology of the complement system in domestic animals. *Prog Vet Microbiol Immunol*, 1986, 2 : 54-77.
13. LUNNEY JK, PESCOVITZ MD. Differentiation antigens of swine lymphoid tissues. *In* : J Miyasaka, Z Trnka. Comparative aspects of differentiation antigens, M Dekker, Inc. New York, 1988, in press.
14. METZGER J-J. Les réactions d'hypersensibilité chez le porc. *Rec Med Vet*, 1976, 152 : 169-173.
15. METZGER J-J, MILON A, BOURDIEU C. Serum protein profiles in the suckling and non suckling piglet : the importance of colostrum. *Ann Rech Vet*, 1978, 9 : 301-307.
16. METZGER J-J, HOUDAYER M. Subclasses of porcine immunoglobulins G. Production of subclass specific antisera with S-sulfonated gamma chains. *Eur J Immunol*, 1972, 2 : 127-130.
17. METZGER J-J, SALMON H, MILON A. Immunologie. *In* : P Mornet, J Tournut, B Toma. Le Porc, Maloine, Paris, 1982, 129-147.
18. MILON A, HOUDAYER M, METZGER J-J. Interactions of porcine IgG and porcine lymphocytes with Protein-A Sepharose. *Dev Comp Immunol*, 1978, 2 : 699-771.
19. MULLER U, JONGENEEL CV, NEDOPASOV SA et al. Tumor necrosis factor and lymphotoxin genes map close to H-2D in the mouse major histocompatibility complex. *Nature*, 1987, 325 : 265-267.
20. PORTER P. Intestinal defence in the young pig. A review of the secretory antibody systems and their possible role in oral immunisation. *Vet Rec*, 1973, 92 : 658-664.
21. RENARD C, KRISTENSEN B, GAUTSCHI C et al. Joint report of the first international comparison test on swine lymphocyte alloantigens (SLA). *Anim Genet*, 1988, 19 : 63-72.
22. SALMON H. Rosette-formation of pig thymic lymphocytes with sheep and pig erythrocytes. II. Markers for cortical and medullary thymocytes. *Thymus*, 1983, 5 : 105-113.
23. SALMON H. Immunité chez le fœtus et le nouveau-né : modèle porcin. *Reprod Nutr Dévelop*, 1984, 24 (2) : 197-206.
24. SALMON H. Biologie des sous-populations lymphocytaires dans l'espèce porcine. Marqueurs et sous-populations : applications à l'étude des lymphocytes de la glande mammaire de truie. Thèse de Doctorat, Fac Sciences Paris VII, 1985.
25. SALMON H, LICENSE ST, BINNS RM. Staining of pig lymphocytes with acid alpha-naphthyl acetate esterase. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987, 14 : 173-179.
26. SALMON H. The intestinal and mammary immune system in pigs. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987, 17 : 367-388.
27. SPIES T, MORTON CC, NEDOSPASOV SA et al. Genes for the tumor necrosis factors are linked to the human major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83 : 8699-8702.

28. TIZARD I. Immunity in the fetus and newborn animal. In : An introduction to Veterinary immunology, 2nd Ed., Philadelphia, Saunders, 1982, 166-167.
29. VAERMAN JP, ARBUCKLE JB, HEREMANS JF. Immunoglobulin A in the Pig. *Int Arch Allergy*, 1970, 39 : 323-333.
30. VAERMAN JP, HEREMANS JF. Immunoglobulin A in the Pig. *Int Arch Allergy*, 1970, 38 : 561-572.
31. VAIMAN M. Histocompatibility system in pigs. *Prog Vet Microbiol Immun*, 1988, 4 : 108-133.
32. VAN ZAANE D, HULST MM. Monoclonal antibodies against porcine immunoglobulin isotypes. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987, 16 : 23-26.
33. WILKINSON R, NEVILLE S. Jacalin : its binding reactivity with IgA from various mammalian species. *Vet Immunol Immunopathol*, 1988, 18 : 195-198.
34. ZIKAN J. Interactions of pig Fab $\mu$  and Fab fragments with protein A from *Staphylococcus aureus*. *Folia Microbiol*, 1980, 25 : 254-258.
35. ZIKAN J. Interactions of pig Fab fragments with Protein A from *Staphylococcus aureus*. *Folia Microbiol*, 1980, 25 : 246-253.
36. ZIDKOVA J, VETVICKA V, ROSSMANN P et al. Characterization of the third component of pig complement and its utilization in a C3b receptor study. *Experientia*, 1984, 40 : 975-977.

X. Re

SITU  
ET R

Les  
(ordre  
compt  
herbiv  
vent u  
région

La  
tants.  
dromé  
d'Afr  
bactri  
l'état  
l'état  
dans  
vicugh

le lan  
dome

Le

de c

X. Renjifo, P.-P. Pastoret

## IMMUNOLOGIE DES CAMÉLIDÉS

### SITUATION TAXONOMIQUE ET RÉPARTITION

Les membres de la famille des camélidés (ordre : Artiodactyla; sous-ordre : Tylopoda) comptent parmi les principaux grands mammifères herbivores des habitats arides. Ils apportent souvent une aide considérable aux habitants de ces régions.

La famille des camélidés comporte 6 représentants. Le dromadaire domestique (*Camelus dromedarius*), à une bosse, du Moyen-Orient et d'Afrique du Nord; le chameau (*Camelus bactrianus*), à deux bosses, qui existe encore à l'état sauvage dans les steppes de Mongolie ou à l'état domestique, ainsi que quatre autres espèces dans le Nouveau Monde : la vigogne (*Vicugna vicugna*) et le guanaco (*Lama guanicoe*) sauvages; le lama (*Lama lama*) et l'alpaga (*Lama pacos*), domestiqués.

Le statut taxonomique des différentes espèces de camélidés sud-américains reste cependant

confus. On obtient des hybrides fertiles avec toutes les combinaisons possibles de parents purs ou hybrides des quatre espèces et celles-ci possèdent le même nombre de chromosomes [74].

On estime l'effectif global des camélidés à 21,5 millions d'animaux. Quatre-vingt dix p. cent des 14 millions de camélidés de l'Ancien Monde sont des dromadaires. Une large population de dromadaires introduite par l'homme est également retournée à l'état sauvage dans la région aride de l'intérieur du continent australien.

L'immunologie des camélidés a cependant été peu étudiée.

### ORGANES DU SYSTÈME LYMPHOÏDE

Le système lymphatique du dromadaire ne diffère pas beaucoup de celui des bovins; comme chez ces derniers, les ganglions sont peu nombreux et conglomérés aux emplacements habituels (Fig. 55-1).

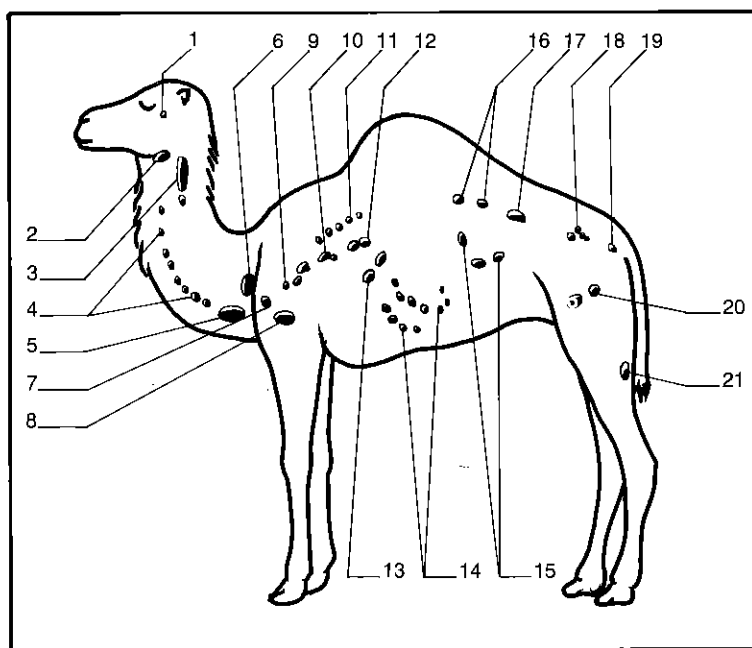


Figure 55-1 Schéma des ganglions lymphatiques du dromadaire.

1. Ganglion parotidien; 2. Ganglion mandibulaire; 3. Ganglion rétropharyngien; 4. Ganglions cervicaux profonds crâniens et moyens; 5. Ganglion cervical profond caudal; 6. Ganglion préscapulaire (cervical superficiel caudal); 7. Ganglion axillaire; 8. Ganglion pectoral; 9. Ganglions médiastinaux crâniens; 10. Ganglions médiastinaux moyens; 11. Ganglions thoraco-aortiques; 12. Ganglions médiastinaux caudaux; 13. Ganglions hépatiques; 14. Ganglions gastriques; 15. Ganglions mésentériques crâniens; 16. Ganglions lombo-aortiques; 17. Ganglions iliaques médiaux; 18. Ganglions ischiatiques; 19. Ganglion anorectal; 20. Ganglions scrotaux ou mammaires; 21. Ganglion poplité. (PP Grassé, *Traité de Zoologie*, tome XVI, Mammifères, fasc. IV, *Système nerveux, organes des sens, appareil circulatoire, sang et lymph*, Masson, Paris, 1972. Reproduit avec autorisation.)

Il y a cependant quelques différences. Ainsi, à l'entrée de la poitrine figurent deux très gros ganglions : le cervical profond et le pectoral. Le premier, qui mesure jusque 10 cm de long, est à l'extrémité inférieure de l'encolure; l'épaisseur de la peau et de la toison le rend cependant difficile à percevoir; le second fait partie du groupe des ganglions axillaires, il mesure 5 à 6 cm de long et est situé entre les deux premières côtes. Les ganglions mésentériques sont disséminés dans le mésentère et présentent donc une disposition intermédiaire entre celle observée chez le cheval, chez qui les ganglions sont disposés près de la voûte sous-lombaire et celle observée chez le bœuf chez qui les ganglions sont à proximité directe de l'intestin.

La rate est falciforme, l'extrémité postérieure étant la plus large, et relativement petite, son poids moyen étant de 300 g.

## GROUPES SANGUINS

Le dromadaire posséderait, en moyenne, un peu moins de 10 millions de globules rouges par  $\text{mm}^3$  de sang et le chameau un peu plus. Les globules blancs sont au nombre de  $10\,000/\text{mm}^3$  en moyenne.

La formule leucocytaire du dromadaire montre approximativement 38,1 p. cent de lymphocytes, 53,3 p. cent de neutrophiles, 6,3 p. cent d'éosinophiles, 1 p. cent de basophiles et 2,8 p. cent de monocytes. L'étude des groupes sanguins du dromadaire a permis d'identifier les équivalents de B, Q et Q' du système B, W du système C, ainsi que F et J décrits chez le bovin.

Les difficultés rencontrées dans la classification des camélidés du Nouveau Continent ont conduit certains chercheurs à utiliser les groupes sanguins

pour tex  
ceux du  
Aucu  
n'a été  
pour le  
l'ensem  
cheurs  
facteurs  
rencont  
et P du  
le facte  
guanacé

IMMU

Les i  
au sché  
mammè  
ques d  
des  $\gamma$ -g  
Trois c  
fiées à

Tableau  
IgG et Ig  
al, 1987

Migration  
Poids m  
total  
chaîne  
chaîne  
Absorpti  
Liaison à

Tableau  
sérum et  
Garmend

Sérum a  
Colostru  
Sérum d  
naissance  
24 heu

pour tenter de clarifier la situation et à comparer ceux du lama et du guanaco.

Aucune isoagglutinine ni aucune isohémolysine n'a été détectée. Les réactifs de référence utilisés pour le groupage chez les bovins ont été, dans l'ensemble, inutilisables. Néanmoins ces chercheurs ont pu identifier, chez le guanaco, des facteurs similaires à certains de ceux rarement rencontrés chez les bovins comme les antigènes B et P du système B, le X3 du système C. En outre le facteur NF33 a été rencontré chez tous les guanacos testés.

### IMMUNOGLOBULINES

Les immunoglobulines des camélidés répondent au schéma généralement rencontré chez tous les mammifères. L'électrophorèse des protéines sériques du dromadaire montre que le pourcentage des  $\gamma$ -globulines est aux environs de 20 p. cent. Trois classes d'immunoglobulines ont été identifiées à ce jour : IgG, IgA et IgM.

**Tableau 55-I** Propriétés physicochimiques et biologiques des IgG et IgM de l'alpaga (*Lama pacos*). D'après Garmendia et al, 1987.

Propriété	IgG	IgM
Migration électrophorétique	$\beta/\gamma$	$\beta$
Poids moléculaire :		
total	166 kd	1 000 kd
chaîne lourde	56 kd	73 kd
chaîne légère	27 kd	27 kd
Absorption par le colostrum	Oui	Oui
Liaison à la protéine A	Oui	Oui

**Tableau 55-II** Concentrations des immunoglobulines dans le sérum et le colostrum de l'alpaga (*Lama pacos*). D'après Garmendia et al, 1987.

	IgG mg/ml	IgM mg/ml
Sérum adulte (n=10)	20,5±3,4	8,1±4,9
Colostrum	162±58,4	27,5±14
Sérum des nouveau-nés		
naissance	0,3±0,1	0,5±0,1
24 heures	30,1±8,1	4,2±2,2

Chez l'alpaga deux classes d'immunoglobulines ont été identifiées : l'IgG et l'IgM (Tableau 55-I). L'IgG purifiée a un poids moléculaire et une mobilité électrophorétique similaires à ceux des IgG des autres ruminants. Deux sous-classes (IgG1, IgG2) ont été décrites.

De même l'IgM a été purifiée et présente des propriétés similaires à celles de l'IgM bovine. Les concentrations sériques ou colostrales de ces deux classes d'immunoglobulines sont données au tableau 55-II.

### TRANSMISSION DE L'IMMUNITÉ PASSIVE

La transmission de l'immunité passive chez le dromadaire semble similaire à celle observée chez les autres ruminants comme le bovin, la chèvre et le mouton. En effet, le sérum sanguin d'un chamelon nouveau-né ne comporte pas de trace décelable d'IgG avant que l'animal n'ingère du colostrum.

Les mêmes observations ont été faites chez l'alpaga chez qui l'absorption correcte du colostrum semble jouer un rôle déterminant dans la survie du nouveau-né. Comme chez le veau, la transmission est optimale dans les 12 heures qui suivent la naissance et cesse après 24 heures.

### COMPLÉMENT

Peu de renseignements sont actuellement disponibles sur le complément des camélidés.

### BIBLIOGRAPHIE

- BHATNAGAR RN, MITTAL KR, JAISWAL TN, PADMANABAN VD. Levels of complement activities in the sera of apparently healthy camels. *Indian Vet J*, 1987, 64 : 192-195.
- BITTER H. Untersuchungen zur Resistenz von Kamelen, (*Camelus dromedarius*) unter besonderer Berücksichtigung der Infektion mit *Trypanosoma evansi* (Steel, 1985). Thesis, Hannover, 1986.
- CURASSON G. Le chameau et ses maladies. Vigot Frères-Editeurs, Paris, 1947.
- DISTASIO L, CRISTOFORI F, SARTORE G. Phenotypic variations in blood and milk of the Somali camel. *Anim Blood Groups Biochem Genet*, 1983, 14 : 225-228.
- GARMENDIA AE, MCGUIRE TC. Mechanism and isotypes involved in passive immunoglobulin transfer to the newborn alpaca (*Lama pacos*). *Am J Vet Res*, 1987, 48 : 1465-1471.



- GARMENDIA AE, PALMER GH, DE MARTINI JC, MCGUIRE TC. Failure of passive immunoglobulin transfer: a major determinant of mortality in newborn alpacas (*Lama pacos*). *Am J Vet Res*, 1987, 48 : 1472-1476.
- HIGGINS A. The camel in health and disease. Baillière Tindall, London, 1986.
- HÖHNE HK, NIEPAGE H. Untersuchungen über das Blutbild des Dromedars (*Camelus dromedarius*). *Dtsch Tierärztl Wchschr*, 1985, 92 : 322-326.
- MAC DONALD DW. Les ongulés et les lapins. France Loisirs, 1986.
- MILLER WJ, HOLLANDER PJ, FRANKLIN WL. Blood typing South American Camelids. *The Journal of Heredity*, 1985, 76 : 369-371.
- PENEDO MCT, FONLER ME, BOWLING AT et al. Genetic variation in the blood of llamas, *Llama glama*, and alpacas, *Llama pacos*. *Animal Genetics*, 1988, 19 : 267-276.
- PERK K. The camel's erythrocyte. *Nature*, London, 1963, 200 : 272-273.
- RICHARD D. Le dromadaire et son élevage. Etudes et synthèses de l'IEMVT, Paris, 1985.
- TREVOR W. The Camel. Longman Editor, 1984.
- UNGAR-WARON H, ELIAS E, GLUCKMAN A, TRAININ Z. Dromedary IgG: purification, characterization and quantitation in sera of dams and newborns. *Isr J Vet Med*, 1987, 43 : 198-203.

# **IMMUNOLOGIE DES BOVINS, OVINS ET CAPRINS**

## **INTRODUCTION**

**P.-P. Pastoret**

Les ruminants autres que les camélidés ont été regroupés sous une même rubrique. Ce choix résulte d'une association qui est souvent faite entre ces trois espèces d'animaux domestiques parmi les mieux étudiées à l'heure actuelle. L'accent a davantage été mis sur les particularités du système immunitaire des bovins en raison du matériel disponible. Comme pour les autres chapitres de cette partie de l'ouvrage (immunologie comparée) les cytokines ne seront pas évoquées en tant que telles, car elles sont déjà examinées dans le chapitre 11.

## **CELLULES DU SYSTÈME IMMUNITAIRE**

**R. Hamers**

La disponibilité d'anticorps monoclonaux spécifiques de marqueurs cellulaires associée aux tests immunologiques fonctionnels ont permis de mettre en évidence les nombreuses homologies existant dans l'organisation du système immunitaire dont les caractéristiques fondamentales sont identiques chez tous les mammifères. Ainsi des antigènes similaires aux antigènes de différenciation de l'homme (CD4 et CD8) ont été reconnus chez la souris, le rat, le porc, le mouton et les bovins. Ces antigènes de différenciation, présents

sur les lymphocytes B et T ainsi que les cellules de la lignée myéloïde, ont permis une analyse fine de la morphologie des organes immunocompétents et une analyse fonctionnelle de la réponse immune.

## LIGNÉE LYMPHOÏDE

### Lymphocytes T

Les cellules de la lignée lymphoïde sont les mieux caractérisées, et le tableau 56-I reprend les antigènes de différenciation connus chez les bovins et dont la fonction présente des homologues, en particulier avec ceux de l'homme. En ce qui concerne les lymphocytes T, la nomenclature suivie utilise généralement le préfixe BoT (Bovine T) suivi du chiffre de l'antigène correspondant chez la souris ou chez l'homme. Ainsi BoT4 correspond à T4 ou CD4. Toutefois pour des raisons de commodité, nous utiliserons, même chez les bovins, la nomenclature CD.

Dans le sang périphérique, les populations de cellules portant CD4 et CD8 constituent 60 p. cent des lymphocytes chez les bovins adultes et

légèrement moins chez le veau. Les proportions (20-40 p. cent CD4, 10-32 p. cent CD8) diffèrent peu de celles rencontrées chez l'homme, le porc ou le mouton. Chez ce dernier cependant, la population totale de cellules positives ne représente que 30 à 35 p. cent des lymphocytes périphériques alors que chez le bœuf elle est de 50 à 70 p. cent. Toutes les cellules CD4 et CD8 sont également CD2 et CD3. Les cellules ne portant pas les marqueurs CD4 ou CD8 sont toutes CD2 et en majorité CD3. Ainsi le sang périphérique des bovins contient 4 populations de cellules T :

- CD2<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup> CD8<sup>-</sup>;
- CD2<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> CD4<sup>-</sup> CD8<sup>+</sup>;
- CD2<sup>+</sup> CD3<sup>+</sup> CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup>;
- CD2<sup>+</sup> CD3<sup>-</sup> CD4<sup>-</sup> CD8<sup>-</sup>.

Le thymus contient, en outre, une population majoritaire de cellules à la fois CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> (CD2<sup>+</sup> CD3<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup> CD8<sup>+</sup>).

Les proportions de ces cellules sont fortement modifiées dans les situations pathologiques et en particulier dans les maladies lymphoprolifératives. Ainsi dans la theilériose à *Theileria parva* (East Coast Fever) qui sévit en Afrique de l'Est, les lymphocytes T sont envahis par ces parasites qui initient un cycle autocrine de multiplications. La

Tableau 56-I Antigènes de différenciation des leucocytes bovins.

Leucocytes	Classes de différenciation	Anticorps monoclonaux disponibles	Types cellulaires
Cellules T	CD4	IL-A11, IL-A12	Cellules T à interactions restreintes à la classe II
	CD8	IL-A17	Cellules T à interactions restreintes à la classe I
	CD3	IL-A27, IL-A28,	Cellules T mûres
	—	BLT-1	
	CD2	IL-A26	Majorité de cellules T
	—	B26A	
	—	CH128, CH61A	
	CD5	8C11	Majorité de cellules T, certaines cellules B
	—	J6, J5	Blastes T
	—	P13	Certains Blastés T
Cellules B	IgG	IL-A2	Cellules B
	IgM	B5/4 1.4	Cellules B
	IgD	B4/27	Cellules B
	—	IL-29	Cellules « nulles »
	—	IL-A25	Macrophages alvéolaires
	—	IL-A23	Monocytes, macrophages, fibroblastes
Cellules non T-non B	—	P8	Monocytes, polynucléaires
	—	IL-A22, IL-A24	
	—		

D'après Baldwin et al., Depelchin et al., Ellis et al.

cellule  
croissan  
pondan  
tanée d  
parasite  
en rés  
dénoue

### Lymph

L'id  
de faç  
synthè  
effet,  
marque  
des ce  
est ca  
sentes  
du cor  
des ce  
cellule  
d'histe  
présen  
sur ce  
Par c  
synthè  
opérat  
monoc  
d'IgG  
d'IgD

### Lymph

Une  
marque  
souris  
absent  
phatic  
contre  
Dan  
les B  
à cel  
prolifè  
CD5  
De  
par le  
cellule  
pourr  
soit a  
vraise  
Ig<sup>+</sup> C

cellule semble synthétiser son propre facteur de croissance, l'IL-2, ainsi que le récepteur correspondant, ce qui permet une multiplication simultanée du parasite et de la cellule, évitant ainsi au parasite de chercher une nouvelle cellule-hôte. Il en résulte une leucémie à cellules T dont le dénouement est généralement fatal.

### Lymphocytes B

L'identification des cellules B ne peut se faire de façon fiable que par la mise en évidence de la synthèse d'immunoglobulines par la cellule. En effet, l'expression de beaucoup d'autres marqueurs de surface dépend de l'état d'activation des cellules. La réactivité à la lectine d'arachide est caractéristique des cellules B activées présentes dans les centres germinatifs. Le récepteur du complément est absent chez 15 à 20 p. cent des cellules B alors qu'il est exprimé par certaines cellules T ainsi que par les monocytes. L'antigène d'histocompatibilité de classe II est non seulement présent au niveau des cellules B, mais également, sur certains lymphocytes T et sur les phagocytes. Par contre la présence d'immunoglobulines de synthèse, de sécrétion ou de surface est un critère opérationnel du caractère B, et plusieurs anticorps monoclonaux permettent la mise en évidence d'IgG1, IgG2, IgM, et de façon plus hypothétique d'IgD.

### Lymphocytes B CD5<sup>+</sup>

Une catégorie mineure de cellules B porte le marqueur CD5 chez l'homme, Lyt1 chez la souris. Chez la souris, ces cellules pratiquement absentes de la circulation et des ganglions lymphatiques et peu abondantes dans la rate, sont par contre très abondantes dans la cavité péritonéale.

Dans la leucémie lymphoïde chronique à cellules B chez l'homme, et dans certains lymphomes à cellules B chez la souris, les cellules qui prolifèrent portent respectivement le marqueur CD5 et Lyt1.

De même, dans la lymphoprolifération induite par le virus de la leucose bovine (BLV), les cellules proliférantes sont du type Ig<sup>+</sup> CD5<sup>+</sup>. Il se pourrait que le gène codant pour le marqueur CD5 soit activé lors de l'infection ou, hypothèse plus vraisemblable, que le BLV ait des cellules Ig<sup>+</sup> CD5<sup>+</sup> comme cible.

### Cellules non B-non T

Comme chez tout autre mammifère, une population résiduelle de lymphocytes subsiste : les non B-non T ou « cellules nulles ». Ces cellules se caractérisent par le fait qu'elles ne portent aucun des marqueurs précédents. Chez les bovins, elles ont pu être mises en évidence par l'anticorps monoclonal IL-A-29. Chez les bovins âgés de plus de 6 mois, ces cellules représentent de 5 à 25 p. cent des lymphocytes périphériques.

Cette population de cellules s'accroît lors de la réaction CLM autologue suggérant que ces cellules jouent un rôle dans la reconnaissance du « soi ». De telles cellules, réagissant avec IL-A-29, se retrouvent également dans le thymus (2 p. cent) et ne présentent aucun autre antigène de différenciation des lymphocytes. Ceci plaide en faveur de leur origine thymique. Chez le mouton également, une population de cellules a été retrouvée qui ne portait ni l'homologue de CD4 ni celui de CD8. Dans cette espèce cependant elle porte un marqueur qui semble homologue de CD5.

### LIGNÉE PHAGOCYTAIRE

Les phagocytes mononucléés jouent un rôle important dans les voies afférentes et efférentes de la réaction immune. L'utilisation d'anticorps monoclonaux a mis en évidence, chez l'homme et chez les rongeurs, une hétérogénéité phénotypique correspondant à une diversité fonctionnelle. Cette diversité a pu être étudiée de manière approfondie par l'établissement de lignées immortalisées (hybridomes) de macrophages. Jusqu'à il y a peu de temps, les anticorps monoclonaux permettant de distinguer les cellules phagocytaires du système immunitaire bovin faisaient défaut. L'étude de ces cellules reposait essentiellement sur des identifications morphologiques, moléculaires ou fonctionnelles. Ainsi les phagocytes d'origine périphérique ou mammaire ont-ils été caractérisés par la présence de récepteurs, pour les IgG1, IgG2 et le complément, et l'importance du monocyte sanguin en tant que cellule accessoire a-t-elle été établie. Plus récemment, plusieurs anticorps monoclonaux ont toutefois permis d'identifier différentes lignées de phagocytes chez les bovins et, par réaction croisée, chez le mouton et chez la chèvre.

Ainsi, les macrophages pulmonaires se distin-

guent-ils par une réactivité accrue vis-à-vis de trois anticorps monoclonaux, IL-A-23, IL-A-25 et CHILA. Ces trois anticorps ne réagissent pas avec les polynucléaires, tant éosinophiles que neutrophiles. L'anticorps IL-A-25 en particulier ne réagit qu'avec les macrophages pulmonaires.

Pareil phénomène a également été décrit chez l'homme, le rat et le hamster dont les macrophages pulmonaires présentent, eux aussi, un antigène particulier ce qui témoigne peut-être d'une différenciation liée au micro-environnement.

Par contre l'anticorps IL-A-23 semble distinguer des stades activés ou différenciés des phagocytes, comme l'indique une grande variation des niveaux d'expression de l'antigène dans les monocytes sanguins, ce qui a pu être mis en relation avec certains états pathologiques tels que la theilériose.

La différenciation des macrophages, monocytes et polynucléaires peut être suivie au moyen des anticorps IL-A-22 et IL-A-24 qui détectent ces cellules à un stade précoce de maturation (myéloblastes) et sont ainsi un outil précieux pour l'identification des formes immatures dans la moelle osseuse. L'anticorps IL-A-24 présente un intérêt particulier, car il inhibe le phénomène de présentation antigénique par les monocytes lorsque l'antigène est de la KLH. Par contre, il est sans effet sur la prolifération lymphocytaire induite par la concanavaline A ou par des leucocytes allogéniques.

Il met aussi en évidence deux composants de poids moléculaire 75 et 110 kd correspondant à des antigènes dont les équivalents n'ont pas encore été retrouvés chez d'autres mammifères.

A l'heure actuelle, et contrairement à ce qui est observé dans d'autres espèces, aucun anticorps monoclonal ne reconnaît les marqueurs de macrophage que sont les récepteurs Fc, la fibronectine et le complément (Mac 1).

## ORGANES LYMPHOÏDES

### T. Cecci

#### ORIGINES EMBRYONNAIRES

##### Vaisseaux lymphatiques

Les vaisseaux du système lymphatique des ruminants ont une structure similaire à celle du

système cardiovasculaire et apparaissent de manière semblable chez l'embryon en cours de développement. Comme dans d'autres espèces, les canaux lymphatiques majeurs sont formés de novo à partir du mésoderme et les vaisseaux de plus petite taille apparaissent in situ ou en tant qu'excroissances des structures principales. Le système se complète par la fusion des ramifications avec les vaisseaux de très petite taille qui drainent les aires éloignées. Les canaux les plus importants assurent la connexion du système lymphatique avec la partie veineuse du système cardiovasculaire.

Au début du développement, plusieurs sacs lymphatiques embryonnaires se forment : ce sont, de la tête à la queue, la paire de sacs jugulaires cervicaux qui apparaissent comme des excroissances de la veine jugulaire interne, la citerne de Pecquet primitive, qui persiste à l'état adulte, et la paire de sacs iliaques (ou sciatiques). La citerne de Pecquet envoie en avant deux extensions crânielles, les canaux thoraciques droit et gauche, qui se connectent à la portion caudale des sacs jugulaires.

La variabilité des anastomoses entre les côtés droit et gauche du système embryonnaire est responsable des variations observées dans la localisation du canal thoracique chez les animaux adultes. L'extrémité crâniale du canal embryonnaire droit persiste quelquefois chez l'adulte sous la forme du canal lymphatique droit.

Les extensions des sacs jugulaires forment des connexions avec les lymphatiques efférents qui se forment dans la tête et dans le cou. Le canal trachéal ainsi formé conflue avec des affluents de la veine cave ou avec le canal thoracique lui-même. La citerne de Pecquet produit des extensions caudales pour se connecter avec les sacs lymphatiques iliaques qui deviennent les troncs lombaires chez l'adulte. En position plus caudale, les sacs iliaques forment des connexions avec des vaisseaux efférents formés in situ, d'une manière similaire à celle qui permet le drainage de la région occipitale.

##### Ganglions lymphatiques et hémiques

Les ganglions lymphatiques, qui se localisent sur le trajet des vaisseaux lymphatiques chez l'adulte, sont formés par le cloisonnement de sections de ces vaisseaux chez l'embryon. La circulation de la lymphe dans le ganglion adulte est afférente en périphérie et efférente au niveau du hile. Le ganglion en formation est colonisé par

des ly  
circul  
tes B  
rumin  
tendan  
du ga  
germi  
naissa

La  
retrou  
lièren  
analol  
forme  
sangu  
Les  
sont  
vaisse  
des g  
fait a  
pour

### Thy

Le  
man  
sont  
attei  
bilob  
phar  
des  
cellu  
d'or

La  
dive  
vent  
thyr  
form  
l'org  
de  
emp  
sou  
pre  
mer  
emb  
dév  
sou  
Les  
279  
che  
sac  
pér  
tem

des lymphocytes T qui migrent vers lui dans la circulation embryonnaire et par des lymphocytes B en provenance de la moelle osseuse chez les ruminants. Les lymphocytes immigrants ont tendance à s'installer dans la région périphérique du ganglion et, chez les ruminants, les centres germinatifs sont déjà formés à l'approche de la naissance.

La formation des ganglions hémiques (que l'on retrouve dans plusieurs espèces, mais tout particulièrement chez le mouton) suit un processus analogue, mais les ganglions hémiques sont formés par le cloisonnement des vaisseaux sanguins plutôt que par celui des lymphatiques. Les espaces sinusoides des ganglions hémiques sont des sinus sanguins, comme le sont les vaisseaux afférents et efférents. La colonisation des ganglions hémiques par les lymphocytes se fait au même moment et de la même manière que pour les ganglions lymphatiques.

### Thymus

Le thymus est l'organe lymphoïde primaire des mammifères; sa présence et son fonctionnement sont requis pour que l'immunocompétence atteigne sa pleine maturité. Le thymus adulte bilobé dérive de la paire des troisièmes poches pharyngées de l'embryon et diffère quelque peu des autres organes lymphoïdes du fait que les cellules de son parenchyme et de soutien sont d'origine endodermique plutôt que mésodermique.

La troisième poche pharyngée développe des diverticules dorsal et ventral. Les portions ventrales sont destinées à devenir des lobes du thymus; la lignée endodermique prolifère pour former les cellules épithélio-réticulaires de l'organe. Les thymocytes du parenchyme dérivent de cellules-souches qui migrent à ce niveau en empruntant le torrent circulatoire. Les cellules-souches proviennent du sac vitellin au cours de la première partie de la vie fœtale (approximativement 2 ½ à 3 semaines) et ultérieurement du foie embryonnaire. Pendant la plus grande partie du développement des ruminants, le foie constitue la source primaire des cellules hématopoïétiques. Les périodes moyennes de gestation sont : de 279-282 jours chez la vache; de 148-150 jours chez le mouton; de 150 jours chez la chèvre. Le sac vitellin ne persiste que pendant une très brève période, puis s'atrophie et disparaît complètement.

La position définitive du thymus caudal se situe chez l'adulte dans le médiastin crânial (partie thoracique) tandis que les parties crâiales, qui ne migrent pas, restent dans le cou (partie cervicale).

Comparé à la taille corporelle totale, le thymus est proportionnellement le plus important en période néonatale, ceci dans toutes les espèces. Il continue de croître pendant une courte période après la naissance, mais son importance relative diminue par rapport à l'organisme entier. Chez les bovins, la croissance peut se poursuivre jusqu'à l'âge de 2 mois. Chez le veau âgé d'une semaine, le thymus pèse de 100 à 200 grammes, et à l'âge de 6 semaines, de 400 à 600 grammes. Chez le mouton et la chèvre, le thymus pèse de 40 à 45 grammes à l'âge de 2 mois. Le début du processus d'involution varie et la portion thoracique peut rester très importante pendant plusieurs années.

Chez les bovins, l'involution est généralement complète à l'âge de 6 ans et, chez le mouton et la chèvre, elle est très avancée à l'âge de deux ans.

L'involution va éventuellement provoquer la disparition de la partie cervicale et de l'isthme qui connecte celle-ci à la partie thoracique; elle conduira au remplacement du tissu thymique actif par des tissus adipeux et fibreux.

### Plaques de Peyer fœtales

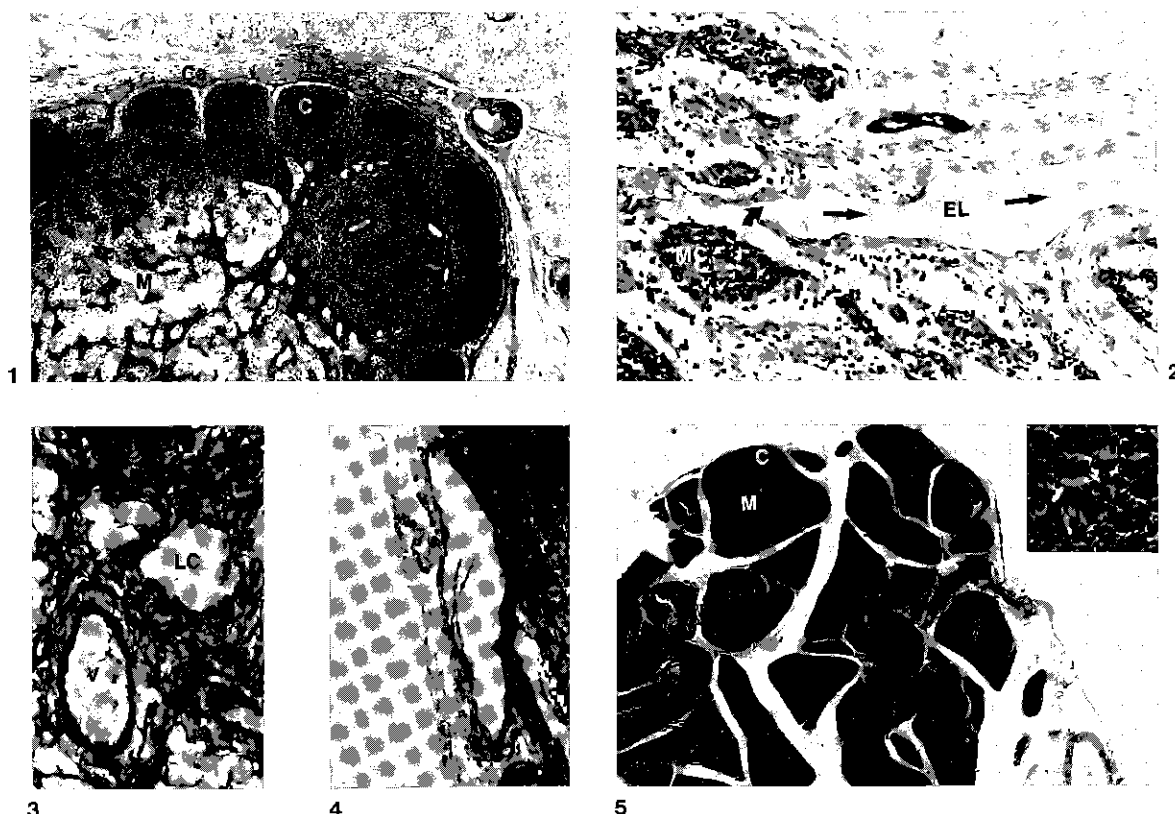
Chez les ruminants, et particulièrement le mouton, les plaques de Peyer de l'iléon se développent tôt durant la vie fœtale mais régressent peu de temps après la naissance; ces structures s'étendent sur une longueur d'un mètre et renferment environ 100 000 follicules.

### HISTOLOGIE (Fig. 56-1 à 56-9)

#### Vaisseaux lymphatiques

Les vaisseaux lymphatiques des ruminants peuvent être répartis en deux catégories : les capillaires lymphatiques, les plus petits, et les vaisseaux lymphatiques plus larges. Il y a beaucoup de similitudes entre les vaisseaux lymphatiques et ceux du système cardiovasculaire du fait de leur histogenèse commune.

Les capillaires lymphatiques ressemblent étroitement aux capillaires continus du système cardiovasculaire, mais il y a cependant des différences



**Figure 56-1** Le ganglion lymphatique est divisé en aires corticale (C) et médullaire (M). Il est entouré d'une capsule distincte (Ca) et, sous cette capsule, se trouve le sinus sous-capsulaire ou marginal (flèche) que la lymphe afférente draine en premier lieu avant de s'écouler au travers des sinus inférieurs ( $\times 11,5$ ).

**Figure 56-2** Au niveau du hile du ganglion, un vaisseau lymphatique efférent (EL) charrie la lymphe drainée après qu'elle a traversé le cortex et les sinus entre les cordons médullaires. La flèche indique la direction du flux ( $\times 55$ ).

**Figure 56-3** Les canaux lymphatiques (LC) sont similaires aux veines (V) mais la paroi du lymphatique est beaucoup plus mince ( $\times 52$ ).

**Figure 56-4** Un vaisseau lymphatique afférent pénètre dans la capsule d'un ganglion lymphatique, et montre les cuspides des valves communes aux vaisseaux de ce calibre. Les valves assurent la circulation unidirectionnelle de la lymphe ( $\times 50$ ).

**Figure 56-5** A faible agrandissement, la lobulation du thymus par le tissu conjonctif est évidente. Chaque lobule montre des aires corticale (C) et médullaire (M) distinctes ( $\times 11,5$ ).

Encart : chez les jeunes animaux, les corpuscules thymiques se trouvent dans le parenchyme médullaire. Leur fonction est obscure.

de structure significatives. Au microscope photomicroscopique, les parois des capillaires lymphatiques apparaissent extrêmement fines, et le cytoplasme des cellules de la paroi est difficile à distinguer. Les capillaires lymphatiques ont une forme plus irrégulière que celle des capillaires sanguins. Il n'y a pas de péricytes.

Des différences plus notables peuvent être observées en microscopie électronique. Les capillaires lymphatiques possèdent souvent des microvillosités projetées dans la lumière. Les bords des cellules adjacentes de la paroi se chevauchent sur une large part et il y a nettement un trou ou une fente dans la plupart des régions de cheveu-

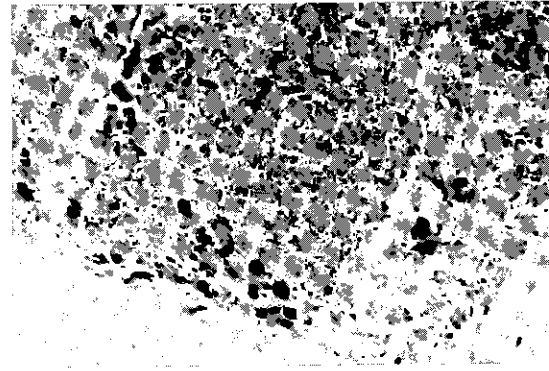
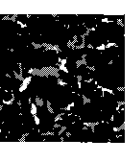
**Figure**  
tissu  
Encar

**Figure**  
foncti  
affère  
access

**Figure**  
transp  
manch  
entou  
Encar  
paren  
Encar

**Figure**  
mettr

cher  
des  
ciati  
les  
cyto  
des



**Figure 56-6** Quand l'animal vieillit, l'involution thymique survient naturellement. Ce spécimen montre la perte quasi intégrale du tissu thymique actif, celui qui subsiste se confine à des flots entourés de cellules adipeuses ( $\times 11,5$ ).  
Encart : il y a normalement peu ou aucun corpuscule thymique dans le tissu involué.

**Figure 56-7** Un ganglion hémique ressemble à un ganglion lymphatique par sa structure, mais présente des différences fonctionnelles. Les sinus du ganglion hémique sont des espaces vasculaires, non des tunnels lymphatiques, et les vaisseaux afférents et efférents sont des vaisseaux sanguins. Les ganglions hémiques sont considérés par certains comme étant des rates accessoires ( $\times 13$ ).

**Figure 56-8** La rate possède une capsule distincte (Ca) qui envoie des septums ou trabécules (T) dans la profondeur de l'organe, transportant les vaisseaux sanguins dans le parenchyme. Lorsque les vaisseaux sanguins quittent le septum, ils s'entourent des manchons lymphocytaires périartériolaires et sont alors connus sous le nom d'artères centrales (flèche); l'aire la plus sombre qui entoure chaque artère centrale est constituée par le manchon lymphocytaire périartériolaire ( $\times 13$ ).  
Encart gauche : les capillaires gainés spécialisés constituent les régions de transit des cellules entre le système circulatoire et le parenchyme splénique.  
Encart droit : dans la rate, les cordons spléniques (C) sont adjacents aux sinus vasculaires (S).

**Figure 56-9** Une des fonctions de la rate est la destruction des érythrocytes âgés. Une coloration spécifique du fer permet de mettre en évidence la localisation des macrophages spléniques chargés de cette fonction ( $\times 13$ ).

chement. Les plis adjacents sont maintenus par des régions d'apposition plus étroites, mais l'association est considérablement plus lâche que dans les capillaires sanguins. Des vésicules de pinocytose peuvent être observées dans le cytoplasme des cellules de la paroi. La membrane basale est

absente par endroits et discontinue ailleurs. Des filaments d'ancrage lymphatiques, de 50 à 80 Å de diamètre, ont été décrits en association avec la surface externe des capillaires lymphatiques. On pense qu'ils maintiennent l'ouverture du vaisseau.  
Les vaisseaux lymphatiques de plus grande



taille, c'est-à-dire ceux qui présentent un diamètre supérieur à environ 0,2 mm, possèdent des couches comparables aux tuniques des veines, mais beaucoup moins distinctes. La tunique interne est constituée de l'endothélium de revêtement, en continuité avec les cellules de la paroi des capillaires lymphatiques. Il y a une tunique médiane peu abondante faite de muscle lisse, et une tunique adventice formée d'une trame de fibres élastiques et collagènes, difficiles à séparer des tissus connectifs environnants. Les vaisseaux lymphatiques plus larges possèdent des valvules, composées d'une paire de battants de la tunique interne, disposés de manière à n'autoriser la circulation qu'en direction de la jonction entre la circulation lymphatique et la circulation veineuse. Les valvules sont plus proches l'une de l'autre que dans les veines. La circulation de la lymphe au travers des vaisseaux plus importants est assurée par les contractions de la musculature adjacente et les mouvements des viscères.

Les vaisseaux lymphatiques les plus larges, les canaux thoracique et lymphatique droit, possèdent une tunique médiane avec plus de musculature lisse que n'en possèdent les grandes veines, et il y a des fibres élastiques disposées parmi les cellules musculaires. La tunique adventice est composée de l'intrication de fibres collagènes et élastiques, renforcées par des muscles lisses.

### GANGLIONS LYMPHATIQUES ET HÉMIQUES

Le ganglion lymphatique est le mieux organisé des organes lymphoïdes : ces ganglions sont regroupés en série le long du trajet des vaisseaux lymphatiques (voir figures 21 et 22 du chapitre 5). Leur organisation structurelle consiste en une capsule discrète et un stroma qui supporte un parenchyme cellulaire. Le cortex est densément peuplé de cellules, et présente habituellement des centres germinatifs. Dans la médullaire, le parenchyme prend l'allure de cordons de cellules anastomosées, séparées par des sinus lymphatiques. Les sinus sont en communication avec les larges espaces en dessous de la capsule, et avec les vaisseaux efférents du hile. Les septa s'étendent à l'intérieur du ganglion au départ de la capsule et constituent les voies d'acheminement des vaisseaux sanguins et des nerfs vers le parenchyme. Juste en dessous de la face interne

de la capsule existe un vaste espace sous-capsulaire dans lequel les vaisseaux lymphatiques afférents se déversent; la circulation de la lymphe s'écoule éventuellement au travers du cortex et à l'intérieur des sinus de la médullaire. Le drainage du ganglion se fait par coalescence des sinus, qui forment un vaisseau lymphatique efférent au niveau du hile.

Le parenchyme du ganglion lymphatique est localisé entre les cloisons et remplit l'espace de son volume. Il est maintenu par un treillis tridimensionnel complexe de fibres réticulées et des cellules qui le produisent, les réticulocytes.

La plupart des cellules du parenchyme, tout particulièrement dans le cortex, sont des lymphocytes. La région corticale est fréquemment organisée sous forme de centres germinatifs et de tissu lymphoïde diffus et, chez les bovins, le développement des centres germinatifs et le degré de cloisonnement sont souvent suffisamment importants pour les rendre visibles sous forme de bosselures correspondant à la localisation des centres. Le cortex profond contient moins de cellules que la partie externe, mais plus de fibres réticulées. Les centres germinatifs sont moins fréquemment rencontrés dans le cortex profond.

La médullaire est constituée de cordons de cellules qui s'anastomosent librement et qui se terminent de manière aveugle au niveau du hile ou se replient sur eux-mêmes pour rejoindre d'autres cordons. Les cordons sont entourés de cellules, principalement des lymphocytes T et quelques plasmocytes, avec de nombreuses fibres réticulées.

Les vaisseaux sanguins pénètrent dans le ganglion au travers du hile et parcourent les septa vers les régions profondes. Ils procurent le sang aux cordons médullaires et au cortex, à l'aide de plexus capillaires dans les deux cas. Les centres germinatifs sont enveloppés par de tels plexus dans le cortex.

Sur la circulation de retour, on observe dans le cortex, des régions particulières des veinules post-capillaires : elles sont dépourvues de tunique musculaire, possèdent des cellules de l'endothélium de revêtement spécialisées, et constituent le site d'entrée dans le ganglion des petits lymphocytes charriés par le sang. Les lymphocytes sont capables de s'insinuer entre les cellules endothéliales de cette région et d'entrer dans le parenchyme.

Après la région des veinules post-capillaires, les veinules entrent dans le cordon médullaire et retrouvent un revêtement normal; la coalescence

des p  
l'endro

Les  
présen  
plus fr  
capsul  
artério

A l  
des pl  
laires  
cialisé  
hile.  
afféren  
lymph  
sont le  
sanguin  
varient  
d'un p  
étant d

THYA

Le t  
tionne  
tissu c  
en dé  
s'inter  
paren  
en un  
leurs d

Le t  
cipaux  
phocyt  
cellule  
étoilée  
reste d  
pas étr  
organ  
nature.

La r  
par de  
ment  
organ  
macro  
sont b  
types  
nombr  
médull

La  
que le  
structu

des petites veinules forme le flux de sortie à l'endroit du hile.

Les ganglions hémiques sont caractérisés par la présence de nombreux érythrocytes et sont les plus fréquents chez le mouton. Ils possèdent une capsule et sont desservis au niveau du hile par des artérioles afférentes.

A l'intérieur du ganglion hémique, on trouve des plexus capillaires et des veinules post-capillaires particulières munies d'un endothélium spécialisé. Une veine quitte le ganglion au niveau du hile. Il n'y a pas de vaisseaux lymphatiques afférents ou efférents, comme dans les ganglions lymphatiques typiques. Les ganglions hémiques sont localisés le long des principaux vaisseaux sanguins dans la partie crâniale du corps. Ils varient en taille, d'à peine perceptibles à la taille d'un pois, et sont considérés par certains comme étant des rates accessoires.

### THYMUS

Le thymus, alors lorsqu'il est pleinement fonctionnel, est recouvert par une mince capsule de tissu conjonctif, et est lobulé par des septums qui en dérivent. Les différents lobes et lobules s'interconnectent par l'intermédiaire de ponts de parenchyme. Les lobules sont clairement divisés en un cortex et une médullaire reconnaissables à leurs densités cellulaires respectives.

Le thymus possède trois types cellulaires principaux : les thymocytes, c'est-à-dire les lymphocytes du thymus, quelques macrophages et les cellules spécialisées épithélio-réticulaires, cellules étoilées qui procurent une trame supportant le reste du parenchyme. Ces cellules ne devraient pas être confondues avec les réticulocytes d'autres organes lymphoïdes, qui sont d'une tout autre nature.

La majeure partie du parenchyme est constituée par des lymphocytes T qui sont morphologiquement identiques à ceux trouvés dans les autres organes lymphoïdes, et dans le sang. Des macrophages sont également présents, même s'ils sont beaucoup moins nombreux que les autres types cellulaires. On les trouve en plus grand nombre à la frontière entre le cortex et la médullaire.

La médullaire thymique est moins cellularisée que le cortex et ses cellules réticulées sont d'une structure plus variable. Il y a moins de lym-

phocytes et seulement quelques rares macrophages.

Les vaisseaux sanguins pénètrent dans le thymus au travers de la capsule, et poursuivent leur chemin le long des septums jusqu'à la limite corticomédullaire, au niveau de laquelle ils entrent dans le parenchyme. Les artérioles qui pénètrent à cet endroit envoient au cortex des capillaires qui se ramifient à la périphérie puis se replient. A la jonction corticomédullaire, on trouve les veinules post-capillaires, qui entrent dans les septums et drainent le lobule. La médullaire possède son propre système d'artérioles, de capillaires et de veines. Les veinules post-capillaires à la jonction corticomédullaire sont revêtues d'un endothélium normal et non pas de type cuboïdal comme on le rencontre dans d'autres organes lymphoïdes. Ces capillaires représentent néanmoins des sites spécialisés pour le transit des lymphocytes. Dans le thymus, la direction du transit va de l'organe vers la circulation.

Au cours du vieillissement normal, le thymus subit une involution, au cours de laquelle le volume total de tissu actif se réduit. Il est en majeure partie remplacé par des tissus conjonctif et adipeux, mais du tissu noble reste fonctionnel la vie durant. Une grande variété de stimuli peuvent provoquer une involution accidentelle et, dans ce cas, l'organe est capable de se régénérer si l'on supprime le stimulus déclenchant.

### RATE

Sensu stricto, la rate fait partie du système circulatoire, mais est généralement classée parmi les organes lymphoïdes du fait de l'importance de la population lymphocytaire qu'elle abrite. On décrit une pulpe rouge (principalement constituée d'érythrocytes et de macrophages) qui représente l'essentiel de son parenchyme et une aire isolée de pulpe blanche qui est constituée de lymphocytes disséminés. La circulation sanguine pénètre et quitte la rate au travers de la capsule et des septa.

Lorsqu'une artériole quitte un septum et pénètre dans le parenchyme de l'organe, elle acquiert immédiatement un manchon continu de lymphocytes, appelé manchon lymphocytaire périartériolaire.

Au sein de la pulpe blanche, une trame lâche de fibres réticulées et des réticulocytes sont parsemés de lymphocytes. La structure est fort semblable à celle du cortex des ganglions lymphatiques. Le

manchon lymphocytaire périartériolaire s'étend le long des artères nourricières, presque jusqu'à ce qu'elles se ramifient en capillaires. Chez les animaux qui possèdent un volume sanguin important comme celui des bovins, la pulpe blanche est peu abondante. Chez les bovins et le mouton, un réseau nerveux dessert les fibres musculaires lisses de la capsule, des septums et de certaines des artères.

## CIRCULATIONS LYMPHATIQUE ET LYMPHOCYTAIRE

G. Teare, J.B. Hay

### CIRCULATION LYMPHATIQUE

Aux premiers stades d'une infection microbienne, les bactéries gagnent le ganglion lymphatique régional par ses vaisseaux afférents. Elles flottent librement dans la lymphe afférente ou se retrouvent à l'intérieur de monocytes ou de macrophages qui circulent dans cette lymphe.

Le volume de lymphe qui transite chaque heure par un ganglion correspond plus ou moins à 3 fois le volume de celui-ci. Le ganglion lymphatique constitue une barrière à la dissémination ultérieure des microbes; on a ainsi montré chez le mouton que les bactéries sont éliminées au moins à 99 p. cent par le ganglion lymphatique alors que les antigènes protéiques solubles qui circulent dans un vaisseau lymphatique afférent traversent presque intégralement le ganglion et se retrouvent en quantité quasi identique dans la lymphe efférente. Ceci montre également que les protéines solubles situées dans l'espace lymphatique du ganglion n'ont pas d'autres accès à la circulation sanguine que par l'intermédiaire du système lymphatique intact.

Chez les animaux immunisés, la clairance des microbes ou des protéines solubles est meilleure, principalement du fait des interactions entre anticorps spécifiques et antigènes. Parfois, l'antigène n'attend pas les tissus lymphoïdes mais ce sont les cellules circulantes du système immunitaire qui envahissent le site de pénétration de l'antigène ou du microbe.

### CIRCULATION LYMPHOCYTAIRE

La circulation des lymphocytes, du sang à la lymphe et de la lymphe au sang, est un processus physiologique déjà actif pendant la vie fœtale. Il a été directement mesuré chez le fœtus d'agneau par drainage des vaisseaux lymphatiques et sanguins.

En période post-natale, chez l'agneau ou le mouton adulte, lorsque des lymphocytes sont récoltés de la lymphe efférente, marqués et injectés dans la circulation sanguine, ils disparaissent du sang avec une demi-vie de 3 à 4 heures. Ils se distribuent dans divers tissus, mais si l'on draine de manière continue la lymphe afférente d'un ganglion lymphatique particulier, les cellules marquées apparaissent dans les quelques heures qui suivent l'injection intraveineuse pour atteindre une concentration maximale après 20 heures (voir Fig. 56-10).

D'autres études ont montré que le temps pris par les lymphocytes pour effectuer le trajet du sang au travers de la couche endothéliale jusqu'à un ganglion lymphatique n'est que d'environ 10 minutes. Dès lors les lymphocytes passent une grande partie de leur temps à se redistribuer dans divers compartiments, pour une bonne part dans la rate, le poumon et le foie avant de pénétrer dans un ganglion et dans la lymphe. Cette recirculation

CONCENTRATION DES LYMPHOCYTES MARQUÉS DANS LA LYMPHE

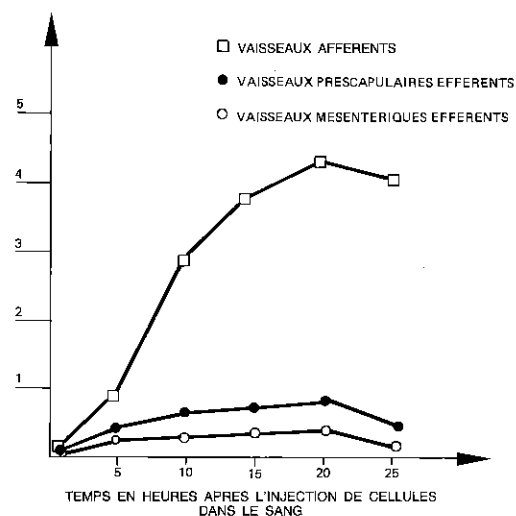


Figure 56-10 Temps pris par les lymphocytes pour effectuer leurs trajets.

des lymphocytes est un phénomène très régulé. La proportion de cellules B est beaucoup moins importante dans la lymphe afférente que dans la lymphe efférente. Des monocytes et des macrophages se retrouvent aussi dans la lymphe afférente mais pas dans la lymphe efférente.

Morris et al. ont montré que la plupart (90 p. cent) des lymphocytes présents dans la lymphe efférente proviennent du sang qui irrigue le ganglion. La concentration en IgA est plus importante dans la lymphe intestinale que dans le sang, et la majeure partie de l'IgA sanguine provient de la lymphe intestinale.

## ONTOGENÈSE DU SYSTÈME IMMUNITAIRE

O. Barta, V.-D. Barta

### DÉVELOPPEMENT IMMUNITAIRE CHEZ LE FŒTUS

Le développement, chez le fœtus, des différents tissus lymphoïdes et des lymphocytes spécifiques est représenté dans les figures 56-11 et 56-12 et les tableaux 56-II et 56-III; ces données ne sont

fournies qu'à titre indicatif parce qu'elles peuvent varier selon la méthode de détection employée et entre différents fœtus.

En règle générale, dès la fin du premier quart de la vie fœtale, les lymphocytes peuvent être décelés dans la circulation, des lymphocytes portant des monomères d'IgM (vraisemblablement des cellules B) sont présents dans les tissus lymphoïdes et le thymus peut être identifié. Vers la fin de la première moitié de la vie fœtale, la moelle osseuse et les organes lymphoïdes secondaires sont présents et le fœtus est capable de répondre à la stimulation par divers antigènes. De faibles taux d'IgM sont décelables dans les sérums de fœtus pendant la seconde moitié de la vie fœtale, mais la présence d'IgG est exceptionnelle. On considère que l'élévation du taux des IgM, associée à la présence d'IgG, dans le sérum fœtal des ruminants témoigne d'infections intra-utérines; cela peut très rarement résulter de dommages infligés à la barrière placentaire.

Les infections intra-utérines chez les ruminants sont habituellement d'origine virale. Si elles surviennent au début de la vie fœtale, elles provoquent le plus souvent de sérieuses anomalies de développement, ou sont fatales, ou encore induisent une immunotolérance. Si elles surviennent plus tardivement leur sévérité diminue et le fœtus peut y faire face dans une certaine mesure par une réponse immune. Parmi celles-ci on peut citer l'infection par le réovirus de la blue-tongue

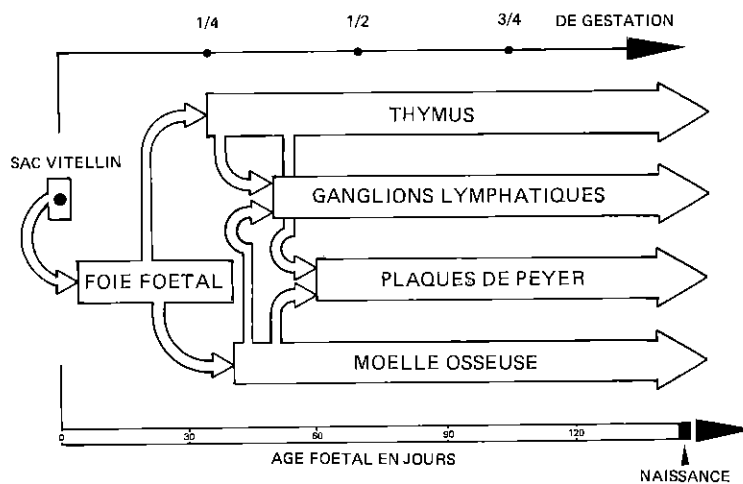


Figure 56-11 Développement des tissus lymphoïdes du fœtus ovin.

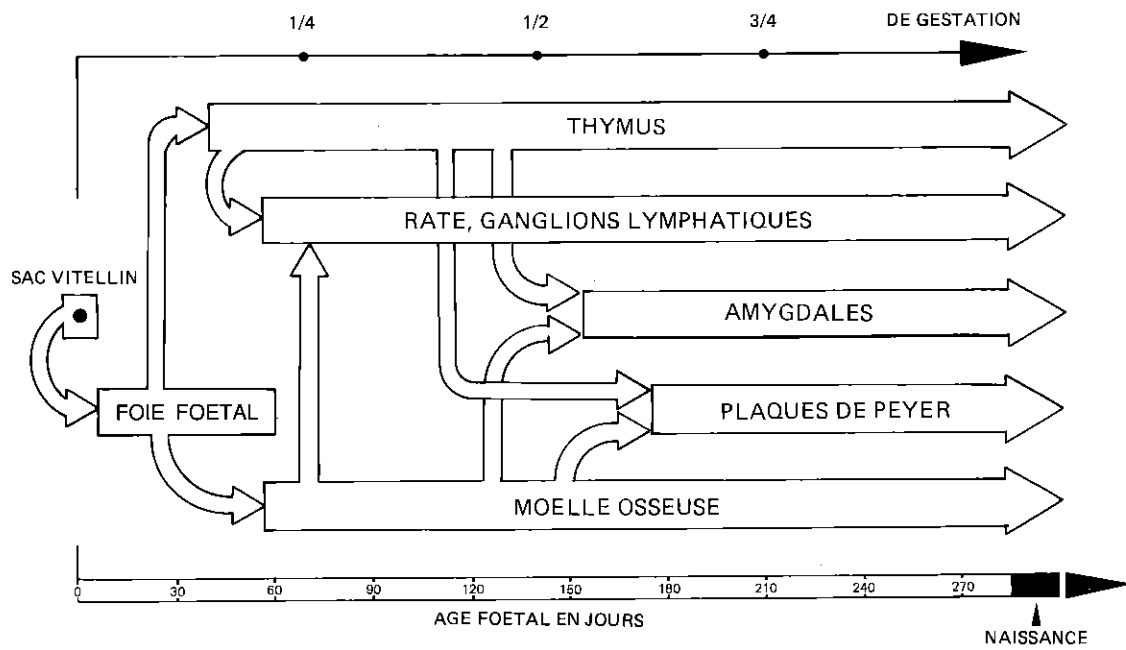


Figure 56-12 Développement des tissus lymphoïdes du fœtus bovin.

Tableau 56-II Cellules et réponse humorale aux antigènes chez le fœtus ovin.

Age foetal (jours)	Cellules	Réponse en anticorps à des antigènes injectés
33	Lymphocytes sanguins	
38	Cellules qui répondent à la PHA	
40	Cellules T	
60	Cellules Igs <sup>+</sup> (B)	Bactériophage ΦX174
77		Rejet de greffon cutané
90		Virus SV40
105		Phage T4
120	Cellules récepteurs C <sub>3</sub> <sup>+</sup>	Virus de la blue tongue Ovalbumine
140	Cellules récepteurs Fc <sup>+</sup>	Virus de la chorionméningite lymphocytaire

Tableau 56-III Cellules et réponse humorale aux antigènes chez le fœtus bovin.

Age foetal (jours)	Cellules	Immunoglobulines sériques ou réponse en anticorps à des antigènes injectés
32	Lymphocytes sanguins	
59	Cellules IgM <sup>+</sup>	
62		IgM dans le sérum
74		Rotavirus
80	Cellules qui répondent à la PHA et au PWM	
92		Parvovirus Production d'interféron α ou β
110	Polynucléaires	
122	Cellules IgG <sup>+</sup>	
135		IgG dans le sérum

IMMU  
du mo  
rhinot  
malad  
  
DÉV  
DES  
PEU  
  
Le  
ment  
plus  
prima  
tion d  
des a  
les an  
bacté  
tube  
l'épiti  
l'oppo  
rumin  
tions  
auxqu  
  
Un  
férés  
direct  
pinoc  
lymph  
L'im  
proté  
tions  
seron  
globu  
toire  
des a  
palen  
class  
immu  
36 he  
maxi  
trale  
suive  
optim  
proch  
adult  
de sé  
colos  
défa  
essen  
nistr

du mouton, les infections par le virus herpès de la rhinotrachéite infectieuse et le pestivirus de la maladie des muqueuses chez les bovins.

### DÉVELOPPEMENT DES COMPÉTENCES IMMUNES PEU APRÈS LA NAISSANCE

Le ruminant nouveau-né est immunologiquement compétent mais, contrairement aux animaux plus âgés, l'expérience d'une réponse immune primaire lui fait habituellement défaut. L'ingestion de colostrum protège le ruminant nouveau-né des agents infectieux du tractus gastro-intestinal; les anticorps colostraux se lient à la surface des bactéries et des virus présents dans la lumière du tube digestif, prévenant ainsi leur adhésion à l'épithélium intestinal, l'inflammation et le développement de la diarrhée. Le colostrum des ruminants contient en effet de fortes concentrations d'anticorps dirigés contre les antigènes auxquels la mère a été exposée.

Une partie des anticorps colostraux sont transférés durant les premières heures de la vie directement au travers des cellules épithéliales par pinocytose et libération ultérieure dans les vaisseaux lymphatiques puis dans la circulation sanguine. L'immunité générale qu'ils confèrent permet de protéger le jeune ruminant contre certaines infections systémiques. Les anticorps de classe IgA seront en partie réexcrétés sous forme d'immunoglobulines de sécrétion dans les tractus respiratoire et digestif. Chez les ruminants, la majorité des anticorps colostraux est de classe IgG (principalement IgG1) et, dans une moindre mesure, de classe IgM ou IgA. L'absorption systémique des immunoglobulines colostrales dure de 6 à 36 heures. Dans le sérum du nouveau-né, les taux maximaux d'immunoglobulines d'origine colostrale sont obtenus dans les 12 à 24 heures qui suivent la naissance et, dans les conditions optimales d'absorption, atteignent des valeurs proches de celles observées chez les animaux adultes. Si le taux d'IgG n'atteint pas les 4 mg/ml de sérum à la 24<sup>e</sup> heure, le transfert des anticorps colostraux a été défectueux. Les raisons de ce défaut de transfert sont variables mais tiennent essentiellement à une mauvaise technique d'administration, si le colostrum est donné artificiel-

lement. Les principales raisons d'un défaut de transfert sont les suivantes :

- l'administration tardive du colostrum lors d'une alimentation artificielle;
- l'administration d'une trop faible quantité de colostrum;
- l'administration de colostrum ou de lait contenant peu d'anticorps;
- le défaut d'absorption des anticorps par le nouveau-né (certains nouveau-nés cessent d'absorber les immunoglobulines du colostrum dans les 6 heures qui suivent la naissance).

Le nombre de lymphocytes dans le colostrum est important mais leur rôle éventuel dans un transfert d'immunité est discutable.

Les anticorps colostraux absorbés exercent un effet négatif sur le développement de l'immunité active du nouveau-né; l'IgG, immunoglobuline dominante dans le colostrum, inhibe la synthèse d'immunoglobulines à la fois par une action directe sur les cellules B et par neutralisation éventuelle des antigènes.

Les veaux privés de colostrum présentent, dès la naissance, une augmentation de leur teneur en IgG sérique par immunisation active, alors que cette synthèse est retardée de 2 à 4 semaines chez les nouveau-nés qui ont reçu une alimentation normale en colostrum. L'IgM, par contre, stimulerait la production ultérieure d'immunoglobulines.

Le taux d'immunoglobulines d'origine colostrale dans le sérum du nouveau-né décroît graduellement, après avoir atteint son maximum au deuxième jour, pour atteindre son minimum après 6 semaines selon l'apport initial. Après une courte période pendant laquelle l'animal possède des taux minimaux d'immunoglobulines (hypogammaglobulinémie passagère) on constate une augmentation régulière et progressive pour atteindre un nouveau pic au moment de la maturité sexuelle et chez les jeunes adultes. Les anticorps de différentes spécificités peuvent atteindre un taux maximal ou minimal à des moments différents chez le même nouveau-né.

Les nouveau-nés possèdent, dans leur sérum, moins de complément que les adultes (voir page 600), mais présentent par contre des taux plus élevés de corticostéroïdes (effet anti-inflammatoire et immunodépresseur), et de facteurs humoraux qui inhibent les fonctions lymphocytaires. En outre, les macrophages sont moins actifs chez le nouveau-né que chez l'adulte. Tous ces facteurs

s'additionnent pour rendre le nouveau-né provisoirement moins immunocompétent que l'adulte.

Au moment de la parturition, la mère traverse aussi une période d'immunodépression transitoire qui se caractérise par des taux plasmatiques plus élevés de corticostéroïdes, une diminution du taux de conglutinine et une réponse amoindrie des lymphocytes aux phytomitogènes *in vitro*. Ceci peut se traduire, chez l'animal, par la suppression passagère de l'intradermoréaction à la tuberculine. Le syndrome d'immunodéficience combinée sévère n'a pas été décrit chez les ruminants (voir chapitre 37), mais on ne peut l'exclure chez de jeunes animaux mourant d'infections après la disparition de leur immunité transmise (de 3 à 8 semaines). En effet comme ces animaux meurent d'infections, c'est généralement à elles qu'est attribuée la cause primaire de la mort.

L'isoérythrolyse néonatale ou maladie hémolytique des nouveau-nés se présente rarement chez les ruminants, mais elle a été décrite chez les bovins après vaccination des mères à l'aide de préparations sanguines du vaccin contre l'anaplasmose (voir chapitre 30). Cette maladie hémolytique peut être prévenue en administrant au veau du colostrum provenant d'une mère non vaccinée ou dont on sait avec certitude qu'elle ne possède pas d'anticorps antiérythrocytaires.

Des anticorps dirigés contre des antigènes du CMH peuvent être retrouvés dans le sang et le colostrum des ruminants, mais ils n'entraînent pas de problèmes cliniques chez le nouveau-né, ni lors de la fécondation et de la gestation.

Le mosaïcisme érythrocytaire ou chimérisme érythrocytaire désigne la présence inhabituelle de deux populations de globules rouges antigéniquement distinctes chez le même animal. Cette entité est décrite dans le chapitre 12.

### IMMUNITÉ TRANSMISE ET VACCINATION

L'immunité d'origine colostrale contrarie la vaccination. Dès lors, la plupart des vaccins doivent être administrés après disparition de l'immunité colostrale, ou à deux reprises, pour obtenir une protection suffisante.

## IMMUNOGLOBULINES ET TRANSMISSION DE L'IMMUNITÉ PASSIVE CHEZ LES RUMINANTS

D. Levieux

### IMMUNOGLOBULINES

Trois classes principales d'immunoglobulines ont été caractérisées chez les ruminants, IgG, IgA et IgM; par ailleurs, divers auteurs ont décrit l'existence d'anticorps homocytotropes ayant des spécificités antigéniques et des propriétés physico-chimiques permettant de les assimiler aux IgE des autres espèces. Une grande originalité caractérise cependant les immunoglobulines des ruminants : l'existence de deux sous-classes d'IgG, IgG1 et IgG2, ayant des propriétés physicochimiques et biologiques extrêmement différentes. Le transfert sélectif d'une seule des deux sous-classes d'IgG, l'IgG1, en grande quantité dans la mamelle mais également dans d'autres sécrétions exocrines, est un phénomène qui n'existe pas dans les autres espèces. Ces caractéristiques particulières ont conduit Heremans à proposer le terme « d'infra-classes » pour les IgG1 et IgG2, et d'utiliser l'appellation « sous-classes » pour les deux variétés d'IgG2 (IgG2a et IgG2b) des bovins dont l'existence, qui était postulée [9] a été établie [1] sur la base de critères sérologiques. Les IgG2a représentent l'ancienne sous-classe IgG2, et les IgG2b ne constituent qu'une population mineure éluee, en chromatographie d'échange d'ions, avec les IgG1.

Les principales propriétés physicochimiques des immunoglobulines bovines et leur concentration dans le sérum et les sécrétions sont résumées dans les tableaux 56-IV, 56-V et 56-VI. Pour les ovins et les caprins, les valeurs publiées sont du même ordre de grandeur.

Dans le sérum, les taux d'IgG sont répartis de façon à peu près égale entre IgG1 et IgG2 et sont très élevés chez les ruminants, puisqu'ils représentent environ 30 p. cent des protéines totales. Les variations individuelles sont considérables : elles dépendent de facteurs génétiques (certaines races bovines, comme la rouge du Danemark, ont des taux d'IgG2 très faibles), physiologiques (diminution des taux d'IgG1 de l'ordre de 60

Tableau 5  
concentrati  
les sécréti  
calculées à  
littérature.

Propriétés  
Mobilité é  
rétique  
Hydrates  
(p. cent  
Poids mol  
(kd)  
Demi-vie

Concentra  
Sérum  
Colostrum  
Lait  
Salive  
Larmes  
Sécrétions  
Lavage b  
laire

(1) CS : c

Tableau  
acquises

IgG

14.

D'après  
nology.  
Company

Tableau  
colostrum

Colostrum  
Lait

p. cent  
suivent  
d'IgM  
enzoo  
faibles  
dans  
Dar  
atteign

**Tableau 56-IV** Principales propriétés physicochimiques et concentration des immunoglobulines bovines dans le sérum et les sécrétions. Les valeurs indiquées sont les moyennes calculées à partir des références les plus pertinentes de la littérature.

	IgG1	IgG2	IgA	IgM	CS <sup>(1)</sup>
<i>Propriétés physicochimiques</i>					
Mobilité électrophorétique	β2	γ	β2	β2	β2
Hydrates de carbone (p. cent)	3	3	8	11	6
Poids moléculaire (kd)	162	152	400	1 030	75
Demi-vie (jours)	13	20	3	5	
<i>Concentrations (mg/ml)</i>					
Sérum	12	9	0,3	3,5	
Colostrum	60	3	4	5	0,5
Lait	0,6	0,05	0,1	0,05	0,05
Salive	0,03	0,01	0,4	0,01	
Larmes	0,4	0,08	3	0,1	
Sécrétions nasales	0,5	0,05	2,5	0,04	
Lavage bronchoalvéolaire	0,15	0,25	0,25	0,03	

<sup>(1)</sup> CS : composant sécrétoire.

**Tableau 56-V** Demi-vie (en jours) des immunoglobulines acquises passivement, dans le plasma sanguin, chez le mouton.

IgG1	IgG2	IgA	IgM
14,5	10,6	4,1	1,8

D'après Ian Tizard : An Introduction to Veterinary Immunology. 3rd Edition, 1987, Philadelphia, W.B. Saunders Company.

**Tableau 56-VI** Concentrations des immunoglobulines du colostrum et du lait chez le mouton en mg/ml.

	IgG	IgA	IgM
Colostrum	40-60	1-7	4-12
Lait	0,6-1	0,05-0,12	0-0,07

p. cent dans les semaines qui précèdent et qui suivent la mise bas), ou pathologiques (taux d'IgM multipliés par 9 dans la trypanosomiase enzootique). Les taux d'IgA sont 2 à 4 fois plus faibles et ceux d'IgM, 10 fois plus élevés que dans les autres espèces.

Dans les sécrétions colostrales les IgG1 atteignent, en moyenne, des concentrations de

l'ordre de 60 à 80 mg/ml et représentent environ 80 p. cent des immunoglobulines. Ce rapport persiste dans le lait, bien que les taux d'IgG1 y soient 100 fois plus faibles. Dans plusieurs autres sécrétions les IgG1 sont également majoritaires, du fait d'un transport actif : sécrétions cervicales, utérines, bronchiques, intestinales. Les IgA prédominent seulement dans les sécrétions vaginales, pulmonaires, salivaires, nasales et lacrymales.

Contrairement à ce que l'on observe dans les autres espèces de mammifères, la production IgA semble donc relativement réduite dans les sécrétions des ruminants, et le rôle particulier des IgG1 dans la protection des muqueuses doit être souligné.

Par rapport aux autres espèces, les IgG des ruminants fixent peu la protéine A du staphylocoque et les différences entre IgG1 et IgG2 sont importantes : 26 p. cent de fixation pour les IgG1 bovines, 53 p. cent pour les IgG2. Chez les ovins le phénomène est encore plus marqué : 2 p. cent de fixation pour les IgG1 et 33 p. cent pour les IgG2 [5]. Chez les caprins, ces différences de fixation ont été utilisées pour la purification des IgG1 et IgG2 [4]. La résistance aux clivages enzymatiques distingue également les IgG1 des IgG2 : après 30 heures d'incubation en présence de pepsine, les IgG1 sont totalement dégradées alors que la plupart des IgG2 sont encore intactes.

Les différences d'activité des IgG1 et IgG2 dans les tests sérologiques sont un autre exemple des particularités propres à ces deux sous-classes d'IgG chez les ruminants. Si l'on prend l'exemple de la sérologie de la brucellose, les IgG2 sont très actives dans la séroagglutination en tube (Wright), inactives dans le test au rose Bengale (agglutination sur lame à pH 3,6) et dans la fixation du complément (complément de cobaye). Les IgG1 n'agglutinent pas les Brucella dans la technique en tube, agglutinent très bien à pH acide et fixent le complément de cobaye [2, 10]. Ces phénomènes rendent compte des discordances observées lorsque les différents tests sont appliqués sur certains sérums dont l'activité anticorps relève essentiellement d'une des deux sous-classes.

Dernier exemple des caractéristiques qui différencient les IgG1 et IgG2, la cytophilie pour les polynucléaires : ce sont essentiellement les IgG2 qui ont cette propriété, et leur efficacité dans la cytotoxicité anticorps-dépendante est 100 fois plus élevée que celle des IgG1 [12, 15].

Les IgA se présentent essentiellement sous la forme 11S (PM 300 à 400 000) dans le sérum, et elles sont associées au composant sécrétoire dans



toutes les sécrétions [13]. Le composant sécrétoire est particulièrement abondant sous sa forme libre (PM 74 000) dans le lait de vache; de ce fait, sous le nom de « glycoprotéine-a », il a été le premier composant sécrétoire purifié [6]. D'après les travaux de Beale (1987), il serait constitué d'une seule chaîne polypeptidique glycosylée, repliée en cinq domaines de séquences homologues, les trois premiers étant les plus impliqués dans la liaison aux immunoglobulines polymériques (IgA et IgM). Une protéine de PM 94 000 qui fixe spécifiquement la chaîne J des IgA dimères et des IgM a été caractérisée par le même auteur à partir des membranes cellulaires: elle est constituée d'une fraction soluble dans l'eau, comparable au composant sécrétoire, et d'une partie hydrophobe soluble dans les détergents. Le composant sécrétoire bovin serait donc la partie extracellulaire d'un récepteur épithélial qui permet le transport des IgA dimères vers la surface des muqueuses.

Les taux d'IgM dans le sérum et les sécrétions des ruminants sont très élevés par rapport à ce que l'on observe dans les autres espèces de mammifères et un transfert sélectif, s'ajoutant aux synthèses locales, a été suggéré par différents auteurs. L'activité protectrice de ces IgM est considérable: elles représentent l'essentiel de l'activité bactéricide du sérum ou du lait contre différentes bactéries pathogènes, et plus de 50 p. cent des anticorps contre l'antigène d'attachement K99 d'*E. coli*. Leur pouvoir de fixation du complément, 10 à 20 fois plus élevé que celui des IgG, explique en partie l'importance de leur pouvoir bactéricide.

Des anticorps homocytotropes, responsables des réactions d'hypersensibilité immédiate (Type I), ont été mis en évidence chez les bovins, ovins et caprins. Ils ont été partiellement purifiés chez les bovins [7] et la préparation d'un anti-sérum spécifique a permis de mettre en évidence des caractères isotypiques différents de ceux définis pour les autres classes et sous-classes d'immunoglobulines. Leurs propriétés physicochimiques (poids moléculaire de l'ordre de 190 000, sensibilité à la chaleur et au  $\beta$ -mercaptoéthanol) et biologiques (persistance pendant plusieurs semaines dans la peau homologue) permettent de les assimiler aux IgE des autres espèces, d'autant plus qu'un anti-IgE humain serait capable d'inhiber les tests d'anaphylaxie cutanée passive chez les bovins [3]. Le colostrum bovin et ovin, contrairement au colostrum humain, est riche en anticorps homocytotropes qui sont effectivement transférés au nouveau-né et sensibilisent leur peau

pendant plusieurs semaines [14]. Les IgE, chez les ruminants, seraient impliquées dans des cas d'autoallergie au lait, de sensibilisation aux spores de *Micropolyspora faeni* et, très probablement, dans la résistance à divers parasites (nématodes et trématodes).

### TRANSMISSION DE L'IMMUNITÉ PASSIVE

L'absence de transfert placentaire des immunoglobulines maternelles pendant la gestation fait que le ruminant nouveau-né est agammaglobulinémique à la naissance. Il doit sa survie à l'extrême richesse du colostrum en immunoglobulines (essentiellement IgG1) et à la capacité de son intestin d'absorber intactes ces immunoglobulines pendant les 24 premières heures de vie.

A partir du tarissement, la mamelle concentre sélectivement les IgG1 sériques par un mécanisme de fixation spécifique à la surface de cellules ayant des récepteurs à haute affinité pour ces IgG; cette concentration atteint son maximum dans les jours qui précèdent la mise bas et, chez les vaches laitières, en moyenne un kilogramme d'IgG1 est ainsi transporté du sang vers les sécrétions lactées. Le stock ainsi constitué s'épuise ensuite rapidement à chaque traite ou tétée du veau et, 48 heures après la mise bas, les taux d'IgG1 du colostrum ne représentent plus qu'environ 10 p. cent des taux de départ. Le colostrum est également riche en IgA et IgM, et il contient aussi toute une gamme de substances qui jouent un rôle important dans la résistance aux agressions microbiennes (composants du complément, lysozyme, lactoferrine, transferrine, système lactoperoxydase-thiocyanate-peroxyde d'hydrogène, etc.) ou dans le métabolisme du nouveau-né (facteurs de croissance, inhibiteurs de la trypsine, vitamines, oligoéléments, œstrogènes, insuline, etc.) et qui sont présents à des taux particulièrement élevés.

L'activité protéolytique du tube digestif étant très faible et, encore réduite par la présence d'inhibiteurs de la trypsine dans le colostrum, les immunoglobulines colostrales parviennent intactes dans l'intestin grêle du jeune ruminant. Elles sont absorbées rapidement grâce à l'activité de pinocytose de certaines cellules immatures de la muqueuse intestinale. Ainsi, dès la deuxième heure qui suit l'administration de colostrum à des veaux, les taux d'IgG sériques sont suffisants pour

assurer une capacité de lécules di...  
suivent la...  
douzième...  
Cette abso...  
pendant...  
comme le...  
quantité d...  
rées penda...  
que le no...  
qui suivent...  
bulines sé...

Différen...  
de la trans...  
longueur...  
environne...  
attentivem...  
nouveau-n...  
pourcenta...  
ques dans...  
peut être...  
p. cent [1...  
mortalité...  
observés...  
gammaglob...  
qu'a l'élé...  
de colos...  
précoce...  
gammaglob...  
valeur pr...  
aux mala...  
un trava...  
marché...  
supérieur...  
2,5 fois...  
d'IgG. U...  
IgG » a...  
et cette...  
dans les...

### COMI... DES P...

O. Bar...

Le sy...  
formé...  
l'ordre...

IgE, chez  
 des cas  
 aux spores  
 ablement,  
 matodes et

s immuno-  
 station fait  
 aglobuliné-  
 à l'extrême  
 globulines  
 té de son  
 globulines  
 ie.

concentre  
 mécanisme  
 de cellules  
 ur ces IgG;  
 m dans les  
 les vaches  
 d'IgG1 est  
 ns lactées.  
 ite rapide-  
 veau et,  
 d'IgG1 du  
 nviron 10  
 ostrum est  
 tient aussi  
 ent un rôle  
 ns micro-  
 lysozyme,  
 lactope-  
 ydrogène,  
 iveau-né  
 a trypsine,  
 insuline,  
 articulière-

estif étant  
 présence  
 ostrum, les  
 nt intactes  
 Elles sont  
 é de pino-  
 es de la  
 deuxième  
 rum à des  
 sants pour

assurer un début d'immunité passive efficace. La capacité d'absorption intestinale des macromolécules diminue rapidement dans les heures qui suivent la naissance; elle est réduite de moitié à la douzième heure et disparaît vers la 24<sup>e</sup> heure. Cette absorption est essentiellement non sélective, cependant les molécules de haut poids moléculaire comme les IgM sont moins bien absorbées. La quantité d'immunoglobulines maternelles transférées pendant les premières heures de vie est telle que le nouveau-né présente, dans les 24 heures qui suivent la naissance, un taux d'immunoglobulines sériques comparable à celui de la mère.

Différents facteurs interviennent sur la qualité de la transmission de l'immunité colostrale : race, longueur de gestation, poids à la naissance, environnement, âge de la mère, etc. En observant attentivement les premières tétées, et en aidant les nouveau-nés qui ont des difficultés à téter, le pourcentage d'animaux hypogammaglobulinémiques dans un troupeau, mesuré à 24-48 heures, peut être ramené de 10-20 p. cent à moins de 5 p. cent [11]. Si l'on sait que des pourcentages de mortalité de l'ordre de 45 à 50 p. cent ont été observés, par exemple, chez des agneaux hypogammaglobulinémiques, on comprendra l'intérêt qu'a l'éleveur à assurer au nouveau-né une prise de colostrum en quantité suffisante et aussi précoce que possible. L'analyse du taux de gammaglobulines sériques a, par ailleurs, une valeur pronostique sur les capacités de résistance aux maladies du jeune ruminant un peu plus âgé; un travail réalisé sur 490 veaux achetés sur un marché montre que la mortalité est 7,5 fois supérieure et le prix de revient des traitements 2,5 fois plus élevé chez les veaux à faible taux d'IgG. Un paiement du veau à la « qualité en IgG » a déjà été mis en place sur certains marchés et cette pratique devrait logiquement s'étendre dans les prochaines années.

## COMPLÉMENT DES RUMINANTS

O. Barta, V.D. Barta

Le système du complément des ruminants est formé de neuf composants qui réagissent dans l'ordre C1, 4, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9 comme chez tous

les mammifères. Il comprend également d'autres facteurs impliqués dans l'activation par la voie alterne : les facteurs B, D, H, I et P (Properdine) (voir chapitre 13).

Le sérum bovin contient aussi une  $\beta$ -globuline appelée conglutinine, qui se lie très fortement au C3bi à la surface des cellules-cibles en présence d'ions  $Ca^{++}$ . La conglutinine agrège les cellules dans une réaction appelée conglutination, pour la distinguer de l'agglutination indépendante du complément. Elle doit être distinguée de l'immunoconglutinine, qui est un anticorps dirigé contre C3b, C3d ou C4b, et qui apparaît dans le sérum de toutes les espèces de mammifères après une infection.

En règle générale le complément lyse plus difficilement les érythrocytes autologues, homologues ou appartenant à des espèces étroitement apparentées. C'est pourquoi le complément des ruminants lyse mal les érythrocytes sensibilisés de mouton, cibles souvent utilisées dans les tests classiques dans lesquels le complément de cobaye ou le complément humain se révèlent efficaces. Les sérums de ruminants étaient dès lors parfois considérés comme « non hémolytiques » dans l'ancienne littérature. Les érythrocytes de rongeur (lapin, cobaye) sont les cibles les plus sensibles pour le complément hémolytique des ruminants. L'activité hémolytique est le plus souvent exprimée en HC50 unités par millilitre (unités de Complément Hémolytique pour 50 p. cent des érythrocytes sensibilisés exposés) par millilitre, c'est-à-dire la réciproque de la dilution du sérum qui lyse 50 p. cent de  $10^8$  érythrocytes sensibilisés.

Le complément atteint son taux maximal après la maturité sexuelle (chez les bovins aux alentours de 2 à 3 ans).

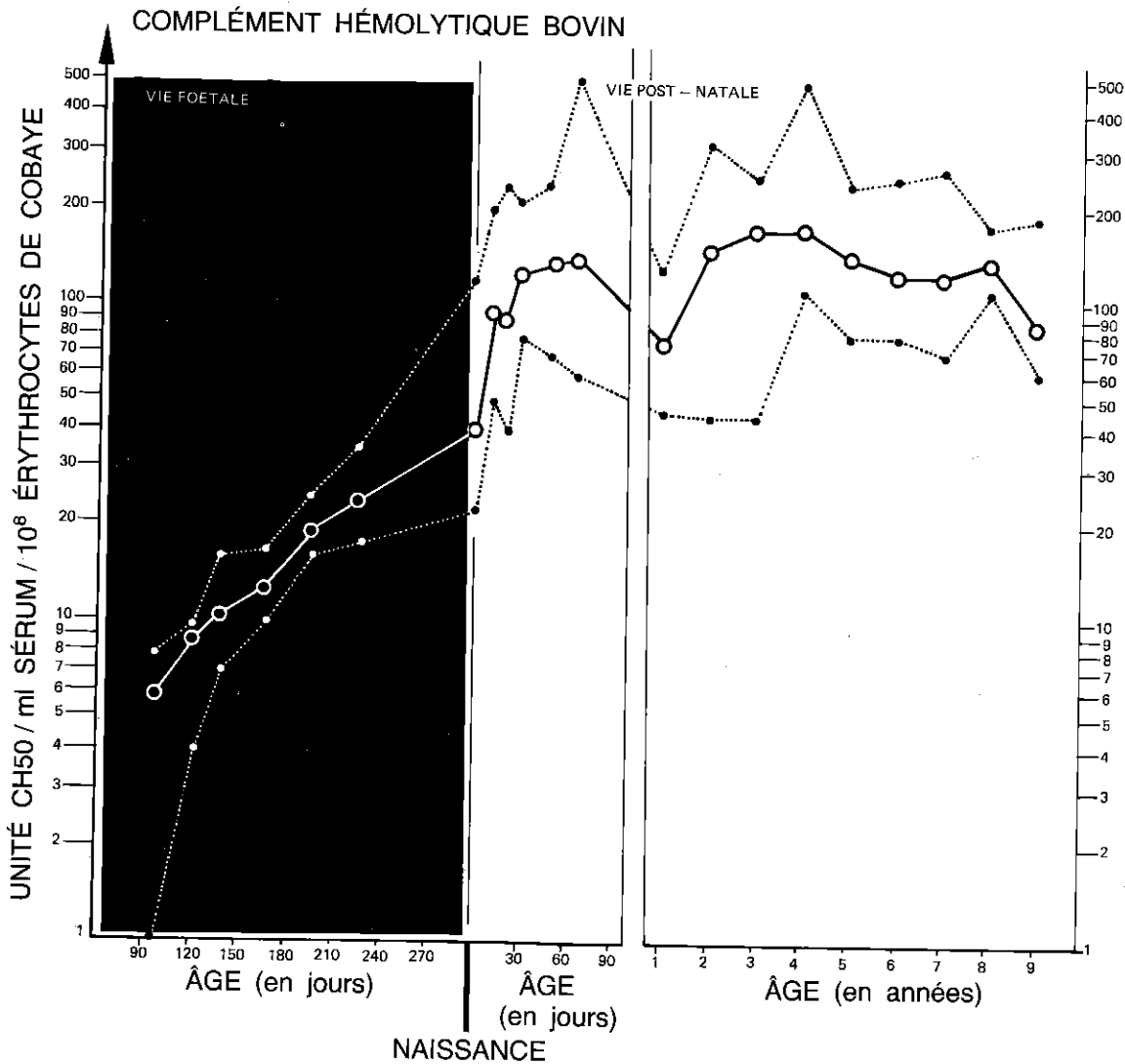
Le taux de complément augmente chez les bovins lors de processus inflammatoires, mais peut également diminuer dans plusieurs syndromes qui s'accompagnent de la formation d'immunocomplexes et de l'activation continue de sa cascade.

## COMPLÉMENT DES BOVINS

Le système du complément se manifeste assez précocement pendant la vie fœtale. Tous les échantillons de sérum prélevés chez des fœtus bovins de plus de 95 jours (approximativement un tiers de la gestation) possédaient des taux de

complément hémolytique pour des érythrocytes sensibilisés de cobaye. Les veaux ont un taux moyen de 40 unités CH50/ml à leur naissance, de 60 unités CH50/ml à l'âge d'un jour, suivi d'une augmentation lente pour atteindre une moyenne de 170 unités CH50/ml à l'âge de trois ans; certains animaux peuvent atteindre un maximum de 500 unités CH50/ml (Fig. 56-13).

Les taux du complément hémolytique dans des races bovines primitives d'Afrique et d'Amérique du Sud seraient plus élevés que ceux d'animaux croisés avec des races européennes. Les taux de complément hémolytique décroissent modérément avant la parturition.



**Figure 56-13** Développement de l'activité du complément hémolytique dans le sérum de bovin. Valeurs moyennes de 5 à 10 échantillons dans chaque groupes d'âges (o—o) avec les valeurs maximales et minimales obtenues (.....). Valeurs obtenues en utilisant des érythrocytes de cobaye sensibilisés. D'après O Barta, V Barta. Haemolytic and conglutinating complement in bovine serum, Zentralblatt für Veterinärmedizin, B, 1973, 20 : 71-82; and O Barta, V Barta, WT Hubbert. Haemolytic and conglutinating complement in bovine perinates, Zentralblatt für Veterinärmedizin, B, 1977, 24 : 344-347.

Il n'existe pas de complément sur le complément chez le chèvre qui a des unités CH50 sensible.

Le taux de complément pour les ovins et le lapin sensible est de 200 unités.

Les études sur le complément chez le mouton, la chèvre et le lapin ont des vies parallèles. Les sérum sanguins de Landsteiner ont des objectifs pour la clinique et la génétique. Les animaux moutons sont des recherches en cours.

Les tests de complément dans le sérum de mouton se basent, à l'exception de la lyse sur l'agglutination et la lyse de globules rouges sensibilisés par des anticorps.

Les systèmes de complément chez les ruminants sont classés en deux catégories : 1) ceux qui sont identifiés par des anticorps, et 2) ceux qui sont de référence pour le sérum sanguin « normal ». Les anticorps utilisés sont ceux qui ont été préparés à partir d'un autre animal.

de dans des l'Amérique d'animaux es taux de modérément

### COMPLÉMENT DES CAPRINS

Il n'existe que peu d'informations disponibles sur le complément des caprins. Les sérums de chèvre qui ont été testés contenaient 15 à 75 unités CH50/ml en utilisant le système le plus sensible.

### COMPLÉMENT DES OVINS

Le taux de complément hémolytique rapporté pour les ovins, en utilisant des érythrocytes de lapin sensibilisés par des anticorps caprins, était de 200 unités CH50/ml.

## GROUPES SANGUINS DES RUMINANTS

E.-M. Tucker

Les études sur les groupes sanguins chez le mouton, la chèvre et les bovins ont été poursuivies parallèlement à celles menées sur les groupes sanguins de l'homme depuis leur découverte par Landsteiner au début de ce siècle. Cependant, les objectifs poursuivis sont peu orientés vers la clinique et les possibilités de transfusion comme chez l'homme mais, plutôt comme marqueurs génétiques pour les contrôles de parenté des animaux munis d'un pedigree ou pour des recherches en matière de reproduction.

Les tests sérologiques employés pour la détermination des groupes sanguins chez les ruminants se basent, à une ou deux exceptions près, non pas sur l'agglutination comme chez l'homme, mais sur la lyse par le complément de globules rouges sensibilisés par les anticorps de typage adéquats.

Les systèmes de groupe sanguin chez les ruminants peuvent être classés en deux catégories : 1) ceux pour lesquels les antigènes sont identifiés par des anticorps qui surviennent naturellement, et auxquels on fera par la suite référence sous le terme de systèmes de groupe sanguin « naturels »; 2) ceux pour qui les anticorps utilisés résultent de l'immunisation délibérée d'un animal à l'aide des globules rouges d'un autre animal (appartenant éventuellement à une autre espèce). Ces antisérums doivent être

complètement absorbés à l'aide des globules rouges appropriés avant que l'on puisse considérer qu'il s'agit de réactifs monospécifiques pour le typage.

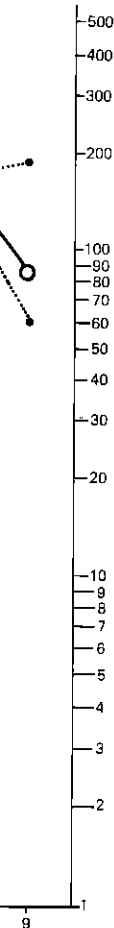
### SYSTÈMES DE GROUPES SANGUINS NATURELS

Les moutons, les chèvres et les bovins possèdent certains systèmes pour lesquels des anticorps survenant naturellement (anti-R, anti-J ou anti-O) réagissent de manière croisée dans une certaine mesure entre les trois espèces (Tableau 56-VII). Une caractéristique de tous les systèmes est que les facteurs de groupes sanguins portés par les globules rouges sont en réalité des substances solubles présentes dans le plasma et les sécrétions corporelles et qui ne s'attachent que secondairement aux globules rouges après la naissance.

Trois phénotypes sont observés chez le mouton : celui dont les globules rouges sont hémolysés par des anti-R (groupe R), celui où ils sont lysés par les anti-O (groupe O) et celui dont les globules rouges ne sont lysés par aucun de ces deux types d'anticorps (groupe i). Le gène qui contrôle la substance R se comporte comme un gène dominant à l'égard de celui qui contrôle O, et les individus hétérozygotes (RO) ne peuvent être distingués sérologiquement des moutons homozygotes (RR). L'expression des substances R et O est contrôlée par un gène sécréteur dominant (I) situé à un locus indépendant de celui de R et de O (O est parfois appelé  $r^0$ ).

Tableau 56-VII Les systèmes de groupes sanguins définis par des anticorps naturels.

Espèces	Locus	Phénotype	Erythrocytes	Plasma	Anticorps
Mouton	R (I)	R	R	R	
		O	O	O	anti-R
		i	—	—	anti-R
Bovins	J (I)	J <sup>ss</sup>	J	JO	
		J <sup>ss</sup>	J	J	
		J <sup>s</sup>	—	J	
		O	—	O	anti-J
		« — »	—	—	anti-O
Chèvre	J (I)	J	J	JO	
		J	J	J	
		O	—	O	anti-J
		« — »	—	—	anti-O



es de 5 à 10 obtenues en tant in bovine agglutinating

ient avérés  
-2 chez le  
Z chez les

allèle récessif nul  $A^-$  a été postulée, lequel peut aussi représenter un facteur qui n'a pas encore été découvert.

**Le système B.** Il s'agit d'un système complexe qui comprend beaucoup de facteurs différents. Les plus fréquemment définis sont repris dans le tableau 56-VIII, mais il en existe beaucoup d'autres correspondant à au moins 52 phénogroupes. Ce locus paraît lié au locus (*Nu*) qui contrôle le transfert de nucléosides du globule rouge [25].

**Le système C.** Deux réactifs, anti-Ca et -Cb, distinguent 4 allèles dans ce système. Certains auteurs ont affirmé, sans que cela soit confirmé par d'autres, que les loci *C* et *I* étaient étroitement liés. Il semble aussi que le locus *C* est lié au locus (*Tr*) qui contrôle le transport des acides aminés des globules rouges.

**Le système D.** Il s'agit du seul système du mouton reconnu par agglutination plutôt que par hémolyse. Deux réactifs, anti-Da et Db, ont été décrits.

**Le système M.** Trois réactifs (anti-Ma, Mb et Mc) ont permis d'identifier 4 allèles. Ce locus a la particularité de contrôler aussi les niveaux de sodium et de potassium dans les globules rouges : certains moutons possèdent des globules rouges ayant des concentrations faibles en potassium et fortes en sodium (type LK) alors que les autres ont des concentrations fortes en potassium et faibles en sodium (type HK).

Toutes les cellules de type LK possèdent l'antigène de groupe sanguin Mb (encore appelé antigène L, selon l'ancienne nomenclature) alors que celui-ci est absent des globules rouges de type HK. Les cellules LK qui possèdent les facteurs

Ma ou Mc en même temps que Mb sont hétérozygotes pour LK, alors que celles qui ne possèdent que Mb sont homozygotes pour LK.

Toutes les cellules HK sont de type Mc ou Mac (Tableau 56-IX). Comme le facteur Mb ne se retrouve que sur les cellules de type LK, et pourrait stimuler le transfert actif de potassium dans ces cellules, on a postulé que ce facteur inhibe l'ATP-ase  $Na^+K^+$ , ce qui expliquerait les faibles concentrations cellulaires en ion potassium.

Aucun effet physiologique de Ma ou Mc n'a été démontré [24].

**Le système X-Z.** Les facteurs X et Z de ce système sont reconnus par deux réactifs hétérologues, anti-X et Z.

**Chez le bovin**

Dix systèmes de groupes sanguins sont connus chez les bovins (Tableau 56-X) et la plupart ont été mieux étudiés que chez le mouton. On n'a

des sérums  
plexes, et  
èles. Il est  
l'un même  
s par des  
hérités en  
ils étaient  
des allèles  
été défini  
de facteurs  
énogroupes

age linéaire  
niques sont  
tre eux n'a  
sous-types  
ation où 3  
relations de  
exemple de  
ur toujours  
deux autres

le mouton

ème à trois  
Aa et -Ab.  
a ni Ab sur  
sence d'un

sanguin ovins

symboles  
lléliques  
nogroupes)

,  $A^-$   
 $B^{abc}$ ,  $B^-$   
beaucoup  
tres  
 $C^b$ ,  $C^-$   
robablement  
tres  
 $D^-$   
 $M^{ac}$ ,  $M^c$

**Tableau 56-IX** Relation entre le groupe sanguin M et les types « potassium » chez le mouton.

Type « potassium »	Génotype	Réaction sérologique		
		anti-Ma	anti-Mb	anti-Mc
Homozygote LK	$M^b/M^b$	-	+	-
Hétérozygote LK	$M^b/M^a$	+	+	-
Hétérozygote LK	$M^b/M^{ac}$	+	+	+
Hétérozygote LK	$M^b/M^c$	-	+	+
Homozygote HK	$M^a/M^a$	+	-	-
Homozygote HK	$M^{ac}/M^{ac}$ , ( $M^a/M^c$ ) $M^a/M^{ac}$	+	-	+

Le génotype entre parenthèses n'a pas encore été trouvé.

**Tableau 56-X** Les systèmes de groupes sanguins bovins définis par des anticorps immuns.

Système	Facteurs sanguins	Nombre minimum d'allèles	Symboles alléliques (phénogroupes)
A	$A_1$ , $A_2$ , H, D, Z	10	$a^{A1}$ , $a^{A2}$ , $a^H$ , $a^{A1D}$ , $a^{A2D}$ , $a^{AH}$ , $a^{DH}$ , $a^{A1DZ}$ , $a^{A2DZ}$ , $a^{ADH}$
B	$B$ , $G_1$ , $G_2$ , $G_3$ , K, $I_1$ , $I_2$ , $O_1$ , $O_2$ , $O_3$ , $O_X$ , $P_1$ , $P_2$ , Q, $T_1$ , $T_2$ , $Y_1$ , $Y_2$ , A, B, D, $E_1$ , $E_2$ , $E_3$ , F, G, $J_1$ , $J_2$ , $J_3$ , K, O, P, Q, A, B, D, G, I	>700	nombreux
C	$C_1$ , $C_2$ , E, $R_1$ , $R_2$ , W, $X_1$ , $X_2$ , C, L, X, C'	77	nombreux
F	$F_1$ , $F_2$ , $V_1$ , $V_2$ , N'	4	$f^{F1}$ , $f^{F2}$ , $f^{V1}$ , $f^{V2}$
L	L	2	$l^L$ , l
M	$M_1$ , $M_2$ , M'	3	$m^{M1}$ , $m^{M2}$ , m
R'	$R'$ , S'	2	$r^{R'}$ , $r^{S'}$
S	$S$ , $H_3$ , U, U', $U_2$ , S'', H', U'	15	$s^{SH}$ , $s^{UH}$ , $s^{H'}$ , $s^{U'}$ , $s^{UH'}$ , $s^{UH''}$ , $s^{U'H'}$ , $s^{U'H''}$ , $s^{H'H'}$ , $s^{SS'H'}$ , $s^{S'H'}$ , $s^{U''}$ , $s^{U'2}$ , $s^{U'2U'}$ , $s^{UU''(H')}$ , $s^{H''U''(H')}$
Z	Z		$z^Z$ , z
T'	T'		$t^{T'}$ , t'

toutefois jamais adopté la nomenclature génique simple utilisée pour le mouton et pour d'autres espèces.

**Le système A.** Quatre réactifs, anti-A, -H, -D et -Z', reconnaissent au moins 10 allèles dans ce système. Des sous-types sont observées au sein du système A.

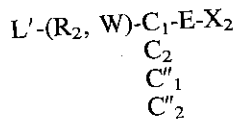
**Le système B.** Il n'y a pas de liste complète des allèles du système B parce que tous les laboratoires de groupes sanguins des bovins ne possèdent pas les mêmes batteries de réactifs. On a cependant estimé qu'il y aurait plus de 1 000 phénogroupes si une pareille liste était dressée. L'utilisation d'un minimum de 25 réactifs du système B (B, G, K, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub>, O<sub>1</sub>, O<sub>3</sub>, P, Q, T, Y<sub>2</sub>, A', B', D', E'<sub>2</sub>, E'<sub>3</sub>, G', I', J', K', O', P', Q', Y' et G'') a été recommandée par un groupe international de travail.

Des cartes provisoires du locus B ont été esquissées, sur la base de la transmission irrégulière des allèles B. Pour les races françaises [17], on a proposé la carte partielle suivante qui comprend la séquence linéaire de 22 déterminants : Q-YY'-D'-G<sub>2</sub>-E'<sub>3</sub>G''-G'-B-B'<sub>1</sub>-E'<sub>2</sub>-Q'-G<sub>3</sub>T-(O<sub>2</sub>, O<sub>3</sub>K')-I'-(J'<sub>1</sub>, O')-I'-I'. Cette séquence a été déduite de 40 cas de transmission irrégulière dont tous sauf 2 étaient attribuables à l'apparition d'enjambements (crossing over). Les mêmes chercheurs ont estimé le taux de recombinaison entre les deux déterminants géniques terminaux Q et I' à 1,34 centimorgans, tout en considérant que 0,7 centimorgans était une valeur plus plausible.

La génétique du système B a suscité de nombreuses hypothèses : certaines privilégient l'enjambement au sein du gène B alors que d'autres sont plutôt en faveur d'une série de gènes étroitement liés et d'événements rares comme des enjambements survenant entre groupes de gènes [18, 22]. Les systèmes B du mouton et du bovin sont homologues.

**Le système C.** Pour la complexité, c'est le second système de groupes sanguins. Comme pour le système B, on ne possède pas de liste complète des allèles C, mais des fréquences relevées dans différentes races ont été publiées par plusieurs laboratoires (par exemple, 77 phénogroupes ont été identifiés dans la race charolaise en utilisant 15 réactifs) [17].

En utilisant 20 cas de transmission irrégulière dans la race charolaise, une carte provisoire partielle du locus a été dressée [19] :



Les facteurs X<sub>1</sub>, C' et F10 se localisent au niveau ou près de X<sub>2</sub>. L'existence de deux groupes de gènes a été postulée, l'un comprenant C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, C''<sub>1</sub> et C''<sub>2</sub>, et l'autre X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub>, C' et F10. Le taux de recombinaison entre les déterminants terminaux L' et X<sub>2</sub> a été estimé à 0,3 centimorgan. Ce système est probablement l'homologue du système C chez le mouton.

**Le système F.** Deux réactifs, anti-F et -V, sont utilisés dans ce système, mais il y a également des sous-types linéaires identifiés par des réactifs de sous-types. Le facteur N' appartient au système F mais sa relation génétique avec F et V n'a pas été élucidée. Quatre allèles au moins sont présents sur ce locus.

**Le système L.** Un réactif (anti-L) permet l'identification de deux allèles, l'un étant responsable de l'expression de L et l'autre de son absence [16].

**Le système M.** Trois facteurs, M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> et M', ont été identifiés. Ce locus est particulièrement intéressant parce qu'il se localise à proximité de celui du CMH bovin [20].

**Le système R'.** Deux réactifs (anti-R' et -S'), reconnaissent trois phénotypes contrôlés par deux allèles R' et S'. Ce système n'est encore que partiellement exploré.

**Le système S.** Il comporte un minimum de 8 facteurs et au moins 15 phénogroupes. Plusieurs relations de sous-typage non linéaire peuvent être identifiées avec les divers réactifs. On pense que le système S correspond au système M du mouton.

**Le système T'.** Il s'agit d'un système à deux allèles défini par un réactif anti-T'.

**Le système Z.** C'est également un système diallélique, reconnu par un réactif anti-Z est utilisé.

### Chez la chèvre

On ne dispose que de peu d'informations sur les systèmes de groupes sanguins chez la chèvre, même si ce domaine suscite de plus en plus d'intérêt. Sur la base de réactions croisées observées avec des réactifs de mouton et de bovin, il

est vraisemblablement des systèmes de groupes sanguins chez le bovin et le mouton. L'importance de l'information génétique dans les groupes sanguins de

### SYSTÈME

L. Ander

Le CMH (Bovine) de classe I chez l'homme. La génétique des groupes sanguins de mammifères

### RÉGION

Le phénotype de classe I sérologiquement défini en

Figure 1. Chaînes de BoLA. Les membres humains. La table donne les marquages des gènes DQα suivis

a  
b  
c  
d  
e

est vraisemblable que les chèvres possèdent des systèmes équivalents aux systèmes B, C, S du bovin et B, C, M du mouton [21]. Pour plus d'informations et de références sur les groupes sanguins des ruminants voir la référence [16].

## SYSTÈME BoLA

L. Andersson

Le CMH des bovins est le système BoLA (Bovine Lymphocyte Antigens) dont les antigènes de classes I et II sont analogues à ceux décrits chez l'homme et la souris. Son organisation génétique et son rôle fonctionnel sont d'ailleurs très semblables à ceux du CMH des autres espèces de mammifères.

### RÉGION DE CLASSE I

Le polymorphisme génétique des molécules de classe I a été largement étudié par des méthodes sérologiques utilisant principalement la cytotoxicité en présence de complément. Les antisérums,

obtenus par immunisation avec des lymphocytes, greffe de peau, ou prélevés chez des femelles multipares, sont polyclonaux et comportent des anticorps dirigés contre différents épitopes. Ils doivent donc être absorbés et analysés statistiquement afin de reconnaître les groupes qui définissent des spécificités antigéniques. Plusieurs réunions internationales ont été tenues à cet effet, qui ont permis d'identifier 17 antigènes de classe I, contrôlés par les allèles d'un même locus appelé BoLA-A.

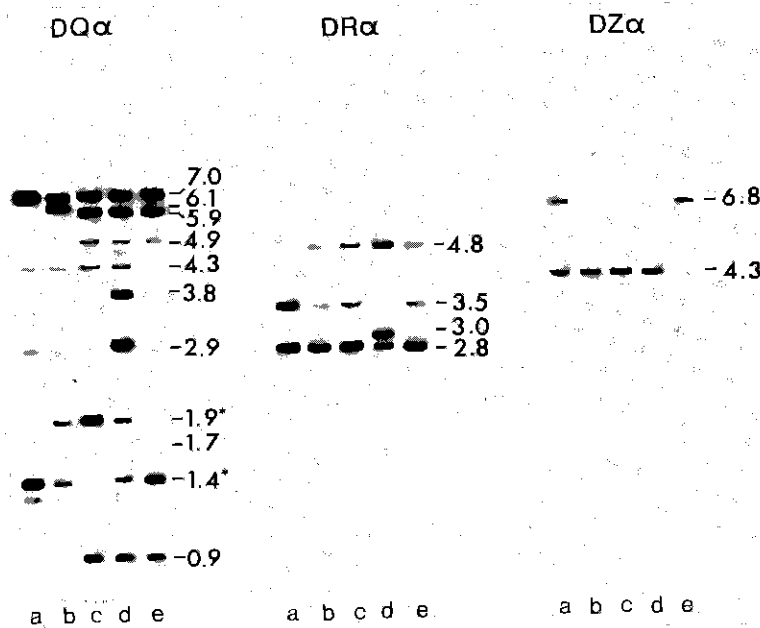
Parmi les méthodes de génétique moléculaire utilisées, la technique du transfert de Southern montre, avec une sonde de ADNc humain, plus d'une dizaine de gènes dont on ignore toutefois combien sont exprimés. La situation pourrait être la même que celle de l'homme et de la souris où il existe un assez grand nombre de gènes dont plusieurs sont des pseudo-gènes alors que quelques-uns seulement codent des molécules sérologiquement définies.

### RÉGION DE CLASSE II

Appelée BoLA-D, elle fut d'abord étudiée par culture lymphocytaire mixte (CLM), ses antigènes étant difficilement identifiables par les méthodes sérologiques, mais l'information ainsi recueillie

**Figure 56-14** Immunotransfert des chaînes  $\alpha$  des gènes de classe II de BoLA. Les échantillons d'ADN génomique ont été digérés par TaQI, fractionnés selon leur taille par électrophorèse en gel d'agarose, transférés sur membrane et hybridés avec des sondes humaines DQ $\alpha$ , DR $\alpha$  et DZ $\alpha$ . La taille estimée des fragments est donnée en kilobases et les 2 fragments marqués d'une astérisque représentent le gène DY $\alpha$  qui croise avec la sonde DQ $\alpha$ . Les animaux ont les génotypes suivants :

	DQ $\alpha$	DR $\alpha$	DY $\alpha$	DZ $\alpha$
a	1/1	1/1	1/1	1/2
b	1/2	1/2	1/2	1/1
c	1/9	1/2	2/2	1/1
d	7/9	2/4	1/2	1/1
e	1/9	1/2	1/1	2/2

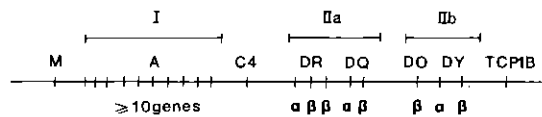


sur son organisation et son polymorphisme demeurait très limitée. Elle a ensuite été analysée, de manière détaillée, par la technique du transfert de Southern à l'aide de sondes humaines de classe II représentant les gènes DQ $\alpha$ , DQ $\beta$ , DR $\alpha$ , DR $\beta$ , DP $\alpha$ , DP $\beta$ , DO $\beta$  et DZ $\alpha$  (Fig. 56-14). L'analyse des fragments de restriction obtenus permet d'identifier des gènes bovins de spécificités DQ $\alpha$ , DQ $\beta$ , DR $\alpha$ , DR $\beta$ , DO $\beta$  et DZ $\alpha$  dans cette région BoLA-D. En outre, deux gènes de classe II supplémentaires appelés DY $\alpha$  et DY $\beta$  ont été découverts mais leur relation avec les gènes humains de classe II reste obscure; par contre, aucun gène DP n'a été mis en évidence. Actuellement, l'existence d'au moins 4 gènes  $\alpha$  et 6  $\beta$  de classe II semble établie; le nombre de gènes DQ semble aussi varier selon les haplotypes: certains possèdent DQ $\alpha$  et DQ $\beta$  en simple exemplaire, d'autres en double. On ignore si les gènes dédoublés sont exprimés en protéines et quelle est la signification du phénomène. Les fragments de restriction de DQ $\alpha$ , DQ $\beta$  et DR $\beta$  se sont révélés très polymorphes: plus de 15 variantes ont été reconnues par chaque sonde et leur transmission mendélienne a été vérifiée par des études familiales. Cette technique fournit donc la première méthode de typage du polymorphisme de classe II utilisable pour le bétail.

#### LIAISONS DANS LA RÉGION BoLA

L'hybridation *in situ* indique que BoLA est situé sur le chromosome 23. L'information disponible sur cette région se limitait à l'étroite liaison entre BoLA-A (contrôlant les antigènes sérologiques de classe I) et BoLA-D (responsable de la réaction lymphocytaire mixte). Le locus du groupe sanguin M apparaissait aussi très lié à BoLA-A, sans que l'on sache s'il s'agit du même locus car l'antigène M et certaines spécificités BoLA-A ont une structure antigénique similaire.

Une carte génétique plus détaillée de la région a récemment pu être établie grâce à l'analyse de la ségrégation des fragments de restriction dans des familles informatives (Fig. 56-15). Cette carte comporte les gènes de classe I (locus BoLA-A), ceux de classe II (DQ, DR, DO et DY), le locus du groupe M, un locus pour le facteur 4 du complément (C4) et TCP1B qui est l'homologue bovin des gènes du complexe T de la souris. Une fréquence de recombinaison assez élevée (estimée à environ 17 p. cent) sépare les 2 sous-régions appelées IIa et IIb. A l'exception de cette



**Figure 56-15** Carte génétique du groupe de liaison BoLA. Il convient de noter que l'ordre des gènes n'est que partiellement connu. La carte a donc été dressée selon les régions correspondantes du CMH de l'homme et de la souris, en considération du fait que la structure des CMH est semblable dans les différentes espèces animales.

Figure reproduite avec l'autorisation de: The Molecular biology of the major histocompatibility complex of domestic animal species, édité par CM Warner, Max F Rothschild et SJ Lamont, © 1989, Iowa State University Press, Ames, Ia, 50010.

dernière, la fréquence de recombinaison est faible dans le CMH bovin et les gènes DQ et DR, en particulier, sont très étroitement liés. Outre les marqueurs ainsi constitutifs de BoLA, les gènes de la glycoxylase (Glo-1) et de la 21-hydroxylase (21-OH) ont été localisés sur le même chromosome.

La comparaison du groupe BoLA avec les cartes génétiques de l'homme et de la souris révèle une frappante similitude entre ces trois espèces: les gènes de classes I et II, de C4, 21-OH, Glo-1 et TCP1 se trouvent sur le même chromosome dans les trois espèces.

#### ASPECTS FONCTIONNELS

Il est généralement admis que le système BoLA joue, chez les bovins, le même rôle dans la défense immune que celui attribué au CMH dans les autres espèces animales. Les études les plus informatives à cet égard concernent l'immunité cellulaire développée contre *Theileria parva*, protozoaire infestant les lymphocytes des bovidés et responsable d'une maladie lymphoproliférative aiguë appelée fièvre de la côte Est (East Coast Fever). Les lymphocytes T cytotoxiques sont, dans cette affection, restreints par les molécules de classe I du CMH. D'autres travaux ont montré que l'évolution subclinique de l'infection par le virus de la leucémie bovine dépend du phénotype BoLA; il en est de même pour la sensibilité des bovins à la tique *Boophilus microplus* ainsi qu'à la mammité. Plusieurs des associations décrites demandent toutefois à être confirmées; toutes concernent jusqu'à présent les spécificités BoLA-A.

L'objet consacré à l'étude de la réponse aux maladies, développement et immunisation a un très peu il sera im des malaq leurs ager Une coll pathologi

Cepend catives, méthodes phisme d cours de d'aborder technique (BoLA-A) tion inter méthodes longueur un avanta ments fra être récd conservé native est immunop l'étude d intéressar spécifique cléotides séquence stringente brident q toutefois séquence qui impl susceptible extrêmement

#### BIBLIO

— Cellul  
BALDWIN  
antigens  
In: M



## PERSPECTIVES D'AVENIR

L'objectif le plus important de la recherche consacrée au système BoLA est probablement l'étude de son rôle dans le contrôle génétique de la réponse immune et dans la résistance aux maladies. Le premier aspect tient notamment au développement de nouveaux vaccins et à l'immunisation avec des peptides présentant un seul ou un très petit nombre d'épitopes. Quant au second, il sera important d'étudier le système BoLA dans des maladies bien caractérisées par leur étiologie, leurs agents pathogènes, leur tableau clinique, etc. Une collaboration étroite entre généticiens et pathologistes serait, à cet égard, importante.

Cependant, pour que ces études soient significatives, il sera indispensable de recourir à des méthodes efficaces d'analyse du large polymorphisme de BoLA. Des progrès notables, faits au cours de ces dernières années, permettent déjà d'aborder cette diversité génétique par différentes techniques. L'analyse sérologique de la classe I (BoLA-A) a été développée grâce à la collaboration internationale; la classe II a bénéficié des méthodes d'identification du polymorphisme de longueur des fragments de restriction (RFLP) dont un avantage évident tient à ce que des prélèvements frais ne sont pas nécessaires : l'ADN peut être récolté pendant une longue période et conservé au congélateur. Une technique alternative est la séparation isoélectrique de molécules immunoprécipitées, utilisée avec succès pour l'étude du CMH humain. Une autre technique intéressante utilise des sondes oligonucléotidiques spécifiques d'allèles : ce sont de courts oligonucléotides (de 15 à 20 paires de bases) dont la séquence est telle que, dans des conditions stringentes d'hybridation moléculaire, ils ne s'hybrident qu'avec leur allèle spécifique. Il sera toutefois nécessaire, à cet effet, de déterminer la séquence nucléotidique des différents gènes, ce qui implique un travail considérable mais est susceptible de fournir une méthode de typage extrêmement performante.

## BIBLIOGRAPHIE

## — Cellules du système immunitaire

BALDWIN CL, MORRISON WI, NAESSENS J. Differentiation antigens and functional characteristics of bovine leukocytes. *In* : M Miyasaka, Z Trnka. Differentiation antigens in

lymphohemopoietic tissues, M Dekker, New York, 1988, pp. 455-497.

MORRISON WI, BALDWIN CL, MAC HUGH ND et al. Phenotype and functional characterisation of bovine lymphocytes. *In* : R Pandey. Progress in Veterinary Microbiology and Immunology, S Karger, Basel, 1988.

MORRISON WI, MAC HUGH ND, BENSALD A et al. A monoclonal antibody which reacts specifically with a population of bovine lymphocytes lacking B cell and T cell markers. *In* : S Fossum, B Rolstad. Lymphatic tissues and germinal centres in immune reactions, Plenum Press, in press.

BALDWIN CL, MORRISON WI, NAESSENS J. Differentiation antigens and functional characteristics of bovine leukocytes. *In* : M Miyasaka, Z Trnka. M Dekker. Differentiation antigens in lymphohemopoietic tissues, New York, 1988, pp. 455-497.

MORRISON WI, BALDWIN CL, MAC HUGH ND et al. Phenotype and functional characterisation of bovine lymphocytes. *In* : R Pandey. Progress in Veterinary Microbiology and Immunology, S Karger, Basel, 1988.

MORRISON WI, MAC HUGH ND, BENSALD A et al. A monoclonal antibody which reacts specifically with a population of bovine lymphocytes lacking B cell and T cell markers. *In* : S Fossum, B Rolstad. Lymphatic tissues and germinal centres in immune reactions, Plenum Press, in press.

DEPELCHIN A, LETESSON JJ, LOSTRIE-TRUSSART N et al. Bovine leukemia virus (BLV)-infected B-cells express the CD5 T-cell marker. *In* : Immunology letters, in press.

## — Organes lymphoïdes

BANKS WJ. Applied veterinary histology (2nd Edition). Philadelphia, Pennsylvania, 1987, Williams and Wilkins.

BELISLE C, SAINT-MARIE G. Topography of the deep cortex of the lymph nodes of various mammalian species. *Anatomical Record*, 1981, 201 : 553.

CARR I. The fine structure of the mammalian lympho-reticular system. *International Review of Cytology*, 1970, 27 : 283.

DELLMAN HD, BROWN EM. Textbook of veterinary histology (3rd Edition). Lea and Febiger, Philadelphia, Pennsylvania, 1987.

DOWNEY H. The structure and origin of the lymph sinuses of mammalian lymph nodes and their relations to endothelium and reticulum. *Haematologica*, 1922, 3 : 431.

FAWCETT DW. Bloom and Fawcett : a textbook of histology (11th Edition). Williams and Wilkins, Philadelphia, Pennsylvania, 1986.

WEISS L. The cells and tissues of the immune system : structure, functions, interactions. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey, 1972.

## — Circulations lymphatique et lymphocytaire

ABERNETHY NJ, HAY JB. Lymphocyte migration through skin and skin lesions. *In* : AJ Husband. Migration and homing of lymphoid cells, CRC Press, 1988, Vol. 1, 113.

## — Ontogenèse du système immunitaire

BARTA O. Immunological activities in the serum of young calves. PhD Thesis, University of Guelph, Ontario, Canada, 1969.

BARTA O, BARTA V, HUBBERT WT. Haemolytic and conglutinating complement in bovine perinates. *Zentralblatt für Veterinärmedizin, Reihe B*, 1977, 24 : 344-347.

BRAMBELL FWR. The transmission of passive immunity from mother to young. *Frontiers of Biology*, Vol. 18, Amsterdam and London, North Holland Publishing Company, 1970.

- COLE GJ, MORRIS B. The lymphoid apparatus of sheep : its growth, development and significance in immunologic reactions. *Advances in Veterinary Science*, 1973, 17 : 225-263.
- FAHEY KJ, MORRIS B. Humoral immune responses in fetal sheep. *Immunology*, 1978, 35 : 651-661.
- HALLIDAY R. Immunity and health in young lambs. *Veterinary Record*, 1978, 103 : 489-492.
- PIERCE AE, FEINSTEIN A. Biophysical and immunological studies on bovine immune globulins with evidence for selective transport, within the mammary gland from maternal plasma to colostrum. *Immunology*, 1965, 8 : 106-123.
- RICE CE, SILVERSTEIN AM. Haemolytic complement activity of sera of fetal and newborn lambs. *Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science*, 1964, 28 : 34-37.
- SCHULTZ RD. Development aspects of the fetal bovine immune response : a review. *Cornell Veterinarian*, 1973, 63 : 507-535.
- SILVERSTEIN AM, UHR JW, KRANER KL, LUKES RJ. Fetal response to antigenic stimulus. II. Antibody production by the fetal lamb. *Journal of Experimental Medicine*, 1963, 117 : 799-812.
- SOLOMON JB. Aspects of developmental and comparative immunology. *Proceedings of the 1st Congress of Developmental and Comparative Immunology*, 27 July-1 August, Pergamon Press, Aberdeen, Oxford and New York, 1980.
- TOIVANEN P, ASANTILA T, GRANBERG C et al. Development of T cell repertoire in the human and sheep fetus. *Immunologic Reviews*, 1978, 42 : 185-201.
- *Complément des ruminants*
- BARTA O, HUBBERT NL. Testing of hemolytic complement components in domestic animals. *Amer J Vet Res*, 1978, 39 : 1303-1308.
- BARTA O, BARTA V. Testing of hemolytic complement and its components. In : O Barta (Ed). *Laboratory Techniques of Veterinary Clinical Immunology*. Charles C Thomas, Springfield, Illinois, 1984, pp. 138-156.
- GEGLI I, AUSTEN KF. Phylogeny and function of the complement system. *Annual Rev Microbiol*, 1971, 25 : 309-332.
- GRANT CK. Complement "specificity" and interchangeability : measurement of hemolytic complement levels and use of the complement-fixation test with sera from common domestic animals. *Amer J Vet Res*, 1977, 38 : 1611-1617.
- LINSCOTT WD. Biochemistry and biology of the complement system in domestic animals. *Progress Vet Microbiol Immunol*, 1986, 2 : 54-77.
- *Système BoLA*
- AMORENA B, STONE WH. Bovine lymphocyte antigens (BoLA) : a serological, genetic and histocompatibility analysis. *Tissue Antigens*, 1980, 16 : 212-225.
- ANDERSSON L. Genomic hybridizations of bovine major histocompatibility genes. *Proceedings from "International Symposium on the Molecular Biology of the Major Histocompatibility Complex of Domestic Animal Species"*, Ames, Iowa, October, 23-24, 1988.
- ANDERSSON L, LUNDEN A, SIGURDARDOTTIR S et al. Linkage relationships in the bovine MHC region. High recombination frequency between class II subregions. *Immunogenetics*, 1988, 27 : 273-280.
- Anonymous. *Proceedings of the second International Bovine Lymphocyte Antigen (BoLA) workshop*. *Anim Blood Grps Biochem Genet*, 1982, 13 : 33-53.
- LEWIN HA, WU MC, STEWART JA et al. Association between BoLA and subclinical bovine leukemia virus infection in a herd of Holstein-Friesian cows. *Immunogenetics*, 1988, 27 : 338-344.
- MORRISON WI, GOODEERIS BM, TEALE AJ et al. Cell-mediated immune response of cattle to *Theileria parva*. *Immunol Today*, 1986, 7 : 211-216.
- SPOONER RL, LEVEZIEL H, GROSCLAUDE F et al. Evidence for a possible major histocompatibility complex (BLA) in cattle. *J Immunogenet*, 1978, 5 : 335-346.
- Références
- *Immunoglobulines et transmission de l'immunité passive chez les ruminants*
- BUTLER JE, HEYERMANN H, BORCA M et al. The isotype, allotypic and idiotypic heterogeneity of bovine IgG2. *Vet Immunol Immunopath*, 1987, 17 : 1-16.
  - DIAZ R, LEVIEUX D. Rôle respectif en sérologie de la brucellose bovine des antigènes et des immunoglobulines G1 et G2 dans les tests d'agglutination, de Coombs et au rose Bengale ainsi que dans le phénomène de zone. *C R Acad Sci*, 1972, 274 : 1593-1596.
  - DOYLE JJ. Homocytotropic antibodies induced in calves by infection with *Fasciola hepatica*. *Int Arch Allergy*, 1973, 45 : 744-751.
  - DUHAMEL RC, MEEZAN E, BRENDEN K. The pH-dependent binding of goat IgG1 and IgG2 to protein A sepharose. *Mol Immunol*, 1980, 17 : 29-36.
  - GOUDSWAARD J, VAN DER DONK JA, VAN DAM RH et al. Protein A reactivity of various mammalian immunoglobulins. *Scand J Immun*, 1978, 8 : 21-28.
  - GROVES ML, GORDON WG. Isolation of a new glycoprotein-a and a  $\gamma$ G-globulin from individual cows milks. *Biochemistry*, 1967, 6 : 2388-2394.
  - HAMMER DK, KICKHOFEN B, SCHMID T. Detection of homocytotropic antibody associated with a unique immunoglobulin class in the bovine species. *Eur J Immunol*, 1971, 104 : 1016-1023.
  - IRWIN VC. Disease incidence in colostrum deprived calves under commercial conditions and the economic consequences. *Vet Rec*, 1974, 94 : 400.
  - KICKHOFEN B, HAMMER DK, SCHEEL D. Isolation and characterization of  $\gamma$ G type immunoglobulins from bovine serum and colostrum. *Hoppeseyler's Z Physiol Chem*, 1968, 349 : 1755-1773.
  - LEVIEUX D. Immunoglobulines bovines et brucellose. II. Activité des IgG1, IgG2 et IgM du sérum dans les réactions d'agglutination, de Coombs, de fixation du complément et dans le test au rose Bengale. *Ann Rech Vet*, 1974, 5 : 343-353.
  - LEVIEUX D. Transmission de l'immunité passive colostrale. In : *Physiologie et pathologie périnatale chez les animaux de ferme*. INRA, Publ, 1984, pp. 345-369.
  - MCGUIRE T, MUSOKE AJ, KURTTI T. Fonctionnal properties of bovine IgG1 and IgG2 : interaction with complement, macrophages, neutrophils and skin. *Immunology*, 1979, 38 : 249-256.
  - MACH JP, PAHUD JJ. Secretory IgA, a major immunoglobulin in most bovine external secretions. *J Immunol*, 1971, 106 : 552-563.
  - PETZOLD K, VON BENTEN C. Passive allergisation of calves and lambs due to colostrum antibodies. *Ann Rech Vet*, 1978, 9 : 235-238.
  - WASTON DL. The effect of cytophilic IgG2 on phagocytosis by ovine polymorphonuclear leukocytes. *Immunology*, 1976, 31 : 159-165.

— *Groupes sanguins des ruminants*

16. BELL K. The blood groups of domestic mammals. In: Red Blood Cells of Domestic Mammals, NS Agar, PG Board (Editors). Elsevier, Amsterdam, New York, Oxford, 1983, pp. 133-164.
17. GROSCLAUDE F, ALAUX MT, HOULIER G et al. The C system of cattle blood groups. 1. Additional factors in the system. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 1981, 12 : 7-14.
18. GROSCLAUDE F, GUERIN G, HOULIER G. The genetic map of the B system of cattle blood groups as observed in French breeds. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 1979, 10 : 199-218.
19. GUERIN G, GROSCLAUDE F, HOULIER G. The C system of cattle blood groups. 2. Partial genetic map of the system. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 1981, 12 : 15-21.
20. HINES HC, ROSS MJ. Serological relationships among antigens of the BoLA and the bovine M blood group systems. *Animal Genetics*, 1987, 18 : 361-369.
21. NGUYEN TG. Loci for blood polymorphism in sheep and goats : Red cell blood groups and lymphocyte antigens. COGNOSAC Workshop 1986. Publications du Bureau des Ressources génétiques, Paris, 1986, pp. 53-56.
22. STORMONT C. *Frontiers in Immunogenetics*. Elsevier-North Holland Inc, New York, 1981, pp. 31-43.
23. THEILE OW, OULEVEY J, HENNEMUTH K et al. Studies on the chemical nature of the lipidic J blood-group substance of cattle. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 1979, 10 : 1-9.
24. TUCKER EM. Some physiological aspects of genetic variation in the blood of sheep. *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*, 1976, 7 : 207-215.
25. TUCKER EM, YOUNG JD. Genetic control of red cell nucleoside transport and its association with the B blood group locus and nucleoside phosphorylase activity in sheep. *Biochemical Genetics*, 1988, 26 : 489-501.

**IMMUNOLOGIE  
APPLIQUÉE**

H. Bazin

# ANTICORPS MONOCLONAUX

« *The hybridoma technology was a by-product of basic research* ».

C. Milstein (Nobel Lecture, 1984) [13]

De nombreuses découvertes ont été rendues possibles, ces dernières années, par la mise au point de techniques nouvelles telles que : la culture *in vitro* de nouvelles lignées cellulaires, la chromatographie d'affinité, l'électrophorèse, l'électrotransfert sur filtre, etc. Une de ces révolutions technologiques s'est révélée capitale : la production d'anticorps monoclonaux, c'est-à-dire de la synthèse de molécules d'anticorps de spécificité donnée, toutes identiques et en quantité illimitée. Ce rêve d'un grand nombre d'immunologistes s'intéressant aux problèmes liés à la synthèse des anticorps, mais aussi de chercheurs ou de biologistes utilisant des anticorps comme méthode de détection ou de purification est devenu une réalité.

La propriété la plus importante des anticorps est de pouvoir se lier aux substances chimiques qui ont stimulé leur synthèse et de contribuer ainsi à leur élimination en formant des complexes antigènes-anticorps.

Depuis longtemps, cette propriété de liaison spécifique a été utilisée pour caractériser des molécules aussi différentes que celles provenant

de virus, de bactéries, de parasites, des hormones, etc. A cet effet, ces substances sont inoculées à des animaux comme des lapins ou des chèvres qui, en réponse à cette agression, synthétisent des anticorps pouvant se lier spécifiquement aux antigènes présentés. Cependant, ces réponses immunes sont toujours composées d'anticorps synthétisés par de nombreux clones cellulaires (d'où le terme de réponses immunes polyclonales) qui tous fabriquent des anticorps différents, même s'ils sont dirigés contre le même épitope du même antigène. Du fait même des difficultés inhérentes à leur production, les antisérums conventionnels ou polyclonaux sont rarement monospécifiques, c'est-à-dire reconnaissant une seule molécule. Ils sont toujours différents d'un animal producteur à un autre et même d'une saignée à une autre, car la synthèse des anticorps inclut plusieurs niveaux de variabilité : reconnaissance de l'antigène, puis sélection des clones producteurs d'anticorps par les systèmes de régulation de la réponse immune. Ces deux stades, qui s'interpénètrent, comprennent des phénomènes liés non seulement au

génomique de l'organisme (pratiquement le même dans les souches animales consanguines, toujours différent dans le cas d'animaux non consanguins), mais également aux mutations qui surviennent au hasard, au cours de l'évolution de la réponse immune. Enfin, les antisérums conventionnels ne peuvent être fabriqués que dans la mesure où l'antigène en question est purifiable en quantité suffisante, ce qui implique évidemment qu'il soit au minimum identifié ! Ceci n'était pas le cas, par exemple, pour la majorité des marqueurs de lymphocytes découverts grâce à des anticorps monoclonaux, au cours de ces dernières années.

Les problèmes soulevés par la fabrication des antisérums polyclonaux ont conduit des scientifiques à essayer de sélectionner une cellule synthétisant un anticorps donné pour la multiplier en un clone qui produirait indéfiniment cet anticorps en grande quantité. De multiples voies de recherche ont été employées. C'est finalement un peu par hasard que la solution a été trouvée.

## HISTORIQUE

### Premières voies d'approche

L'idée d'avoir des molécules d'anticorps, toutes identiques, a hanté les rêves de beaucoup d'immunologistes bien avant les travaux de Köhler et Milstein. Pour l'étude de la synthèse des anticorps comme pour celle de leur composition, un tel matériel était hautement désirable. Les immunoglobulines monoclonales synthétisées par les myélomes humains, les plasmocytomes de souris et les immunocytomes de rat ont été largement utilisées. Malheureusement, leur caractère spontané rendait très difficile la connaissance de l'épitope qu'elles pouvaient reconnaître. Une autre technique a aussi été largement employée : la transformation à l'aide de virus de populations lymphocytaires provenant d'organismes immunisés, en lignées cellulaires continues (cellules humaines par le virus d'Epstein-Barr, cellules murines par le virus d'Abelson, cellules de lapin par le virus SV40). Actuellement, cette approche est toujours en usage dans le modèle humain à l'aide du virus d'Epstein-Barr et a fourni des résultats plus ou moins intéressants [4].

## Hybridation cellulaire

En 1960, Barski et coll., travaillant au Centre de Cancérologie de Villejuif, eurent l'idée de cultiver ensemble deux lignées de cellules et s'aperçurent, qu'au cours du temps, une lignée hybride s'était développée à partir des deux lignées parentales. L'intérêt de telles cellules était évidemment considérable. Malheureusement, l'obtention d'hybrides cellulaires se révéla souvent impossible car la fusion cellulaire spontanée est un événement rare. De plus, les cellules hybrides résultantes ne présentaient que rarement un avantage de croissance suffisant pour subsister, dans la culture, le temps nécessaire à leur identification.

Littlefield [11, 12] mit au point une technique dite de milieu sélectif qui résolut une partie du problème : la sélection des hybrides. La synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ADN) cellulaire peut se faire par deux voies : l'exogène, normale, à base d'hypoxanthine et de thymidine et l'endogène, de secours, à l'aide d'acides aminés et de sucres (Fig. 57-1). Littlefield proposa d'utiliser, comme souches parentales, des lignées cellulaires déficientes en certains enzymes nécessaires à la synthèse de l'ADN et de les cultiver après fusion dans un milieu sélectif « Hypoxanthine, Aminoptérine, Thymidine » dit de Littlefield ou encore « HAT ». Dans ce milieu, l'aminoptérine bloque la synthèse endogène de l'ADN. Seules peuvent survivre les cellules pouvant utiliser les précurseurs exogènes hypoxanthine et thymidine, c'est-à-dire, possédant les enzymes thymidine-kinase (TK) et hypoxanthine-guanine-phosphoribosyl-transférase (HGPRT). L'astuce technique consiste à fusionner des cellules qui individuellement sont destinées à mourir rapidement, mais dont les hybrides, par suppléance réciproque, peuvent survivre indéfini-

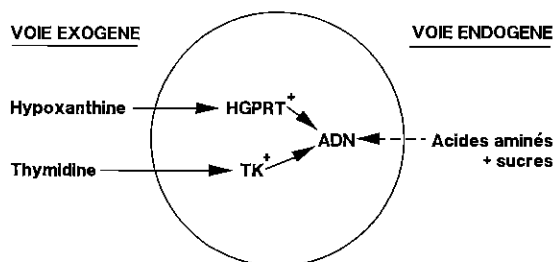


Figure 57-1 Voies de synthèse de l'acide désoxyribonucléique.

Figure 57-2  
Méthode (dite  
tion d'hybrides

ment (Fig.  
HGPRT ou  
milieu de  
l'hypoxanthine  
(bromodéoxy-  
cellules HG  
échapper les  
enzymes pe  
analogue(s)  
De nomb  
dernières an  
provenant sc

Voie exogène

8-azaguanine

Figure 57-3 S  
mutants cellula

u Centre  
l'idée de  
lules et  
ne lignée  
es deux  
ules était  
usement,  
véla sou-  
pontanée  
cellules  
rarement  
subsister,  
à leur

technique  
partie du  
synthèse  
cellulaire  
normale,  
idine et  
es aminés  
proposa  
es lignées  
es néces-  
s cultiver  
sélectif  
line » dit  
ce milieu,  
ogène de  
ules pou-  
xogènes  
possédant  
(TK) et  
ransférase  
fusionner  
estiniées à  
rides, par  
e indéfini-

E ENDOGENE

acides aminés  
+ sucres

ésoxyribonu-

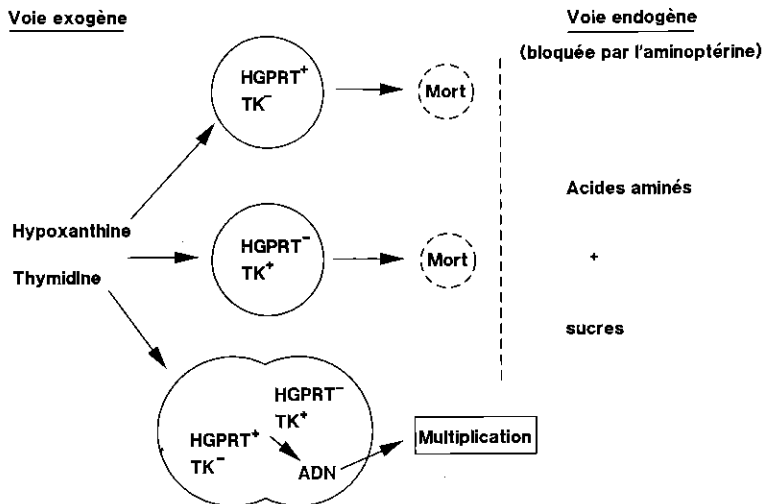


Figure 57-2 Synthèse de l'ADN. Méthode (dite de Littlefield) de sélection d'hybrides cellulaires.

ment (Fig. 57-2). Les mutants déficients en HGPRT ou en TK sont sélectionnés dans les milieux de culture par addition d'analogues de l'hypoxanthine (8-azaguanine) ou de la thymidine (bromodéoxyuridine) qui empoisonnent toutes les cellules HGPRT+ ou TK+. Seules peuvent y échapper les cellules qui ne possèdent pas ces enzymes permettant l'incorporation du ou des analogue(s) comme le montre la figure 57-3.

De nombreux travaux ont été réalisés, ces dernières années, à l'aide de lignées hybrides provenant soit d'une même espèce (lignée intra-

spécifique), soit d'espèces différentes (lignée interspécifique). Les premiers sont relativement stables et leurs cellules perdent peu de chromosomes au cours de leurs divisions successives. Par contre, les seconds en perdent le plus souvent beaucoup et rapidement.

### Hybridation de cellules produisant des immunoglobulines

Il était tentant d'employer cette technologie générale d'hybridation cellulaire pour fusionner des lymphocytes B normaux ou myélomateux avec des cellules transformées, à croissance rapide et indéfinie. La fusion de cellules myélomateuses de souris avec des fibroblastes montra une nette extinction de la synthèse des immunoglobulines dans ce type de cellules hybrides [8] et donc l'impossibilité d'utiliser cette approche expérimentale. Par contre, la fusion de cellules myélomateuses entre elles permet d'étudier individuellement les différentes chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines synthétisées par les cellules parentales et celles de leur « progéniture » hybride. Dans ces expériences, Cotton et Milstein [5] montrèrent, d'une part que de vrais hybrides pouvaient être obtenus entre des cellules myélomateuses et, d'autre part, qu'ils pouvaient synthétiser conjointement des immunoglobulines (codominance de synthèse). Ces constatations permirent ainsi d'établir les bases nécessaires à la découverte des hybridomes par fusion cellulaire. Ces expériences furent confirmées dans d'autres

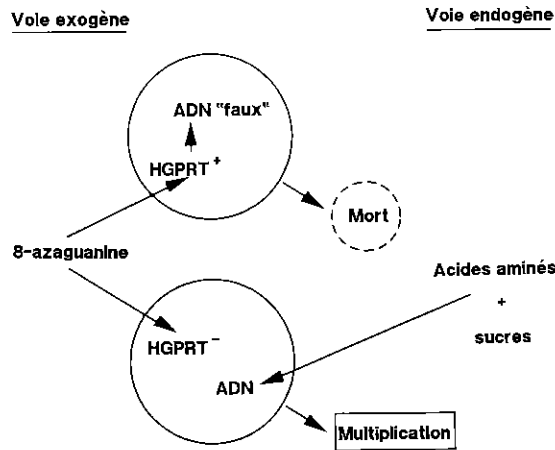
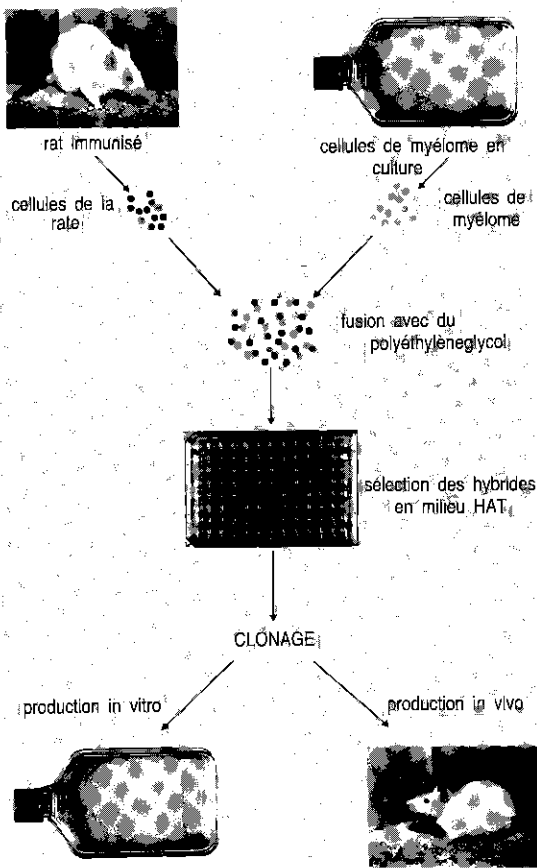


Figure 57-3 Synthèse de l'ADN. Méthode de sélection de mutants cellulaires résistants.



**Figure 57-4** Production d'anticorps monoclonaux. Les animaux (généralement souris ou rats) sont immunisés avec l'antigène. Lorsqu'une bonne réponse en anticorps est obtenue, des lymphocytes spléniques sont préparés (les cellules des ganglions lymphatiques peuvent aussi être utilisées). Ces cellules sont fusionnées avec des cellules d'une lignée de plasmocytome (immunocytome) par addition de polyéthylène glycol (PEG) qui induit la fusion membranaire. Seule une petite proportion de cellules fusionne avec succès. Le mélange est ensuite mis en culture dans un milieu « HAT », mélange d'hypoxanthine, aminoptérine et thymidine. Lorsque la culture est développée en milieu HAT, elle contient des cellules spléniques, des cellules de plasmocytome et des hybrides. Les premières meurent naturellement après 1-2 semaines; les deuxièmes sont tuées par le HAT, mais les hybrides survivent car ils possèdent l'immortalité des cellules de myélome et les propriétés métaboliques des cellules spléniques. Certains auront également la capacité de produire des anticorps. Tous les puits contenant des cellules qui se multiplient sont testés pour la production de l'anticorps souhaité (souvent par RIA ou ELISA) et s'ils sont positifs, la culture est clonée, c'est-à-dire répartie dans des plaques de telle sorte qu'il n'y ait qu'une cellule par puits. Le résultat obtenu est l'obtention d'un clone cellulaire provenant d'une seule cellule-souche qui est à la fois immortelle et productrice d'anticorps (monoclonal).

systèmes, en particulier dans le laboratoire de C. Milstein où la technologie des fusions cellulaires devint de plus en plus familière.

### Découverte de la technologie des hybridomes (Fig. 57-4)

Il n'est pas étonnant que cette maîtrise technologique donna à ce groupe la possibilité d'accomplir le pas fondamental dans la lente progression à la recherche d'anticorps monoclonaux [9]. Ils fusionnèrent des cellules myéomateuses avec des cellules spléniques provenant de souris immunisées contre un antigène donné et obtinrent des lignées de cellules hybrides ou hybridomes produisant de grandes quantités de molécules identiques d'anticorps encore appelés anticorps monoclonaux. Il y avait une véritable immortalisation d'un lymphocyte B producteur d'un anticorps donné grâce à sa fusion avec une cellule myéomateuse. Plus exactement, il y avait immortalisation de la production d'un anticorps par une « pseudo-transformation » d'une cellule synthétisant un anticorps, à durée de vie courte en un clone cellulaire se divisant indéfiniment tout en continuant à synthétiser des molécules du même anticorps.

### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Allier, dans une même cellule hybride, la propriété de se diviser indéfiniment d'une cellule tumorale à celle de produire des anticorps de spécificité prédéterminée, appartenant à un lymphoblaste obtenu à partir d'un animal immunisé, de manière à obtenir un clone cellulaire fabriquant des molécules identiques d'anticorps, en quantité théoriquement illimitée.

### HYBRIDES PRODUISANT DES ANTICORPS MONOCLONAUX

La technique d'obtention des hybridomes et de leur production d'anticorps monoclonaux n'a pas fondamentalement évolué depuis sa découverte. Les procédures expérimentales actuelles dérivent de celles décrites originellement par Köhler et

**Figure 57-5**  
Méthode de sé

Milstein [9] ses cellules fusionne av culture in (HGPRT-) dans un r normaux ou tanément. I meurent, ca nucléique endogène, e peuvent sur d'une part l apportée par et, d'autre myélome (F Dans la p succès des

### Espèce an du produc

L'espèce monoclonau donneur du lignées fusio permettant souris, rat-r possible de comme sou



ise techno-  
é d'accom-  
gression à  
x [9]. Ils  
es avec des  
s immuni-  
tinrent des  
ybridomes  
molécules  
s anticorps  
immortali-  
d'un anti-  
une cellule  
vait immor-  
rps par une  
le synthéti-  
urte en un  
ent tout en  
s du même

DE

hybride, la  
une cellule  
anticorps de  
à un lym-  
immunisé,  
e fabriquant  
en quantité

DES  
AUX

domes et de  
aux n'a pas  
découverte.  
les dérivent  
r Köhler et

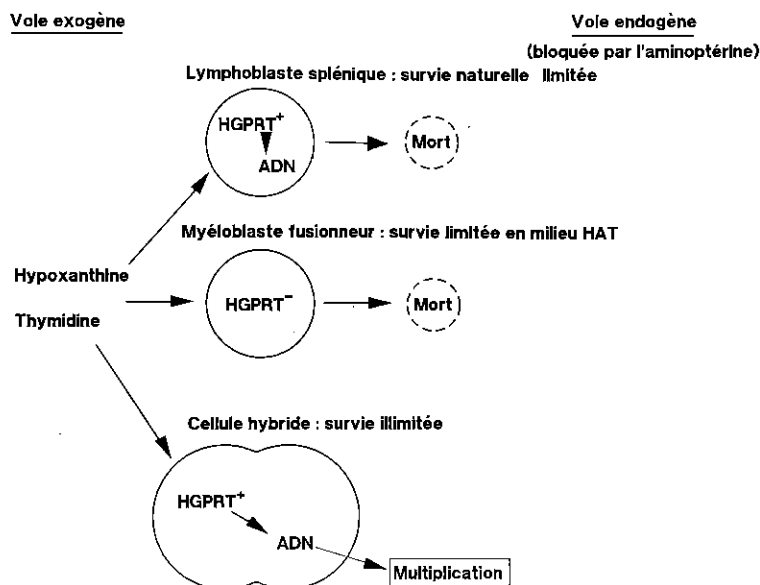


Figure 57-5 Synthèse de l'ADN. Méthode de sélection des hybridomes.

Milstein [9]. On immunise un animal. On récolte ses cellules spléniques ou ganglionnaires. On les fusionne avec celles d'un myélome adapté à la culture in vitro et déficient en HGPRT (HGPRT<sup>-</sup>). L'ensemble des cellules est transféré dans un milieu HAT. Là, les lymphocytes normaux ou immuns dégénèrent et meurent spontanément. Les cellules du myélome HGPRT<sup>-</sup> meurent, car la seule synthèse d'acide désoxyribonucléique possible, c'est-à-dire celle dite endogène, est bloquée par l'aminoptérine. Seules peuvent survivre les cellules hybrides, possédant d'une part la voie de synthèse exogène de l'ADN apportée par le lymphocyte de l'animal immunisé et, d'autre part, l'immortalité de la cellule de myélome (Fig. 57-5).

Dans la pratique, divers facteurs influencent le succès des expériences d'hybridation.

### Espèce animale du producteur d'anticorps

L'espèce de l'animal producteur d'anticorps monoclonaux est limitée par l'espèce animale du donneur du myélome. Actuellement, il existe des lignées fusionnantes de souris, de rat et humaines permettant d'obtenir des hybridomes souris-souris, rat-rat et homme-homme. Il est également possible de réaliser des fusions interspécifiques comme souris-hamster, souris-homme, souris-

lapin, souris-bovin... La stabilité de la production d'anticorps monoclonaux obtenue par ces lignées cellulaires est souvent réduite, mais quelques succès intéressants ont été obtenus.

### Myélome fusionneur

Köhler et Milstein ont dérivé leurs différentes lignées de fusion du plasmocytome MOPC 21 de la souris BALB/c [15]. Les premières sécrétaient des molécules d'IgG1 myéломateuses (P3-X63-Ag8) ou seulement les chaînes légères kappa (NS1). Depuis, d'autres lignées ont été obtenues. Elles sont non sécrétantes et leurs propres produits de synthèse ne contaminent pas la production d'anticorps de l'hybridome. En effet, les premières lignées sécrétaient, elles-mêmes, des immunoglobulines myéломateuses qui étaient incorporées au hasard dans les molécules d'anticorps monoclonaux et altéraient, au moins partiellement, leur homogénéité et donc leurs propriétés anticorps (spécificité, avidité, etc.). Le deuxième modèle existant est celui du rat, dont des lignées de fusion ont été dérivées d'immunocytomes de rats Louvain [1] dont la lignée IR983F, non sécrétrice d'immunoglobuline myéломateuse, paraît la plus intéressante, car elle donne des hybridomes stables et bons producteurs d'anticorps monoclonaux.

De nombreux essais ont été réalisés avec des cellules lymphoïdes B cancéreuses humaines et des cellules lymphoïdes humaines d'individus immunisés, par exemple par vaccination. Actuellement, les résultats obtenus sont relativement décevants car les productions en anticorps monoclonaux humains sont assez faibles [14] (Tableau 57-1).

**Tableau 57-1** Principales souches myélomateuses utilisées pour la construction d'hybridomes.

Lignée cellulaire	Origine	Production propre d'immunoglobulines myélomateuses		Références
		Chaîne lourde	Chaîne légère	
PX-X63-Ag8	Souris	+	+	9
Sp2/O-Ag1,4	Souris	-	-	17
Y3Ag1,2,3	Rat	-	+	6
IR983F	Rat	-	-	2
U266AR1	Homme	+	+	14
UC729-6	Homme	+	+	7

### Fusion

Le polyéthylèneglycol, d'emploi commode, est le moyen le plus utilisé pour fusionner les cellules.

### Sélection des hybridomes

Elle se fait en milieu HAT. Des quantités limitées d'anticorps monoclonaux peuvent aisément être obtenues. Le criblage de leurs propriétés sécrétrices doit se faire le plus tôt possible. Il faut, en effet, au moins au début des cultures, cloner et recloner les cellules des hybridomes car la stabilité de leur génome et donc de leurs propriétés sécrétrices est loin d'être parfaite.

### Production massive d'anticorps monoclonaux

#### Production *in vitro*

Les clones commencent à se développer entre le 5<sup>e</sup> et le 21<sup>e</sup> jour, à l'aide de cultures *in vitro* de l'hybridome en flacons de plastique de taille

variable (maximum 2-3 litres). Une firme commerciale a mis au point un système de culture d'hybridomes en billes d'alginate dans des réacteurs de taille moyenne. D'autres utilisent des cellules d'hybridome en suspension dans des bioréacteurs d'une taille allant jusqu'à 2 m<sup>3</sup>. Enfin, les techniques de culture en fibres creuses ont beaucoup d'adeptes. Il est difficile à ce jour de prédire quelle sera la meilleure technique du futur. Cependant, ces techniques constituent, sans aucun doute, le mode de production des anticorps monoclonaux en grande quantité.

#### Production *in vivo*

Il est possible de cultiver les hybridomes dans des animaux histocompatibles quand il en existe, en général des souris BALB/c ou des rats Louvain ou leurs hybrides de première génération. Il est ainsi possible d'obtenir 50 à 80 mg d'anticorps monoclonal purifié par rat [3].

### Développement de nouveaux modèles d'hybridomes synthétisant des anticorps monoclonaux

Les deux modèles existants, c'est-à-dire ceux de la souris et du rat, permettent d'avoir deux répertoires anticorps différents, par exemple, d'obtenir des anticorps monoclonaux respectivement contre les antigènes de rat ou de souris. Le fait que la technologie des hybridomes n'ait pas été étendue à d'autres espèces peut s'expliquer par le manque de lignées cellulaires myélomateuses continues. Il reste donc un travail considérable à réaliser pour obtenir de telles lignées cellulaires dans les différentes espèces où des myélomes ont été décrits : cheval, vache, porc, lapin, chien, chat...

Le modèle humain a été, comme il était logique de s'y attendre, très étudié, et le premier succès fut signé Olsson et Kaplan [14]. Malheureusement, le problème n'était pas résolu pour autant et ne l'est toujours pas malgré d'énormes efforts.

Des hybridomes hétérospécifiques sécrétant des anticorps monoclonaux de hamster, de lapin et de bovin ont été obtenus mais, jusqu'à présent, ce ne sont que des cas isolés.

Les a  
employé  
polyclon  
quelques  
majeurs.

Ils pe  
prédéteri  
donné. E  
nique e  
permette  
tables pa  
inconnue

Au c  
monoclo  
est établi

Ils pe  
ment ill

Ils son  
être con  
remises  
Ces d  
produits  
en biolo  
ment ut

Ils ex  
raître av

La sp  
naux er

## INTÉRÊTS DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Les anticorps monoclonaux peuvent être employés de manière analogue aux anticorps polyclonaux conventionnels. Ils présentent quelques défauts mineurs et plusieurs avantages majeurs.

### Création « à la demande »

Ils peuvent avoir, en principe, une spécificité prédéterminée contre un épitope d'un antigène donné. En prenant comme cible un motif antigénique et un seul, les anticorps monoclonaux permettent la découverte de molécules indétectables par les antisérums conventionnels et même inconnues au préalable.

### Stabilité et homogénéité totales

Au cours de leur production, les anticorps monoclonaux ne changent pas de structure. Elle est établie une fois pour toutes.

### Production illimitée

Ils peuvent être produits en quantité théoriquement illimitée.

### Conservation illimitée

Ils sont synthétisés par des cellules qui peuvent être conservées aisément dans l'azote liquide et remises en culture à la demande.

Ces divers aspects des anticorps monoclonaux produits par les hybridomes en font, en médecine, en biologie et dans l'industrie, un outil extrêmement utile.

## INCONVÉNIENTS

Ils existent mais ils sont susceptibles de disparaître avec le temps.

### Qualité intrinsèque des anticorps

La spécificité très fine des anticorps monoclonaux empêche parfois d'obtenir des réactions

classiques identiques à celles des anticorps polyclonaux, en particulier dans les techniques de précipitation en gélose. Moins l'épitope reconnu par l'anticorps monoclonal est représenté sur l'antigène, plus il est difficile d'obtenir un réseau de précipitation. De plus, les anticorps monoclonaux à haute affinité pour leur antigène sont rares et donc difficiles à obtenir. Enfin, certains anticorps monoclonaux de rongeurs sont difficiles à manipuler, c'est-à-dire à couper en fragments, tels que F(ab')<sub>2</sub>, Fc..., ou à marquer, par exemple à l'iode radioactif ou à la peroxydase; d'autres peuvent être plus instables à la conservation par comparaison aux anticorps polyclonaux de lapin ou de chèvre.

### Coût élevé

La création des hybridomes synthétisant des anticorps monoclonaux est une technique relativement lourde et onéreuse par rapport à celle des antisérums polyclonaux.

## EMPLOI DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Ils ont à peu près toutes les qualités des sérums polyclonaux conventionnels et peuvent les remplacer dans la plupart de leurs emplois.

### Emploi général des anticorps monoclonaux

#### *Définition d'antigènes et caractérisation d'épitopes*

Ceci est certainement l'apport le plus important des anticorps monoclonaux. Ils ont permis de découvrir des antigènes insoupçonnés comme les antigènes CD3, CD4, CD8 des lymphocytes T humains définissant les sous-populations des lymphocytes T circulants, T auxiliaires et T cytotoxiques et suppresseurs [16] dont l'équivalent a été trouvé chez le rat, la souris, le mouton, les bovins et le porc et le sera probablement bientôt dans toutes les espèces animales domestiques.

#### *Détection, localisation et quantification de molécules*

Les anticorps monoclonaux ont permis la détection et même la quantification dans des milieux

complexes tels que le sérum, le liquide céphalo-rachidien ou l'urine, de très nombreuses molécules comme des hormones ou des médiateurs cellulaires.

### Purification

Que ce soit en petite quantité pour des mesures fines ou en grande quantité dans des procédés de récupération de molécules de grande valeur dans des milieux de culture complexes (interféron par exemple), la chromatographie par immunoaffinité peut être employée avec grand succès.

### Applications actuelles

Les applications actuelles utilisant les anticorps monoclonaux sont les suivantes :

— *sérologie courante*, c'est-à-dire la détection et la quantification de toutes molécules (par exemple : hormones, médicaments, protéines sériques, comme les immunoglobulines sériques, etc.) à l'aide de tests radio-immunologiques ou immunoenzymatiques;

— *typage cellulaire et sanguin* (par exemple : sous-classes de lymphocytes humains et animaux, comme les lymphocytes T auxiliaires ou suppresseurs, les lymphocytes B, etc.);

— *diagnostic des maladies infectieuses* (par exemple : détection d'antigènes viraux ou bactériens...);

— *identification d'antigènes tumoraux* dans le sérum ou sur des cellules [10];

— *purification de molécules* (par exemple : anticorps, interférons, lymphokines...).

### Perspectives d'application

**La sérothérapie.** L'administration d'anticorps monoclonaux dans des maladies virales ou bactériennes (fulgurantes), des intoxications médicamenteuses, des épisodes allergiques, etc., peut favoriser l'élimination des virus.

**La manipulation des réponses immunes** à l'aide par exemple d'injections d'anticorps anti-sous-classes lymphocytaires, ou anti-idiotypes... On peut éviter des rejets de greffe, chez l'homme, en injectant l'anticorps monoclonal OKT3 anti-lymphocytes T. Les résultats sont excellents, mais limités par l'origine même des anticorps monoclonaux qui, étant de rongeurs, sont reconnus comme étrangers par les patients.

**La localisation et l'identification de cellules tumorales** (métastases par exemple), en couplant à

l'anticorps monoclonal spécifique d'un antigène cancéreux, un marqueur radioactif qui pourra ainsi être suivi jusqu'à l'endroit de fixation dans l'organisme. Des résultats intéressants ont été obtenus permettant de localiser des métastases chez des cancéreux.

**La thérapeutique de maladies auto-immunes ou cancéreuses.** Par exemple : ciblage de drogues cytotoxiques par des anticorps monoclonaux, élimination des cellules tumorales pouvant contaminer des prélèvements de moelle osseuse avant leur transplantation (autogreffe pratiquée chez des patients cancéreux ayant été soumis à une chimiothérapie lourde).

**La production de pseudo-antigènes vaccinaux.** Les anticorps monoclonaux anti-idiotypiques sont un moyen possible de vaccination lorsque l'antigène est difficile à obtenir ou à utiliser (voir chapitre 68, pages 702-703).

## PERSPECTIVES

Il est probable que l'extraordinaire propriété des lymphocytes B de synthétiser des anticorps pouvant se lier à pratiquement toutes les molécules continuera à être employée. La technologie des anticorps monoclonaux remplacera celle des anticorps polyclonaux. Par contre, il n'est pas certain que le procédé de fusion cellulaire qui est communément utilisé actuellement, le sera encore longtemps. L'ingénierie génétique peut apporter d'autres méthodes, comme la transfection, qui pourraient rendre l'immortalisation des lymphocytes B plus aisée. L'ingénierie protéique pourra également contribuer à l'amélioration ou à l'apport de qualités nouvelles à des anticorps monoclonaux déjà existants.

## CONCLUSION

Comment ne pas terminer ce chapitre relatant une découverte capitale pour le développement scientifique et médical, sans rappeler que cette superbe réussite de la biotechnologie est le fruit d'une recherche à but purement fondamental et sans idée préconçue d'applications.

## Référence

- Biofutur.  
162 pa  
BROWN J  
and fu  
1986.  
GODING J  
Second  
Commerc  
scale-u  
York a  
Rat hybri  
CRC P

## Référence

1. BAZI  
Trans  
I. Ge  
and t  
568-5
2. BAZI  
the L  
E Pe  
Perga
3. BAZI  
antib  
purif  
Immu
4. CHIO  
Epste  
tion  
doma
5. COTT

## BIBLIOGRAPHIE

## Références générales

- Biofutur. Spécial Anticorps Monoclonaux. 1986, numéro 44, 162 pages.
- BROWN J. Human monoclonal antibodies : current techniques and future perspectives. IRL Press, Oxford, Washington, 1986, 100 pages.
- GODING JW. Monoclonal antibodies : principles and practice. Second Edition. Academic Press, 1987.
- Commercial production of monoclonal antibodies. A guide for scale-up. Vol. 2. SS Seaver, ed. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, 1987, p. 327.
- Rat hybridomas and rat monoclonal antibodies. H Bazin, ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida (in press).

## Références

1. BAZIN H, DECKERS C, BECKERS A, HEREMANS JF. Transplantation immunoglobulin secreting tumors in rats. I. General features of LOU/Wsl strain rat immunocytomas and their monoclonal proteins. *Int J Cancer*, 1972, 10 : 568-580.
2. BAZIN H. Production of rat monoclonal antibodies with the LOU rat non secreting IR983F myeloma cell line. *In* : E Peeters. *Prot. Biol. Fluids*, 29th Colloquium 1981, Pergamon Press, Oxford and NY, 1982, pp. 615-618.
3. BAZIN H, MALACHE JM. Rat (and mouse) monoclonal antibodies. V. A simple automated technique of antigen purification by immunoaffinity chromatography. *J Immunol Methods*, 1986, 88 : 19-24.
4. CHIORAZZI N, WASSERMAN RL, KUNKEL HG. Use of Epstein-barr virus-transformed B cell lines for the generation of immunoglobulin-producing human B cell hybridomas. *J Exp Med*, 1982, 156 : 930-935.
5. COTTON RGH, MILSTEIN C. Fusion of two immunoglo-

bulin-producing myeloma cells. *Nature (London)*, 1973, 244 : 42-43.

6. GALFRE G, MILSTEIN C, WRIGHT B. Rat × rat hybrid myelomas and a monoclonal anti-Fd portion of mouse IgG. *Nature (London)*, 1979, 277 : 131-132.
7. GLASSY MC, HANDLEY HH, HAGIWARA H, ROYSTON I. UC 729-6, a human lymphoblastoid B cell line useful for generating antibody-secreting human-human hybridomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, 80 : 6327-6331.
8. GOFFINET P, KNOWLES B, NATHENSON SG, SCHARFF MD. Suppression of immunoglobulin synthesis by cellular hybridization. *Nature (London)*, 1971, 231 : 87-90.
9. KÖHLER G, MILSTEIN C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature (London)*, 1975, 256 : 495-497.
10. LEBACQ-VERHEYDEN AM, RAVOET AM, BAZIN H et al. Rat AL2, AL3, AL4 and monoclonal antibodies bind to the common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA) gp 100. *Int J Cancer*, 1983, 32 : 273-279.
11. LITTLEFIELD JW. Selection of hybrids from mating of fibroblast « in vitro » and their presumed recombinants. *Science*, 1964, 145 : 709-710.
12. LITTLEFIELD JW. The use of drug-resistant markers to study the hybridization of mouse fibroblasts. *Exp Cell Res*, 1966, 41 : 190-196.
13. MILSTEIN C. From the structure of antibodies to the diversification of the immune response (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*, 1985, 24 : 816-826.
14. OLSSON L, KAPLAN S. Human-human hybridomas producing monoclonal antibodies of predefined antigenic specificity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77 : 5429-5431.
15. POTTER M. Immunoglobulin-producing tumours and myeloma proteins of mice. *Phy Rev*, 1972, 52 : 631-719.
16. REINHERZ EL, KUNG PC, GOLDSTEIN G et al. Discrete stages of human intrathymic differentiation : analysis of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts of T-cell lineage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77 : 1588-1592.
17. SHULMAN M, WILDE CD, KOHLER G. A better cell line for making hybridomas secreting antibodies. *Nature (London)*, 1978, 276 : 269-270.

D. Charron

## TECHNIQUES BIOCHIMIQUES DE DÉTECTION

La caractérisation des molécules du système immunitaire a largement bénéficié, au cours des dix dernières années, de l'utilisation des techniques biochimiques d'analyse moléculaire des protéines (étude des anticorps, des antigènes solubles et de membrane, des lymphokines, des récepteurs et de leurs ligands, des molécules de différenciation et d'activation, par électrophorèse analytique et immuno-empreinte) et des acides nucléiques (étude des gènes de structure des immunoglobulines et des récepteurs de l'antigène des lymphocytes T et de leurs réarrangements, du polymorphisme du complexe majeur d'histocompatibilité et des transcrits des diverses lymphokines à l'aide de sondes nucléiques par transfert de Southern et de type Northern).

### ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES

Trois techniques électrophorétiques, ayant pour support un gel de polyacrylamide, sont principale-

ment utilisées pour caractériser les protéines et les polypeptides : la séparation des molécules peut être effectuée selon leur poids moléculaire (électrophorèse en gel de polyacrylamide SDS : SDS-PAGE), leur charge (iso-électrophorèse : IEF, isoélectro-focalisation) ou la combinaison de ces deux paramètres indépendants (électrophorèse bidimensionnelle : 2D-PAGE). Ainsi, un ensemble hétérogène de protéines et de polypeptides peut-il être résolu en ses différentes composantes moléculaires. Outre la visualisation directe des protéines et des polypeptides, cette technique permet de vérifier la pureté d'une préparation ou d'un immunoprécipité.

### Électrophorèse en gel de polyacrylamide SDS en une dimension (1D-SDS-PAGE)

Cette méthode de séparation des protéines et des polypeptides selon le poids moléculaire, peut être réalisée en tube cylindrique ou en plaque (Fig. 58-1). Cette dernière variante supplante la première, car elle permet une analyse autoradio-

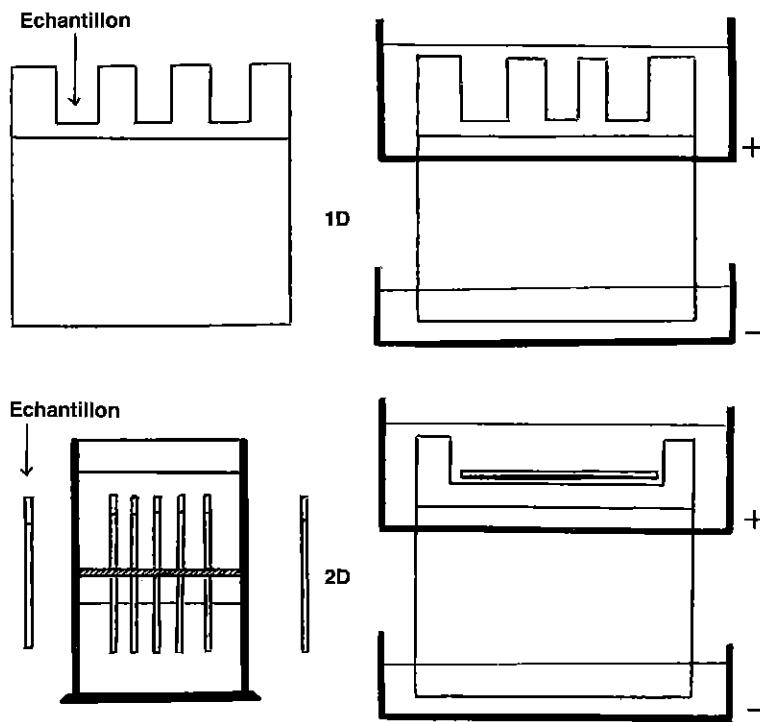


Figure 58-1 Gel de polyacrylamide SDS en une ou deux dimensions (1D ou 2D SDS-PAGE).

graphique de meilleure résolution et une excellente comparaison de nombreux échantillons sur un même gel.

L'équipement (notamment les cuves et les plaques d'électrophorèse) peut être obtenu auprès de fournisseurs spécialisés, ou réalisé en atelier. Il est recommandé de sélectionner l'appareillage le plus simple et celui dont l'utilisation est la plus facile. Outre le matériel d'électrophorèse proprement dit, le laboratoire doit disposer d'un générateur et d'un sécheur de gel. A titre d'exemple, nous décrivons les solutions et la procédure expérimentale utilisées pour une électrophorèse dans un gel en plaque à 10 p. cent de polyacrylamide de 0,8 mm d'épaisseur. Ce type de gel est utilisable pour la caractérisation de la plupart des antigènes solubles ou membranaires. En raison de sa faible épaisseur, il ne nécessite pas de système de réfrigération.

#### Protocole

Le gel est coulé entre deux plaques préalablement lavées et séchées avec un soin extrême.

Celles-ci sont séparées à l'aide de joints plats de 0,8 mm d'épaisseur, ou plus aisément par un joint cylindrique en silicone d'épaisseur adéquate puis sont solidarisées par des pinces sur 3 côtés. Un gel de séparation est coulé jusqu'à 3 cm en dessous du bord supérieur des plaques. Il est recouvert d'une couche protectrice d'eau distillée, d'environ 1 cm.

La polymérisation prend habituellement 1 heure. Le gel de concentration est ensuite coulé après élimination complète de la solution recouvrant le gel de séparation. Le peigne, qui délimite les espaces dans lesquels les échantillons seront déposés, est inséré dans le gel entre les deux plaques. La largeur des puits est variable et conditionne le nombre et le volume des échantillons qui pourront être analysés sur un même gel (de même, l'épaisseur des peignes peut varier en fonction du type de gel : ici 0,8 mm, souvent 1,5 ou 2 mm. Dans ce cas, une réfrigération est nécessaire).

Après 30 à 45 minutes, le peigne est retiré par

glissement  
déposés  
solution  
réservés  
migration  
et dure  
Elle est  
(coloré  
d'une or  
bromoph  
inférieur  
fixé, col  
le sécha  
blanc or  
Dans le  
sera exp  
du signa  
présence  
(film X  
selon l'i

#### Solutio

Tamp  
0,062 M  
toéthano  
pH 6,8  
1,5 M,  
lamide  
bis-acryl  
conservé  
gel de c  
p. cent,  
0,025 M  
Vérifier  
de varia

#### Exempl

Gel de  
de 10 p  
0,375 M  
tion 4 m  
p. cent  
p. cent 2

Gel de  
finale de  
SDS, 0,  
supérieur

\* L'écha  
aqueux et  
Mélange à  
dénaturé pe

glissement vers le haut. Les échantillons \* sont déposés au fond des puits et recouverts de la solution de migration. Un ou deux puits sont réservés à des marqueurs de poids moléculaire. La migration se fait à voltage non limitant, à 20 mA, et dure approximativement 3 heures ( $\pm 30$  min). Elle est arrêtée lorsque le front de migration (coloré en bleu par le dépôt en début de migration d'une ou deux gouttes d'une solution de bleu de bromophénol à 0,1 p. cent) atteint l'extrémité inférieure du gel. Après la migration, le gel est fixé, coloré au bleu de Coomassie ou à l'argent et le séchage réalisé sur un support de papier-filtre blanc ou un support transparent de cellophane. Dans le cas d'échantillons radioactifs, le gel séché sera exposé, éventuellement après amplification du signal, dans une cassette radiographique en présence d'un film autoradiographique adéquat (film X ray) avec ou sans écran d'intensification selon l'isotope utilisé.

### Solutions

Tampon-échantillon SDS (IX) : tris-base 0,062 M, glycérol 10 p. cent (p/v), 2-mercaptoéthanol 5 p. cent (p/v), SDS 2,3 p. cent (p/v), pH 6,8. Tampon gel de séparation : tris-base 1,5 M, SDS 0,4 p. cent, pH 8,8. Tampon acrylamide 30 p. cent : acrylamide 29,2 p. cent, bis-acrylamide 0,8 p. cent, filtré sur 0,45  $\mu$  et conservé à 4 °C à l'abri de la lumière. Tampon gel de concentration : tris-base 0,5 M, SDS 0,4 p. cent, pH 6,8. Tampon de migration : tris-base 0,025 M, glycine 0,192 M, SDS 0,1 p. cent. Vérifier que le pH est de 8,3 (on accepte 0,2 unité de variation).

### Exemple de préparation

**Gel de séparation** pour une concentration finale de 10 p. cent d'acrylamide, 0,1 p. cent SDS, 0,375 M-tris HCl, pH 8,8 : tampon gel de séparation 4 ml, eau distillée 6,7 ml, acrylamide 30 p. cent 5,3 ml, persulfate d'ammonium à 10 p. cent 25  $\mu$ l, Temed 12,5  $\mu$ l.

**Gel de concentration** pour une concentration finale de 4,75 p. cent d'acrylamide, 0,1 p. cent SDS, 0,125 M-tris HCl, pH 6,8 : tampon gel supérieur 2,5 ml, eau distillée 5,92 ml, 30 p. cent

d'acrylamide 1,58 ml, 10 p. cent persulfate d'ammonium 30  $\mu$ l, Temed 10  $\mu$ l.

### Électrophorèse bidimensionnelle

L'électrophorèse bidimensionnelle est actuellement la technique la plus performante pour séparer en ses constituants un mélange complexe de protéines. Elle se fonde sur deux paramètres indépendants qui caractérisent chaque polypeptide et chaque protéine : sa charge définie par le point isoélectrique et sa masse par le poids moléculaire. Ainsi, une isofocalisation en présence d'urée dans la 1<sup>re</sup> dimension et une migration en condition dénaturante en présence de SDS en gel de polyacrylamide dans la 2<sup>e</sup> dimension, permettent-elles la résolution d'une protéine en un spot unique dont les coordonnées X-Y sont caractéristiques. La sensibilité de cette technique est exceptionnelle, pouvant aller jusqu'à 0,001 p. cent des protéines totales d'une préparation radioactive.

Cependant, depuis la description initiale de O'Farrell, de nombreuses variantes et améliorations techniques ont été utilisées. Cependant les protocoles et appareils les plus simples restent ceux qui donnent les meilleurs résultats, notamment en ce qui concerne la reproductibilité.

La 1<sup>re</sup> dimension est réalisée dans un tube cylindrique de petit diamètre (1,5 mm).

La seconde dimension est un gel de SDS polyacrylamide en plaque, pour lequel le matériel, la procédure et les solutions sont identiques à ceux décrits pour le 1D-SDS-PAGE (voir Fig. 58-1). La première dimension peut être une isoélectrofocalisation (IEF) assurant la résolution des protéines migrant de pH 4,5 à pH 7 ou un gradient de pH non équilibré (NEPHGE) qui permet l'analyse de protéines et de polypeptides plus basiques, migrant jusqu'à pH 9.

### Solutions

Acrylamide à 30 p. cent pour NEPHGE et IEF : acrylamide 28,38 g, bis-acrylamide 1,62 g, H<sub>2</sub>O : compléter à 100 ml. NP40 à 10 p. cent : 5 g dans 50 ml d'eau distillée. Tampon échantillon SDS : tris-base 7,57 g, glycérol 100 g, 2ME 50 ml, SDS 23 g dans 750 ml d'eau distillée. Porter le pH à 6,8. Ajuster à 1 litre et conserver à 4 °C. Solution « Overlay » : urée cristalline (9 M) 12,53 g, ampholines pH 5-7, 0,5 M, ampholines pH 3,5-10, 0,125 ml. Compléter à 25 ml avec de

\* L'échantillon (environ 10  $\mu$ l) aura été préparé en tampon aqueux et devra comporter de 1 à 100  $\mu$ g de protéines. Mélangé à parts égales avec le tampon échantillon il sera dénaturé pendant 3 minutes à 95 °C avant son dépôt sur le gel.



l'eau distillée. Dissoudre au bain-marie. Stocker à  $-70^{\circ}\text{C}$  en aliquots de 0,2 ml.

### Exemple de préparation

Pour 8 gels de type IEF ou NEPHGE, on prépare les solutions présentées dans l'encadré ci-dessous.

### Protocole

**Focalisation isoélectrique (IEF) :** les gels sont coulés jusqu'à 0,5 cm du bord supérieur de tubes cylindriques d'environ 13 cm de long, préalablement obturés à leur extrémité inférieure. Après polymérisation, la surface du gel est recouverte par 20  $\mu\text{l}$  de tampon échantillon. Les tubes sont ensuite montés dans la cuve. La cuve inférieure est remplie de tampon anode (acide orthophosphorique à 0,01 M) et la cuve supérieure de tampon cathode (NaOH 0,02 M). Préalablement au dépôt des échantillons, des migrations de 15 minutes à 200 V, 30 minutes à 300 V et 30 minutes à 400 V auront été réalisées. Après dépôt, les échantillons sont recouverts avec 10  $\mu\text{l}$  de la solution « Overlay ». Le réservoir supérieur est rempli du tampon de cathode et la migration effectuée à 300 V pendant 16 heures ou à 400 V pendant 12 heures.

**Gel d'électrophorèse à gradient de pH non équilibré (NEPHGE) :** les étapes sont identiques à celles décrites pour l'IEF à l'exception de la composition du gel qui est un NEPHGE. Après dépôt des échantillons, on dépose 10  $\mu\text{l}$  de solution « Overlay » sur chaque échantillon et on complète le remplissage des tubes avec de la solution anode, ici dans la cuve supérieure. La migration sera de 5,5 heures à 500 V en inversant

les polarités (soit à la sortie de la cuve, soit à la sortie du générateur) sans migration préalable au dépôt des échantillons.

Pour réaliser la 2<sup>e</sup> dimension, on utilisera le protocole décrit pour le 1D-SDS-PAGE (voir page 623) avec les modifications suivantes : le peigne est ici remplacé par un élément en plastique (Téflon) de dimension identique, mais à surface plane. Celui-ci est inséré de 1 à 2 mm dans le gel de concentration. Après polymérisation, l'élément plastique est retiré. Le gel cylindrique de 1<sup>re</sup> dimension (IEF ou NEPHGE) est placé au-dessus du gel en plaque et est solidarisé à celui-ci à l'aide d'une solution d'agarose à 1 p. cent préalablement chauffée. Après solidification de l'agarose, l'ensemble est monté sur la cuve de migration et la procédure est celle décrite au paragraphe 1. Le gel bidimensionnel est une méthodologie dont les applications en immunologie et en immunogénétique sont très nombreuses. Il permet d'identifier des antigènes de différenciation des cellules lymphoïdes, des facteurs de croissance solubles, des récepteurs et leurs ligands et des protéines régulatrices. Les molécules sont habituellement isolées au préalable par immunoprécipitation soit directement, soit après marquage à l'aide d'un isotope radioactif (marquage métabolique :  $^{35}\text{S}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  ou marquage catalytique  $^{125}\text{I}$ ) (Fig. 58-2 et 58-3). Cette technique peut être couplée à différentes procédures. Ainsi les expériences de « Pulse Chase » permettent une étude dynamique de la maturation des molécules; la réduction et la liaison croisée des antigènes révèlent les associations moléculaires et les marquages spécifiques couplés à des digestions enzymatiques adéquates permettent de caractériser la biosynthèse des molécules et leurs glycosylations, phosphoryla-

Urée (g)	2,75	
Acrylamide à 30 p. cent (ml)	0,665	
NP40 à 10 p. cent (ml)	1	
H <sub>2</sub> O (ml)	0,98	
Ampholytes pH 3,5-10 (ml)	0,25	
+ Persulfate d'ammonium à 10 p. cent ( $\mu\text{l}$ )	7	= NEPHGE
Temed ( $\mu\text{l}$ )	4	
Volume final (ml)	5	
Ampholytes pH 5-7 (ml)	0,2	
Ampholytes pH 3,5-10 (ml)	0,05	
+ Persulfate d'ammonium à 10 p. cent ( $\mu\text{l}$ )	5	= IEF
Temed ( $\mu\text{l}$ )	3,5	
Volume final (ml)	5	

Figure 58-3  
bidimensionnelles totales  
toïdes hu  
marquées à



Figure 58-3  
molécule H  
l'aide d'un  
lignée lymph

tions et a  
ment adap  
(système  
l'antigène  
microséq  
spot de g  
perspectiv  
biologie  
ques d'au  
biologie

### Isoélectr

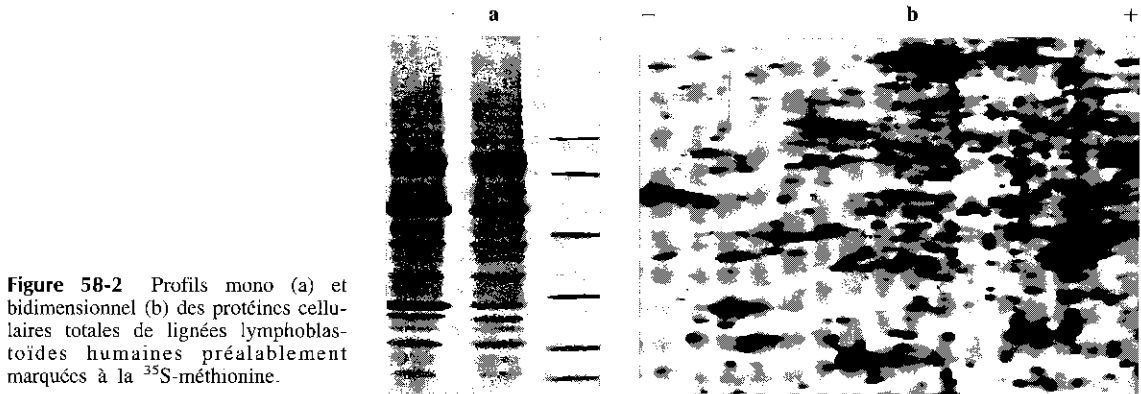
Un gra  
d'amphol  
fonction  
champ élé  
dans le g  
isoélectri  
en une z  
des proté

e, soit à la  
réalable au

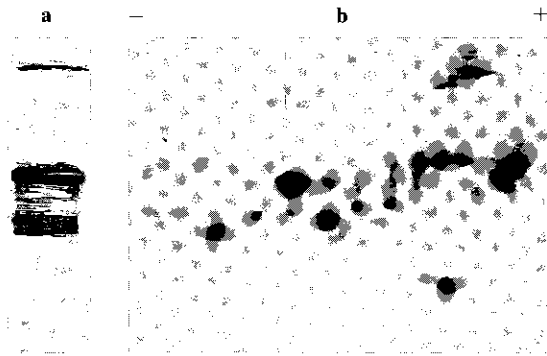
utilisera le  
(voir page  
le peigne  
plastique  
à surface  
à surface  
dans le gel  
, l'élément  
que de 1<sup>re</sup>  
au-dessus  
-ci à l'aide  
alablement

l'agarose,  
migration et  
aphe 1. Le  
ie dont les  
immunogéné-  
d'identifier  
cellules lym-  
phoblastes, des  
régula-  
ent isolées  
soit direc-  
un isotope  
S, <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C

2 et 58-3).  
différentes  
de « Pulse  
rique de la  
tion et la  
es associa-  
spécifiques  
adéquates  
thèse des  
phosphoryla-



**Figure 58-2** Profils mono (a) et bidimensionnel (b) des protéines cellulaires totales de lignées lymphoblastoïdes humaines préalablement marquées à la <sup>35</sup>S-méthionine.



**Figure 58-3** Profils mono (a) et bidimensionnel (b) d'une molécule HLA de classe II (HLA-DR) immunoprécipitée à l'aide d'un anticorps monoclonal anti-HLA-DR à partir d'une lignée lymphoblastoïde humaine.

tions et acylations. Cette méthode est particulièrement adaptée à l'étude des systèmes polymorphes (système HLA, immunoglobulines, récepteurs de l'antigène). La possibilité récente de réaliser des microséquences de protéines à partir d'un seul spot de gel bidimensionnel, laisse entrevoir des perspectives considérables de développement en biologie fondamentale, de même que les techniques d'automatisation de la lecture des gels, en biologie clinique.

### Isoélectrofocalisation

Un gradient stable de pH est établi à l'aide d'ampholines qui se répartissent dans le gel en fonction de leur point isoélectrique sous l'effet du champ électrique. Les protéines se déplacent alors dans le gel, pour atteindre leur équilibre au point isoélectrique correspondant, où elles se focalisent en une zone étroite. Cette méthode peut séparer des protéines dont les points isoélectriques ne

diffèrent que de 0,01 unité pH. Lorsqu'elle n'est pas la 1<sup>re</sup> étape du gel bidimensionnel, l'isoélectrofocalisation est habituellement réalisée en plaques, ce qui permet d'analyser et de comparer de nombreux échantillons sur un même gel.

### Solutions

Celles-ci sont données pour un gel en plaque de 16 × 16 cm de 1 mm d'épaisseur. Selon l'appareillage, l'électrophorèse peut être soit verticale, soit horizontale. Pour un gel, la préparation comporte les éléments suivants : acrylamide à 30 p. cent : 3 ml; NP 40 à 10 p. cent; urée : 10,8 g; ampholine pH 5,7 : 0,8 ml; ampholine pH 3,5 : 0,2ml; eau distillée : 20 ml; persulfate d'ammonium à 10 p. cent : 40 µl; Temed : 20 µl.

### Procédure

La solution du gel est coulée entre les plaques jusqu'à 1 cm du bord supérieur de celles-ci. Un peigne de Téflon est inséré et la polymérisation est obtenue en 1 heure 30. Le peigne est retiré et les échantillons préparés en tampon-échantillon (TE) sous un volume de 20 à 30 µl, sont placés dans chaque puits. La cuve reliée à l'anode est remplie d'une solution dégazée de soude à 50 mM et la cuve reliée à la cathode d'une solution d'acide phosphorique à 20 mM. La focalisation a lieu comme précédemment décrit.

### Autres méthodes

Outre les trois méthodes d'analyse électrophorétique des protéines et des polypeptides du système immunitaire, d'autres techniques moins courantes et nécessitant des équipements et des expérimentateurs spécialisés peuvent être utilisées. Il en est ainsi de la technique des cartes

L'analy  
mais à l'  
permetten  
l'ADN (tr  
fert de ty  
principe la  
nucléiques  
des enzym  
molécules  
et leur dét  
de nitroce  
séquences  
La détecti  
aussi être  
fragments  
sous form  
ment sur u  
tion semi-  
successive  
séquences  
messager p  
mentaire (c  
cloné d'AL

Kb

14,8

12,5

11,1

7,8

6,1

5,4

4,4

4,2

2,7

1,6

1,3

Figure 58-4  
polymorphisme  
utilisant l'enz  
profils obten  
DR1; b) DR2

peptidiques bidimensionnelles qui associe une électrophorèse pour la 1<sup>re</sup> dimension à une chromatographie en couche mince sur le gel de silice dans la seconde dimension; de l'immunoélectrophorèse en double dimension qui comporte une séparation électrophorétique en gel d'agarose suivie perpendiculairement d'une électrophorèse en gel d'agarose contenant des anticorps précipitants préalablement inclus dans le gel. Le fractionnement et l'analyse des peptides peuvent aussi être obtenus par HPLC (High Pressure Liquid Chromatography).

## TECHNIQUES D'IMMUNOEMPREINTE (IMMUNO-BLOT OU WESTERN BLOT)

Le transfert électrophorétique, sur un support généralement cellulosique, de protéines préalablement séparées sur gel de SDS polyacrylamide en permet la détection immunologique. Ainsi l'immuno-blot nécessite-t-il trois étapes :

- la résolution de l'extrait protéique sur gel d'acrylamide mono- ou bidimensionnel;
- le transfert électrophorétique sur une membrane;
- la révélation des antigènes par des anticorps monoclonaux ou des antisérums selon les techniques immunoenzymatiques et/ou radio-immunologiques.

### Protocole

Les protéines sont préalablement séparées par électrophorèse (1D, 2D-SDS-PAGE) en plaque selon les protocoles précédemment décrits. Dans la mesure où le transfert des protéines de haut poids moléculaire est favorisé par une concentration faible d'acrylamide, il est préférable d'utiliser des gels en gradient (de 7 à 15 p. cent d'acrylamide par exemple).

A l'arrêt de la migration des protéines et des polypeptides, le gel de SDS-PAGE est lavé en solution de transfert (0,5 mM tris-base, 193 mM glycine, 20 p. cent méthanol pH 8,3) ainsi que la membrane qui est habituellement un filtre absorbant de nitrocellulose\*.

\* Des membranes en nylon et des papiers prétraités (DBM ou DBT) peuvent être substitués. Ces derniers fixent les protéines de façon covalente alors que les membranes agissent par adsorption.

Préalablement découpé à la dimension adéquate, le filtre de nitrocellulose (NC) sera placé sur le gel lui-même soutenu par une surface plane. On s'assurera de l'absence absolue de bulles d'air entre le gel et le filtre. L'ensemble gel et membrane sera mis en sandwich entre deux feuillets de papier-filtre préalablement imprégnés de solution de transfert. L'ensemble gel-membrane/papier-filtre est ensuite inséré dans l'appareil de transfert avec le gel faisant face à la cathode. La cuve est remplie de la solution de transfert. Les temps et voltages de ce transfert varient selon l'appareil. On suivra les recommandations du fabricant à cet égard. Le transfert est habituellement de trois heures sous 60 volts, 0,2 à 0,3 ampère à 4 °C.

La feuille de nitrocellulose servira à l'immuno-détection des antigènes. Le gel pourra être coloré (au bleu de Coomassie, par exemple) ce qui permettra de vérifier l'efficacité du transfert. Pour la coloration de la membrane de transfert on utilise fréquemment le noir amide. Le gel est immergé dans une solution à 0,1 p. cent de noir amide (méthanol/acide acétique/eau : 4,5/1/5,5/v/v). Cette solution permet en outre, de reconnaître les marqueurs de poids moléculaire et les protéines-témoins éventuellement utilisées pour la calibration.

### Immunodétection

Les membranes sont lavées deux fois dans le tampon de lavage PBS tween (0,01 PBS, pH 7,4, 0,15 NaCl, 0,05 p. cent tween 20) à température ambiante. La membrane est placée ensuite dans un sac plastique transparent et scellée dans le volume minimum de tampon. Les dilutions des immunosérums ajoutés varient selon le type d'anticorps (du 1/50<sup>e</sup> au 1/1 000<sup>e</sup>). L'incubation peut être réalisée pendant 12 heures à 4 °C ou 1 à 3 heures à 37 °C.

Après l'incubation, la membrane est lavée en tampon PBS tween, trois fois pendant 15 à 20 minutes. Le second anticorps à employer pour la révélation dépendra de la source du premier sérum. Il sera soit conjugué à la peroxydase, soit biotinylé (les systèmes biotine-avidine ou biotine-streptavidine pourront alors être utilisés). On peut substituer à ce second anticorps soit un anticorps marqué à l'iode 125, soit de la protéine A marquée à l'iode 125. Dans ce cas, la révélation sera autoradiographique après séchage de la membrane.

## SONDES MOLÉCULAIRES

(Fig. 58-4)

L'analyse des acides nucléiques se fait désormais à l'aide de sondes moléculaires. Celles-ci permettent de détecter et de caractériser soit l'ADN (transfert de Southern) soit l'ARN (transfert de type Northern). Ces techniques ont pour principe la séparation électrophorétique des acides nucléiques soit après dénaturation et coupure par des enzymes spécifiques (dits de restriction) des molécules d'ADN, soit directement pour l'ARN, et leur détection après transfert sur une membrane de nitrocellulose par des sondes dont les séquences nucléotidiques sont complémentaires. La détection d'ADN et/ou ARN spécifiques peut aussi être réalisée sans séparation préalable des fragments. L'ADN ou l'ARN sont alors déposés sous forme de taches (« spot ou dot ») directement sur un filtre de nitrocellulose. Une appréciation semi-quantitative peut être obtenue en diluant successivement l'échantillon. Les sondes sont des séquences nucléotidiques correspondant à l'ARN messager préalablement purifié, un ADN complémentaire (transcription d'un ARNm), un fragment cloné d'ADN, ou un oligonucléotide de synthèse.

Elles sont habituellement marquées au phosphore 32 et utilisées pour l'hybridation spécifique aux séquences complémentaires par des liaisons hydrogènes inter-bases. Des marquages non radioactifs sont actuellement développés.

### Transfert de Southern (Southern blot)

Cette technique a des applications désormais importantes dans le domaine de l'immunologie, pour l'étude du réarrangement spécifique des gènes C et V des immunoglobulines au cours de la différenciation des lymphocytes B et des gènes des récepteurs de l'antigène des lymphocytes T, ainsi que pour l'étude du polymorphisme du complexe majeur d'histocompatibilité.

### Préparation de l'ADN

L'ADN génomique peut être obtenu à partir de cultures cellulaires ou de tissus frais ou congelé et conservé à  $-80^{\circ}\text{C}$  selon le protocole suivant : l'échantillon sera placé dans un tube de 10 ml, en présence de 2 ml de la solution d'homogénéisation (0,1 M NaCl, 0,2 M sucrose, 0,01 M EDTA, 0,3 M tris pH 8) après adjonction de 125  $\mu\text{l}$  de SDS à 10 p. cent et agitation, le mélange est incubé à  $65^{\circ}\text{C}$  pendant 30 min; 350  $\mu\text{l}$  d'acétate de  $\text{K}^+$  8 M sont ajoutés et le mélange est incubé à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 60 min. Après une centrifugation de 10 min à  $4^{\circ}\text{C}$ , 5 000 g, le surnageant est transféré dans un nouveau tube. L'extraction est obtenue avec 2 ml de chloroforme et 2 ml de phénol SS. Après séparation, la phase aqueuse supérieure est réextraite avec 2 ml de chloroforme. Elle est alors conservée et l'ADN précipité par addition de 5 ml d'éthanol. L'ADN est récupéré sous forme de culot, après centrifugation de 10 min à 1 500 g. Le culot d'ADN est reprécipité à l'aide de 5 ml d'éthanol à 80 p. cent, puis séché. Il est remis en suspension dans 300  $\mu\text{l}$  de tampon tris-EDTA (tris 10 mM, pH 7,4, 0,01 mM EDTA, pH 8,  $\text{H}_2\text{O}$ ) pendant 90 min à température ambiante et conservé à  $4^{\circ}\text{C}$ . De nombreuses variantes d'extraction de l'ADN peuvent être utilisées selon l'origine et la qualité de celui-ci. Digestion par des enzymes de restriction : les enzymes de restriction (ER) sont des enzymes bactériens qui coupent l'ADN double brin à des sites bien définis de la séquence

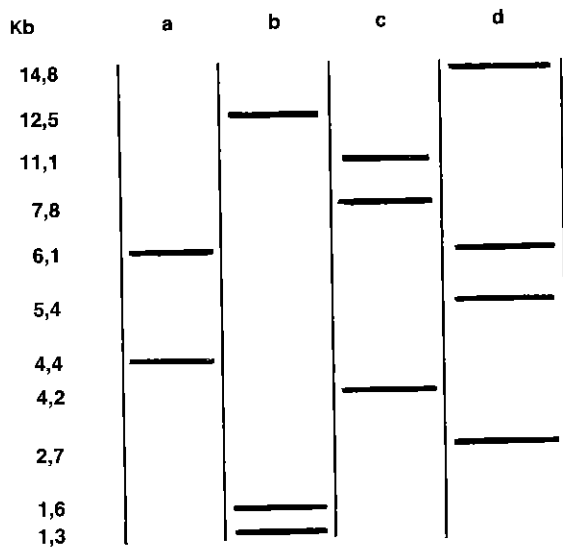
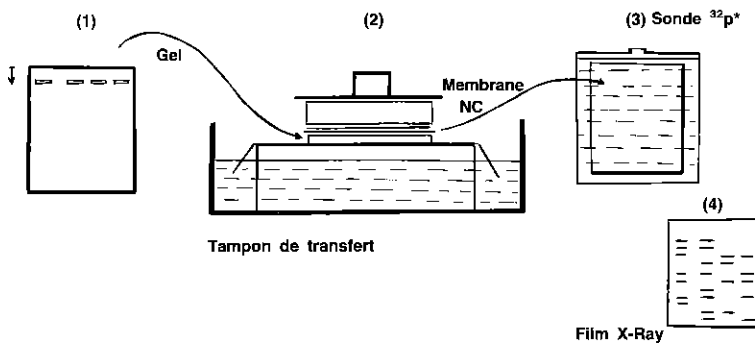


Figure 58-4 Analyse du système HLA par l'étude du polymorphisme de taille des fragments d'ADN (RFLP). En utilisant l'enzyme *TaqI* et une sonde *DR $\beta$*  spécifique, les profils obtenus (RFLP) sont caractéristiques d'individus : a) *DR1*; b) *DR2*; c) *DR3*; et d) *DR4*.



**Figure 58-5** Schéma de l'analyse par transfert de Southern après extraction et digestion de l'ADN génomique par les enzymes de restriction. 1) Séparation des fragments d'ADN par électrophorèse; 2) Transfert de l'ADN sur un filtre de nitrocellulose (transfert de Southern); 3) Hybridation avec une sonde moléculaire; 4) Autoradiographie.

nucléotidique (palindromes). Ainsi Eco R1 coupe-t-il entre les séquences :



Les protocoles d'utilisation des ER varient en fonction de l'enzyme. On utilise un tampon de composition 10 mM tris, pH 7,4, 10 mM/Mg<sup>++</sup> et de concentration saline adéquate correspondant à la force ionique optimale pour chaque réaction. La préparation d'ADN (1 µl) (voir page 629) est mélangée à 1 µl du tampon adéquat de l'enzyme de restriction, complétée à 10 µl d'H<sub>2</sub>O est incubée 1 heure à 37 °C. Le caractère complet de la digestion est vérifié sur gel (minigel).

### Électrophorèse en gel d'agarose

Elle permet la séparation des fragments d'ADN selon leur taille. On utilise un système de gel horizontal. Après avoir coulé un gel d'agarose à 0,8 p. cent, les échantillons d'ADN dirigés par les ER sont déposés dans les puits préalablement formés par l'inclusion d'un peigne avant la polymérisation du gel. La migration prend 10 à 12 heures à 35-40 V.

La séparation des fragments d'ADN est vérifiée par coloration du gel au bromure d'éthidium et révélation par exposition aux UV. Le transfert de Southern proprement dit peut être exécuté (voir Fig. 58-5). Une feuille de NC est appliquée sur le gel (préalablement placé sur un support au-dessus d'une cuve remplie de tampon de transfert \*) et recouverte d'une feuille de papier-filtre Whatman n° 3, elle-même recouverte de papier absorbant et d'une plaque d'un poids d'environ 250 g. Le transfert est réalisé en 4 à 12 heures. La

membrane de NC est ensuite séchée à 80 °C pendant 2 heures pour cuire l'ADN sur le filtre. L'hybridation du filtre est habituellement réalisée en utilisant une sonde marquée ou <sup>32</sup>P par nick translation et la révélation est autoradiographique.

### Transfert de type Northern (Northern blot)

Identique dans son principe au transfert de Southern, cette méthode concerne les ARN et permet l'étude qualitative (éventuellement semi-quantitative) de la transcription d'un gène. L'ARN est extrait de la préparation tissulaire ou cellulaire en homogénéisant celle-ci en présence d'isothiocyanate de guanidium. L'ARN est ensuite séparé et récupéré par ultracentrifugation sur gradient de césium et se retrouve sous forme d'un culot qui sera soumis à une extraction à l'éthanol. Diverses alternatives peuvent être utilisées pour purifier l'ARN. L'ARN peut aussi être préalablement sélectionné par passage sur une colonne d'oligo-dt qui retient les formes poly A<sup>+</sup> (ARNm) et les sépare des formes ARN et ARNt qui constituent la part majoritaire de l'ARN des eucaryotes. Les ARN messagers sont ensuite clivés en tampon tris-EDTA (10 mM tris, pH 7,4, 1 mM EDTA). La séparation des molécules d'ARN ainsi isolées est réalisée dans un système d'électrophorèse dénaturé, dans un gel d'agarose formaldéhyde \* qui autorise une séparation selon la taille et une bonne résolution de l'ARN monocaténaire. L'ARN ainsi déposé peut être transféré sur un filtre de nitrocellulose puis hybridé selon une procédure identique à celle employée pour l'ADN.

\* 1 l : 100 ml 10 M acétate d'ammonium, 2 ml 10 M NaOH, 0,9 ml H<sub>2</sub>O.

\* Agarose 3 g, 30 ml 10 × MOPS, 225 ml H<sub>2</sub>O, puis formaldéhyde à 37 °C, 16,2 ml (10 × MOPS : 0,2 M MOPS, 0,05 acétate Na, 0,04 M EDTA).

## Amplifica

Une des  
ques peut é  
Il est dés  
caractériser  
quantité (1  
partir d'un  
génique sp  
réaction en  
L'ADN est  
à une amor  
la séquence  
l'amorce à  
repris. Ced  
thermostab  
en 20 cycl  
par 10<sup>5</sup> d  
obtenue, c

## BIBLIOG

1. ALWINE J. of specific zyloxyme Proc Nat
2. BERGER L. to mole London.
3. BERRUM proteins. on immu 1977, 47
4. CHARRON DR anti moleculat
5. CHARRON antigènes 100 pag
6. DAVIS L. moleculat
7. GEEVER identifical Proc Nat
8. GERSON and appl
9. GODING protein

## Amplification génique

Une des limites de l'analyse des acides nucléiques peut être la quantité de matériel disponible. Il est désormais possible de détecter et de caractériser l'ADN à partir d'une très petite quantité (1 ng) d'ADN voire potentiellement à partir d'une seule molécule. L'amplification génique spécifique est obtenue *in vitro* grâce à la réaction en chaîne induite par la polymérase Taq. L'ADN est dénaturé puis spécifiquement réassocié à une amorce oligonucléotidique caractéristique de la séquence à amplifier. Après copiage à partir de l'amorce à l'aide de la polymérase, le cycle est repris. Ceci est rendu possible en raison de la thermostabilité de la polymérase utilisée. Ainsi, en 20 cycles de cette réaction, une multiplication par  $10^5$  de la séquence spécifique peut être obtenue, ce qui permet les analyses ultérieures.

## BIBLIOGRAPHIE

- ALWINE JC, KEMP DJ, STARK GR. Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzoyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes. *Proc Natl Acad Sci*, 1977, 74 : 5350.
- BERGER L, KIMMEL AR. *Methods in enzymology : Guide to molecular cloning techniques*. Academic Press, London, 1987, 812 pages.
- BJERRUM OJ. Immunochemical investigation of membrane proteins. A methodological survey with emphasis placed on immunoprecipitation in gels. *Biochim Biophys Acta*, 1977, 472 : 135.
- CHARRON DJ, McDEWITT HO. Characterization of HLA-DR antigens by two-dimensional gel electrophoresis : molecular genotyping. *J Exp Med* 1980, 152 : 18s.
- CHARRON D. *Techniques biochimiques d'analyse des antigènes de membrane*. Editions INSERM, Paris, 1987, 100 pages.
- DAVIS LG, DIBNER MD, BATTEY JF. *Basic methods in molecular biology*. Elsevier, New York, 1986, 388 pages.
- GEEVER RT, WILSON LB, NALLASETH FS et al. Direct identification of sickle cell anaemia by blot hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78 : 5081.
- GERSHONI JM, PALADE GE. Protein blotting : principles and applications. *Anal Biochem*, 1983, 131 : 1-15.
- GODING JW, HANDMAN E. Electrophoretic analysis of protein antigens. *In* : CM Morell (Ed). *Genes and antigens of parasites*, Fundação Oswaldo Uz, Rio de Janeiro, 1984, pp. 383-415.
- HOZUMI N, TONEGAWA A. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, 3628 : 73.
- JONES PP. Analysis of radiolabeled lymphocyte proteins by one and two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *In* : BB Mishell, SM Shiigi, Eds. *Selected methods in cellular immunology*, WH Freeman and Co, SF, 1980, pp. 398-440.
- KAN YW, DOZY AM. Antenatal diagnosis of sickle cell anaemia by DNA analysis of amniotic fluid cells. *Lancet*, 1987, ii : 910.
- LAEMMLI UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature*, 1970, 227 : 680-685.
- LANGER PR, WALDROP AA, WARD DC. Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides : novel acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78 : 6633-6637.
- LANZILLO JJ, STEVENS J, TUMAS J, FANBURG BL. Avidin biotin amplified immunoperoxidase staining of angiotensin I converting enzyme transferred to nitrocellulose after agarose isoelectric focusing. *Electrophoresis*, 1983, 4 : 313-316.
- MANIATIS T, FRITSCH EF, SAMBROOK J. *Molecular cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor laboratory, 1982, 545 pages.
- NEEFJES JJ, BREUR-VRIESENDORP BS, VAN SEVENTER GA et al. An improved biochemical method for the analysis of HLA-class I Antigens. Definition of new HLA-class I subtypes. *Human Immunol*, 1986, 16 : 169-181.
- O'FARRELL P. High resolution two dimensional gel electrophoresis of protein. *J Biol Chem*, 1975, 250 : 4007.
- O'FARRELL PZ, GOODMAN HP, O'FARRELL PH. High resolution two dimensional electrophoresis of basic as well as acidic proteins. *Cell*, 1977, 12 : 1133.
- SAIKI R, SCHARF S, FALOONA F et al. Enzymatic amplification of betaglobin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anaemia. *Science*, 1985, 230 : 1350.
- SOUTHERN E. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975, 98 : 152.
- SOUTHERN E. Gel electrophoresis of restriction fragments. *Methods Enzymol*, 1980, 69 : 152.
- TOWBIN H, STAHELIN T, GORDON J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76 : 4350-4354.
- TOWBIN H, GORDON J. Immunoblotting and dot immunobinding-current status and outlook. *J Immunol Methods*, 1984, 72 : 313-340.

H. Bazin

## MESURE DE L'IMMUNITÉ HUMORALE

L'immunité humorale peut être évaluée par la concentration des immunoglobulines dans divers liquides organiques et sécrétions dont le sérum, le colostrum, les sécrétions intestinales... ou par la production d'anticorps, à la suite d'une stimulation antigénique naturelle ou artificielle. Depuis longtemps, l'immunité humorale a été mesurée à l'aide de tests comme la précipitation en phase liquide, la fixation du complément, l'héماغglutination, l'hémolyse, etc. Ces tests faisaient généralement appel à la propriété anticorps des immunoglobulines qui consiste à s'unir à l'antigène correspondant et non à celle de la classe concernée. Le développement des méthodes de production des antisérums polyclonaux et monoclonaux permet aussi le dosage des classes et sous-classes d'Ig. Il est actuellement possible de réaliser des tests qui donnent les deux informations en même temps. De nombreux tests existent, chacun pouvant disséquer un ou plusieurs mécanismes de la réponse immune humorale. Leur complexité est plus ou moins grande. L'appareillage qu'ils nécessitent est très varié. Le choix des tests à employer dépendra de ces divers paramètres.

### MESURE DES IMMUNOGLOBULINES

#### ÉLECTROPHORÈSE

La méthode d'analyse la plus simple est probablement l'électrophorèse, sur papier ou en agar, du sérum à tester. L'électrophorèse consiste à faire migrer des molécules ou des particules chargées, dans ce cas les protéines du sérum, à travers un milieu liquide ou semi-solide, à l'aide d'un champ électrique. La vitesse de migration dépend de la taille et de la charge des protéines; elle varie avec le pH et la force ionique du tampon, la viscosité du milieu, la différence de potentiel appliquée au système, etc. En pratique, on fait migrer un échantillon de sérum qui se sépare en albumine et en globulines appelées alpha, bêta et gamma en fonction de leur mobilité électrophorétique. On fixe les protéines ainsi séparées dans le support utilisé pour la migration, puis on les colore pour pouvoir les observer

aisément à l'œil nu ou mieux, avec un densitomètre. Le sérum de chaque espèce animale possède un tracé électrophorétique qui lui est propre (Fig. 59-1 à 59-4). Avec un peu d'habitude, il est possible de distinguer les sérums possédant très peu ou beaucoup d'immunoglobulines (Fig. 59-5). De même, les gammopathies accompagnées d'une production monoclonale d'Ig peuvent souvent être identifiées par l'apparition d'un pic dans les régions bêta ou gamma (voir chapitre 36 et Fig. 59-6).

### PRÉCIPITATION EN GEL OU MÉTHODE D'OUCHTERLONY

La précipitation anticorps-antigène en phase liquide a été très longtemps employée. Cependant, sa mise en œuvre était laborieuse. La gélification du milieu a considérablement diminué les difficultés. Le système le plus couramment utilisé est celui d'Ouchterlony (double diffusion en gélose) qui consiste à faire diffuser les antigènes et les anticorps à partir de puits creusés dans une couche de gélose coulée sur une lame de verre (Fig. 59-7).

Si le résultat de l'analyse se traduit par de nombreuses lignes de précipitation, il est pratiquement impossible d'identifier leur nature. Il est donc nécessaire d'utiliser des antisérums monospécifiques ne précipitant qu'un seul composant du mélange antigénique. En procédant à des dilutions successives du mélange antigénique, il est possible d'obtenir une valeur semi-quantitative de la concentration du composant reconnu par l'antisérum (Fig. 59-8).

### IMMUNODIFFUSION RADIALE OU MÉTHODE DE MANCINI

Cette méthode simple et relativement rapide fait appel à un système de précipitation où l'antisérum est inclus dans une couche de gélose coulée sur une plaque de verre ou dans une boîte de Petri. Un volume déterminé de la solution d'antigène est déposé dans des puits creusés dans le gel. L'antigène diffuse à partir du puits. Dans un premier temps, il est en excès par rapport aux anticorps et il se forme des complexes solubles. Lorsque l'antigène est arrivé à une certaine distance du puits, antigène et anticorps atteignent la zone d'équivalence et forment un anneau de

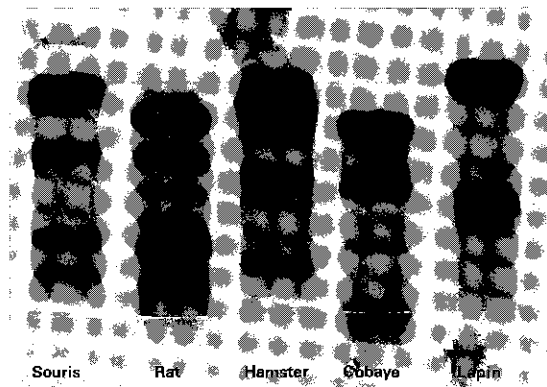


Figure 59-1 Electrophorèse en gel d'agarose (de gauche à droite) de sérums normaux de souris, rat, hamster, cobaye et lapin. Les profils de migration dans des conditions expérimentales identiques diffèrent.

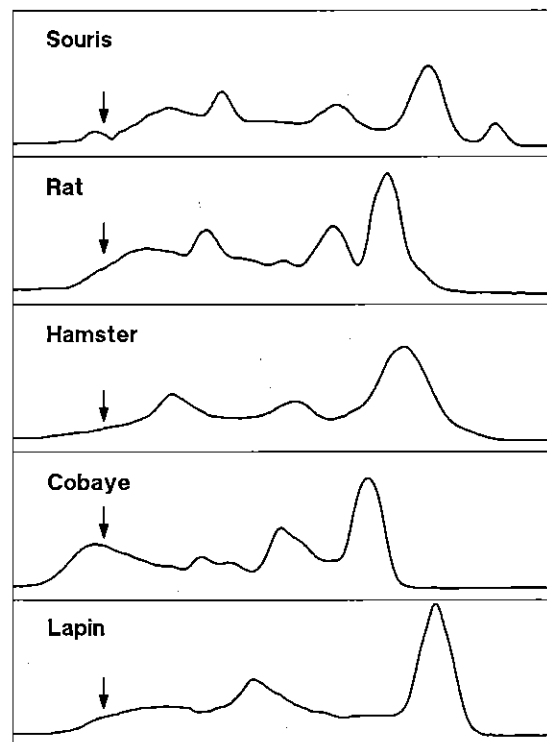


Figure 59-2 Tracés électrophorétiques, enregistrés au densitomètre, des sérums de la figure 59-1. Les flèches indiquent l'endroit des dépôts.



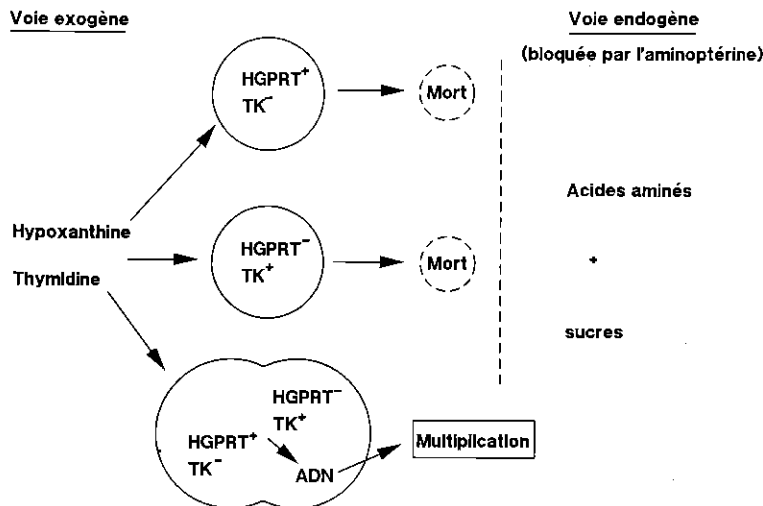


Figure 57-2 Synthèse de l'ADN. Méthode (dite de Littlefield) de sélection d'hybrides cellulaires.

ment (Fig. 57-2). Les mutants déficients en HGPRT ou en TK sont sélectionnés dans les milieux de culture par addition d'analogues de l'hypoxanthine (8-azaguanine) ou de la thymidine (bromodéoxyuridine) qui empoisonnent toutes les cellules HGPRT+ ou TK+. Seules peuvent y échapper les cellules qui ne possèdent pas ces enzymes permettant l'incorporation du ou des analogue(s) comme le montre la figure 57-3.

De nombreux travaux ont été réalisés, ces dernières années, à l'aide de lignées hybrides provenant soit d'une même espèce (lignée intra-

spécifique), soit d'espèces différentes (lignée interspécifique). Les premiers sont relativement stables et leurs cellules perdent peu de chromosomes au cours de leurs divisions successives. Par contre, les seconds en perdent le plus souvent beaucoup et rapidement.

### Hybridation de cellules produisant des immunoglobulines

Il était tentant d'employer cette technologie générale d'hybridation cellulaire pour fusionner des lymphocytes B normaux ou myélomateux avec des cellules transformées, à croissance rapide et indéfinie. La fusion de cellules myélomateuses de souris avec des fibroblastes montra une nette extinction de la synthèse des immunoglobulines dans ce type de cellules hybrides [8] et donc l'impossibilité d'utiliser cette approche expérimentale. Par contre, la fusion de cellules myélomateuses entre elles permet d'étudier individuellement les différentes chaînes lourdes et légères d'immunoglobulines synthétisées par les cellules parentales et celles de leur « progéniture » hybride. Dans ces expériences, Cotton et Milstein [5] montrèrent, d'une part que de vrais hybrides pouvaient être obtenus entre des cellules myélomateuses et, d'autre part, qu'ils pouvaient synthétiser conjointement des immunoglobulines (codominance de synthèse). Ces constatations permirent ainsi d'établir les bases nécessaires à la découverte des hybridomes par fusion cellulaire. Ces expériences furent confirmées dans d'autres

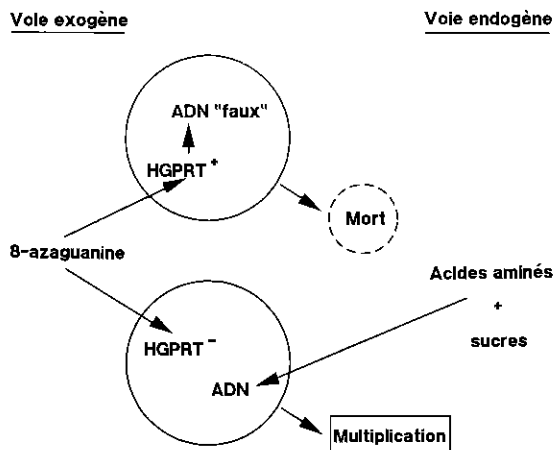
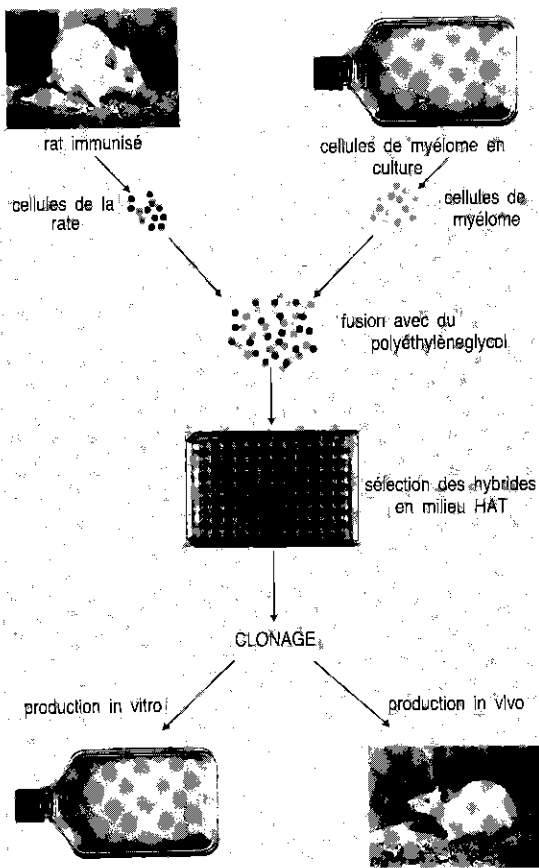


Figure 57-3 Synthèse de l'ADN. Méthode de sélection de mutants cellulaires résistants.



**Figure 57-4** Production d'anticorps monoclonaux. Les animaux (généralement souris ou rats) sont immunisés avec l'antigène. Lorsqu'une bonne réponse en anticorps est obtenue, des lymphocytes spléniques sont préparés (les cellules des ganglions lymphatiques peuvent aussi être utilisées). Ces cellules sont fusionnées avec des cellules d'une lignée de plasmocytome (immunocytome) par addition de polyéthylène glycol (PEG) qui induit la fusion membranaire. Seule une petite proportion de cellules fusionne avec succès. Le mélange est ensuite mis en culture dans un milieu « HAT », mélange d'hypoxanthine, aminoptérine et thymidine. Lorsque la culture est développée en milieu HAT, elle contient des cellules spléniques, des cellules de plasmocytome et des hybrides. Les premières meurent naturellement après 1-2 semaines, les deuxièmes sont tuées par le HAT, mais les hybrides survivent car ils possèdent l'immortalité des cellules de myélome et les propriétés métaboliques des cellules spléniques. Certains auront également la capacité de produire des anticorps. Tous les puits contenant des cellules qui se multiplient sont testés pour la production de l'anticorps souhaité (souvent par RIA ou ELISA) et s'ils sont positifs, la culture est clonée, c'est-à-dire répartie dans des plaques de telle sorte qu'il n'y ait qu'une cellule par puits. Le résultat obtenu est l'obtention d'un clone cellulaire provenant d'une seule cellule-souche qui est à la fois immortelle et productrice d'anticorps (monoclonal).

systèmes, en particulier dans le laboratoire de C. Milstein où la technologie des fusions cellulaires devint de plus en plus familière.

### Découverte de la technologie des hybridomes (Fig. 57-4)

Il n'est pas étonnant que cette maîtrise technologique donna à ce groupe la possibilité d'accomplir le pas fondamental dans la lente progression à la recherche d'anticorps monoclonaux [9]. Ils fusionnèrent des cellules myéломateuses avec des cellules spléniques provenant de souris immunisées contre un antigène donné et obtinrent des lignées de cellules hybrides ou hybridomes produisant de grandes quantités de molécules identiques d'anticorps encore appelés anticorps monoclonaux. Il y avait une véritable immortalisation d'un lymphocyte B producteur d'un anticorps donné grâce à sa fusion avec une cellule myéломateuse. Plus exactement, il y avait immortalisation de la production d'un anticorps par une « pseudo-transformation » d'une cellule synthétisant un anticorps, à durée de vie courte en un clone cellulaire se divisant indéfiniment tout en continuant à synthétiser des molécules du même anticorps.

### PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Allier, dans une même cellule hybride, la propriété de se diviser indéfiniment d'une cellule tumorale à celle de produire des anticorps de spécificité prédéterminée, appartenant à un lymphoblaste obtenu à partir d'un animal immunisé, de manière à obtenir un clone cellulaire fabriquant des molécules identiques d'anticorps, en quantité théoriquement illimitée.

### HYBRIDES PRODUISANT DES ANTICORPS MONOCLONAUX

La technique d'obtention des hybridomes et de leur production d'anticorps monoclonaux n'a pas fondamentalement évolué depuis sa découverte. Les procédures expérimentales actuelles dérivent de celles décrites originellement par Köhler et

**Figure 57-5**  
Méthode de s

Milstein [9] ses cellules fusionne a culture in (HGPRT) dans un normaux ot tanément. meurent, ca nucléique endogène, peuvent su d'une part apportée pa et, d'autre myélome ( Dans la succès des

### Espèce au du produ

L'espèce monoclonal donneur du lignées fusi permettant souris, rat- possible de comme sc

oire de C.  
cellulaires

se techno-  
d'accom-  
gression à  
k [9]. Ils  
s avec des  
s immuni-  
inrent des  
hybridomes  
molécules  
anticorps  
immortali-  
d'un anti-  
ne cellule  
ait immor-  
ps par une  
e synthéti-  
arte en un  
nt tout en  
du même

DE

ybride, la  
une cellule  
anticorps de  
à un lym-  
immunisé,  
fabriquant  
en quantité

DES  
AUX

omes et de  
aux n'a pas  
découverte.  
es dérivent  
Köhler et

Voie exogène

Voie endogène

(bloquée par l'aminoptérine)

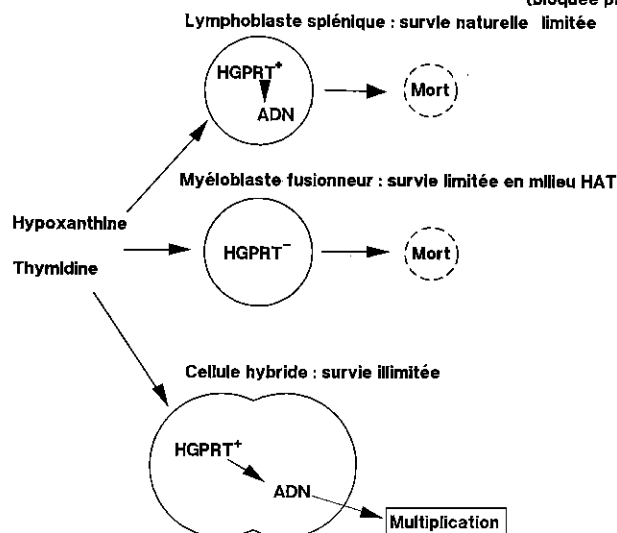


Figure 57-5 Synthèse de l'ADN.  
Méthode de sélection des hybridomes.

Milstein [9]. On immunise un animal. On récolte ses cellules spléniques ou ganglionnaires. On les fusionne avec celles d'un myérome adapté à la culture in vitro et déficient en HGPRT (HGPRT<sup>-</sup>). L'ensemble des cellules est transféré dans un milieu HAT. Là, les lymphocytes normaux ou immuns dégénèrent et meurent spontanément. Les cellules du myérome HGPRT<sup>-</sup> meurent, car la seule synthèse d'acide désoxyribonucléique possible, c'est-à-dire celle dite endogène, est bloquée par l'aminoptérine. Seules peuvent survivre les cellules hybrides, possédant d'une part la voie de synthèse exogène de l'ADN apportée par le lymphocyte de l'animal immunisé et, d'autre part, l'immortalité de la cellule de myérome (Fig. 57-5).

Dans la pratique, divers facteurs influencent le succès des expériences d'hybridation.

### Espèce animale du producteur d'anticorps

L'espèce de l'animal producteur d'anticorps monoclonaux est limitée par l'espèce animale du donneur du myérome. Actuellement, il existe des lignées fusionnantes de souris, de rat et humaines permettant d'obtenir des hybridomes souris-souris, rat-rat et homme-homme. Il est également possible de réaliser des fusions interspécifiques comme souris-hamster, souris-homme, souris-

lapin, souris-bovin... La stabilité de la production d'anticorps monoclonaux obtenue par ces lignées cellulaires est souvent réduite, mais quelques succès intéressants ont été obtenus.

### Myérome fusionneur

Köhler et Milstein ont dérivé leurs différentes lignées de fusion du plasmocytome MOPC 21 de la souris BALB/c [15]. Les premières sécrétaient des molécules d'IgG1 myéromateuses (P3-X63-Ag8) ou seulement les chaînes légères kappa (NS1). Depuis, d'autres lignées ont été obtenues. Elles sont non sécrétantes et leurs propres produits de synthèse ne contaminent pas la production d'anticorps de l'hybridome. En effet, les premières lignées sécrétaient, elles-mêmes, des immunoglobulines myéromateuses qui étaient incorporées au hasard dans les molécules d'anticorps monoclonaux et altéraient, au moins partiellement, leur homogénéité et donc leurs propriétés anticorps (spécificité, avidité, etc.). Le deuxième modèle existant est celui du rat, dont des lignées de fusion ont été dérivées d'immunocytomes de rats Louvain [1] dont la lignée IR983F, non sécrétrice d'immunoglobuline myéromateuse, paraît la plus intéressante, car elle donne des hybridomes stables et bons producteurs d'anticorps monoclonaux.

De nombreux essais ont été réalisés avec des cellules lymphoïdes B cancéreuses humaines et des cellules lymphoïdes humaines d'individus immunisés, par exemple par vaccination. Actuellement, les résultats obtenus sont relativement décevants car les productions en anticorps monoclonaux humains sont assez faibles [14] (Tableau 57-I).

**Tableau 57-I** Principales souches myélomateuses utilisées pour la construction d'hybridomes.

Lignée cellulaire	Origine	Production propre d'immunoglobulines myélomateuses		Références
		Chaîne lourde	Chaîne légère	
PX-X63-Ag8	Souris	+	+	9
Sp2/O-Ag1,4	Souris	-	-	17
Y3Ag1,2,3	Rat	-	+	6
IR983F	Rat	-	-	2
U266AR1	Homme	+	+	14
UC729-6	Homme	+	+	7

### Fusion

Le polyéthylèneglycol, d'emploi commode, est le moyen le plus utilisé pour fusionner les cellules.

### Sélection des hybridomes

Elle se fait en milieu HAT. Des quantités limitées d'anticorps monoclonaux peuvent aisément être obtenues. Le criblage de leurs propriétés sécrétrices doit se faire le plus tôt possible. Il faut, en effet, au moins au début des cultures, cloner et recloner les cellules des hybridomes car la stabilité de leur génome et donc de leurs propriétés sécrétrices est loin d'être parfaite.

### Production massive d'anticorps monoclonaux

#### Production *in vitro*

Les clones commencent à se développer entre le 5<sup>e</sup> et le 21<sup>e</sup> jour, à l'aide de cultures *in vitro* de l'hybridome en flacons de plastique de taille

variable (maximum 2-3 litres). Une firme commerciale a mis au point un système de culture d'hybridomes en billes d'alginate dans des réacteurs de taille moyenne. D'autres utilisent des cellules d'hybridome en suspension dans des bioréacteurs d'une taille allant jusqu'à 2 m<sup>3</sup>. Enfin, les techniques de culture en fibres creuses ont beaucoup d'adeptes. Il est difficile à ce jour de prédire quelle sera la meilleure technique du futur. Cependant, ces techniques constituent, sans aucun doute, le mode de production des anticorps monoclonaux en grande quantité.

#### Production *in vivo*

Il est possible de cultiver les hybridomes dans des animaux histocompatibles quand il en existe, en général des souris BALB/c ou des rats Louvain ou leurs hybrides de première génération. Il est ainsi possible d'obtenir 50 à 80 mg d'anticorps monoclonal purifié par rat [3].

### Développement de nouveaux modèles d'hybridomes synthétisant des anticorps monoclonaux

Les deux modèles existants, c'est-à-dire ceux de la souris et du rat, permettent d'avoir deux répertoires anticorps différents, par exemple, d'obtenir des anticorps monoclonaux respectivement contre les antigènes de rat ou de souris. Le fait que la technologie des hybridomes n'ait pas été étendue à d'autres espèces peut s'expliquer par le manque de lignées cellulaires myélomateuses continues. Il reste donc un travail considérable à réaliser pour obtenir de telles lignées cellulaires dans les différentes espèces où des myélomes ont été décrits : cheval, vache, porc, lapin, chien, chat...

Le modèle humain a été, comme il était logique de s'y attendre, très étudié, et le premier succès fut signé Olsson et Kaplan [14]. Malheureusement, le problème n'était pas résolu pour autant et ne l'est toujours pas malgré d'énormes efforts.

Des hybridomes hétérosécifiques sécrétant des anticorps monoclonaux de hamster, de lapin et de bovin ont été obtenus mais, jusqu'à présent, ce ne sont que des cas isolés.

ANTICO

INTÉR  
MON

Les employé polyclo quelques majeurs.

Créatio

Ils pe prédéter donné. E nique e permette tables pa inconnue

Stabilité

Au co monoclon est établi

Product

Ils peu ment illi

Conserv

Ils sont être cons remises e

Ces di produits p en biolog ment utili

INCON

Ils exist raître ave

Qualité

La spéc naux emp

## INTÉRÊTS DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Les anticorps monoclonaux peuvent être employés de manière analogue aux anticorps polyclonaux conventionnels. Ils présentent quelques défauts mineurs et plusieurs avantages majeurs.

### Création « à la demande »

Ils peuvent avoir, en principe, une spécificité prédéterminée contre un épitope d'un antigène donné. En prenant comme cible un motif antigénique et un seul, les anticorps monoclonaux permettent la découverte de molécules indétectables par les antisérums conventionnels et même inconnues au préalable.

### Stabilité et homogénéité totales

Au cours de leur production, les anticorps monoclonaux ne changent pas de structure. Elle est établie une fois pour toutes.

### Production illimitée

Ils peuvent être produits en quantité théoriquement illimitée.

### Conservation illimitée

Ils sont synthétisés par des cellules qui peuvent être conservées aisément dans l'azote liquide et remises en culture à la demande.

Ces divers aspects des anticorps monoclonaux produits par les hybridomes en font, en médecine, en biologie et dans l'industrie, un outil extrêmement utile.

## INCONVÉNIENTS

Ils existent mais ils sont susceptibles de disparaître avec le temps.

### Qualité intrinsèque des anticorps

La spécificité très fine des anticorps monoclonaux empêche parfois d'obtenir des réactions

classiques identiques à celles des anticorps polyclonaux, en particulier dans les techniques de précipitation en gélose. Moins l'épitope reconnu par l'anticorps monoclonal est représenté sur l'antigène, plus il est difficile d'obtenir un réseau de précipitation. De plus, les anticorps monoclonaux à haute affinité pour leur antigène sont rares et donc difficiles à obtenir. Enfin, certains anticorps monoclonaux de rongeurs sont difficiles à manipuler, c'est-à-dire à couper en fragments, tels que F(ab')<sub>2</sub>, Fc..., ou à marquer, par exemple à l'iode radioactif ou à la peroxydase; d'autres peuvent être plus instables à la conservation par comparaison aux anticorps polyclonaux de lapin ou de chèvre.

### Coût élevé

La création des hybridomes synthétisant des anticorps monoclonaux est une technique relativement lourde et onéreuse par rapport à celle des antisérums polyclonaux.

## EMPLOI DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Ils ont à peu près toutes les qualités des sérums polyclonaux conventionnels et peuvent les remplacer dans la plupart de leurs emplois.

### Emploi général des anticorps monoclonaux

#### *Définition d'antigènes et caractérisation d'épitopes*

Ceci est certainement l'apport le plus important des anticorps monoclonaux. Ils ont permis de découvrir des antigènes insoupçonnés comme les antigènes CD3, CD4, CD8 des lymphocytes T humains définissant les sous-populations des lymphocytes T circulants, T auxiliaires et T cytotoxiques et suppresseurs [16] dont l'équivalent a été trouvé chez le rat, la souris, le mouton, les bovins et le porc et le sera probablement bientôt dans toutes les espèces animales domestiques.

#### *Détection, localisation et quantification de molécules*

Les anticorps monoclonaux ont permis la détection et même la quantification dans des milieux

De nombreux essais ont été réalisés avec des cellules lymphoïdes B cancéreuses humaines et des cellules lymphoïdes humaines d'individus immunisés, par exemple par vaccination. Actuellement, les résultats obtenus sont relativement décevants car les productions en anticorps monoclonaux humains sont assez faibles [14] (Tableau 57-I).

Tableau 57-I Principales souches myélomateuses utilisées pour la construction d'hybridomes.

Lignée cellulaire	Origine	Production propre d'immunoglobulines myélomateuses		Références
		Chaîne lourde	Chaîne légère	
PX-X63-Ag8	Souris	+	+	9
Sp2/O-Ag1,4	Souris	-	-	17
Y3Ag1,2,3	Rat	-	+	6
IR983F	Rat	-	-	2
U266AR1	Homme	+	+	14
UC729-6	Homme	+	+	7

### Fusion

Le polyéthylène glycol, d'emploi commode, est le moyen le plus utilisé pour fusionner les cellules.

### Sélection des hybridomes

Elle se fait en milieu HAT. Des quantités limitées d'anticorps monoclonaux peuvent aisément être obtenues. Le criblage de leurs propriétés sécrétrices doit se faire le plus tôt possible. Il faut, en effet, au moins au début des cultures, cloner et recloner les cellules des hybridomes car la stabilité de leur génome et donc de leurs propriétés sécrétrices est loin d'être parfaite.

### Production massive d'anticorps monoclonaux

#### Production in vitro

Les clones commencent à se développer entre le 5<sup>e</sup> et le 21<sup>e</sup> jour, à l'aide de cultures in vitro de l'hybridome en flacons de plastique de taille

variable (maximum 2-3 litres). Une firme commerciale a mis au point un système de culture d'hybridomes en billes d'alginate dans des réacteurs de taille moyenne. D'autres utilisent des cellules d'hybridome en suspension dans des bioréacteurs d'une taille allant jusqu'à 2 m<sup>3</sup>. Enfin, les techniques de culture en fibres creuses ont beaucoup d'adeptes. Il est difficile à ce jour de prédire quelle sera la meilleure technique du futur. Cependant, ces techniques constituent, sans aucun doute, le mode de production des anticorps monoclonaux en grande quantité.

#### Production in vivo

Il est possible de cultiver les hybridomes dans des animaux histocompatibles quand il en existe, en général des souris BALB/c ou des rats Louvain ou leurs hybrides de première génération. Il est ainsi possible d'obtenir 50 à 80 mg d'anticorps monoclonal purifié par rat [3].

### Développement de nouveaux modèles d'hybridomes synthétisant des anticorps monoclonaux

Les deux modèles existants, c'est-à-dire ceux de la souris et du rat, permettent d'avoir deux répertoires anticorps différents, par exemple, d'obtenir des anticorps monoclonaux respectivement contre les antigènes de rat ou de souris. Le fait que la technologie des hybridomes n'ait pas été étendue à d'autres espèces peut s'expliquer par le manque de lignées cellulaires myélomateuses continues. Il reste donc un travail considérable à réaliser pour obtenir de telles lignées cellulaires dans les différentes espèces où des myélomes ont été décrits : cheval, vache, porc, lapin, chien, chat...

Le modèle humain a été, comme il était logique de s'y attendre, très étudié, et le premier succès fut signé Olsson et Kaplan [14]. Malheureusement, le problème n'était pas résolu pour autant et ne l'est toujours pas malgré d'énormes efforts.

Des hybridomes hétérospécifiques sécrétant des anticorps monoclonaux de hamster, de lapin et de bovin ont été obtenus mais, jusqu'à présent, ce ne sont que des cas isolés.

## INTÉR MONO

Les a  
employés  
polyclon  
quelques  
majeurs

## Créatio

Ils pe  
prédétern  
donné. E  
nique et  
permettre  
tables pa  
inconnue

## Stabilité

Au co  
monoclo  
est établ

## Product

Ils pe  
ment ill

## Conser

Ils son  
être con  
remises  
Ces d  
produits  
en biolo  
ment ut

## INCO

Ils ex  
raître av

## Qualité

La sp  
naux e

## INTÉRÊTS DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Les anticorps monoclonaux peuvent être employés de manière analogue aux anticorps polyclonaux conventionnels. Ils présentent quelques défauts mineurs et plusieurs avantages majeurs.

### Création « à la demande »

Ils peuvent avoir, en principe, une spécificité prédéterminée contre un épitope d'un antigène donné. En prenant comme cible un motif antigénique et un seul, les anticorps monoclonaux permettent la découverte de molécules indétectables par les antisérum conventionnels et même inconnues au préalable.

### Stabilité et homogénéité totales

Au cours de leur production, les anticorps monoclonaux ne changent pas de structure. Elle est établie une fois pour toutes.

### Production illimitée

Ils peuvent être produits en quantité théoriquement illimitée.

### Conservation illimitée

Ils sont synthétisés par des cellules qui peuvent être conservées aisément dans l'azote liquide et remises en culture à la demande.

Ces divers aspects des anticorps monoclonaux produits par les hybridomes en font, en médecine, en biologie et dans l'industrie, un outil extrêmement utile.

## INCONVÉNIENTS

Ils existent mais ils sont susceptibles de disparaître avec le temps.

### Qualité intrinsèque des anticorps

La spécificité très fine des anticorps monoclonaux empêche parfois d'obtenir des réactions

classiques identiques à celles des anticorps polyclonaux, en particulier dans les techniques de précipitation en gélose. Moins l'épitope reconnu par l'anticorps monoclonal est représenté sur l'antigène, plus il est difficile d'obtenir un réseau de précipitation. De plus, les anticorps monoclonaux à haute affinité pour leur antigène sont rares et donc difficiles à obtenir. Enfin, certains anticorps monoclonaux de rongeurs sont difficiles à manipuler, c'est-à-dire à couper en fragments, tels que F(ab')<sub>2</sub>, Fc..., ou à marquer, par exemple à l'iode radioactif ou à la peroxydase; d'autres peuvent être plus instables à la conservation par comparaison aux anticorps polyclonaux de lapin ou de chèvre.

### Coût élevé

La création des hybridomes synthétisant des anticorps monoclonaux est une technique relativement lourde et onéreuse par rapport à celle des antisérum polyclonaux.

## EMPLOI DES ANTICORPS MONOCLONAUX

Ils ont à peu près toutes les qualités des sérum polyclonaux conventionnels et peuvent les remplacer dans la plupart de leurs emplois.

### Emploi général des anticorps monoclonaux

#### *Définition d'antigènes et caractérisation d'épitopes*

Ceci est certainement l'apport le plus important des anticorps monoclonaux. Ils ont permis de découvrir des antigènes insoupçonnés comme les antigènes CD3, CD4, CD8 des lymphocytes T humains définissant les sous-populations des lymphocytes T circulants, T auxiliaires et T cytotoxiques et suppresseurs [16] dont l'équivalent a été trouvé chez le rat, la souris, le mouton, les bovins et le porc et le sera probablement bientôt dans toutes les espèces animales domestiques.

#### *Détection, localisation et quantification de molécules*

Les anticorps monoclonaux ont permis la détection et même la quantification dans des milieux

complexes tels que le sérum, le liquide céphalorachidien ou l'urine, de très nombreuses molécules comme des hormones ou des médiateurs cellulaires.

### Purification

Que ce soit en petite quantité pour des mesures fines ou en grande quantité dans des procédés de récupération de molécules de grande valeur dans des milieux de culture complexes (interféron par exemple), la chromatographie par immunoaffinité peut être employée avec grand succès.

### Applications actuelles

Les applications actuelles utilisant les anticorps monoclonaux sont les suivantes :

— *sérologie courante*, c'est-à-dire la détection et la quantification de toutes molécules (par exemple : hormones, médicaments, protéines sériques, comme les immunoglobulines sériques, etc.) à l'aide de tests radio-immunologiques ou immunoenzymatiques;

— *typage cellulaire et sanguin* (par exemple : sous-classes de lymphocytes humains et animaux, comme les lymphocytes T auxiliaires ou suppresseurs, les lymphocytes B, etc.);

— *diagnostic des maladies infectieuses* (par exemple : détection d'antigènes viraux ou bactériens...);

— *identification d'antigènes tumoraux* dans le sérum ou sur des cellules [10];

— *purification de molécules* (par exemple : anticorps, interférons, lymphokines...).

### Perspectives d'application

**La sérothérapie.** L'administration d'anticorps monoclonaux dans des maladies virales ou bactériennes (fulgurantes), des intoxications médicamenteuses, des épisodes allergiques, etc., peut favoriser l'élimination des virus.

**La manipulation des réponses immunes** à l'aide par exemple d'injections d'anticorps anti-sous-classes lymphocytaires, ou anti-idiotypes... On peut éviter des rejets de greffe, chez l'homme, en injectant l'anticorps monoclonal OKT3 anti-lymphocytes T. Les résultats sont excellents, mais limités par l'origine même des anticorps monoclonaux qui, étant de rongeurs, sont reconnus comme étrangers par les patients.

**La localisation et l'identification de cellules tumorales** (métastases par exemple), en couplant à

l'anticorps monoclonal spécifique d'un antigène cancéreux, un marqueur radioactif qui pourra ainsi être suivi jusqu'à l'endroit de fixation dans l'organisme. Des résultats intéressants ont été obtenus permettant de localiser des métastases chez des cancéreux.

**La thérapeutique de maladies auto-immunes ou cancéreuses.** Par exemple : ciblage de drogues cytotoxiques par des anticorps monoclonaux, élimination des cellules tumorales pouvant contaminer des prélèvements de moelle osseuse avant leur transplantation (autogreffe pratiquée chez des patients cancéreux ayant été soumis à une chimiothérapie lourde).

**La production de pseudo-antigènes vaccinaux.** Les anticorps monoclonaux anti-idiotypiques sont un moyen possible de vaccination lorsque l'antigène est difficile à obtenir ou à utiliser (voir chapitre 68, pages 702-703).

### PERSPECTIVES

Il est probable que l'extraordinaire propriété des lymphocytes B de synthétiser des anticorps pouvant se lier à pratiquement toutes les molécules continuera à être employée. La technologie des anticorps monoclonaux remplacera celle des anticorps polyclonaux. Par contre, il n'est pas certain que le procédé de fusion cellulaire qui est communément utilisé actuellement, le sera encore longtemps. L'ingénierie génétique peut apporter d'autres méthodes, comme la transfection, qui pourraient rendre l'immortalisation des lymphocytes B plus aisée. L'ingénierie protéique pourra également contribuer à l'amélioration ou à l'apport de qualités nouvelles à des anticorps monoclonaux déjà existants.

### CONCLUSION

Comment ne pas terminer ce chapitre relatant une découverte capitale pour le développement scientifique et médical, sans rappeler que cette superbe réussite de la biotechnologie est le fruit d'une recherche à but purement fondamental et sans idée préconçue d'applications.

## Référence

- Biofutur.  
162 pa  
BROWN J  
and fu  
1986.  
GODING J  
Second  
Commerc  
scale-u  
York a  
Rat hybri  
CRC P

## Référence

1. BAZI  
Trans  
I. Ge  
and  
568-  
2. BAZI  
the L  
E Pe  
Perg  
3. BAZI  
antib  
purif  
Imm  
4. CHIC  
Epst  
tion  
dom  
5. COT



## BIBLIOGRAPHIE

## Références générales

- Biofutur. Spécial Anticorps Monoclonaux. 1986, numéro 44, 162 pages.
- BROWN J. Human monoclonal antibodies : current techniques and future perspectives. IRL Press, Oxford, Washington, 1986, 100 pages.
- GODING JW. Monoclonal antibodies : principles and practice. Second Edition. Academic Press, 1987.
- Commercial production of monoclonal antibodies. A guide for scale-up. Vol. 2. SS Seaver, ed. Marcel Dekker, Inc. New York and Basel, 1987, p. 327.
- Rat hybridomas and rat monoclonal antibodies. H Bazin, ed. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida (in press).

## Références

1. BAZIN H, DECKERS C, BECKERS A, HEREMANS JF. Transplantation immunoglobulin secreting tumors in rats. I. General features of LOU/Wsl strain rat immunocytomas and their monoclonal proteins. *Int J Cancer*, 1972, 10 : 568-580.
2. BAZIN H. Production of rat monoclonal antibodies with the LOU rat non secreting IR983F myeloma cell line. *In* : E Peeters. *Prot. Biol. Fluids*, 29th Colloquium 1981, Pergamon Press, Oxford and NY, 1982, pp. 615-618.
3. BAZIN H, MALACHE JM. Rat (and mouse) monoclonal antibodies. V. A simple automated technique of antigen purification by immunoaffinity chromatography. *J Immunol Methods*, 1986, 88 : 19-24.
4. CHIORAZZI N, WASSERMAN RL, KUNKEL HG. Use of Epstein-barr virus-transformed B cell lines for the generation of immunoglobulin-producing human B cell hybridomas. *J Exp Med*, 1982, 156 : 930-935.
5. COTTON RGH, MILSTEIN C. Fusion of two immunoglobulin-producing myeloma cells. *Nature (London)*, 1973, 244 : 42-43.
6. GALFRE G, MILSTEIN C, WRIGHT B. Rat x rat hybrid myelomas and a monoclonal anti-Fd portion of mouse IgG. *Nature (London)*, 1979, 277 : 131-132.
7. GLASSY MC, HANDLEY HH, HAGIWARA H, ROYSTON I. UC 729-6, a human lymphoblastoid B cell line useful for generating antibody-secreting human-human hybridomas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1983, 80 : 6327-6331.
8. GOFFINET P, KNOWLES B, NATHENSON SG, SCHARFF MD. Suppression of immunoglobulin synthesis by cellular hybridization. *Nature (London)*, 1971, 231 : 87-90.
9. KÖHLER G, MILSTEIN C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature (London)*, 1975, 256 : 495-497.
10. LEBACQ-VERHEYDEN AM, RAVOET AM, BAZIN H et al. Rat AL2, AL3, AL4 and monoclonal antibodies bind to the common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA) gp 100. *Int J Cancer*, 1983, 32 : 273-279.
11. LITTLEFIELD JW. Selection of hybrids from mating of fibroblast « in vitro » and their presumed recombinants. *Science*, 1964, 145 : 709-710.
12. LITTLEFIELD JW. The use of drug-resistant markers to study the hybridization of mouse fibroblasts. *Exp Cell Res*, 1966, 41 : 190-196.
13. MILSTEIN C. From the structure of antibodies to the diversification of the immune response (Nobel Lecture). *Angew Chem Int Ed Engl*, 1985, 24 : 816-826.
14. OLSSON L, KAPLAN S. Human-human hybridomas producing monoclonal antibodies of predefined antigenic specificity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77 : 5429-5431.
15. POTTER M. Immunoglobulin-producing tumours and myeloma proteins of mice. *Phy Rev*, 1972, 52 : 631-719.
16. REINHERZ EL, KUNG PC, GOLDSTEIN G et al. Discrete stages of human intrathymic differentiation : analysis of normal thymocytes and leukemic lymphoblasts of T-cell lineage. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1980, 77 : 1588-1592.
17. SHULMAN M, WILDE CD, KOHLER G. A better cell line for making hybridomas secreting antibodies. *Nature (London)*, 1978, 276 : 269-270.

D. Charron

## TECHNIQUES BIOCHIMIQUES DE DÉTECTION

La caractérisation des molécules du système immunitaire a largement bénéficié, au cours des dix dernières années, de l'utilisation des techniques biochimiques d'analyse moléculaire des protéines (étude des anticorps, des antigènes solubles et de membrane, des lymphokines, des récepteurs et de leurs ligands, des molécules de différenciation et d'activation, par électrophorèse analytique et immuno-empreinte) et des acides nucléiques (étude des gènes de structure des immunoglobulines et des récepteurs de l'antigène des lymphocytes T et de leurs réarrangements, du polymorphisme du complexe majeur d'histocompatibilité et des transcrits des diverses lymphokines à l'aide de sondes nucléiques par transfert de Southern et de type Northern).

### ÉLECTROPHORÈSE DES PROTÉINES

Trois techniques électrophorétiques, ayant pour support un gel de polyacrylamide, sont principale-

ment utilisées pour caractériser les protéines et les polypeptides : la séparation des molécules peut être effectuée selon leur poids moléculaire (électrophorèse en gel de polyacrylamide SDS : SDS-PAGE), leur charge (iso-électrophorèse : IEF, isoélectro-focalisation) ou la combinaison de ces deux paramètres indépendants (électrophorèse bidimensionnelle : 2D-PAGE). Ainsi, un ensemble hétérogène de protéines et de polypeptides peut-il être résolu en ses différentes composantes moléculaires. Outre la visualisation directe des protéines et des polypeptides, cette technique permet de vérifier la pureté d'une préparation ou d'un immunoprécipité.

### Électrophorèse en gel de polyacrylamide SDS en une dimension (1D-SDS-PAGE)

Cette méthode de séparation des protéines et des polypeptides selon le poids moléculaire, peut être réalisée en tube cylindrique ou en plaque (Fig. 58-1). Cette dernière variante supplante la première, car elle permet une analyse autoradio-

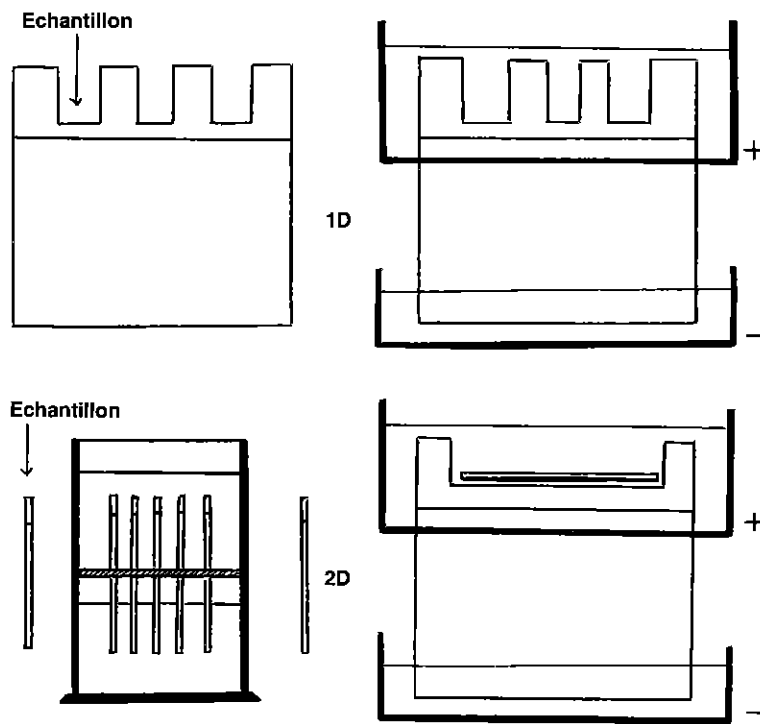


Figure 58-1 Gel de polyacrylamide SDS en une ou deux dimensions (1D ou 2D SDS-PAGE).

graphique de meilleure résolution et une excellente comparaison de nombreux échantillons sur un même gel.

L'équipement (notamment les cuves et les plaques d'électrophorèse) peut être obtenu auprès de fournisseurs spécialisés, ou réalisé en atelier. Il est recommandé de sélectionner l'appareillage le plus simple et celui dont l'utilisation est la plus facile. Outre le matériel d'électrophorèse proprement dit, le laboratoire doit disposer d'un générateur et d'un sécheur de gel. A titre d'exemple, nous décrivons les solutions et la procédure expérimentale utilisées pour une électrophorèse dans un gel en plaque à 10 p. cent de polyacrylamide de 0,8 mm d'épaisseur. Ce type de gel est utilisable pour la caractérisation de la plupart des antigènes solubles ou membranaires. En raison de sa faible épaisseur, il ne nécessite pas de système de réfrigération.

#### Protocole

Le gel est coulé entre deux plaques préalablement lavées et séchées avec un soin extrême.

Celles-ci sont séparées à l'aide de joints plats de 0,8 mm d'épaisseur, ou plus aisément par un joint cylindrique en silicone d'épaisseur adéquate puis sont solidarisées par des pinces sur 3 côtés. Un gel de séparation est coulé jusqu'à 3 cm en dessous du bord supérieur des plaques. Il est recouvert d'une couche protectrice d'eau distillée, d'environ 1 cm.

La polymérisation prend habituellement 1 heure. Le gel de concentration est ensuite coulé après élimination complète de la solution recouvrant le gel de séparation. Le peigne, qui délimite les espaces dans lesquels les échantillons seront déposés, est inséré dans le gel entre les deux plaques. La largeur des puits est variable et conditionne le nombre et le volume des échantillons qui pourront être analysés sur un même gel (de même, l'épaisseur des peignes peut varier en fonction du type de gel : ici 0,8 mm, souvent 1,5 ou 2 mm. Dans ce cas, une réfrigération est nécessaire).

Après 30 à 45 minutes, le peigne est retiré par

glissement  
déposés  
solution  
réservés  
migration  
et dure  
Elle est  
(coloré  
d'une o  
bromop  
inférieu  
fixé, co  
le sécha  
blanc o  
Dans le  
sera exp  
du sign  
présenc  
(film X  
selon l'

#### Solutio

Tamp  
0,062 M  
toéthano  
pH 6,8  
1,5 M,  
lamide  
bis-acryl  
conservé  
gel de d  
p. cent,  
0,025 M  
Vérifier  
de varia

#### Exempl

Gel de  
de 10 p  
0,375 M  
tion 4 m  
p. cent  
p. cent 2

Gel de  
finale de  
SDS, 0,  
supérieur

\* L'écha  
aqueux et  
Mélange à  
dénaturé pe

glissement vers le haut. Les échantillons \* sont déposés au fond des puits et recouverts de la solution de migration. Un ou deux puits sont réservés à des marqueurs de poids moléculaire. La migration se fait à voltage non limitant, à 20 mA, et dure approximativement 3 heures ( $\pm 30$  min). Elle est arrêtée lorsque le front de migration (coloré en bleu par le dépôt en début de migration d'une ou deux gouttes d'une solution de bleu de bromophénol à 0,1 p. cent) atteint l'extrémité inférieure du gel. Après la migration, le gel est fixé, coloré au bleu de Coomassie ou à l'argent et le séchage réalisé sur un support de papier-filtre blanc ou un support transparent de cellophane. Dans le cas d'échantillons radioactifs, le gel séché sera exposé, éventuellement après amplification du signal, dans une cassette radiographique en présence d'un film autoradiographique adéquat (film X ray) avec ou sans écran d'intensification selon l'isotope utilisé.

### Solutions

Tampon-échantillon SDS (IX) : tris-base 0,062 M, glycérol 10 p. cent (p/v), 2-mercaptoéthanol 5 p. cent (p/v), SDS 2,3 p. cent (p/v), pH 6,8. Tampon gel de séparation : tris-base 1,5 M, SDS 0,4 p. cent, pH 8,8. Tampon acrylamide 30 p. cent : acrylamide 29,2 p. cent, bis-acrylamide 0,8 p. cent, filtré sur 0,45  $\mu$  et conservé à 4 °C à l'abri de la lumière. Tampon gel de concentration : tris-base 0,5 M, SDS 0,4 p. cent, pH 6,8. Tampon de migration : tris-base 0,025 M, glycine 0,192 M, SDS 0,1 p. cent. Vérifier que le pH est de 8,3 (on accepte 0,2 unité de variation).

### Exemple de préparation

**Gel de séparation** pour une concentration finale de 10 p. cent d'acrylamide, 0,1 p. cent SDS, 0,375 M-tris HCl, pH 8,8 : tampon gel de séparation 4 ml, eau distillée 6,7 ml, acrylamide 30 p. cent 5,3 ml, persulfate d'ammonium à 10 p. cent 25  $\mu$ l, Temed 12,5  $\mu$ l.

**Gel de concentration** pour une concentration finale de 4,75 p. cent d'acrylamide, 0,1 p. cent SDS, 0,125 M-tris HCl, pH 6,8 : tampon gel supérieur 2,5 ml, eau distillée 5,92 ml, 30 p. cent

\* L'échantillon (environ 10  $\mu$ l) aura été préparé en tampon aqueux et devra comporter de 1 à 100  $\mu$ g de protéines. Mélangé à parts égales avec le tampon échantillon il sera dénaturé pendant 3 minutes à 95 °C avant son dépôt sur le gel.

d'acrylamide 1,58 ml, 10 p. cent persulfate d'ammonium 30  $\mu$ l, Temed 10  $\mu$ l.

### Électrophorèse bidimensionnelle

L'électrophorèse bidimensionnelle est actuellement la technique la plus performante pour séparer en ses constituants un mélange complexe de protéines. Elle se fonde sur deux paramètres indépendants qui caractérisent chaque polypeptide et chaque protéine : sa charge définie par le point isoélectrique et sa masse par le poids moléculaire. Ainsi, une isofocalisation en présence d'urée dans la 1<sup>re</sup> dimension et une migration en condition dénaturante en présence de SDS en gel de polyacrylamide dans la 2<sup>e</sup> dimension, permettent-elles la résolution d'une protéine en un spot unique dont les coordonnées X-Y sont caractéristiques. La sensibilité de cette technique est exceptionnelle, pouvant aller jusqu'à 0,001 p. cent des protéines totales d'une préparation radioactive.

Cependant, depuis la description initiale de O'Farrell, de nombreuses variantes et améliorations techniques ont été utilisées. Cependant les protocoles et appareils les plus simples restent ceux qui donnent les meilleurs résultats, notamment en ce qui concerne la reproductibilité.

La 1<sup>re</sup> dimension est réalisée dans un tube cylindrique de petit diamètre (1,5 mm).

La seconde dimension est un gel de SDS polyacrylamide en plaque, pour lequel le matériel, la procédure et les solutions sont identiques à ceux décrits pour le 1D-SDS-PAGE (voir Fig. 58-1). La première dimension peut être une isoélectrofocalisation (IEF) assurant la résolution des protéines migrant de pH 4,5 à pH 7 ou un gradient de pH non équilibré (NEPHGE) qui permet l'analyse de protéines et de polypeptides plus basiques, migrant jusqu'à pH 9.

### Solutions

Acrylamide à 30 p. cent pour NEPHGE et IEF : acrylamide 28,38 g, bis-acrylamide 1,62 g, H<sub>2</sub>O : compléter à 100 ml. NP40 à 10 p. cent : 5 g dans 50 ml d'eau distillée. Tampon échantillon SDS : tris-base 7,57 g, glycérol 100 g, 2ME 50 ml, SDS 23 g dans 750 ml d'eau distillée. Porter le pH à 6,8. Ajuster à 1 litre et conserver à 4 °C. Solution « Overlay » : urée cristalline (9 M) 12,53 g, ampholines pH 5-7, 0,5 M, ampholines pH 3,5-10, 0,125 ml. Compléter à 25 ml avec de

l'eau distillée. Dissoudre au bain-marie. Stocker à  $-70^{\circ}\text{C}$  en aliquots de 0,2 ml.

### Exemple de préparation

Pour 8 gels de type IEF ou NEPHGE, on prépare les solutions présentées dans l'encadré ci-dessous.

### Protocole

**Focalisation isoélectrique (IEF) :** les gels sont coulés jusqu'à 0,5 cm du bord supérieur de tubes cylindriques d'environ 13 cm de long, préalablement obturés à leur extrémité inférieure. Après polymérisation, la surface du gel est recouverte par 20  $\mu\text{l}$  de tampon échantillon. Les tubes sont ensuite montés dans la cuve. La cuve inférieure est remplie de tampon anode (acide orthophosphorique à 0,01 M) et la cuve supérieure de tampon cathode (NaOH 0,02 M). Préalablement au dépôt des échantillons, des migrations de 15 minutes à 200 V, 30 minutes à 300 V et 30 minutes à 400 V auront été réalisées. Après dépôt, les échantillons sont recouverts avec 10  $\mu\text{l}$  de la solution « Overlay ». Le réservoir supérieur est rempli du tampon de cathode et la migration effectuée à 300 V pendant 16 heures ou à 400 V pendant 12 heures.

**Gel d'électrophorèse à gradient de pH non équilibré (NEPHGE) :** les étapes sont identiques à celles décrites pour l'IEF à l'exception de la composition du gel qui est un NEPHGE. Après dépôt des échantillons, on dépose 10  $\mu\text{l}$  de solution « Overlay » sur chaque échantillon et on complète le remplissage des tubes avec de la solution anode, ici dans la cuve supérieure. La migration sera de 5,5 heures à 500 V en inversant

les polarités (soit à la sortie de la cuve, soit à la sortie du générateur) sans migration préalable au dépôt des échantillons.

Pour réaliser la 2<sup>e</sup> dimension, on utilisera le protocole décrit pour le 1D-SDS-PAGE (voir page 623) avec les modifications suivantes : le peigne est ici remplacé par un élément en plastique (Téflon) de dimension identique, mais à surface plane. Celui-ci est inséré de 1 à 2 mm dans le gel de concentration. Après polymérisation, l'élément plastique est retiré. Le gel cylindrique de 1<sup>re</sup> dimension (IEF ou NEPHGE) est placé au-dessus du gel en plaque et est solidarisé à celui-ci à l'aide d'une solution d'agarose à 1 p. cent préalablement chauffée. Après solidification de l'agarose, l'ensemble est monté sur la cuve de migration et la procédure est celle décrite au paragraphe 1. Le gel bidimensionnel est une méthodologie dont les applications en immunologie et en immunogénétique sont très nombreuses. Il permet d'identifier des antigènes de différenciation des cellules lymphoïdes, des facteurs de croissance solubles, des récepteurs et leurs ligands et des protéines régulatrices. Les molécules sont habituellement isolées au préalable par immunoprécipitation soit directement, soit après marquage à l'aide d'un isotope radioactif (marquage métabolique :  $^{35}\text{S}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  ou marquage catalytique  $^{125}\text{I}$ ) (Fig. 58-2 et 58-3). Cette technique peut être couplée à différentes procédures. Ainsi les expériences de « Pulse Chase » permettent une étude dynamique de la maturation des molécules; la réduction et la liaison croisée des antigènes révèlent les associations moléculaires et les marquages spécifiques couplés à des digestions enzymatiques adéquates permettent de caractériser la biosynthèse des molécules et leurs glycosylations, phosphoryla-

Urée (g)	2,75	
Acrylamide à 30 p. cent (ml)	0,665	
NP40 à 10 p. cent (ml)	1	
H <sub>2</sub> O (ml)	0,98	
Ampholytes pH 3,5-10 (ml)	0,25	
+ Persulfate d'ammonium à 10 p. cent ( $\mu\text{l}$ )	7	= NEPHGE
Temed ( $\mu\text{l}$ )	4	
Volume final (ml)	5	
Ampholytes pH 5-7 (ml)	0,2	
Ampholytes pH 3,5-10 (ml)	0,05	
+ Persulfate d'ammonium à 10 p. cent ( $\mu\text{l}$ )	5	= IEF
Temed ( $\mu\text{l}$ )	3,5	
Volume final (ml)	5	

Figure  
bidimen  
laires t  
toïdes  
marquée

Figure 5  
molécule  
l'aide d'u  
liée ly

tions et  
système ad  
(système  
l'antigène  
microsés  
spot de  
perspect  
biologie  
ques d'a  
biologie

Isoélec

Un g  
d'ampho  
fonction  
champ é  
dans le g  
isoélectri  
en une z  
des prot

, soit à la  
évalable au

utilisera le  
(voir page  
le peigne  
plastique  
à surface  
à surface  
dans le gel  
l'élément  
ue de 1<sup>re</sup>  
au-dessus  
ci à l'aide  
alablement  
l'agarose,  
migration et  
pne 1. Le  
e dont les  
munogéné-  
l'identifier  
lules lym-  
ubles, des  
es régula-  
ent isolées  
soit direc-  
un isotope  
, <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C  
2 et 58-3).  
différentes  
e « Pulse  
que de la  
ion et la  
es associa-  
spécifiques  
adéquates  
thèse des  
osphoryla-

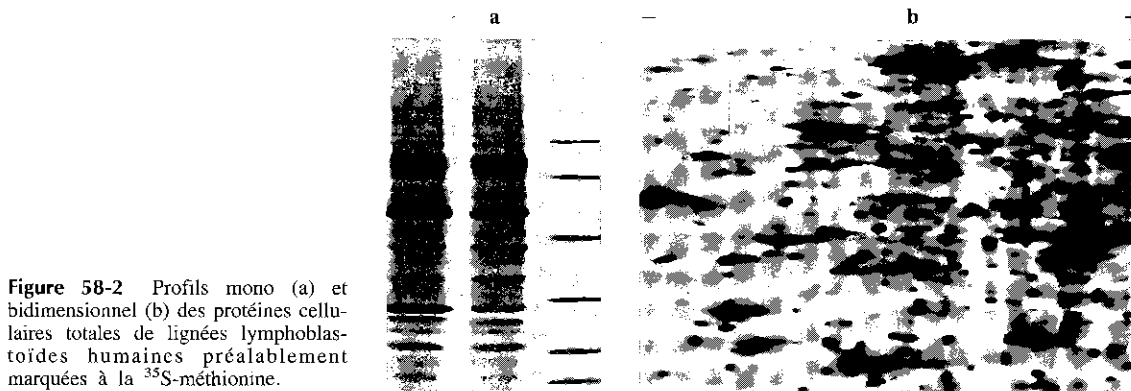


Figure 58-2 Profils mono (a) et bidimensionnel (b) des protéines cellulaires totales de lignées lymphoblastoïdes humaines préalablement marquées à la <sup>35</sup>S-méthionine.

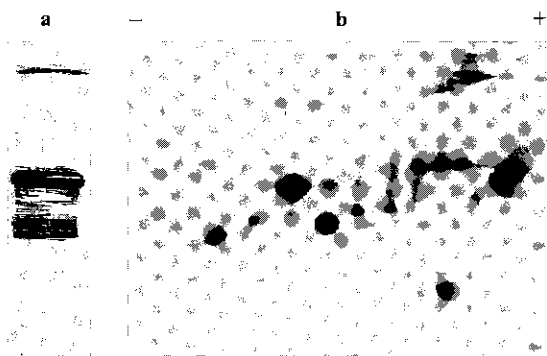


Figure 58-3 Profils mono (a) et bidimensionnel (b) d'une molécule HLA de classe II (HLA-DR) immunoprécipitée à l'aide d'un anticorps monoclonal anti-HLA-DR à partir d'une lignée lymphoblastoïde humaine.

tions et acylations. Cette méthode est particulièrement adaptée à l'étude des systèmes polymorphes (système HLA, immunoglobulines, récepteurs de l'antigène). La possibilité récente de réaliser des microséquences de protéines à partir d'un seul spot de gel bidimensionnel, laisse entrevoir des perspectives considérables de développement en biologie fondamentale, de même que les techniques d'automatisation de la lecture des gels, en biologie clinique.

### Isoélectrofocalisation

Un gradient stable de pH est établi à l'aide d'ampholines qui se répartissent dans le gel en fonction de leur point isoélectrique sous l'effet du champ électrique. Les protéines se déplacent alors dans le gel, pour atteindre leur équilibre au point isoélectrique correspondant, où elles se focalisent en une zone étroite. Cette méthode peut séparer des protéines dont les points isoélectriques ne

diffèrent que de 0,01 unité pH. Lorsqu'elle n'est pas la 1<sup>re</sup> étape du gel bidimensionnel, l'isoélectrofocalisation est habituellement réalisée en plaques, ce qui permet d'analyser et de comparer de nombreux échantillons sur un même gel.

### Solutions

Celles-ci sont données pour un gel en plaque de 16 × 16 cm de 1 mm d'épaisseur. Selon l'appareillage, l'électrophorèse peut être soit verticale, soit horizontale. Pour un gel, la préparation comporte les éléments suivants : acrylamide à 30 p. cent : 3 ml; NP 40 à 10 p. cent; urée : 10,8 g; ampholine pH 5,7 : 0,8 ml; ampholine pH 3,5 : 0,2ml; eau distillée : 20 ml; persulfate d'ammonium à 10 p. cent : 40 µl; Temed : 20 µl.

### Procédure

La solution du gel est coulée entre les plaques jusqu'à 1 cm du bord supérieur de celles-ci. Un peigne de Téflon est inséré et la polymérisation est obtenue en 1 heure 30. Le peigne est retiré et les échantillons préparés en tampon-échantillon (TE) sous un volume de 20 à 30 µl, sont placés dans chaque puits. La cuve reliée à l'anode est remplie d'une solution dégazée de soude à 50 mM et la cuve reliée à la cathode d'une solution d'acide phosphorique à 20 mM. La focalisation a lieu comme précédemment décrit.

### Autres méthodes

Outre les trois méthodes d'analyse électrophorétique des protéines et des polypeptides du système immunitaire, d'autres techniques moins courantes et nécessitant des équipements et des expérimentateurs spécialisés peuvent être utilisées. Il en est ainsi de la technique des cartes

peptidiques bidimensionnelles qui associe une électrophorèse pour la 1<sup>re</sup> dimension à une chromatographie en couche mince sur le gel de silice dans la seconde dimension; de l'immunoélectrophorèse en double dimension qui comporte une séparation électrophorétique en gel d'agarose suivie perpendiculairement d'une électrophorèse en gel d'agarose contenant des anticorps précipitants préalablement inclus dans le gel. Le fractionnement et l'analyse des peptides peuvent aussi être obtenus par HPLC (High Pressure Liquid Chromatography).

## TECHNIQUES D'IMMUNOEMPREINTE (IMMUNO-BLOT OU WESTERN BLOT)

Le transfert électrophorétique, sur un support généralement cellulosique, de protéines préalablement séparées sur gel de SDS polyacrylamide en permet la détection immunologique. Ainsi l'immuno-blot nécessite-t-il trois étapes :

- la résolution de l'extrait protéique sur gel d'acrylamide mono- ou bidimensionnel;
- le transfert électrophorétique sur une membrane;
- la révélation des antigènes par des anticorps monoclonaux ou des antisérum selon les techniques immunoenzymatiques et/ou radio-immunologiques.

### Protocole

Les protéines sont préalablement séparées par électrophorèse (1D, 2D-SDS-PAGE) en plaque selon les protocoles précédemment décrits. Dans la mesure où le transfert des protéines de haut poids moléculaire est favorisé par une concentration faible d'acrylamide, il est préférable d'utiliser des gels en gradient (de 7 à 15 p. cent d'acrylamide par exemple).

A l'arrêt de la migration des protéines et des polypeptides, le gel de SDS-PAGE est lavé en solution de transfert (0,5 mM tris-base, 193 mM glycine, 20 p. cent méthanol pH 8,3) ainsi que la membrane qui est habituellement un filtre absorbant de nitrocellulose\*.

\* Des membranes en nylon et des papiers prétraités (DBM ou DBT) peuvent être substitués. Ces derniers fixent les protéines de façon covalente alors que les membranes agissent par adsorption.

Préalablement découpé à la dimension adéquate, le filtre de nitrocellulose (NC) sera placé sur le gel lui-même soutenu par une surface plane. On s'assurera de l'absence absolue de bulles d'air entre le gel et le filtre. L'ensemble gel et membrane sera mis en sandwich entre deux feuillets de papier-filtre préalablement imprégnés de solution de transfert. L'ensemble gel-membrane/papier-filtre est ensuite inséré dans l'appareil de transfert avec le gel faisant face à la cathode. La cuve est remplie de la solution de transfert. Les temps et voltages de ce transfert varient selon l'appareil. On suivra les recommandations du fabricant à cet égard. Le transfert est habituellement de trois heures sous 60 volts, 0,2 à 0,3 ampère à 4 °C.

La feuille de nitrocellulose servira à l'immuno-détection des antigènes. Le gel pourra être coloré (au bleu de Coomassie, par exemple) ce qui permettra de vérifier l'efficacité du transfert. Pour la coloration de la membrane de transfert on utilise fréquemment le noir amide. Le gel est immergé dans une solution à 0,1 p. cent de noir amide (méthanol/acide acétique/eau : 4,5/1/5,5/v/v). Cette solution permet en outre, de reconnaître les marqueurs de poids moléculaire et les protéines-témoins éventuellement utilisées pour la calibration.

### Immuno-détection

Les membranes sont lavées deux fois dans le tampon de lavage PBS tween (0,01 PBS, pH 7,4, 0,15 NaCl, 0,05 p. cent tween 20) à température ambiante. La membrane est placée ensuite dans un sac plastique transparent et scellée dans le volume minimum de tampon. Les dilutions des immunosérums ajoutés varient selon le type d'anticorps (du 1/50<sup>e</sup> au 1/1 000<sup>e</sup>). L'incubation peut être réalisée pendant 12 heures à 4 °C ou 1 à 3 heures à 37 °C.

Après l'incubation, la membrane est lavée en tampon PBS tween, trois fois pendant 15 à 20 minutes. Le second anticorps à employer pour la révélation dépendra de la source du premier sérum. Il sera soit conjugué à la peroxydase, soit biotinylé (les systèmes biotine-avidine ou biotine-streptavidine pourront alors être utilisés). On peut substituer à ce second anticorps soit un anticorps marqué à l'iode 125, soit de la protéine A marquée à l'iode 125. Dans ce cas, la révélation sera autoradiographique après séchage de la membrane.

## SONDES (Fig. 58-4)

L'analyse... mais à l'ai... permettent l'ADN (tran... fert de typ... principe la... nucléiques... des enzyme... molécules d... et leur détec... de nitroce... séquences... La détectio... aussi être... fragments... sous forme... ment sur un... tion semi-q... successiven... séquences... messenger p... mentaire (t... cloné d'AD

Kb

14,8  
12,5  
11,1  
7,8  
6,1  
5,4  
4,4  
4,2  
2,7  
1,6  
1,3

Figure 58-4  
polymorphisme... utilisant l'en... profils obten... DR1; b) DR2

## SONDES MOLÉCULAIRES

(Fig. 58-4)

L'analyse des acides nucléiques se fait désormais à l'aide de sondes moléculaires. Celles-ci permettent de détecter et de caractériser soit l'ADN (transfert de Southern) soit l'ARN (transfert de type Northern). Ces techniques ont pour principe la séparation électrophorétique des acides nucléiques soit après dénaturation et coupure par des enzymes spécifiques (dits de restriction) des molécules d'ADN, soit directement pour l'ARN, et leur détection après transfert sur une membrane de nitrocellulose par des sondes dont les séquences nucléotidiques sont complémentaires. La détection d'ADN et/ou ARN spécifiques peut aussi être réalisée sans séparation préalable des fragments. L'ADN ou l'ARN sont alors déposés sous forme de taches (« spot ou dot ») directement sur un filtre de nitrocellulose. Une appréciation semi-quantitative peut être obtenue en diluant successivement l'échantillon. Les sondes sont des séquences nucléotidiques correspondant à l'ARN messager préalablement purifié, un ADN complémentaire (transcription d'un ARNm), un fragment cloné d'ADN, ou un oligonucléotide de synthèse.

Elles sont habituellement marquées au phosphore 32 et utilisées pour l'hybridation spécifique aux séquences complémentaires par des liaisons hydrogènes inter-bases. Des marquages non radioactifs sont actuellement développés.

### Transfert de Southern (Southern blot)

Cette technique a des applications désormais importantes dans le domaine de l'immunologie, pour l'étude du réarrangement spécifique des gènes C et V des immunoglobulines au cours de la différenciation des lymphocytes B et des gènes des récepteurs de l'antigène des lymphocytes T, ainsi que pour l'étude du polymorphisme du complexe majeur d'histocompatibilité.

### Préparation de l'ADN

L'ADN génomique peut être obtenu à partir de cultures cellulaires ou de tissus frais ou congelé et conservé à  $-80^{\circ}\text{C}$  selon le protocole suivant : l'échantillon sera placé dans un tube de 10 ml, en présence de 2 ml de la solution d'homogénéisation (0,1 M NaCl, 0,2 M sucrose, 0,01 M EDTA, 0,3 M tris pH 8) après adjonction de 125  $\mu\text{l}$  de SDS à 10 p. cent et agitation, le mélange est incubé à  $65^{\circ}\text{C}$  pendant 30 min; 350  $\mu\text{l}$  d'acétate de  $\text{K}^{+}$  8 M sont ajoutés et le mélange est incubé à  $4^{\circ}\text{C}$  pendant 60 min. Après une centrifugation de 10 min à  $4^{\circ}\text{C}$ , 5 000 g, le surnageant est transféré dans un nouveau tube. L'extraction est obtenue avec 2 ml de chloroforme et 2 ml de phénol SS. Après séparation, la phase aqueuse supérieure est réextraite avec 2 ml de chloroforme. Elle est alors conservée et l'ADN précipité par addition de 5 ml d'éthanol. L'ADN est récupéré sous forme de culot, après centrifugation de 10 min à 1 500 g. Le culot d'ADN est reprecipité à l'aide de 5 ml d'éthanol à 80 p. cent, puis séché. Il est remis en suspension dans 300 ml de tampon tris-EDTA (tris 10 mM, pH 7,4, 0,01 mM EDTA, pH 8,  $\text{H}_2\text{O}$ ) pendant 90 min à température ambiante et conservé à  $4^{\circ}\text{C}$ . De nombreuses variantes d'extraction de l'ADN peuvent être utilisées selon l'origine et la qualité de celui-ci. Digestion par des enzymes de restriction : les enzymes de restriction (ER) sont des enzymes bactériens qui coupent l'ADN double brin à des sites bien définis de la séquence

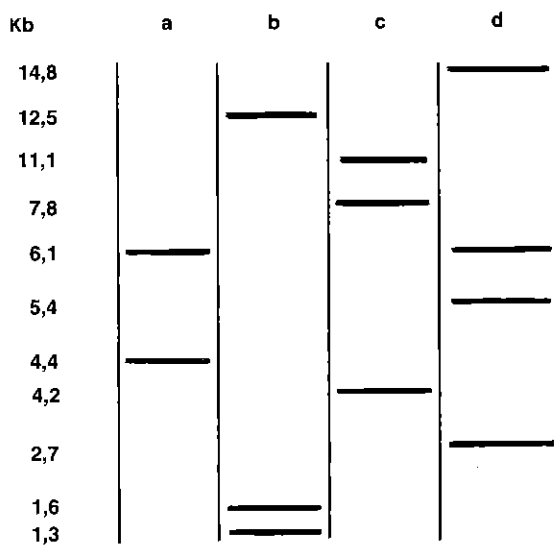


Figure 58-4 Analyse du système HLA par l'étude du polymorphisme de taille des fragments d'ADN (RFLP). En utilisant l'enzyme TaqI et une sonde DR $\beta$  spécifique, les profils obtenus (RFLP) sont caractéristiques d'individus : a) DR1; b) DR2; c) DR3; et d) DR4.



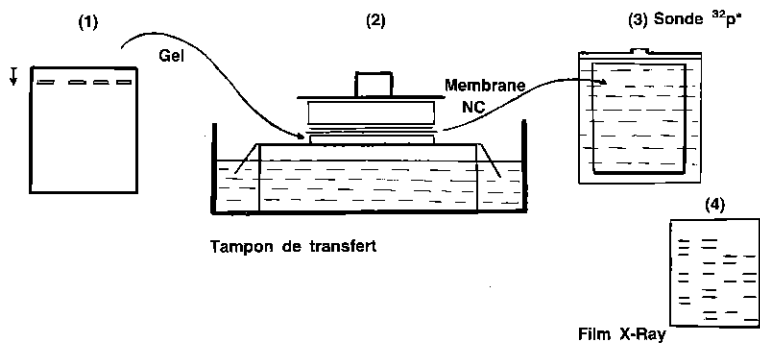


Figure 58-5 Schéma de l'analyse par transfert de Southern après extraction et digestion de l'ADN génomique par les enzymes de restriction. 1) Séparation des fragments d'ADN par électrophorèse; 2) Transfert de l'ADN sur un filtre de nitrocellulose (transfert de Southern); 3) Hybridation avec une sonde moléculaire; 4) Autoradiographie.

nucléotidique (palindromes). Ainsi Eco R1 coupe-t-il entre les séquences :



Les protocoles d'utilisation des ER varient en fonction de l'enzyme. On utilise un tampon de composition 10 mM tris, pH 7,4, 10 mM/Mg<sup>++</sup> et de concentration saline adéquate correspondant à la force ionique optimale pour chaque réaction. La préparation d'ADN (1 µl) (voir page 629) est mélangée à 1 µl du tampon adéquat de l'enzyme de restriction, complétée à 10 µl d'H<sub>2</sub>O est incubée 1 heure à 37 °C. Le caractère complet de la digestion est vérifié sur gel (minigel).

#### Électrophorèse en gel d'agarose

Elle permet la séparation des fragments d'ADN selon leur taille. On utilise un système de gel horizontal. Après avoir coulé un gel d'agarose à 0,8 p. cent, les échantillons d'ADN dirigés par les ER sont déposés dans les puits préalablement formés par l'inclusion d'un peigne avant la polymérisation du gel. La migration prend 10 à 12 heures à 35-40 V.

La séparation des fragments d'ADN est vérifiée par coloration du gel au bromure d'éthidium et révélation par exposition aux UV. Le transfert de Southern proprement dit peut être exécuté (voir Fig. 58-5). Une feuille de NC est appliquée sur le gel (préalablement placé sur un support au-dessus d'une cuve remplie de tampon de transfert \*) et recouverte d'une feuille de papier-filtre Whatman n° 3, elle-même recouverte de papier absorbant et d'une plaque d'un poids d'environ 250 g. Le transfert est réalisé en 4 à 12 heures. La

membrane de NC est ensuite séchée à 80 °C pendant 2 heures pour cuire l'ADN sur le filtre. L'hybridation du filtre est habituellement réalisée en utilisant une sonde marquée ou <sup>32</sup>P par nick translation et la révélation est autoradiographique.

#### Transfert de type Northern (Northern blot)

Identique dans son principe au transfert de Southern, cette méthode concerne les ARN et permet l'étude qualitative (éventuellement semi-quantitative) de la transcription d'un gène. L'ARN est extrait de la préparation tissulaire ou cellulaire en homogénéisant celle-ci en présence d'isothiocyanate de guanidium. L'ARN est ensuite séparé et récupéré par ultracentrifugation sur gradient de césium et se retrouve sous forme d'un culot qui sera soumis à une extraction à l'éthanol. Diverses alternatives peuvent être utilisées pour purifier l'ARN. L'ARN peut aussi être préalablement sélectionné par passage sur une colonne d'oligo-dt qui retient les formes poly A<sup>+</sup> (ARNm) et les sépare des formes ARN et ARNr qui constituent la part majoritaire de l'ARN des eucaryotes. Les ARN messagers sont ensuite clivés en tampon tris-EDTA (10 mM tris, pH 7,4, 1 mM EDTA). La séparation des molécules d'ARN ainsi isolées est réalisée dans un système d'électrophorèse dénaturé, dans un gel d'agarose formaldéhyde \* qui autorise une séparation selon la taille et une bonne résolution de l'ARN monocaténaire. L'ARN ainsi déposé peut être transféré sur un filtre de nitrocellulose puis hybridé selon une procédure identique à celle employée pour l'ADN.

\* 1 l : 100 ml 10 M acétate d'ammonium, 2 ml 10 M NaOH, 0,9 ml H<sub>2</sub>O.

\* Agarose 3 g, 30 ml 10 × MOPS, 225 ml H<sub>2</sub>O, puis formaldéhyde à 37 °C, 16,2 ml (10 × MOPS : 0,2 M MOPS, 0,05 acétate Na, 0,04 M EDTA).

Une d  
ques pe  
Il est  
caractér  
quantité  
partir d  
génique  
réaction  
L'ADN  
à une ar  
la séque  
l'amorce  
repris.  
thermos  
en 20 c  
par 10  
obtenue

1. ALW...  
of sp...  
zylox...  
Proc
2. BERG...  
to B...  
Lond
3. BIER...  
prote...  
on ir...  
1977
4. CHAR...  
DR...  
mole
5. CHAR...  
antig...  
100
6. DAV...  
mole
7. GEE...  
ident...  
Proc
8. GER...  
and
9. GOD...  
proté

## Amplification génique

Une des limites de l'analyse des acides nucléiques peut être la quantité de matériel disponible. Il est désormais possible de détecter et de caractériser l'ADN à partir d'une très petite quantité (1 ng) d'ADN voire potentiellement à partir d'une seule molécule. L'amplification génique spécifique est obtenue *in vitro* grâce à la réaction en chaîne induite par la polymérase Taq. L'ADN est dénaturé puis spécifiquement réassocié à une amorce oligonucléotidique caractéristique de la séquence à amplifier. Après copiage à partir de l'amorce à l'aide de la polymérase, le cycle est repris. Ceci est rendu possible en raison de la thermostabilité de la polymérase utilisée. Ainsi, en 20 cycles de cette réaction, une multiplication par  $10^5$  de la séquence spécifique peut être obtenue, ce qui permet les analyses ultérieures.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ALWINE JC, KEMP DJ, STARK GR. Method for detection of specific RNAs in agarose gels by transfer to diazobenzyloxymethyl-paper and hybridization with DNA probes. *Proc Natl Acad Sci*, 1977, 74 : 5350.
2. BERGER L, KIMMEL AR. *Methods in enzymology : Guide to molecular cloning techniques*. Academic Press, London, 1987, 812 pages.
3. BJERRUM OJ. Immunochemical investigation of membrane proteins. A methodological survey with emphasis placed on immunoprecipitation in gels. *Biochim Biophys Acta*, 1977, 472 : 135.
4. CHARRON DJ, McDEWITT HO. Characterization of HLA-DR antigens by two-dimensional gel electrophoresis : molecular genotyping. *J Exp Med* 1980, 152 : 18s.
5. CHARRON D. *Techniques biochimiques d'analyse des antigènes de membrane*. Editions INSERM, Paris, 1987, 100 pages.
6. DAVIS LG, DIBNER MD, BATTEY JF. *Basic methods in molecular biology*. Elsevier, New York, 1986, 388 pages.
7. GEEVER RT, WILSON LB, NALLASETH FS et al. Direct identification of sickle cell anaemia by blot hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78 : 5081.
8. GERSHONI JM, PALADE GE. Protein blotting : principles and applications. *Anal Biochem*, 1983, 131 : 1-15.
9. GODING JW, HANDMAN E. Electrophoretic analysis of protein antigens. *In* : CM Morell (Ed). *Genes and antigens of parasites*, Fundação Oswaldo Uz, Rio de Janeiro, 1984, pp. 383-415.
10. HOZUMI N, TONEGAWA A. Evidence for somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1976, 3628 : 73.
11. JONES PP. Analysis of radiolabeled lymphocyte proteins by one and two dimensional polyacrylamide gel electrophoresis. *In* : BB Mishell, SM Shiigi, Eds. *Selected methods in cellular immunology*, WH Freeman and Co, SF, 1980, pp. 398-440.
12. KAN YW, DOZY AM. Antenatal diagnosis of sickle cell anaemia by DNA analysis of amniotic fluid cells. *Lancet*, 1987, ii : 910.
13. LAEMMLI UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of the bacteriophage T4. *Nature*, 1970, 227 : 680-685.
14. LANGER PR, WALDROP AA, WARD DC. Enzymatic synthesis of biotin-labeled polynucleotides : novel acid affinity probes. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1981, 78 : 6633-6637.
15. LANZILLO JJ, STEVENS J, TUMAS J, FANBURG BL. Avidin biotin amplified immunoperoxidase staining of angiotensin I converting enzyme transferred to nitrocellulose after agarose isoelectric focusing. *Electrophoresis*, 1983, 4 : 313-316.
16. MANIATIS T, FRITSCH EF, SAMBROOK J. *Molecular cloning. A laboratory manual*. Cold Spring Harbor laboratory, 1982, 545 pages.
17. NEEFJES JJ, BREUR-VRIESENDORP BS, VAN SEVENTER GA et al. An improved biochemical method for the analysis of HLA-class I Antigens. Definition of new HLA-class I subtypes. *Human Immunol*, 1986, 16 : 169-181.
18. O'FARRELL P. High resolution two dimensional gel electrophoresis of protein. *J Biol Chem*, 1975, 250 : 4007.
19. O'FARRELL PZ, GOODMAN HP, O'FARRELL PH. High resolution two dimensional electrophoresis of basic as well as acidic proteins. *Cell*, 1977, 12 : 1133.
20. SAIKI R, SCHARF S, FALOONA F et al. Enzymatic amplification of betaglobin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anaemia. *Science*, 1985, 230 : 1350.
21. SOUTHERN E. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. *J Mol Biol* 1975, 98 : 152.
22. SOUTHERN E. Gel electrophoresis of restriction fragments. *Methods Enzymol*, 1980, 69 : 152.
23. TOWBIN H, STAHELIN T, GORDON J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets : procedure and some applications. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76 : 4350-4354.
24. TOWBIN H, GORDON J. Immunoblotting and dot immunobinding-current status and outlook. *J Immunol Methods*, 1984, 72 : 313-340.

H. Bazin

## MESURE DE L'IMMUNITÉ HUMORALE

L'immunité humorale peut être évaluée par la concentration des immunoglobulines dans divers liquides organiques et sécrétions dont le sérum, le colostrum, les sécrétions intestinales... ou par la production d'anticorps, à la suite d'une stimulation antigénique naturelle ou artificielle. Depuis longtemps, l'immunité humorale a été mesurée à l'aide de tests comme la précipitation en phase liquide, la fixation du complément, l'hémagglutination, l'hémolyse, etc. Ces tests faisaient généralement appel à la propriété anticorps des immunoglobulines qui consiste à s'unir à l'antigène correspondant et non à celle de la classe concernée. Le développement des méthodes de production des antisérums polyclonaux et monoclonaux permet aussi le dosage des classes et sous-classes d'Ig. Il est actuellement possible de réaliser des tests qui donnent les deux informations en même temps. De nombreux tests existent, chacun pouvant disséquer un ou plusieurs mécanismes de la réponse immune humorale. Leur complexité est plus ou moins grande. L'appareillage qu'ils nécessitent est très varié. Le choix des tests à employer dépendra de ces divers paramètres.

### MESURE DES IMMUNOGLOBULINES

#### ÉLECTROPHORÈSE

La méthode d'analyse la plus simple est probablement l'électrophorèse, sur papier ou en agar, du sérum à tester. L'électrophorèse consiste à faire migrer des molécules ou des particules chargées, dans ce cas les protéines du sérum, à travers un milieu liquide ou semi-solide, à l'aide d'un champ électrique. La vitesse de migration dépend de la taille et de la charge des protéines; elle varie avec le pH et la force ionique du tampon, la viscosité du milieu, la différence de potentiel appliquée au système, etc. En pratique, on fait migrer un échantillon de sérum qui se sépare en albumine et en globulines appelées alpha, bêta et gamma en fonction de leur mobilité électrophorétique. On fixe les protéines ainsi séparées dans le support utilisé pour la migration, puis on les colore pour pouvoir les observer

aisément à l'œil nu ou mieux, avec un densitomètre. Le sérum de chaque espèce animale possède un tracé électrophorétique qui lui est propre (Fig. 59-1 à 59-4). Avec un peu d'habitude, il est possible de distinguer les sérums possédant très peu ou beaucoup d'immunoglobulines (Fig. 59-5). De même, les gammopathies accompagnées d'une production monoclonale d'Ig peuvent souvent être identifiées par l'apparition d'un pic dans les régions bêta ou gamma (voir chapitre 36 et Fig. 59-6).

### PRÉCIPITATION EN GEL OU MÉTHODE D'OUCHTERLONY

La précipitation anticorps-antigène en phase liquide a été très longtemps employée. Cependant, sa mise en œuvre était laborieuse. La gélicification du milieu a considérablement diminué les difficultés. Le système le plus couramment utilisé est celui d'Ouchterlony (double diffusion en gélose) qui consiste à faire diffuser les antigènes et les anticorps à partir de puits creusés dans une couche de gélose coulée sur une lame de verre (Fig. 59-7).

Si le résultat de l'analyse se traduit par de nombreuses lignes de précipitation, il est pratiquement impossible d'identifier leur nature. Il est donc nécessaire d'utiliser des antisérums monospécifiques ne précipitant qu'un seul composant du mélange antigénique. En procédant à des dilutions successives du mélange antigénique, il est possible d'obtenir une valeur semi-quantitative de la concentration du composant reconnu par l'antisérum (Fig. 59-8).

### IMMUNODIFFUSION RADIALE OU MÉTHODE DE MANCINI

Cette méthode simple et relativement rapide fait appel à un système de précipitation où l'antisérum est inclus dans une couche de gélose coulée sur une plaque de verre ou dans une boîte de Petri. Un volume déterminé de la solution d'antigène est déposé dans des puits creusés dans le gel. L'antigène diffuse à partir du puits. Dans un premier temps, il est en excès par rapport aux anticorps et il se forme des complexes solubles. Lorsque l'antigène est arrivé à une certaine distance du puits, antigène et anticorps atteignent la zone d'équivalence et forment un anneau de

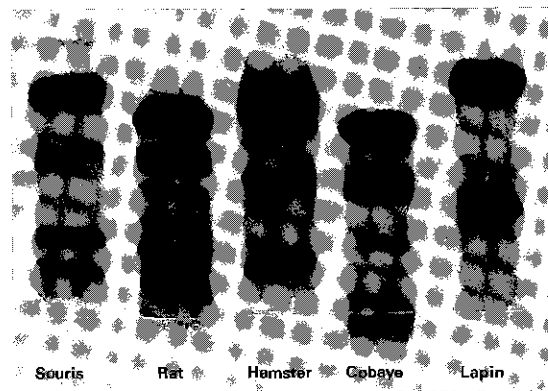


Figure 59-1 Electrophorèse en gel d'agarose (de gauche à droite) de sérums normaux de souris, rat, hamster, cobaye et lapin. Les profils de migration dans des conditions expérimentales identiques diffèrent.

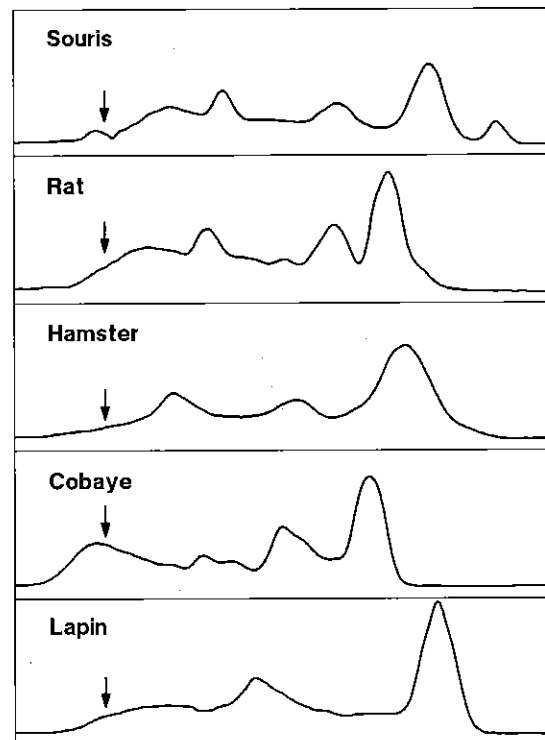


Figure 59-2 Tracés électrophorétiques, enregistrés au densitomètre, des sérums de la figure 59-1. Les flèches indiquent l'endroit des dépôts.

Figure 59-5 d'agarose (de droite) de chat, chien

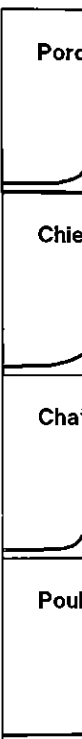
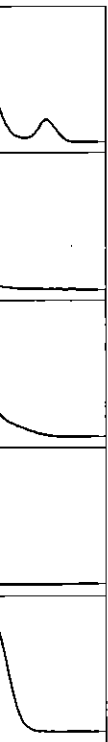


Figure 59-5 chat, pou

précipita  
ment pl  
trations  
lonnage  
tration é  
10).



de gauche à  
r, cobaye et  
ions expéri-



és au densi-  
es indiquent

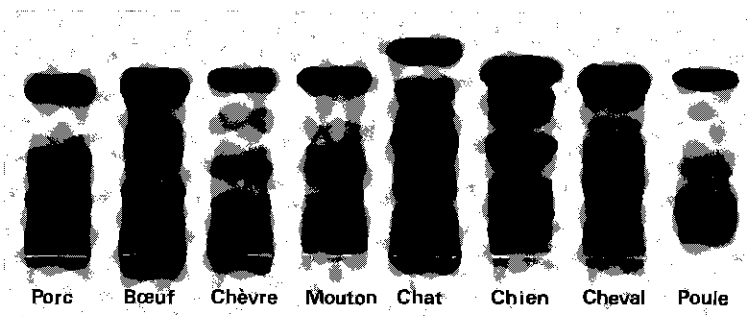


Figure 59-3 Electrophorèse en gel d'agarose de sérums (de gauche à droite) de porc, bœuf, chèvre, mouton, chat, chien, cheval et poule.

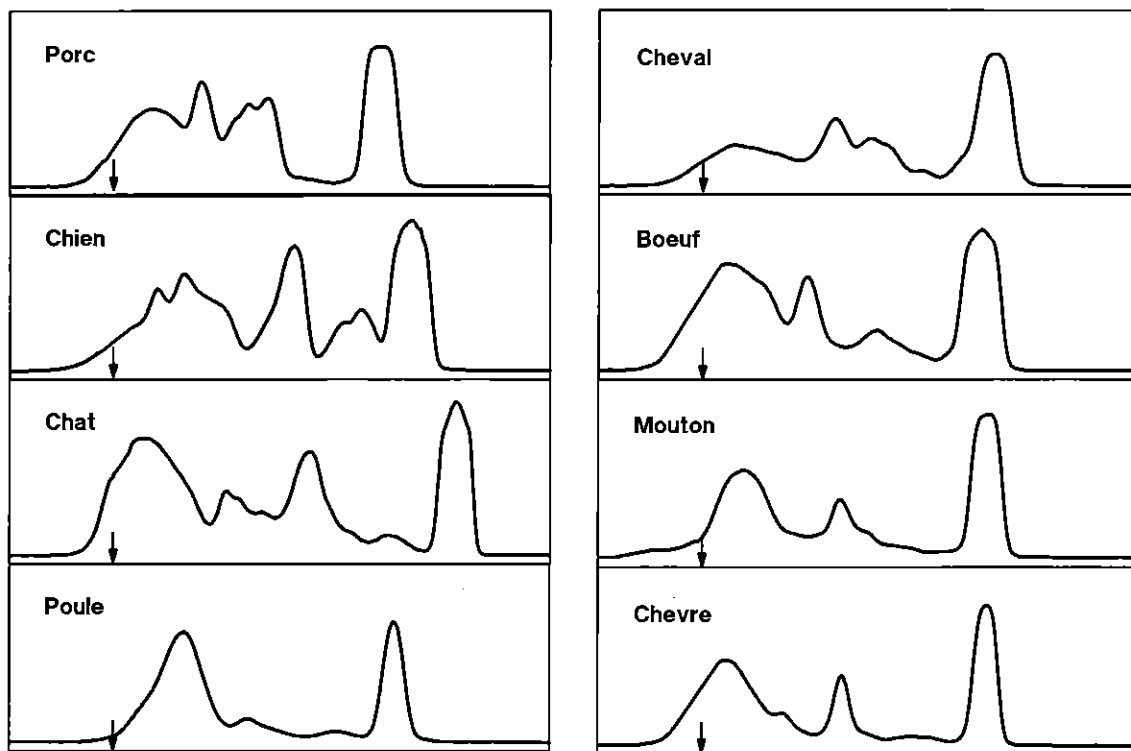
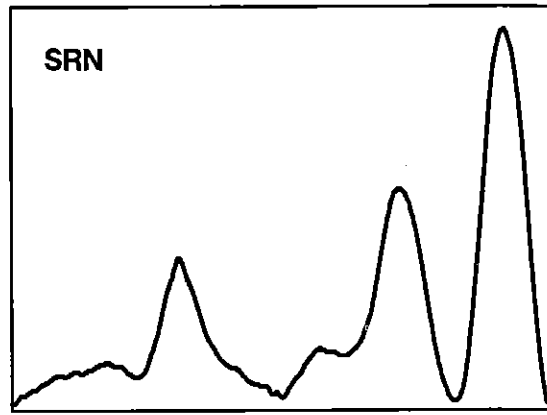
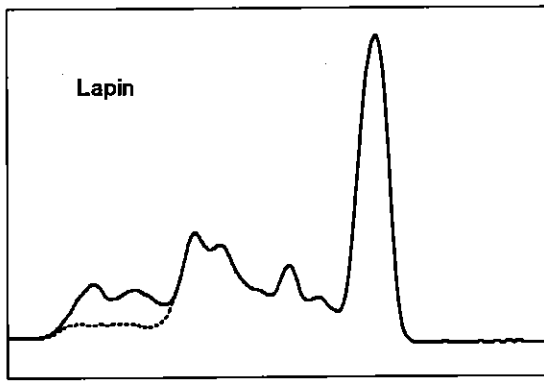


Figure 59-4 Tracés électrophorétiques enregistrés au densitomètre, des sérums de la figure 59-3. Sérum normal de porc, chien, chat, poule, cheval, bœuf, mouton et chèvre.

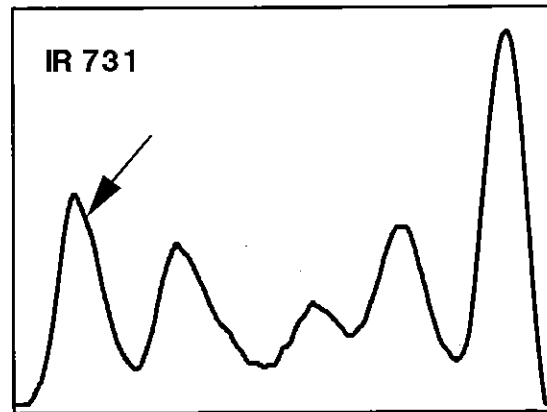
précipitation (Fig. 59-9). En utilisant simultanément plusieurs solutions d'antigène à des concentrations connues pour tracer une courbe d'étalonnage, il est possible de déterminer la concentration en antigène des solutions à tester (Fig. 59-10).

**ANALYSE IMMUNOÉLECTROPHORÉTIQUE**

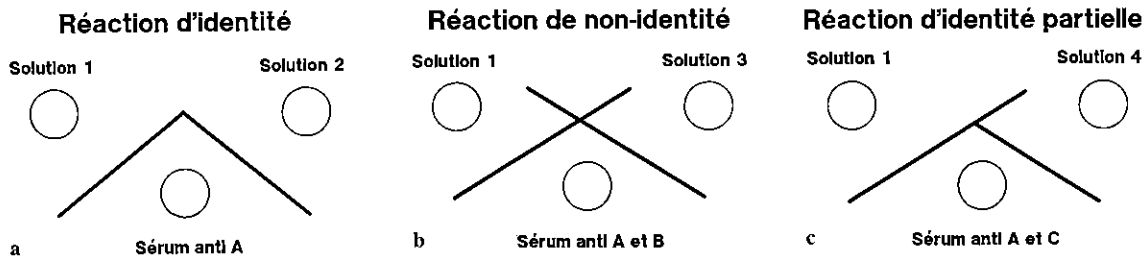
Cette méthode combine le pouvoir de résolution de l'électrophorèse à celui de la double diffusion en gélose. Dans un premier temps, on fait migrer



**Figure 59-5** Tracés électrophorétiques enregistés au densitromètre, d'un sérum de lapin normal (---) et du même sérum appauvri en IgG par passage sur une colonne de sépharose-4B-anticorps monoclonal de rat anti-IgG de lapin (- - -). On peut noter que le sérum de lapin normal a une densité optique supérieure à celle du sérum appauvri en IgG dans la région des gammaglobulines, c'est-à-dire celle des IgG. Il en serait de même, approximativement, dans toutes les espèces animales, où la fin du tracé électrophorétique du côté cathodique de la migration, correspond uniquement à une partie des IgG, sans autres protéines sériques.



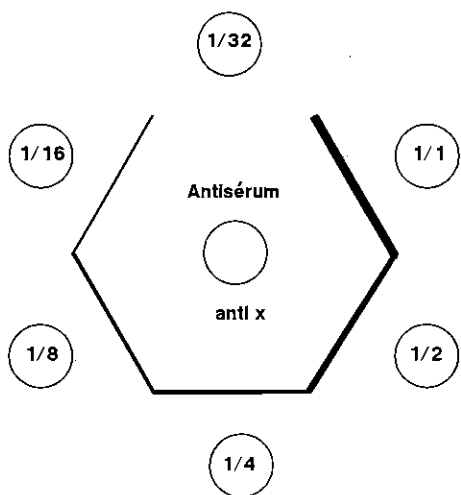
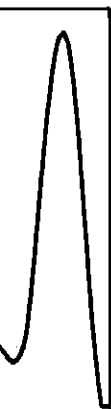
**Figure 59-6** Tracés électrophorétiques d'un sérum de rat Louvain normal et d'un rat porteur de l'immunocytome IR731 sécréteur d'IgD monoclonale. La flèche indique le pic anormal d'IgD monoclonale.



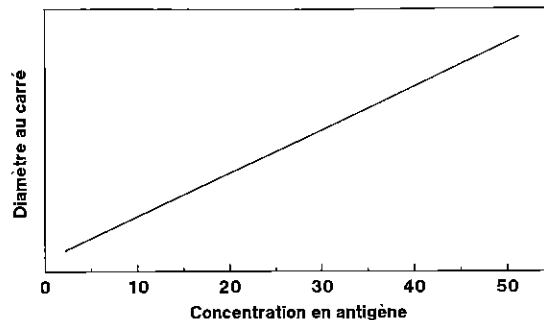
**Figure 59-7** Technique de double diffusion en plaque dite d'Ouchterlony. Dans cette technique, les antigènes et les anticorps diffusent à partir de puits creusés dans une couche de gélose déposée sur une plaque de verre.  
 a) Une réaction d'identité ou de fusion se développe quand deux lignes de précipitation se rejoignent et fusionnent totalement. Ce test montre que les solutions 1 et 2 contiennent le même antigène A qui donne avec l'antisérum deux lignes de précipitation qui sont identiques d'un point de vue sérologique.  
 b) Une réaction de non-identité : les deux lignes de précipitation se croisent indiquant que les deux systèmes antigène-anticorps précipitent indépendamment. La substance A de la solution 1 et la substance B de la solution 3 sont différentes d'un point de vue sérologique.  
 c) Une réaction d'identité partielle : les deux lignes de précipitation se rejoignent mais l'une d'elle forme un éperon sur l'autre. Ce test indique que des déterminants antigéniques de A (solution 1) existent aussi dans la substance C (solution 4), mais que A possède en outre des déterminants antigéniques que C ne possède pas.

**Figure 59-**  
 d'anticorps  
 une couche  
 d'antigène  
 réaction te  
 en antigène  
 une ligne  
 Cette méth  
 concentrat  
 contre une  
 Il est pres  
 seule une  
 soit avec u  
 antigéniqu

**Figure 59-**  
 adéquate  
 d'épaisse  
 solution d  
 sont intro  
 ou après



**Figure 59-8** Test d'Ouchterlony semi-quantitatif. La solution d'anticorps a été placée dans le puits du milieu, creusé dans une couche de gélose déposée sur un support. Une solution d'antigène a été diluée de deux en deux jusqu'au 1/32. La réaction terminée, elle est lue en considérant la concentration en antigène comme étant la dilution maximale donnant encore une ligne de précipitation (ici, la dilution 1/16). Cette méthode peut également être employée pour tester une concentration en anticorps en la faisant réagir contre une solution d'antigène. Il est presque obligatoire d'utiliser pour ce test un système où seule une ligne de précipitation apparaît. Ceci peut être obtenu soit avec un antisérum monospécifique, soit avec une solution antigénique pure.



**Figure 59-10** Méthode d'immunodiffusion radiale ou de Mancini (suite). Il existe une relation directe entre la surface de l'anneau de précipitation et la quantité d'antigène introduite dans le puits correspondant. Dans la pratique, on établit une courbe d'étalonnage entre la surface des anneaux de précipitation (en fait, on utilise par simplicité, le carré du diamètre de l'anneau de précipitation) et les diverses concentrations de la solution antigénique de référence, puis on détermine les concentrations individuelles en antigène des solutions à tester, à l'aide de la surface de leur propre anneau de précipitation et de la courbe d'étalonnage.

partielle

Solution 4



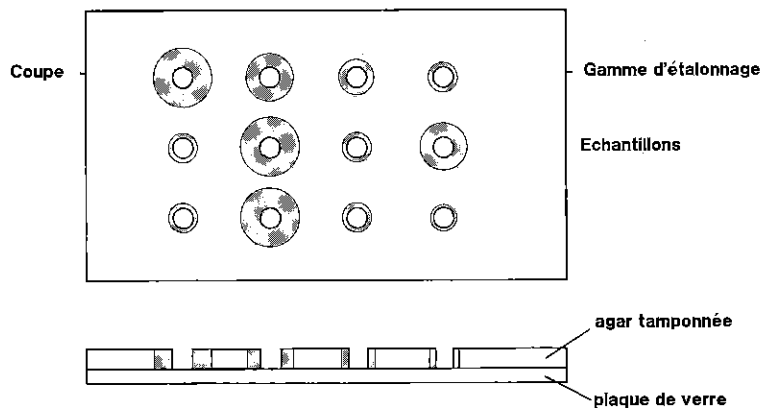
et C

les anticorps

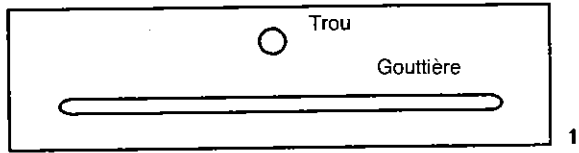
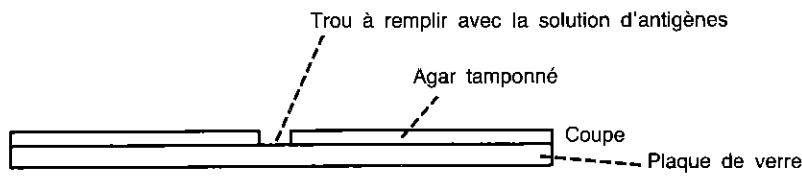
talement. Ce précipitation qui

ene-anticorps point de vue

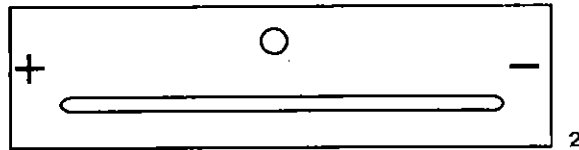
ur l'autre. Ce mais que A



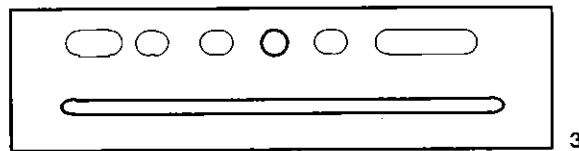
**Figure 59-9** La technique d'immunodiffusion radiale ou de Mancini. Le gel d'agarose (environ 1 p. cent) contenant une quantité adéquate d'anticorps spécifiques de l'antigène est coulé sur une plaque de verre de manière à obtenir une couche de 2 à 3 mm d'épaisseur. Des puits sont creusés, d'un diamètre de 2-3 mm, et remplis d'une quantité donnée d'une série de dilutions d'une solution d'antigène à des concentrations connues. Dans les autres puits, des quantités identiques des solutions du même antigène sont introduites. Après un temps d'incubation adéquat, des anneaux de précipitation apparaissent que l'on peut mesurer directement ou après lavage, séchage et coloration.



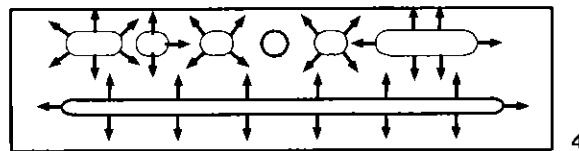
Une couche d'agar tamponné est coulée sur lame de verre. Un trou et une gouttière sont retirés.



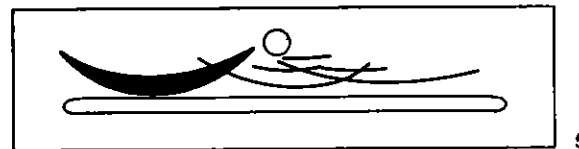
Le trou est rempli par une solution antigénique. Un courant continu est appliqué aux deux extrémités de la plaque. Les protéines migrent en fonction du champ électrique et de leurs charges.



La gouttière est remplie avec un antisérum contre une ou plusieurs protéines contenues dans le liquide à analyser.



L'ensemble est maintenu dans une atmosphère humide pendant 12 à 24 heures : temps de diffusion.



Des arcs de précipitation apparaissent correspondant aux protéines de la solution antigénique.

**Figure 59-11** L'analyse immunoélectrophorétique. Dans l'analyse par la méthode d'Ouchterlony d'un mélange complexe d'antigènes, il est difficile d'identifier les composants. L'analyse immunoélectrophorétique de Grabar et Williams permet de séparer les constituants grâce à leur mobilité électrophorétique avant de les caractériser à l'aide d'une réaction immunologique.

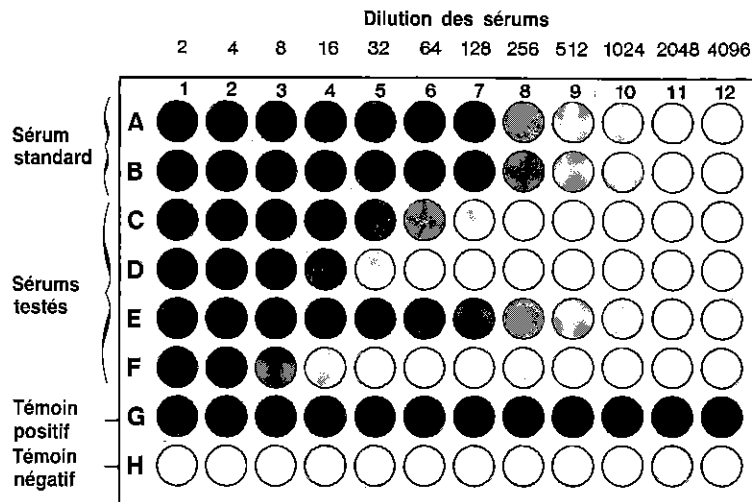
Figure 59-11 est établi à l'aide de la coloration numérique. Dans l'exemple possédant une protéine inconnue du sérum (Fig. 59-11) supérieur à la limite positive de

les protéines sous l'angle d'un deux gouttières protéiniques gel et point de vue permet de protéines IgM et comparées références approx

ELISA IMM

Des sérum marqués





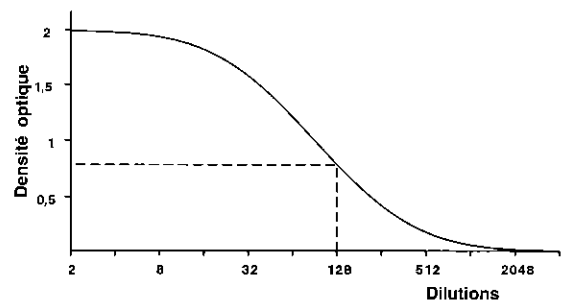
**Figure 59-12** La méthode de l'ELISA ou Enzyme-Linked Immunosorbent Assay : le système employé le plus couramment est établi à l'aide de plaques de plastique ayant 96 puits. La réaction effectuée comme il est indiqué au chapitre 63, aboutit à des colorations plus ou moins marquées du liquide des puits qui, lues à l'aide d'un spectrophotomètre, sont converties en valeurs numériques.

Dans l'exemple de la figure, les deux premières rangées horizontales A et B sont les dilutions de deux en deux d'un sérum standard possédant, si possible, une quantité déterminée de la substance à titrer (dans le cas contraire, il est possible de considérer la valeur inconnue de la substance dans le sérum standard comme valeur de référence et de présenter les valeurs à tester en fonction de celles du sérum standard). Les valeurs des densités optiques des dilutions du sérum standard servant à établir la courbe de référence (Fig. 59-13), les valeurs des sérums à tester seront analysées; ici les sérums testés en C, D, E et F montrent des densités optiques supérieures au bruit de fond à des dilutions de 1/128, 1/32, 1/1 024 et 1/16 respectivement. Les rangées G et H sont les témoins positifs et négatifs du test.

les protéines sériques de l'échantillon à analyser, sous l'influence d'un champ électrique. Puis, dans un deuxième temps, on creuse dans le gel une gouttière où un antisérum est déposé. Les protéines sériques et l'antisérum diffusent dans le gel et produisent des arcs de précipitation à leur point de rencontre (Fig. 59-11). Les emplacements respectifs des lignes de précipitation permettent d'identifier la nature de certaines protéines : albumine, transferrine, et surtout IgG, IgM et IgA dans la majorité des cas. Par comparaison avec un mélange antigénique de référence, il est possible d'obtenir une valeur approximative de la concentration antigénique.

### ELISA (OU ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY)

Des anticorps polyclonaux ou monoclonaux servent à détecter l'antigène à tester. Ils sont marqués, par couplage covalent à une enzyme



**Figure 59-13** L'analyse des résultats obtenus dans la figure 59-12. La courbe de référence est établie à l'aide des valeurs obtenues avec le sérum standard dont les dilutions ont été analysées, chacune deux fois pour plus de sécurité. Les dilutions du sérum standard peuvent être converties en valeurs absolues de la substance à titrer quand cela est possible. Les densités optiques de chaque sérum à tester sont alors converties en valeurs (dilution du sérum standard ou concentration réelle) en utilisant d'une part les dilutions du sérum à tester donnant des densités optiques entre 0,5 et 1 (valeurs correspondant à la sensibilité maximale des spectrophotomètres) et, d'autre part, des densités optiques correspondant à la partie la plus rectiligne de la courbe de référence.

comme la peroxydase qui permet de transformer une substance incolore en une autre, colorée. Le test est lu en mesurant la densité optique de chaque puits de la plaque d'ELISA, à l'aide d'un spectrophotomètre (Fig. 59-12 et 59-13).

Cette méthode permet le titrage relativement rapide et automatisable des concentrations en immunoglobulines d'un sérum (Fig. 59-14). La valeur des résultats obtenus dépend largement du (des) sérum(s) polyclonal(aux) ou monoclo-

nal(aux) utilisé(s). La méthode sandwich est celle de choix (Fig. 59-15). Cependant, elle nécessite deux anticorps réagissant avec deux épitopes différents de la même molécule. Il est également possible de développer un ELISA compétitif (voir Fig. 59-15). Dans tous les cas, le test se fait en comparant des mesures réalisées avec les échantillons à évaluer par rapport avec celles de solutions de référence. L'emploi d'éléments radioactifs, tels que  $^{125}\text{I}$ , couplés aux anticorps permet de

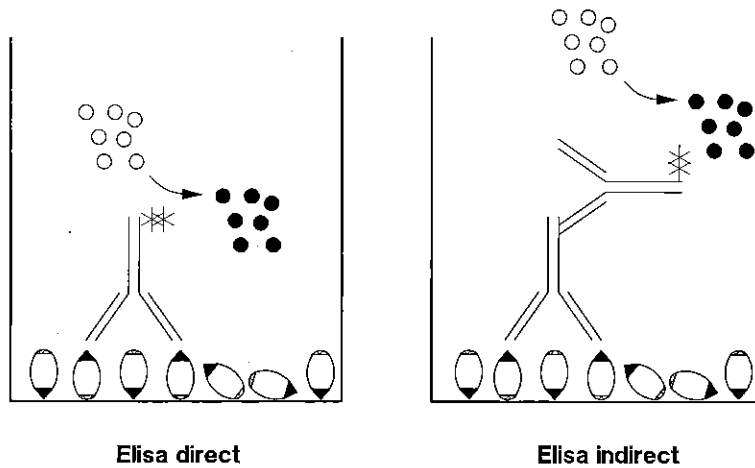


Figure 59-14 Les deux méthodes ELISA, les plus simples. A gauche l'ELISA direct où la substance à tester est adsorbée sur le fond du puits en plastique. L'anticorps marqué est ajouté, puis la réaction colorée est effectuée et lue au spectrophotomètre. A droite, la même technique, mais ici le premier anticorps fixé sur la substance à titrer est détecté par un second anticorps marqué. La suite de la méthode se déroule de la même façon que dans le cas précédent.

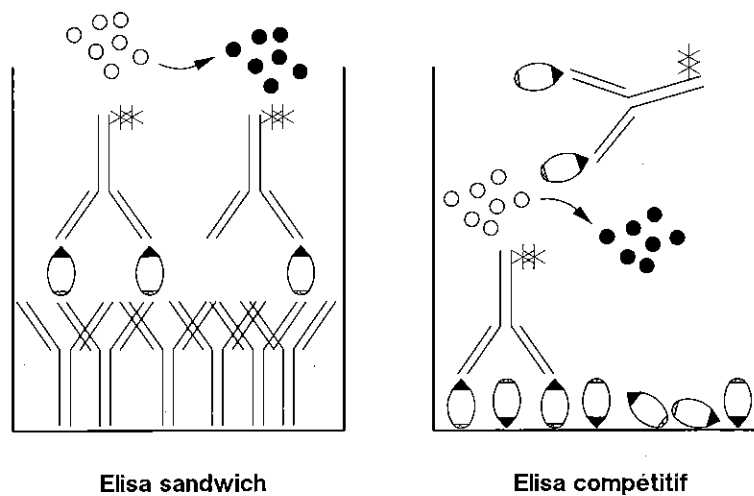


Figure 59-15 L'ELISA Sandwich est une excellente méthode, exigeant un antigène ayant au minimum deux épitopes distincts pouvant être reconnus par deux anticorps. Le premier anticorps est fixé sur le fond du puits, la substance est ajoutée puis, ensuite, un autre anticorps marqué. Dans l'ELISA compétitif, la substance est fixée sur le fond du puits, puis une quantité adéquate d'un anticorps marqué est ajoutée dans chaque puits en présence d'une quantité donnée de la même substance que celle attachée au puits. Les molécules de la substance libre entrent en compétition avec celles qui sont attachées au fond du puits pour servir de cible à l'accrochage de l'anticorps marqué. Un lavage enlève les anticorps marqués accrochés à la substance libre ou non attachés à la substance fixée au fond du puits. La fin du test s'effectue de la même façon que précédemment.

Cette  
Gengou,  
diagnosti  
l'identifi  
est toujo  
ou d'anti  
— la  
immun e  
— le  
56 °C pe  
pas la m  
IgE).

Une qu  
pendant  
avec le s  
Une qua  
ajoutée  
général

Figure 59  
destinée à  
isotype bie  
tester. Da  
molécules  
fixées à l'  
reconnu p  
marqué. I  
sélectionne  
sentés (co  
Dans le cas  
retenus par  
spécifiques

ch est celle  
e nécessite  
x épitopes  
également  
bénéfite (voir  
se fait en  
es échantil-  
e solutions  
actifs, tels  
permet de

détecter leur fixation dans des tests très similaires à l'ELISA et appelé RIA, pour radio-immunoessai (Radio-Immuno Assay).

## MESURE DES ANTICORPS

### RÉACTION DE FIXATION DU COMPLÉMENT

Cette réaction, développée par Bordet et Gengou, en 1901, et appliquée par eux aux diagnostics de plusieurs maladies infectieuses et à l'identification sérologique des espèces animales, est toujours utilisée pour la détection d'anticorps ou d'antigènes. Elle est basée sur plusieurs faits :

- la fixation du complément sur un complexe immun est irréversible;
- le complément est détruit s'il est chauffé à 56 °C pendant 30 minutes, traitement qui n'altère pas la majorité des anticorps (sauf ceux de classe IgE).

Une quantité déterminée de l'antigène X correspondant aux anticorps à rechercher est mélangée avec le sérum à tester qui a été décomplémenté. Une quantité connue de complément est alors ajoutée et l'incubation du mélange se fait en général à 37 °C pendant 30 min. Le système

hémolytique révélateur constitué par des hématies sensibilisées est alors introduit. La réaction se poursuit à 37 °C pendant 10 à 15 min. Si le sérum à étudier contient des anticorps anti-X, l'antigène X et ces anticorps forment un complexe sur lequel le complément se fixe. Il n'est alors plus disponible pour l'hémolyse des globules rouges du système révélateur, qui ne sont donc pas hémolysés (réaction positive). Dans le cas contraire, le complément est disponible et les globules rouges sont lysés (réaction négative).

### MÉTHODES D'AGGLUTINATION

Il est possible d'observer, à l'œil nu, la formation d'agglutinats lorsque l'on met en contact des antigènes particuliers et des anticorps leur correspondant. Cette agglutination est maximale lorsqu'il existe un rapport optimal (zone d'équivalence) entre les quantités d'anticorps et d'antigènes mis en présence. En excès d'anticorps, on note le plus souvent un phénomène de prozone, c'est-à-dire une absence d'agglutination.

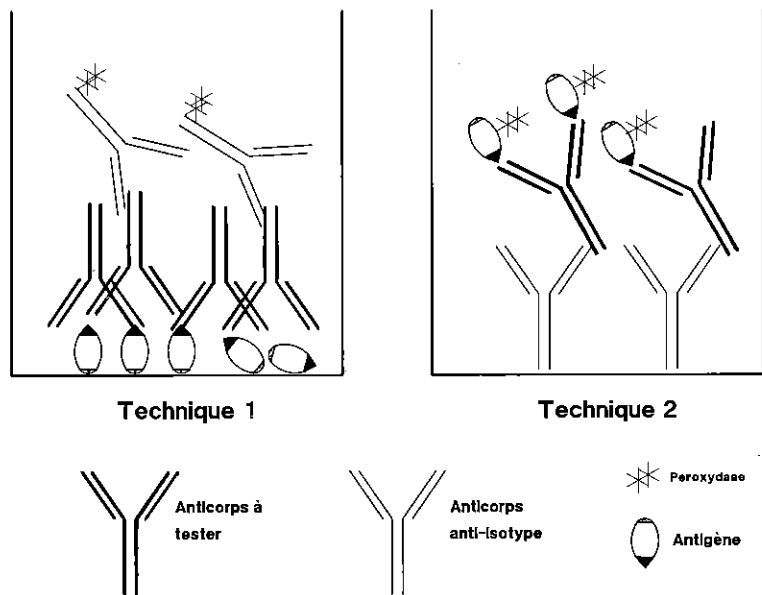
Celle-ci peut être obtenue avec des bactéries, des parasites, des globules rouges normaux (hémagglutination) ou des antigènes attachés à la surface de globules rouges (hémagglutination passive) ou de particules de latex.

La méthode de dosage consiste à diluer d'un facteur constant (en général, deux) les sérums à

ux méthodes  
s. A gauche  
tance à tester  
du puits en  
marqué est  
colorée est  
ophotomètre.  
que, mais ici  
sur la subs-  
par un second  
suite de la  
même façon  
at.

opes distincts  
uis, ensuite,  
déquate d'un  
attachée au  
servir de cible  
attachés à la

**Figure 59-16** La technique 1 est destinée à détecter des anticorps d'un isotype bien représenté dans le sérum à tester. Dans le cas présent, deux molécules d'anticorps sur les quatre fixées à l'antigène sont de l'isotype reconnu par le deuxième anticorps marqué. La technique 2 permet de sélectionner des isotypes peu représentés (comme l'IgE, par exemple). Dans le cas présent, les deux anticorps retenus par les premiers anticorps sont spécifiques de l'antigène étudié.



tester, et à considérer comme titre en anticorps l'inverse de la dilution maximale donnant encore une réaction considérée comme positive.

### ELISA

Les techniques ELISA ou RIA permettent d'évaluer la concentration en anticorps spécifiques d'une classe déterminée, dans un liquide biologique donné. Deux situations particulières, en clinique, ont imposé ces essais. D'une part, la recherche d'anticorps de classe IgM dans les infections virales dont la présence révèle, par opposition à celle des anticorps IgG, une infection récente. D'autre part, l'hypersensibilité immédiate où le rôle des anticorps d'isotype IgE est déterminant.

Deux situations se présentent le plus souvent : tout d'abord, celle où le pourcentage d'anticorps de la classe d'immunoglobulines à évaluer est substantielle. Dans ce cas, la technique 1 (Fig. 59-16) peut être employée, car les anticorps à

rechercher seront suffisamment représentés parmi les molécules qui s'attacheront aux antigènes. Ils pourront être aisément détectés par les anticorps de révélation anti-isotype. Ensuite, celle où les anticorps à détecter sont en faible pourcentage parmi les anticorps spécifiques dirigés contre le même antigène. Ce cas est souvent observé dans la recherche des anticorps spécifiques d'un allergène donné, d'isotype IgE. La technique 2 est préférable.

De multiples variations de ces deux types principaux d'ELISA destinés à déterminer la concentration en anticorps spécifiques d'un antigène donné, ont été proposées et sont décrites dans les manuels spécialisés.

### BIBLIOGRAPHIE

- CROWLE AJ. Immunodiffusion. Academic Press, New York, 1961, 333 pages.  
 TERNYNCK TH, AVRAMEAS S. Techniques en immunologie : techniques immunoenzymatiques. Les Editions INSERM, 1987, 103 pages.

P. Franch

Jusqu'à i  
 cellulaire d  
 indirectes e  
 connus sou  
 retardée.

L'immun  
 par la pro  
 stimulées p  
 concanavali  
 qu'apprécia  
 des cellules  
 des fonction  
 aucune conc  
 lymphoblast  
 les cellules  
 la sécrétion  
 ques ont été  
 spécificité, c  
 laboratoire à  
 laboratoire.

Grâce à  
 génétique,  
 cytokines es

tés parmi  
gènes. Ils  
anticorps  
le où les  
urcentage  
contre le  
servé dans  
ues d'un  
ique 2 est

ux types  
rminer la  
ues d'un  
nt décrites

New York,

mmunologie :  
s INSERM,

P. Franchimont, G. Degiovanni, N. Schaaf-Lafontaine, M. Radermecker, J. Collette

## MESURE DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE

Jusqu'à il y a peu, l'appréciation de l'immunité cellulaire d'un individu et la mesure étaient très indirectes et faisaient appel à des tests cliniques connus sous le nom de tests d'hypersensibilité retardée.

L'immunité cellulaire a depuis lors été évaluée par la prolifération des cellules mononucléées stimulées par des lectines (phytohémagglutinine, concanavale A, etc.). Mais ces tests, bien qu'appréciant directement la réponse mitogénique des cellules mononucléées, ne révèle qu'un aspect des fonctions lymphocytaires T. En effet, il n'y a aucune concordance, entre la réponse mitogénique lymphoblastique et, la sécrétion des cytokines par les cellules immunocompétentes [7]. Pour étudier la sécrétion des cytokines, différents tests biologiques ont été proposés; ils manquent toutefois de spécificité, de précision et de reproductibilité d'un laboratoire à un autre et parfois dans un même laboratoire.

Grâce à la biologie moléculaire et au génie génétique, la structure chimique de plusieurs cytokines est actuellement connue. Des dosages

radio-immunologiques ou enzymo-immunologiques ont dès lors pu être développés, en utilisant des anticorps poly- ou monoclonaux et ils ont déjà été appliqués dans différentes conditions expérimentales et cliniques.

### TRANSFORMATION LYMPHOBLASTIQUE

N. Schaaf-Lafontaine

La majorité des lymphocytes périphériques ont une morphologie caractéristique de petits lymphocytes, avec un rapport noyau/cytoplasme élevé et peu d'organites intracytoplasmiques. Ces cellules se trouvent en phase de repos G<sub>0</sub> du cycle cellulaire. Des signaux extérieurs perçus par des récepteurs membranaires peuvent les amener à se diviser. Le récepteur pour l'antigène des lympho-

cytes T par exemple, perçoit le complexe formé par l'antigène et les molécules du CMH et transmet un signal à la cellule.

Après une stimulation antigénique, des lymphoblastes apparaissent. Ce sont de grandes cellules à cytoplasme volumineux contenant divers organites. Le premier signal de prolifération est donné par l'antigène ou le mitogène et fait passer les cellules de la phase G0 à la phase G1. L'activation d'un récepteur membranaire provoque, dans les lymphocytes B et T, comme dans d'autres cellules, l'augmentation de la concentration en ions  $Ca^{++}$  et celle de l'activité des protéines-kinases C. Au cours de la phase G1, les lymphocytes B et T deviennent sensibles à d'autres signaux de stimulation : qui sont respectivement les lymphokines BCGF et IL-2. Dans les lymphocytes T, la transcription des gènes codant pour l'IL-2 et pour son récepteur est induite par la stimulation antigénique ou par des mitogènes. La densité des récepteurs augmente progressivement sur la membrane au cours de la phase G1. Certains lymphocytes, les T auxiliaires, produisent d'autres lymphokines qui permettent aux cellules activées par l'antigène de passer de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire. Les récepteurs qui ont lié l'IL-2 sont internalisés et la cellule T entre en division.

Certaines substances mitogènes, dont des lectines d'origine végétale comme la concanavaline A (Con A) et la phytohématagglutinine (PHA), ont la propriété de se lier à la membrane des lymphocytes d'une façon non spécifique et de donner le signal d'activation. Il en résulte une réponse polyclonale qui se déroule selon les mêmes étapes que la transformation lymphoblastique induite par l'antigène et la libération de lymphokines.

La capacité des cellules du sang périphérique de répondre aux signaux d'activation par une transformation lymphoblastique peut être évaluée *in vitro* [13]. Les lymphocytes, isolés par une technique de centrifugation sur gradient de densité, sont mis en culture avec un antigène particulier ou un mitogène, en présence de thymidine tritiée. Après quelques jours, la culture est récoltée sur des filtres qui sont lavés puis placés dans un compteur à scintillation. La mesure d'une radioactivité importante témoigne d'une incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN et donc d'une réponse proliférative à l'antigène ou au mitogène.

Les lymphocytes subissent deux phases principales de prolifération. La première est associée à

leur différenciation à partir de précurseurs. La seconde est consécutive à un stimulus antigénique approprié. L'expansion clonale des lymphocytes résulte de la succession de plusieurs cycles de division.

Le test de transformation lymphoblastique (TTL) est utilisé pour analyser certaines immunodéficiences; il permet de mettre en évidence un défaut de maturation de certaines sous-populations lymphocytaires en réponse à une stimulation.

## MESURE DE LA CYTOTOXICITÉ CELLULAIRE

G. Degiovanni

Ces techniques consistent à étudier la survie ou, à l'inverse, la destruction des cellules cibles (cellules normales ou transformées) en présence de cellules effectrices plus ou moins purifiées : lymphocytes T cytotoxiques, cellules tueuses naturelles (NK), monocytes, cellules tueuses activées par l'interleukine 2 (LAK), et cellules intervenant dans l'ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity).

Différents tests permettent une appréciation quantitative de la réponse lymphocytaire T cytolytique (CTL) : ils sont de courte durée (3 à 6 h) ou de longue durée (24 à 48 h). Les tests de courte durée mesurent essentiellement une activité cytotoxique « directe » que les cellules immunes possèdent déjà au moment où elles sont testées; l'activité cytotoxique exprimée au cours de tests de longue durée peut non seulement résulter de cette activité cytotoxique « directe » mais aussi d'activités cytotoxiques consécutives à l'expression d'autres mécanismes ou résultant de la réactivation des lymphocytes effecteurs par les cellules cibles.

Parmi les tests de longue durée, le plus représentatif est celui décrit par Takasugi et Klein [15] dans lequel la cytotoxicité des cellules effectrices est exprimée par le pourcentage de réduction du nombre de cellules cibles par rapport aux tests témoins dans lesquels des cellules effectrices proviennent de sujets non immuns.

Parmi les tests de courte durée, c'est le test de relargage du chrome 51 qui a été et est le plus souvent employé [2]. Ce test est basé sur le marquage des cellules cibles par des ions

chromates  
ions diffu  
cibles et s  
une périod  
cellules m  
les cellul  
pas réinc  
L'utilis  
la mesur  
libèrent s  
Dans ces  
est en re  
lysées. E  
sont pas  
marquées  
spontanée

Pratique  
suit : 10  
les cellul  
dans un v  
à 6 heur  
surnagean  
testé pou  
l'isotope p  
l'absence  
spontané)  
maximum  
spécifique  
trices/cell  
vante :

Relargage

Relarga

Pour q  
centage d  
cellules e  
fonction  
logarithm  
p. cent de  
1). L'unit  
comme é  
nécessaire  
cellules c  
du test. S  
tique des  
ou forte,  
moins gr  
nombre d  
cellules e  
testés.

Ces tec

seurs. La  
antigénique  
mphocytes  
cycles de

blastique  
immuno-  
dence un  
populations  
ulation.

E

survie ou,  
les cibles  
a présence  
purifiées :  
s tueuses  
euses acti-  
t cellules  
Dependent

appréciation  
: T cytoly-  
à 6 h) ou  
de courte  
ivité cyto-  
immunes  
nt testées;  
rs de tests  
résulter de  
mais aussi  
l'expres-  
ant de la  
rs par les

, le plus  
gi et Klein  
s cellules  
centage de  
par rapport  
s cellules  
immuns.

le test de  
est le plus  
asé sur le  
des ions

chromates radioactifs. Dans ces conditions, les ions diffusent à travers la membrane des cellules cibles et sont retenus dans le cytoplasme pendant une période plus ou moins longue. Lorsque les cellules marquées au  $^{51}\text{Cr}$  sont endommagées par les cellules effectrices, le  $^{51}\text{Cr}$  est libéré et n'est pas réincorporé par les cellules intactes.

L'utilisation de ce test n'est possible que dans la mesure où les cellules cibles marquées ne libèrent spontanément que très peu d'isotopes. Dans ces conditions, le pourcentage de  $^{51}\text{Cr}$  libéré est en relation avec le pourcentage de cellules lysées. En général, les tests de longue durée ne sont pas réalisables avec des cellules cibles marquées au  $^{51}\text{Cr}$  en raison d'une libération spontanée excessive de l'isotope.

Pratiquement, le test au  $^{51}\text{Cr}$  est réalisé comme suit : 10 000 cellules cibles sont mélangées avec les cellules effectrices dans différents rapports dans un volume de 0,2 ml par micropuits. Après 3 à 6 heures d'incubation à 37 °C, 0,1 ml du surnageant est prélevé de chacun des micropuits et testé pour sa radioactivité. Le relargage de l'isotope par les cellules cibles est aussi évalué en l'absence des cellules effectrices (relargage spontané) et en présence de détergent (relargage maximum). On détermine le pourcentage de lyse spécifique pour chaque rapport cellules effectrices/cellules cibles en utilisant la formule suivante :

$$\frac{\text{Relargage expérimental} - \text{Relargage spontané}}{\text{Relargage maximum} - \text{Relargage spontané}} \times 100$$

Pour quantifier l'activité cytotoxique, le pourcentage de lyse est calculé pour chaque rapport cellules effectrices/cellules cibles et rapporté en fonction de ces rapports sur du papier semi-logarithmique. Une courbe linéaire entre 20 et 80 p. cent de lyse est généralement obtenue (Fig. 60-1). L'unité lytique (LU) est arbitrairement définie comme étant le nombre de cellules effectrices nécessaires pour obtenir 50 p. cent de lyse des cellules cibles dans les conditions de réalisation du test. Selon que l'intensité de l'activité cytolytique des populations cellulaires testées est faible ou forte, une LU sera exprimée par un plus ou moins grand nombre de cellules effectrices. Le nombre de LU peut être calculé par millions de cellules effectrices, par culture et/ou par organe testés.

Ces techniques permettent d'évaluer l'activité

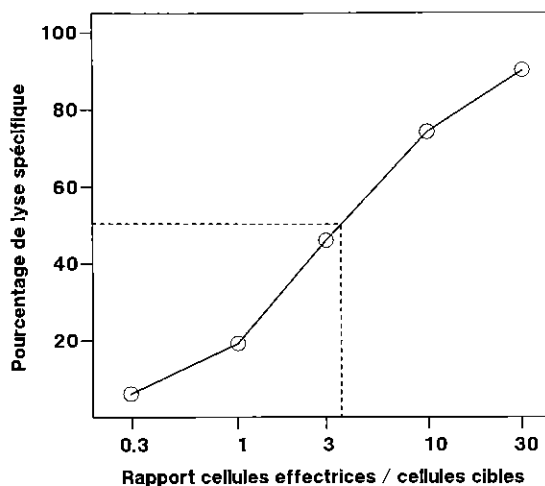


Figure 60-1 Courbe de référence utilisée pour apprécier la cytotoxicité directe.

Ordonnée : pourcentage de lyse spécifique; échelle arithmétique.

Abscisse : rapport cellules effectrices - cellules cibles en échelle logarithmique.

Une unité de lyse correspond au rapport cellules effectrices : cellules cibles, entraînant 50 p. cent de lyse des cellules cibles (ligne pointillée).

cytolytique de différentes populations de cellules effectrices :

- cellules T cytolytiques;
- cellules tueuses naturelles (NK) dont l'activité cytolytique ne résulte pas d'une immunisation préalable; ces cellules effectrices tuent certaines lignées tumorales;
- cellules tueuses (K), monocytes et polynucléaires qui tuent les cellules cibles recouvertes d'anticorps spécifiques dont elles possèdent le récepteur Fc correspondant (ADCC);
- les cellules tueuses activées par les lymphokines (LAK) qui sont induites in vitro en présence de fortes concentrations d'interleukine 2 et qui lysent préférentiellement les cellules tumorales.

Enfin, une tout autre manière d'évaluer de façon quantitative une réponse cytotoxique spécifique d'un antigène donné est d'établir la fréquence des précurseurs T cytolytiques (CTL-P). Cette mesure requiert des conditions de cultures bien définies (besoins en IL-2 exogène et en cellules nourricières) permettant une expansion clonale de populations lymphocytaires T.

## ÉVALUATION IN VIVO DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE

M. Radermecker

Les tests cutanés d'hypersensibilité retardée sont une expression clinique de la réaction d'immunité cellulaire. Simples et fiables, ils sont utilisés en médecine dans un but diagnostique ou épidémiologique et en vue d'étudier l'immunité cellulaire chez les sujets suspects de déficience immunitaire.

### RÉACTION CUTANÉE D'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

La capacité d'un antigène d'induire une immunité de type cellulaire varie en fonction de sa nature chimique, de sa taille, de sa voie de pénétration et de sa persistance dans l'organisme. Ce sont surtout les antigènes bactériens, viraux ou fongiques, responsables d'infections latentes ou chroniques et persistant longtemps dans les phagocytes, qui produisent une immunité de type cellulaire [16]. Chez le sujet ainsi sensibilisé, l'injection intradermique de l'antigène induit une réaction d'hypersensibilité de type retardé. Le test tuberculinique (Mantoux) est un exemple classique de cette réaction qui est caractérisée par une induration érythémateuse survenant quelques heures après l'injection de l'antigène, atteignant son acmé en 24-72 h et disparaissant en quelques jours. L'induration cutanée, qui doit être prise en considération dans l'interprétation des résultats, est causée par l'accumulation dans le derme de cellules mononucléées (monocytes, lymphocytes) qui s'activent mutuellement. L'afflux des cellules mononucléées est facilité par une augmentation locale de la perméabilité vasculaire liée à la dégranulation des mastocytes/basophiles [8].

### INTÉRÊT DES TESTS CUTANÉS D'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

#### Dans un but diagnostique

On les pratique en dermatologie (patch-tests) pour rechercher l'agent chimique responsable d'un eczéma de contact.

En médecine, ils sont utilisés pour étayer un diagnostic d'infection à mycobactéries (tuberculine, PPD, sensitines), à champignon (histoplasmine, blastomycine, etc.) ou à virus (infection par le virus herpès bovin de type 1, etc.). Une réaction positive démontre que le sujet est ou a été en contact avec l'antigène considéré, mais ne permet pas d'affirmer une infection évolutive. Un test négatif infirme le diagnostic en l'absence de déficit immunitaire. Il est donc capital d'exclure un état d'anergie et, dans ce but, il importe de tester parallèlement d'autres antigènes contre lesquels le sujet devrait être normalement sensibilisé (antigènes de rappel).

#### Dans le but d'évaluer l'immunité cellulaire

On peut étudier l'immunité cellulaire à l'aide de réactions dites primaires, c'est-à-dire vis-à-vis d'antigènes qui n'ont pas encore été rencontrés par l'organisme. Dans ce cas, on sensibilise l'individu à un antigène donné puis, 3 à 6 semaines plus tard, on étudie sa réaction d'hypersensibilité retardée lors d'une seconde administration du même antigène. Comme antigène, on utilise certaines substances telles que le dinitrochlorobenzène (DNCB), le dinitrofluorobenzène (DNFB) ou le chlorure de picryle. L'application cutanée de ces produits (0,1 ml d'une solution à 20 p. cent dans l'acétone) induit une immunisation chez tous les sujets normaux. Trois semaines plus tard, l'application cutanée d'une solution plus diluée du produit (50 à 100 µg) induira normalement une réaction d'hypersensibilité retardée. Ces produits, très allergisants, donnent parfois des réactions phlycténulaires violentes [9].

On peut également étudier la capacité de l'organisme de développer une réaction cutanée d'hypersensibilité retardée à l'injection intradermique d'antigènes auxquels il devrait être normalement sensibilisé (réaction dite secondaire). Ces antigènes dits « de rappel » sont des produits ubiquitaires d'origine infectieuse : extraits de mycobactéries, de champignons, de virus, de streptocoque, etc. Il n'existe toutefois aucun antigène pour lequel on puisse garantir que la totalité de la population est immunisée. L'utilisation d'une batterie d'antigènes (5 à 8) est, dès lors, indispensable pour tester l'immunité cellulaire : les antigènes de rappel donnant le plus grand pourcentage de réactivité chez l'homme normal sont la candidine, la tricophytine, la

MESURE D

streptokin  
nique, le  
L'applica  
de classe  
répondeur  
hyporépor  
antigènes  
deurs (au  
antigènes

MESUR

P. Franc

Deux m  
quantifier  
milieux bi  
des cellul  
biologique

MÉTHO

Les mé  
propriété p  
à doser.  
l'interleuk  
ment étudi  
dantes de  
de souris  
appréciée  
permettant  
l'ADN.

Autre  
tumeurs (T  
cytotoxicité  
nues en liq  
cellules W  
dans ce tes  
par le com  
poration d  
tétrazolium  
radioactif  
cellules né

Les tests  
2) reposen  
multiplicati  
souris) dépr



streptokinase/streptodornase, l'anatoxine tétanique, le virus des oreillons et la tuberculine. L'application simultanée de ces antigènes permet de classer les sujets testés en patients non répondeurs (pas de réaction positive : anergie), hyporépondeurs (une réponse positive sur 5 antigènes testés : anergie relative) ou normorépondeurs (au moins 2 réponses positives sur 5 antigènes testés).

## MESURE DES CYTOKINES

P. Franchimont, J. Collette

Deux méthodes de dosage sont utilisées pour quantifier le taux des cytokines dans différents milieux biologiques et dans les milieux de culture des cellules immunocompétentes : les méthodes biologiques et immunochimiques.

### MÉTHODES BIOLOGIQUES

Les méthodes biologiques reposent sur une propriété plus ou moins spécifique de la cytokine à doser. Ainsi, pour doser biologiquement l'interleukine 1 (IL-1), le paramètre habituellement étudié est la prolifération de cellules dépendantes de cette monokine, comme les thymocytes de souris (C3H/HeJ). La prolifération cellulaire est appréciée par l'incorporation de thymidine tritiée permettant de calculer l'activité spécifique de l'ADN.

Autre monokiné, le facteur nécrosant des tumeurs (TNF- $\alpha$ ) est dosé biologiquement par sa cytotoxicité sur des cellules transformées maintenues en lignée continue comme par exemple les cellules WEHI 164 clone B. Le paramètre étudié dans ce test est la destruction cellulaire appréciée par le comptage des cellules survivantes, l'incorporation d'un colorant vital comme les sels de tétrazolium ou par la libération de chrome radioactif préalablement incorporé dans les cellules néoplasiques.

Les tests biologiques pour l'interleukine 2 (IL-2) reposent sur sa propriété de stimuler la multiplication des cellules T (habituellement de souris) dépendantes de l'IL-2. Le paramètre étudié

est la prolifération lymphoblastique, appréciée par l'incorporation de  $^3\text{H}$ -thymidine.

Quant à l'interféron gamma, il est habituellement apprécié par son effet antiviral. Celui-ci est décelé par l'inhibition de la destruction cellulaire induite par le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV). Cette destruction cellulaire est appréciée par comptage au microscope.

Ces techniques présentent de nombreux inconvénients. Le premier est constitué par le manque de spécificité : de nombreuses substances biologiques sont capables d'induire l'effet biologique observé : prolifération cellulaire, cytotoxicité, inhibition de la destruction cellulaire par les virus. Par ailleurs, dans les différents milieux biologiques, il existe des substances inhibitrices de ces effets. Dès lors, l'effet biologique observé est la résultante des substances agonistes et antagonistes sur le paramètre étudié et non une action spécifique d'une cytokine déterminée.

Le deuxième inconvénient réside dans le manque de reproductibilité d'un laboratoire à l'autre, et dans un même laboratoire. Les variations des lignées cellulaires employées et, dans la même lignée, d'un clone à l'autre, en sont partiellement responsables mais également les conditions expérimentales qui influencent les résultats : présence ou absence de sérum dans le milieu de culture, nature de ce sérum, etc. La standardisation de ces techniques est très difficile.

Le troisième inconvénient, la lourdeur de la technique et son coût, en rend l'application difficile et peu répandue, réservée à quelques laboratoires expérimentés.

Le quatrième inconvénient des tests biologiques est le manque de précision. Ainsi, les préparations de référence sont-elles habituellement imparfaites, car elles sont produites au laboratoire par des cellules mononucléées en culture et enrichies. Elles sont employées en dilutions successives, ce qui fournit, en fait, des résultats semi-quantitatifs.

La sensibilité du dosage est mauvaise, sauf lorsque le signal mesuré est lié à la présence d'un isotope comme le tritium et le chrome.

### MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES

La synthèse des cytokines par génie génétique a permis de mettre au point des méthodes immunologiques utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre chacune de celles-ci. Dans cette méthodologie, des cytokines recombi-

nantes sont habituellement utilisées comme traceurs, immunogènes ou préparations de référence.

La technique utilisée est très variable d'une méthode à l'autre. Il peut s'agir d'un dosage radio-immunologique classique par compétition avec marquage de la cytokine à l' $^{125}\text{I}$  et son incubation en excès par rapport à l'antisérum. Le déplacement de la cytokine marquée de son anticorps est proportionnel à la quantité de cytokine non marquée ajoutée au milieu d'incubation [7].

Il peut aussi s'agir d'une méthode en sandwich où un anticorps (souvent monoclonal) est fixé à un support solide. L'antigène vient s'y fixer. Il y est révélé par un second anticorps dirigé contre un autre groupement antigénique de la cytokine. Ce second anticorps est marqué soit par l' $^{125}\text{I}$ , soit par un enzyme.

Ces techniques sont très spécifiques. Elles dosent uniquement les molécules possédant le déterminant antigénique contre lequel l'anticorps est dirigé. Ainsi, le dosage radio-immunologique d'une cytokine n'est pas influencé par une autre ni

par un quelconque inhibiteur. Cependant, si un précurseur de la cytokine ou un fragment métabolique possède l'épitope reconnu par l'anticorps, il sera également dosé.

La sous-évaluation quantitative est un autre piège de la méthode utilisant les anticorps monoclonaux. En effet, ceux-ci peuvent être dirigés contre un déterminant antigénique masqué de la molécule circulante ou d'une partie, fragile et rapidement dégradée, de celle-ci.

La méthode sandwich a l'avantage d'accroître encore la sensibilité déjà excellente pour tous les dosages immunologiques. Sa précision est bonne ainsi que son exactitude qui s'exprime par le rapport entre la quantité expérimentalement dosée et celle, connue, qui est ajoutée au milieu biologique.

La reproductibilité du résultat, d'un dosage à l'autre, présente des fluctuations habituellement inférieures à 15 p. cent. A titre d'exemple, le tableau 60-I donne les principaux critères de qualité de certains dosages immunochimiques de cytokines : IL-1, TNF alpha, IL-2, INF- $\gamma$ .

Idéalement, les résultats de ces dosages

Tableau 60-I Contrôle de qualité de dosages immunochimiques de certaines cytokines.

Cytokines	Méthode	Spécificité	Sensibilité	Exactitude (p. cent)	Précision : coefficient de variation intra-essai (p. cent)	Précision : coefficient de variation inter-essai (p. cent)	Références
IL-1 $\alpha$	Sandwich EIA <sup>1</sup>	Pas de réaction croisée avec les autres cytokines	2 pg/ml <sup>-1</sup>	92-98	<7	<7,5	14
IL-1 $\beta$	RIA <sup>2</sup>	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	99	<6,4	<12	11
TNF $\alpha$	RIA <sup>2</sup>	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<6	<10,5	6
TNF $\alpha$	IRMA <sup>3</sup>	Idem	5 pg/ml <sup>-1</sup>	81-102	<6	<7	
IL-2	RIA	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	79-95	<8	<11	1
IL-2	Sandwich mixte poly- et monoclonal : isotope	?	100-200 pg/ml <sup>-1</sup>	?	?	?	3
IL-2	Sandwich mixte récepteur et monoclonal : isotope	?	5 ng/ml	?			10
IL-2	Sandwich polyclonal : isotope	?	40 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<7,4	<9,3	5
INF $\gamma$	IRMA	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<10	?	4
INF $\gamma$	RIA	Idem	25 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<8	<12	12

<sup>1</sup> Sandwich immunoenzymoassay; <sup>2</sup> RIA : radio-immunoassay; <sup>3</sup> IRMA : immunoradiometric assay.

devraient  
employées  
est réalis  
référence,  
actuelleme  
tant biolo  
60-II don  
gique et la  
par gén  
TNF alpha  
l'IL-2.

## BIBLIO

1. BERNIER  
Radioim  
leukin-2

Tableau 60-II Quelques préparations de référence de cytokines.

Cyto-kines	Numéro de la préparation de référence	Origine de la préparation de référence	Equivalence avec la préparation recombinante pure
IL-1 $\beta$	86-55	National Institute for Biological Standards and control (NBSB) Hertforshire (UK)	1 U = 11,25 pg (Biogen)
TNF $\alpha$	86-659	Idem	1 U = 20 à 25 pg (Biogen et Genentech)
IL-2	ISDP : 841	Biological Response Modifiers Program National Cancer Institute BRMP-NCI	1 U = 75 pg (Jurkat)
$\gamma$ -IFN	Gg 23-901-530	NIH National Institute of Health, Bethesda, U.S.A.	1 U = 50 pg (Boehringer)

devraient être exprimés en unités communes et employées par tous les laboratoires. Une tentative est réalisée dans ce sens. Des préparations de référence, calibrées en unités biologiques, sont actuellement proposées pour exprimer les résultats tant biologiques qu'immunochimiques : le tableau 60-II donne l'équivalence entre une unité biologique et la masse de l'antigène à l'état pur obtenu par génie génétique pour l'IL-1 bêta, le TNF alpha et l'INF- $\gamma$  et, par extraction, pour l'IL-2.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BERNIER J, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Radioimmunological study of the regulation of interleukin-2 production in peripheral blood mononuclear cell

2. BRUNNER KT, ENGERS HD, CEROTTINI JC. The  $^{51}\text{Cr}$  release assay as used for the quantitative measurement of cell-mediated cytotoxicity in vitro. *In* : BR Bloom and JR David. *In vitro Methods in Cell-mediated and Tumor Immunity*, NY, San Francisco, London, Academic Press, 1986, pp. 423-436.
3. CARDENAS JM, MARSHALL P, HENDERSON B et al. Human interleukin-2. Quantitation by a sensitive radioimmunoassay. *J Immunol Methods*, 1986, 89 : 181-189.
4. CHANG TW, MCKINNEY S, LIU V et al. Use of monoclonal antibodies as sensitive and specific probes for biologically active human gamma-interferon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81 : 5219-5222.
5. FERRUA B, AUSSEL C, FEHLMANN M. Human interleukin-2. Detection at the picomolar level by sandwich enzyme immunoassay. *J Immunol Methods*, 1987, 97 : 215-220.
6. FRANCHIMONT P, REUTER A, GYSEN P et al. Tumor necrosis factor alpha : un médiateur de la fonction macrophagique. *Actions biologiques et dosage radioimmunologique*. *Med et Hyg*, 1987, 45 : 2160-2168.
7. FRANCHIMONT P, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma and interleukin-2 by peripheral blood mononuclear cells of subjects suffering from rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1988, 17 : 203-212.
8. GALLI SJ, DVORAK AM. What do mast cells have to do with delayed hypersensitivity. *Lab Invest*, 1984, 50 : 365-368.
9. GORDON EH, KROUSE A, KINNEY JL et al. Delayed cutaneous hypersensitivity in normals : choice of antigens and comparison to in vitro assays of cell-mediated immunity. *J Allergy Clin Immunol*, 1983, 72 : 487-494.
10. OHIRE Y, IMAI M, TANAKA E et al. A radioimmunoassay that sandwiches human interleukin-2 between radiolabeled monoclonal antibody and the receptor on a hematopoietic cell line. *J Immunol Methods*, 1986, 87 : 245-249.
11. REUTER A, BERNIER J, GYSEN P et al. A RIA for tumor necrosis factor (TNF alpha) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) and their direct determination in serum. *In* : MC Powanda, JJ Oepenheim, MJ Kluger, CA Dinarella. *Monokines and other non-lymphocytic cytokines*, NY, Alan R Liss, Inc., 1988, pp. 377-381.
12. REUTER A, BERNIER J, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of interferon-gamma by peripheral blood mononuclear cells from normal subjects and from patients with rheumatoid arthritis. *Clin and Exp Rheumatol*, 1989, 6 : 347-354.
13. STITES DP. Clinical laboratory methods for detection of cellular immune function. *In* : D Stites, J Stobo, H Fundenberg, JV Wells. *Basic and Clinical Immunology*, Los Altos, California, Lange Medical Publications, 1984, pp. 353-371.
14. TANAKA K, ISHIKAWA E, OHMOTO Y et al. Sandwich enzyme immunoassay for human interleukin-1 alpha produced in vitro by peripheral blood mononuclear cells. *Clin Chim Acta*, 1987, 170 : 97-104.
15. TAKASUGI M, KLEIN E. A microassay for cell-mediated immunity. *Transplantation*, 1987, 9 : 219-227.
16. TURK JL. *Delayed hypersensitivity*. Elsevier, North Holland, Biomedical Press, 1980.

## Références

14

11

6

1

3

10

5

4

12

H. Bazin, O. Barta, V.-D. Barta, A. Aguilar-Setien

## ÉVALUATION DU POTENTIEL IMMUNITAIRE

L'évaluation du potentiel immunitaire peut être intéressante à effectuer chez le nouveau-né, l'adulte et le sujet âgé. Dans tous les cas, l'examen devra être interprété en fonction de l'anamnèse ou, à la rigueur, par comparaison avec un groupe témoin, aussi proche que possible du cas à analyser.

Quel sujet étudier ? Tout d'abord, ceux présentant des signes cliniques évocateurs tels que infections microbiennes ou mycoses répétitives, troubles sévères dus à une infection virale normalement bénigne ou à la suite d'une vaccination à l'aide d'un vaccin atténué, etc.; ensuite, les sujets en immunodépression médicamenteuse; enfin, dans le cadre d'une enquête sur une famille, une souche ou une race connue pour présenter un déficit immunitaire primitif.

### TESTS PRÉLIMINAIRES

#### Numération sanguine

Ce test peut être effectué sans difficulté sur un prélèvement sanguin. Les valeurs moyennes pour les espèces les plus communes peuvent être trouvées dans cet ouvrage ou dans divers manuels. Le nombre total de leucocytes et leur répartition entre les différents types peuvent être très instructifs.

#### Numération lymphocytaire

Une numération de lymphocytes inférieure à 1 000 ou 1 500 par  $\text{mm}^3$  évoque généralement une

immunodéficience cellulaire. Par contre, une immunodéficience peut coexister avec un taux normal de lymphocytes.

### Détermination des protéines sériques totales

D'un point de vue immunologique, ce test ne permet pas de recueillir des informations très précises ni significatives. Il peut être effectué par réfractométrie ou par spectrophotométrie à 280 nm. Les techniques de Biuret et de Folin utilisant une protéine de référence, comme l'albumine bovine, sont préférables. Le tableau 61-I donne des fourchettes de valeurs, elles doivent être diminuées de 20 à 40 p. cent pour les nouveau-nés.

**Tableau 61-I** Concentrations en protéines sériques totales de quelques espèces animales.

	Cheval	Bovins	Mouton	Chèvre	Chien	Chat
Concentration en mg/ml	52-78	60-80	60-75	60-75	60-78	60-75

### Détermination des gammaglobulines

L'analyse électrophorétique simple, sur papier, acétate de cellulose ou en agar, permet d'avoir une idée semi-quantitative du taux d'immunoglobulines dans un sérum et est particulièrement significative en cas d'absence des Ig.

### Analyse immunoélectrophorétique

A l'aide d'un antisérum dirigé contre les protéines sériques totales, il est possible d'obtenir une certaine appréciation du taux d'IgG d'un sérum. Avec un peu d'habitude, on peut repérer les lignes d'IgM, d'IgA et d'IgG de la majorité des espèces animales et recueillir des informations sur ces isotypes. Pour une meilleure analyse, il faut employer des antisérums spécifiques de chaque isotype.

## ANALYSES PRATIQUÉES IN VITRO

### Immunité humorale

#### Quantification des immunoglobulines

Cette mesure fait appel à diverses méthodes semi-quantitatives (dilution maximale donnant une ligne de précipitation visible à l'œil nu en Ouchterlony) ou quantitatives (immunodiffusion radiale ou de Mancini, néphélométrie, ELISA). Ces techniques exigent des antisérums polyclonaux ou monoclonaux spécifiques de l'isotype d'immunoglobuline de l'espèce concernée, qui peuvent ou non être disponibles. Toutes ces méthodes fournissent des valeurs qui sont à comparer à des étalons de protéines qui peuvent être disponibles ou non. A défaut de véritables étalons, il est possible de comparer les valeurs des tests avec un sérum de la même espèce dit de référence. Des valeurs moyennes sont données aux chapitres consacrés à la description des systèmes immunitaires de plusieurs espèces animales. Le tableau 61-II donne une idée des valeurs moyennes rencontrées chez les mammifères domestiques. Cependant, des variations considérables peuvent apparaître en fonction de l'âge et de l'espèce. Les chats ont les taux sériques d'IgG les plus élevés (25 mg/ml ou plus) et les poules, les plus bas (5 mg/ml); les porcs ont des taux d'IgM moyens (environ 3 mg/ml) et d'IgA plus élevés (environ 2,5 mg/ml).

**Tableau 61-II** Concentrations moyennes d'immunoglobulines chez les mammifères domestiques.

	IgM	IgD	IgG	IgA	IgE
Concentration par ml	2-3 mg	Dizaine de µg	10-20 mg	0,5-2,5 mg	Dizaine de ng

Cependant, il faut savoir que les taux sériques d'immunoglobulines dépendent de l'espèce et surtout du milieu. Il est prudent, dans la mesure du possible de comparer les valeurs obtenues avec celles de quelques animaux de même âge et vivant dans les mêmes conditions.

Les animaux nouveau-nés ont souvent des taux d'immunoglobulines très bas ou indétectables.

Après ab...  
ques en I...  
des adult...  
approxima...  
sont infér...  
Une co...  
inférieure...  
même âg...  
même env...  
étant un s...  
et doit in...  
cliniques.

L'augm...  
peut être...  
noglobulin...  
isotype. E...  
ou polycl...  
de lympho...  
polyclonal...  
rencontrée...  
parasitose...  
immunes...  
clones est...  
pathies o...  
séparées p...  
Des augm...  
classe pa...  
être égale...  
thiases, Ig...  
IgA dans...  
augmentat...  
les myélo...  
57).

#### Mesure

Les anti...  
tions ou a...  
ronnement...  
méthodes...  
Immunosc...  
ment le té...

#### Mesure spécifique

De nom...  
pour déter...  
tiser des...  
les globul...  
plupart d...  
gammaglob...  
patèle...)  
mesurer la...  
pondantes

Après absorption du colostrum, leurs taux sériques en IgG sont généralement supérieurs à ceux des adultes de même espèce, en IgM ils sont approximativement égaux, tandis que ceux en IgA sont inférieurs.

Une concentration sérique en immunoglobulines inférieures à 50 p. cent de celle des animaux de même âge, de même espèce et vivant dans le même environnement, doit être considérée comme étant un signe de déficience en immunoglobulines et doit impliquer une recherche de symptômes cliniques d'immunodéficience.

L'augmentation des immunoglobulines sériques peut être généralisée à toutes les classes d'immunoglobulines, ou plus ou moins limitée à un isotype. Elle peut être monoclonale, oligoclonale ou polyclonale en fonction du nombre de clones de lymphocytes B impliqués. Les augmentations polyclonales, ou gammopathies polyclonales, sont rencontrées dans les infections chroniques, les parasitoses, et parfois dans les maladies auto-immunes. Dans de rares cas, un nombre limité de clones est concerné. Ceci conduit à des gammopathies oligoclonales qui donnent des bandes séparées par analyse électrophorétique du sérum. Des augmentations plus ou moins limitées à une classe particulière d'immunoglobuline peuvent être également rencontrées : IgE dans les helminthiases, IgM dans les parasitoses à protozoaires, IgA dans les infections des muqueuses. Des augmentations monoclonales se rencontrent dans les myélomes et les plasmocytomes (voir chapitre 57).

#### Mesure des anticorps préformés

Les anticorps préformés, à la suite de vaccinations ou au contact d'antigènes banals de l'environnement, peuvent être recherchés à l'aide de méthodes variées, dont l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), qui semble être actuellement le test le plus approprié.

#### Mesure de la production en anticorps spécifiques d'antigènes déterminés

De nombreux antigènes peuvent être employés pour déterminer la capacité d'un animal à synthétiser des anticorps spécifiques. Certains, comme les globules rouges d'une espèce différente ou la plupart des protéines hétérologues (albumine, gammaglobuline, ferritine, hémocyanine de patèle...) sont thymo-dépendants et permettent de mesurer la production des cellules B et T correspondantes et des cellules présentatrices de

l'antigène. D'autres sont thymo-indépendants (comme les polysaccharides de certains vaccins bactériens, le ficoll, le dextran, etc.) et ne permettent d'évaluer que l'activité des lymphocytes B. Tous ces anticorps peuvent se mesurer par de nombreuses techniques, certaines très simples comme la lyse de globules rouges, la plupart plus compliquées et onéreuses comme l'ELISA. La recherche devra donc se faire en tenant compte de ces contraintes.

Il est difficile d'avoir une idée précise, a priori, du titre en anticorps obtenu après une immunisation. Il y a lieu de comparer l'animal ou les animaux suspects avec des témoins de même espèce et de même âge. Dans la mesure du possible, il faudra établir une courbe de la réponse immune en fonction du temps, en faisant un certain nombre de prélèvements, au minimum avant l'immunisation et à 7-10, puis 10-20 jours après l'injection antigénique. Ces délais de prélèvements pourront varier avec l'espèce animale étudiée.

#### Titration du complément total et de ses composants

Le complément consiste en une série de protéines ayant de nombreuses propriétés physiologiques, dont la plus connue est de lyser des cellules telles que des globules rouges, et des bactéries sensibilisées. C'est cette propriété qui est généralement utilisée, la cible étant les globules rouges d'espèces différentes.

Les composants du complément peuvent être quantifiés par immunodiffusion radiale si les sérums spécifiques correspondants et les standards de concentrations connues existent. Cependant, cette mesure quantitative ne donne aucune indication sur les fonctions des divers composants. Le niveau moyen du complément hémolytique des espèces animales domestiques, obtenu en utilisant les méthodes les plus sensibles, est exprimé en unités CH50 par ml et pour  $10^8$  érythrocytes (c'est-à-dire en unités hémolytiques pour 50 p. cent des globules rouges des espèces indiquées entre parenthèses) : cheval [globules rouges (GR) de porc] : 5-40; bœuf (GR de cobaye) : 80-450; mouton (GR de lapin) : 30-64; chèvre (GR de cobaye) : 18-75; porc (GR de mouton) : 75-210; chien (GR de mouton) : 35-240; chat (GR de cobaye) : 70-150; poulet (GR de porc ou de lapin) : 30-80. L'absence d'un seul composant conduit à une déficience totale du complément. Une diminution d'un seul composant ne modifie

pas la valeur totale du complément, sauf, si la concentration de ce composant atteint un seuil minimal critique.

## Immunité cellulaire

### Numération des lymphocytes T et B

La numération des lymphocytes totaux peut être améliorée par la détermination des proportions de lymphocytes T et B et, si cela est possible, par celles des T auxiliaires et des T suppresseurs ou cytotoxiques. Les techniques les plus fiables sont basées sur l'emploi d'anticorps monoclonaux conjugués à un composé fluorescent ou à un enzyme et réagissant avec des marqueurs fonctionnels, comme les molécules CD3, CD4, CD8 des récepteurs T ou les IgM/IgD des lymphocytes B. Les cellules colorées peuvent être comptées au microscope (à fluorescence, dans le cas de marqueurs comme la fluorescéine ou la rhodamine) ou à l'aide d'un cytofluoromètre à flux. Il faut éviter de confondre les lymphocytes B avec les cellules ne portant que des récepteurs pour la partie Fc des Ig, soit en utilisant des fragments Fab ou F(ab')<sub>2</sub> d'anticorps, soit en travaillant avec un grand excès de molécules d'Ig non marquées de la même origine que l'antisérum. Dans la majorité des espèces animales, les lymphocytes B représentent un faible pourcentage des lymphocytes périphériques (entre 10 et 35 p. cent suivant les techniques de détection et l'âge de l'animal). Les lymphocytes T forment la majorité des lymphocytes périphériques, entre 55 et 80 p. cent chez les animaux domestiques. Les cellules T auxiliaires sont plus nombreuses que les cellules T suppressives, donnant un Ta/Ts supérieur à 1, dans le sang périphérique de tous les animaux domestiques. Dans les immunodéficiences acquises, ce taux peut descendre en dessous de 1. En plus des lymphocytes T et B, il y a dans le sang périphérique un certain pourcentage de cellules nulles, dépourvues des marqueurs de ces deux types.

### Tests de transformation blastique des lymphocytes

Les capacités fonctionnelles des lymphocytes peuvent être étudiées par des tests de transformation, dans lesquels une population de cellules mononucléées (lymphocytes et monocytes) est exposée à divers mitogènes (par exemple, la concanavaleine A ou une phytohémagglutinine,

toutes deux mitogènes de populations différentes de lymphocytes T; l'agglutinine de l'arachide, la phytolac, un mitogène B thymo-dépendant; la protéine A, un mitogène B pour les lymphocytes porteurs de molécules d'IgG), à des antigènes (comme des virus, des bactéries, des protozoaires ou leurs extraits, mitogènes de lymphocytes sensibilisés) ou à des lymphocytes allogéniques (dans des cultures lymphocytaires mixtes). Ces tests ne sont pas d'une grande simplicité et doivent être exécutés dans le cadre de laboratoires spécialisés. Cependant, correctement effectués, ils peuvent fournir des données très utiles sur les fonctions physiologiques des lymphocytes.

Les résultats des tests de transformation lymphoblastique sont exprimés en coups par minute (cpm), cpm corrigé (cpm des cellules stimulées avec des mitogènes, diminués des cpm de cellules semblables non stimulées) ou en index de stimulation (IS) c'est-à-dire cpm des cellules stimulées avec un mitogène divisés par les cpm de cellules semblables non stimulées. Les valeurs moyennes varient en fonction des mitogènes employés, de l'espèce, de l'âge, du patrimoine génétique et des conditions expérimentales.

En général, les cpm des cellules non stimulées se situent dans une fourchette de 50 à 500 chez les carnivores et de 200 à 5 000 chez les herbivores. Cpm et cpm corrigé de cellules stimulées d'animaux normaux se situent entre plusieurs milliers et plus de 200 000.

L'index de stimulation de cellules provenant d'animaux normaux peut varier d'une dizaine à quelques centaines. L'index de stimulation après stimulation antigénique ou en culture lymphocytaire mixte donne, pour des animaux sensibilisés à l'antigène en question ou incompatibles, des valeurs comprises entre 3 et 20. Les animaux en période d'incubation de maladies infectieuses peuvent avoir un nombre de cpm normal ou légèrement augmenté (le double ou légèrement plus que le témoin, non en incubation). Les animaux leucémiques ont des augmentations en cpm de leurs cellules non stimulées de quelques milliers à plus de 10 000, parfois même 150 000.

### Tests de cytotoxicité lymphocytaire

Les tests de cytotoxicité constituent une autre technique permettant de tester l'état fonctionnel des lymphocytes quand cela est possible. Ils étudient la possibilité pour des lymphocytes de détruire des cellules tumorales cibles marquées au chrome radioactif (<sup>51</sup>Cr).

## Autres

Des tests impliquent d'anticorps cellulaires p sont rarement faut préc lymphoki pratiquer. courte. S capables

## Tests d'

Les tests des animaux peu repro aux animaux couramment des essais et dépend biochimique chimiotact de la mobilité incluent : essai de t billes de la oxygénés, n'existe a pour ces t

## EXAMEN IN VIVO

Les techniques des immuno

Les tests utiles pour retardé chez quement, la la 10<sup>e</sup> heure l'antigène s entre la 24<sup>e</sup> commence à œdème dur dose exagé centrale et retardée peu inflammatoir minutes aprè

### Autres tests

Des tests relativement compliqués peuvent impliquer la production d'immunoglobulines, d'anticorps ou de lymphokines par des cultures de cellules provenant de l'animal à évaluer. Ces tests sont rarement employés en clinique vétérinaire. Il faut préciser qu'en particulier, ceux relatifs aux lymphokines demeurent onéreux et difficiles à pratiquer. La demi-vie de ces substances est courte. Seuls les laboratoires spécialisés sont capables de les réaliser.

### Tests d'activités phagocytaires

Les tests d'activités phagocytaires réalisés sur des animaux en environnement non contrôlé sont peu reproductibles. Ils doivent donc être limités aux animaux en expérience. Les tests les plus couramment utilisés pour les polynucléaires sont des essais bactéricides (comprenant un anticorps et dépendant du complément), une évaluation biochimique, le test de chimioluminescence, le chimiotactisme, le test au formazan et l'évaluation de la mobilité. Les tests relatifs aux monocytes incluent : chimiotactisme, cytotoxicité cellulaire, essai de toxicité sur des bactéries, ingestion de billes de latex, essais de production de métabolites oxygénés, interleukine 1 et prostaglandines. Il n'existe aucune norme unanimement acceptée pour ces tests effectués chez l'animal.

## EXAMENS PRATIQUÉS IN VIVO

Les techniques permettant la détection in vivo des immunodéficiences sont relativement limitées.

Les tests cutanés (intradermoréaction) sont utiles pour analyser l'hypersensibilité de type retardé chez les animaux adultes. Macroscopiquement, la réaction positive débute entre la 5<sup>e</sup> et la 10<sup>e</sup> heure après l'injection intradermique de l'antigène sensibilisant. Elle atteint son apogée entre la 24<sup>e</sup> et la 72<sup>e</sup> heure. A la 96<sup>e</sup> heure, elle commence à diminuer. Elle se caractérise par un œdème dur qui peut être accompagné, en cas de dose exagérée de l'antigène, d'une nécrose centrale et même d'une ulcération. La réaction retardée peut parfois être précédée d'une réaction inflammatoire immédiate qui apparaît 15 à 30 minutes après l'injection antigénique. Cette réac-

tion se manifeste par un œdème mou qui disparaît en 1 à 5 heures.

Dans la pratique, les tests d'intradermoréaction les plus communément employés pour déceler des états d'hypersensibilité de type IV, chez les animaux, sont :

— la réaction à la tuberculine décrite par Koch, à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, qui consiste à injecter un extrait de bacille tuberculeux. Chez les bovins, il s'agit d'une inoculation de 0,05 ml de tuberculine PPD (Purified Protein Derivative) de *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* ou *M. avium* dans la peau de la région cervicale ou dans le derme mucocutané de la vulve, du pli anal. La réaction s'accompagne d'une élévation de la température corporelle. Plusieurs types de mycobactéries sont utilisés pour juger de la spécificité de la réaction, car une réaction positive peut être due à un antigène croisé avec d'autres mycobactéries (la réaction la plus forte sera donc la plus spécifique);

— la jhonine (extrait de *M. paratuberculosis*), par voie intradermique, est utilisée de la même manière que la tuberculine. Comme ce test peut donner des résultats négatifs chez des animaux malades, une variété intraveineuse est parfois utilisée. Une élévation de la température de plus de 1 °C est considérée comme positive dans ce dernier cas;

— de la même manière, on utilisera la brucelline (filtrat de culture en bouillon, âgée de 20 jours) ou le brucellergène (extrait nucléoprotéique) de *Brucella abortus*, l'histoplasmine, la coccidioïdine, etc.;

— la malléine est utilisée en épreuve intradermopalpébrale pour détecter les animaux infectés par *Actinobacillus mallei*, agent de la morve.

Cependant, il ne faut pas oublier que les réactions d'hypersensibilité de type IV peuvent être négatives chez des animaux récemment infectés ou très sévèrement infectés et appelés « anergiques ».

Les réactions d'hypersensibilité de type IV peuvent être utilisées pour déceler les troupeaux infectés par des virus comme celui de la rhinotrachéite infectieuse bovine. Il suffit parfois d'une très petite quantité de protéines virales pour induire la réaction (de l'ordre de 0,02 µg). Comme dans le cas de la tuberculine, des réactions croisées entre des virus appartenant à une même famille peuvent apparaître. L'utilisation des tests d'hypersensibilité retardée pour le diagnostic de certaines maladies d'origine virale comporte plusieurs avantages. Tout d'abord, leur



grande facilité d'exécution, avantage particulièrement sensible dans les zones dépourvues de laboratoire, et ensuite la rapidité d'obtention des résultats avec une sensibilité suffisante. Néanmoins, il faut considérer qu'étant pratiqués in vivo, les tests d'hypersensibilité de type IV peuvent modifier l'état immun des animaux vis-à-vis de l'agent infectieux employé, surtout s'ils ont déjà été sensibilisés à cet agent. En outre, ces tests in vivo sont de valeur limitée chez les jeunes, qui n'ont pas eu la période nécessaire de sensibilisation aux antigènes banals. Cependant, les tests au 2,4-dinitrochlorobenzène, où l'on sensibilise l'animal contre cet haptène, peuvent être employés en médecine vétérinaire et apporter des résultats intéressants. Toutefois, ils doivent être complétés par des tests de laboratoire relatifs à l'étude des fonctions cellulaires.

Les tests cutanés basés sur l'utilisation des phytoagglutinines (un phytomitogène est un extrait de plante ayant des propriétés inductrices de divisions cellulaires) ont été préconisés, mais leurs limitations d'emploi n'ont pas permis d'établir une évaluation objective. Dans les tests cutanés, un témoin positif pour les réactions doit toujours être utilisé en parallèle avec un test réalisé sur un animal de même âge inoculé avec la même dose de phytomitogène ou d'antigène.

## EXAMENS POST MORTEM

### Examen macroscopique des tissus lymphoïdes pathologiques

Parfois, il peut exister chez des animaux immunodéficients, une absence presque totale ou

même totale d'un organe lymphoïde primaire, tel que le thymus chez l'homme, le cheval, le rat, la souris, le hamster, le cobaye, etc. Dans la majorité des cas, seule la taille des organes lymphoïdes est plus petite chez les animaux immunodéficients que chez leur témoin de même âge et de même sexe.

### Examen microscopique des tissus lymphoïdes pathologiques

L'examen sur coupe, après coloration classique ou après marquage par un antisérum polyclonal ou monoclonal, peut apporter des éléments extrêmement intéressants. Les lymphocytes B trouvés dans les follicules (rate, ganglions lymphatiques, plaques de Peyer) ou les lymphocytes T de la zone périartériolaire de la rate, paracorticale des ganglions ou interfolliculaire des plaques de Peyer peuvent être décelés de façon très précise en utilisant les réactifs adéquats. La muqueuse intestinale peut être également observée pour déceler si elle contient une population plasmocytaire normale.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARTA O. Laboratory techniques of veterinary clinical immunology. CC Thomas publ. Springfield, IL, USA, 1984, 189 pages.
- BARTA O, OYEKAN PP. Lymphocyte transformation test in veterinary clinical immunology. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 1981, 4 : 209-221.
- BRION A, FONTAINE M. Vade-Mecum du vétérinaire, 14<sup>e</sup> édition, Vigot, Paris, France, 1983, 813 pages.

B. Garin

On ente  
qualitative  
immunolog  
ou de conf  
tieuse ou r  
population.  
immunodia  
effectuée.

La quali  
ment liée  
lui-même;  
mais aussi;  
résultats ob

## PRÉLÈVE

Divers fa  
modifier la  
et de nuire  
gnostic.

streptokinase/streptodornase, l'anatoxine tétanique, le virus des oreillons et la tuberculine. L'application simultanée de ces antigènes permet de classer les sujets testés en patients non répondeurs (pas de réaction positive : anergie), hyporépondeurs (une réponse positive sur 5 antigènes testés : anergie relative) ou normorépondeurs (au moins 2 réponses positives sur 5 antigènes testés).

## MESURE DES CYTOKINES

**P. Franchimont, J. Collette**

Deux méthodes de dosage sont utilisées pour quantifier le taux des cytokines dans différents milieux biologiques et dans les milieux de culture des cellules immunocompétentes : les méthodes biologiques et immuno-chimiques.

### MÉTHODES BIOLOGIQUES

Les méthodes biologiques reposent sur une propriété plus ou moins spécifique de la cytokine à doser. Ainsi, pour doser biologiquement l'interleukine 1 (IL-1), le paramètre habituellement étudié est la prolifération de cellules dépendantes de cette monokine, comme les thymocytes de souris (C3H/Hej). La prolifération cellulaire est appréciée par l'incorporation de thymidine tritiée permettant de calculer l'activité spécifique de l'ADN.

Autre monokine, le facteur nécrosant des tumeurs (TNF- $\alpha$ ) est dosé biologiquement par sa cytotoxicité sur des cellules transformées maintenues en lignée continue comme par exemple les cellules WEHI 164 clone B. Le paramètre étudié dans ce test est la destruction cellulaire appréciée par le comptage des cellules survivantes, l'incorporation d'un colorant vital comme les sels de tétrazolium ou par la libération de chrome radioactif préalablement incorporé dans les cellules néoplasiques.

Les tests biologiques pour l'interleukine 2 (IL-2) reposent sur sa propriété de stimuler la multiplication des cellules T (habituellement de souris) dépendantes de l'IL-2. Le paramètre étudié

est la prolifération lymphoblastique, appréciée par l'incorporation de  $^3\text{H}$ -thymidine.

Quant à l'interféron gamma, il est habituellement apprécié par son effet antiviral. Celui-ci est décelé par l'inhibition de la destruction cellulaire induite par le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV). Cette destruction cellulaire est appréciée par comptage au microscope.

Ces techniques présentent de nombreux inconvénients. Le premier est constitué par le manque de spécificité : de nombreuses substances biologiques sont capables d'induire l'effet biologique observé : prolifération cellulaire, cytotoxicité, inhibition de la destruction cellulaire par les virus. Par ailleurs, dans les différents milieux biologiques, il existe des substances inhibitrices de ces effets. Dès lors, l'effet biologique observé est la résultante des substances agonistes et antagonistes sur le paramètre étudié et non une action spécifique d'une cytokine déterminée.

Le deuxième inconvénient réside dans le manque de reproductibilité d'un laboratoire à l'autre, et dans un même laboratoire. Les variations des lignées cellulaires employées et, dans la même lignée, d'un clone à l'autre, en sont partiellement responsables mais également les conditions expérimentales qui influencent les résultats : présence ou absence de sérum dans le milieu de culture, nature de ce sérum, etc. La standardisation de ces techniques est très difficile.

Le troisième inconvénient, la lourdeur de la technique et son coût, en rend l'application difficile et peu répandue, réservée à quelques laboratoires expérimentés.

Le quatrième inconvénient des tests biologiques est le manque de précision. Ainsi, les préparations de référence sont-elles habituellement imparfaites, car elles sont produites au laboratoire par des cellules mononucléées en culture et enrichies. Elles sont employées en dilutions successives, ce qui fournit, en fait, des résultats semi-quantitatifs.

La sensibilité du dosage est mauvaise, sauf lorsque le signal mesuré est lié à la présence d'un isotope comme le tritium et le chrome.

### MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES

La synthèse des cytokines par génie génétique a permis de mettre au point des méthodes immuno-biologiques utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre chacune de celles-ci. Dans cette méthodologie, des cytokines recombi-

nantes sont habituellement utilisées comme traceurs, immunogènes ou préparations de référence.

La technique utilisée est très variable d'une méthode à l'autre. Il peut s'agir d'un dosage radio-immunologique classique par compétition avec marquage de la cytokine à l' $^{125}\text{I}$  et son incubation en excès par rapport à l'antisérum. Le déplacement de la cytokine marquée de son anticorps est proportionnel à la quantité de cytokine non marquée ajoutée au milieu d'incubation [7].

Il peut aussi s'agir d'une méthode en sandwich où un anticorps (souvent monoclonal) est fixé à un support solide. L'antigène vient s'y fixer. Il y est révélé par un second anticorps dirigé contre un autre groupement antigénique de la cytokine. Ce second anticorps est marqué soit par l' $^{125}\text{I}$ , soit par un enzyme.

Ces techniques sont très spécifiques. Elles dosent uniquement les molécules possédant le déterminant antigénique contre lequel l'anticorps est dirigé. Ainsi, le dosage radio-immunologique d'une cytokine n'est pas influencé par une autre ni

par un quelconque inhibiteur. Cependant, si un précurseur de la cytokine ou un fragment métabolique possède l'épitope reconnu par l'anticorps, il sera également dosé.

La sous-évaluation quantitative est un autre piège de la méthode utilisant les anticorps monoclonaux. En effet, ceux-ci peuvent être dirigés contre un déterminant antigénique masqué de la molécule circulante ou d'une partie, fragile et rapidement dégradée, de celle-ci.

La méthode sandwich a l'avantage d'accroître encore la sensibilité déjà excellente pour tous les dosages immunologiques. Sa précision est bonne ainsi que son exactitude qui s'exprime par le rapport entre la quantité expérimentalement dosée et celle, connue, qui est ajoutée au milieu biologique.

La reproductibilité du résultat, d'un dosage à l'autre, présente des fluctuations habituellement inférieures à 15 p. cent. A titre d'exemple, le tableau 60-I donne les principaux critères de qualité de certains dosages immunochimiques de cytokines : IL-1, TNF alpha, IL-2, INF- $\gamma$ .

Idéalement, les résultats de ces dosages

Tableau 60-I Contrôle de qualité de dosages immunochimiques de certaines cytokines.

Cytokines	Méthode	Spécificité	Sensibilité	Exactitude (p. cent)	Précision : coefficient de variation intra-essai (p. cent)	Précision : coefficient de variation inter-essai (p. cent)	Références
IL-1 $\alpha$	Sandwich EIA <sup>1</sup>	Pas de réaction croisée avec les autres cytokines	2 pg/ml <sup>-1</sup>	92-98	<7	<7,5	14
IL-1 $\beta$	RIA <sup>2</sup>	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	99	<6,4	<12	11
TNF $\alpha$	RIA <sup>2</sup>	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<6	<10,5	6
TNF $\alpha$	IRMA <sup>3</sup>	Idem	5 pg/ml <sup>-1</sup>	81-102	<6	<7	
IL-2	RIA	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	79-95	<8	<11	1
IL-2	Sandwich mixte poly- et monoclonal : isotope	?	100-200 pg/ml <sup>-1</sup>	?	?	?	3
IL-2	Sandwich mixte récepteur et monoclonal : isotope	?	5 ng/ml	?			10
IL-2	Sandwich polyclonal : isotope	?	40 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<7,4	<9,3	5
INF $\gamma$	IRMA	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<10	?	4
INF $\gamma$	RIA	Idem	25 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<8	<12	12

<sup>1</sup> Sandwich immunoenzymoassay; <sup>2</sup> RIA : radio-immunoassay; <sup>3</sup> IRMA : immunoradiometric assay.

devraient  
être employé  
est réalisé  
référence  
actuellement  
tant biolo-  
60-II do-  
gique et  
par gé-  
TNF alp-  
l'IL-2.

## BIBLIO

1. BERN  
Radio  
leukin

**Tableau 60-II** Quelques préparations de référence de cytokines.

Cyto- kines	Numéro de la préparation de référence	Origine de la préparation de référence	Equivalence avec la préparation recombinante pure
IL-1 $\beta$	86-55	National Institute for Biological Standards and control (NBSB) Hertforshire (UK)	1 U = 11,25 pg (Biogen)
TNF $\alpha$	86-659	Idem	1 U = 20 à 25 pg (Biogen et Genentech)
IL-2	ISDP : 841	Biological Response Modifiers Program National Cancer Institute BRMP-NCI	1 U = 75 pg (Jurkat)
$\gamma$ -IFN	Gg 23-901-530	NIH National Institute of Health, Bethesda, U.S.A.	1 U = 50 pg (Boehringer)

devraient être exprimés en unités communes et employées par tous les laboratoires. Une tentative est réalisée dans ce sens. Des préparations de référence, calibrées en unités biologiques, sont actuellement proposées pour exprimer les résultats tant biologiques qu'immunochimiques : le tableau 60-II donne l'équivalence entre une unité biologique et la masse de l'antigène à l'état pur obtenu par génie génétique pour l'IL-1 bêta, le TNF alpha et l'INF- $\gamma$  et, par extraction, pour l'IL-2.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BERNIER J, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Radioimmunological study of the regulation of interleukin-2 production in peripheral blood mononuclear cell

2. BRUNNER KT, ENGERS HD, CEROTTINI JC. The  $^{51}\text{Cr}$  release assay as used for the quantitative measurement of cell-mediated cytotoxicity in vitro. In : BR Bloom and JR David. In vitro Methods in Cell-mediated and Tumor Immunity, NY, San Francisco, London, Academic Press, 1986, pp. 423-436.
3. CARDENAS JM, MARSHALL P, HENDERSON B et al. Human interleukin-2. Quantitation by a sensitive radioimmunoassay. J Immunol Methods, 1986, 89 : 181-189.
4. CHANG TW, MCKINNEY S, LIU V et al. Use of monoclonal antibodies as sensitive and specific probes for biologically active human gamma-interferon. Proc Natl Acad Sci USA, 1984, 81 : 5219-5222.
5. FERRUA B, AUSSSEL C, FEHLMANN M. Human interleukin-2. Detection at the picomolar level by sandwich enzyme immunoassay. J Immunol Methods, 1987, 97 : 215-220.
6. FRANCHIMONT P, REUTER A, GYSEN P et al. Tumor necrosis factor alpha : un médiateur de la fonction macrophagique. Actions biologiques et dosage radioimmunologique. Med et Hyg, 1987, 45 : 2160-2168.
7. FRANCHIMONT P, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma and interleukin-2 by peripheral blood mononuclear cells of subjects suffering from rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatol, 1988, 17 : 203-212.
8. GALLI SJ, DVORAK AM. What do mast cells have to do with delayed hypersensitivity. Lab Invest, 1984, 50 : 365-368.
9. GORDON EH, KROUSE A, KINNEY JL et al. Delayed cutaneous hypersensitivity in normals : choice of antigens and comparison to in vitro assays of cell-mediated immunity. J Allergy Clin Immunol, 1983, 72 : 487-494.
10. OHIKE Y, IMAI M, TANAKA E et al. A radioimmunoassay that sandwiches human interleukin-2 between radiolabeled monoclonal antibody and the receptor on a hematopoietic cell line. J Immunol Methods, 1986, 87 : 245-249.
11. REUTER A, BERNIER J, GYSEN P et al. A RIA for tumor necrosis factor (TNF alpha) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) and their direct determination in serum. In : MC Powanda, JJ Oepenheim, MJ Kluger, CA Dinarella. Monokines and other non-lymphocytic cytokines, NY, Alan R Liss, Inc., 1988, pp. 377-381.
12. REUTER A, BERNIER J, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of interferon-gamma by peripheral blood mononuclear cells from normal subjects and from patients with rheumatoid arthritis. Clin and Exp Rheumatol, 1989, 6 : 347-354.
13. STITES DP. Clinical laboratory methods for detection of cellular immune function. In : D Stites, J Stobo, H Fundenberg, JV Wells. Basic and Clinical Immunology, Los Altos, California, Lange Medical Publications, 1984, pp. 353-371.
14. TANAKA K, ISHIKAWA E, OHMOTO Y et al. Sandwich enzyme immunoassay for human interleukin-1 alpha produced in vitro by peripheral blood mononuclear cells. Clin Chim Acta, 1987, 170 : 97-104.
15. TAKASUGI M, KLEIN E. A microassay for cell-mediated immunity. Transplantation, 1987, 9 : 219-227.
16. TURK JL. Delayed hypersensitivity. Elsevier, North Holland, Biomedical Press, 1980.

## Références

14

11

6

1

3

10

5

4

12

H. Bazin, O. Barta, V.-D. Barta, A. Aguilar-Setien

## ÉVALUATION DU POTENTIEL IMMUNITAIRE

L'évaluation du potentiel immunitaire peut être intéressante à effectuer chez le nouveau-né, l'adulte et le sujet âgé. Dans tous les cas, l'examen devra être interprété en fonction de l'anamnèse ou, à la rigueur, par comparaison avec un groupe témoin, aussi proche que possible du cas à analyser.

Quel sujet étudier ? Tout d'abord, ceux présentant des signes cliniques évocateurs tels que infections microbiennes ou mycoses répétitives, troubles sévères dus à une infection virale normalement bénigne ou à la suite d'une vaccination à l'aide d'un vaccin atténué, etc.; ensuite, les sujets en immunodépression médicamenteuse; enfin, dans le cadre d'une enquête sur une famille, une souche ou une race connue pour présenter un déficit immunitaire primitif.

### TESTS PRÉLIMINAIRES

#### Numération sanguine

Ce test peut être effectué sans difficulté sur un prélèvement sanguin. Les valeurs moyennes pour les espèces les plus communes peuvent être trouvées dans cet ouvrage ou dans divers manuels. Le nombre total de leucocytes et leur répartition entre les différents types peuvent être très instructifs.

#### Numération lymphocytaire

Une numération de lymphocytes inférieure à 1 000 ou 1 500 par  $\text{mm}^3$  évoque généralement une

immunodéficience cellulaire. Par contre, une immunodéficience peut coexister avec un taux normal de lymphocytes.

### Détermination des protéines sériques totales

D'un point de vue immunologique, ce test ne permet pas de recueillir des informations très précises ni significatives. Il peut être effectué par réfractométrie ou par spectrophotométrie à 280 nm. Les techniques de Biuret et de Folin utilisant une protéine de référence, comme l'albumine bovine, sont préférables. Le tableau 61-I donne des fourchettes de valeurs, elles doivent être diminuées de 20 à 40 p. cent pour les nouveau-nés.

**Tableau 61-I** Concentrations en protéines sériques totales de quelques espèces animales.

	Cheval	Bovins	Mouton	Chèvre	Chien	Chat
Concentration en mg/ml	52-78	60-80	60-75	60-75	60-78	60-75

### Détermination des gammaglobulines

L'analyse électrophorétique simple, sur papier, acétate de cellulose ou en agar, permet d'avoir une idée semi-quantitative du taux d'immunoglobulines dans un sérum et est particulièrement significative en cas d'absence des Ig.

### Analyse immunoélectrophorétique

A l'aide d'un antiserum dirigé contre les protéines sériques totales, il est possible d'obtenir une certaine appréciation du taux d'IgG d'un sérum. Avec un peu d'habitude, on peut repérer les lignes d'IgM, d'IgA et d'IgG de la majorité des espèces animales et recueillir des informations sur ces isotypes. Pour une meilleure analyse, il faut employer des antisérums spécifiques de chaque isotype.

## ANALYSES PRATIQUÉES IN VITRO

### Immunité humorale

#### Quantification des immunoglobulines

Cette mesure fait appel à diverses méthodes semi-quantitatives (dilution maximale donnant une ligne de précipitation visible à l'œil nu en Ouchterlony) ou quantitatives (immunodiffusion radiale ou de Mancini, néphélométrie, ELISA). Ces techniques exigent des antisérums polyclonaux ou monoclonaux spécifiques de l'isotype d'immunoglobuline de l'espèce concernée, qui peuvent ou non être disponibles. Toutes ces méthodes fournissent des valeurs qui sont à comparer à des étalons de protéines qui peuvent être disponibles ou non. A défaut de véritables étalons, il est possible de comparer les valeurs des tests avec un sérum de la même espèce dit de référence. Des valeurs moyennes sont données aux chapitres consacrés à la description des systèmes immunitaires de plusieurs espèces animales. Le tableau 61-II donne une idée des valeurs moyennes rencontrées chez les mammifères domestiques. Cependant, des variations considérables peuvent apparaître en fonction de l'âge et de l'espèce. Les chats ont les taux sériques d'IgG les plus élevés (25 mg/ml ou plus) et les poules, les plus bas (5 mg/ml); les porcs ont des taux d'IgM moyens (environ 3 mg/ml) et d'IgA plus élevés (environ 2,5 mg/ml).

**Tableau 61-II** Concentrations moyennes d'immunoglobulines chez les mammifères domestiques.

	IgM	IgD	IgG	IgA	IgE
Concentration par ml	2-3 mg	Dizaine de µg	10-20 mg	0,5-2,5 mg	Dizaine de ng

Cependant, il faut savoir que les taux sériques d'immunoglobulines dépendent de l'espèce et surtout du milieu. Il est prudent, dans la mesure du possible de comparer les valeurs obtenues avec celles de quelques animaux de même âge et vivant dans les mêmes conditions.

Les animaux nouveau-nés ont souvent des taux d'immunoglobulines très bas ou indétectables.

Après  
ques en  
des ad  
approx  
sont in  
Une  
inférieu  
même  
même e  
étant ur  
et doit  
clinique

L'aug  
peut être  
noglobul  
isotype.  
ou poly  
de lym  
polyclo  
rencontr  
parasito  
immune  
clones e  
pathies  
séparées  
Des aug  
classe p  
être égal  
thiases,  
IgA dan  
augment  
les myél  
57).

### Mesure

Les an  
tions ou  
ronneme  
méthode  
Immunos  
ment le

### Mesure spécifique

De no  
pour déte  
tiser des  
les globu  
plupart  
gammag  
patèle...)  
mesurer  
pondante

Après absorption du colostrum, leurs taux sériques en IgG sont généralement supérieurs à ceux des adultes de même espèce, en IgM ils sont approximativement égaux, tandis que ceux en IgA sont inférieurs.

Une concentration sérique en immunoglobulines inférieures à 50 p. cent de celle des animaux de même âge, de même espèce et vivant dans le même environnement, doit être considérée comme étant un signe de déficience en immunoglobulines et doit impliquer une recherche de symptômes cliniques d'immunodéficience.

L'augmentation des immunoglobulines sériques peut être généralisée à toutes les classes d'immunoglobulines, ou plus ou moins limitée à un isotype. Elle peut être monoclonale, oligoclonale ou polyclonale en fonction du nombre de clones de lymphocytes B impliqués. Les augmentations polyclonales, ou gammopathies polyclonales, sont rencontrées dans les infections chroniques, les parasitoses, et parfois dans les maladies auto-immunes. Dans de rares cas, un nombre limité de clones est concerné. Ceci conduit à des gammopathies oligoclonales qui donnent des bandes séparées par analyse électrophorétique du sérum. Des augmentations plus ou moins limitées à une classe particulière d'immunoglobuline peuvent être également rencontrées : IgE dans les helminthiases, IgM dans les parasitoses à protozoaires, IgA dans les infections des muqueuses. Des augmentations monoclonales se rencontrent dans les myélomes et les plasmocytomes (voir chapitre 57).

#### Mesure des anticorps préformés

Les anticorps préformés, à la suite de vaccinations ou au contact d'antigènes banals de l'environnement, peuvent être recherchés à l'aide de méthodes variées, dont l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), qui semble être actuellement le test le plus approprié.

#### Mesure de la production en anticorps spécifiques d'antigènes déterminés

De nombreux antigènes peuvent être employés pour déterminer la capacité d'un animal à synthétiser des anticorps spécifiques. Certains, comme les globules rouges d'une espèce différente ou la plupart des protéines hétérologues (albumine, gammaglobuline, ferritine, hémocyanine de patèle...) sont thymo-dépendants et permettent de mesurer la production des cellules B et T correspondantes et des cellules présentatrices de

l'antigène. D'autres sont thymo-indépendants (comme les polysaccharides de certains vaccins bactériens, le ficoll, le dextran, etc.) et ne permettent d'évaluer que l'activité des lymphocytes B. Tous ces anticorps peuvent se mesurer par de nombreuses techniques, certaines très simples comme la lyse de globules rouges, la plupart plus compliquées et onéreuses comme l'ELISA. La recherche devra donc se faire en tenant compte de ces contraintes.

Il est difficile d'avoir une idée précise, a priori, du titre en anticorps obtenu après une immunisation. Il y a lieu de comparer l'animal ou les animaux suspects avec des témoins de même espèce et de même âge. Dans la mesure du possible, il faudra établir une courbe de la réponse immune en fonction du temps, en faisant un certain nombre de prélèvements, au minimum avant l'immunisation et à 7-10, puis 10-20 jours après l'injection antigénique. Ces délais de prélèvements pourront varier avec l'espèce animale étudiée.

#### Titration du complément total et de ses composants

Le complément consiste en une série de protéines ayant de nombreuses propriétés physiologiques, dont la plus connue est de lyser des cellules telles que des globules rouges, et des bactéries sensibilisées. C'est cette propriété qui est généralement utilisée, la cible étant les globules rouges d'espèces différentes.

Les composants du complément peuvent être quantifiés par immunodiffusion radiale si les sérums spécifiques correspondants et les standards de concentrations connues existent. Cependant, cette mesure quantitative ne donne aucune indication sur les fonctions des divers composants. Le niveau moyen du complément hémolytique des espèces animales domestiques, obtenu en utilisant les méthodes les plus sensibles, est exprimé en unités CH50 par ml et pour  $10^8$  érythrocytes (c'est-à-dire en unités hémolytiques pour 50 p. cent des globules rouges des espèces indiquées entre parenthèses) : cheval [globules rouges (GR) de porc] : 5-40; bœuf (GR de cobaye) : 80-450; mouton (GR de lapin) : 30-64; chèvre (GR de cobaye) : 18-75; porc (GR de mouton) : 75-210; chien (GR de mouton) : 35-240; chat (GR de cobaye) : 70-150; poulet (GR de porc ou de lapin) : 30-80. L'absence d'un seul composant conduit à une déficience totale du complément. Une diminution d'un seul composant ne modifie

pas la valeur totale du complément, sauf, si la concentration de ce composant atteint un seuil minimal critique.

## Immunité cellulaire

### Numération des lymphocytes T et B

La numération des lymphocytes totaux peut être améliorée par la détermination des proportions de lymphocytes T et B et, si cela est possible, par celles des T auxiliaires et des T suppresseurs ou cytotoxiques. Les techniques les plus fiables sont basées sur l'emploi d'anticorps monoclonaux conjugués à un composé fluorescent ou à un enzyme et réagissant avec des marqueurs fonctionnels, comme les molécules CD3, CD4, CD8 des récepteurs T ou les IgM/IgD des lymphocytes B. Les cellules colorées peuvent être comptées au microscope (à fluorescence, dans le cas de marqueurs comme la fluorescéine ou la rhodamine) ou à l'aide d'un cytofluoromètre à flux. Il faut éviter de confondre les lymphocytes B avec les cellules ne portant que des récepteurs pour la partie Fc des Ig, soit en utilisant des fragments Fab ou F(ab')<sub>2</sub> d'anticorps, soit en travaillant avec un grand excès de molécules d'Ig non marquées de la même origine que l'antisérum. Dans la majorité des espèces animales, les lymphocytes B représentent un faible pourcentage des lymphocytes périphériques (entre 10 et 35 p. cent suivant les techniques de détection et l'âge de l'animal). Les lymphocytes T forment la majorité des lymphocytes périphériques, entre 55 et 80 p. cent chez les animaux domestiques. Les cellules T auxiliaires sont plus nombreuses que les cellules T suppressives, donnant un Ta/Ts supérieur à 1, dans le sang périphérique de tous les animaux domestiques. Dans les immunodéficiences acquises, ce taux peut descendre en dessous de 1. En plus des lymphocytes T et B, il y a dans le sang périphérique un certain pourcentage de cellules nulles, dépourvues des marqueurs de ces deux types.

### Tests de transformation blastique des lymphocytes

Les capacités fonctionnelles des lymphocytes peuvent être étudiées par des tests de transformation, dans lesquels une population de cellules mononucléées (lymphocytes et monocytes) est exposée à divers mitogènes (par exemple, la concanavaline A ou une phytohémagglutinine,

toutes deux mitogènes de populations différentes de lymphocytes T; l'agglutinine de l'arachide, la phytolac, un mitogène B thymo-dépendant; la protéine A, un mitogène B pour les lymphocytes porteurs de molécules d'IgG), à des antigènes (comme des virus, des bactéries, des protozoaires ou leurs extraits, mitogènes de lymphocytes sensibilisés) ou à des lymphocytes allogéniques (dans des cultures lymphocytaires mixtes). Ces tests ne sont pas d'une grande simplicité et doivent être exécutés dans le cadre de laboratoires spécialisés. Cependant, correctement effectués, ils peuvent fournir des données très utiles sur les fonctions physiologiques des lymphocytes.

Les résultats des tests de transformation lymphoblastique sont exprimés en coups par minute (cpm), cpm corrigé (cpm des cellules stimulées avec des mitogènes, diminués des cpm de cellules semblables non stimulées) ou en index de stimulation (IS) c'est-à-dire cpm des cellules stimulées avec un mitogène divisés par les cpm de cellules semblables non stimulées. Les valeurs moyennes varient en fonction des mitogènes employés, de l'espèce, de l'âge, du patrimoine génétique et des conditions expérimentales.

En général, les cpm des cellules non stimulées se situent dans une fourchette de 50 à 500 chez les carnivores et de 200 à 5 000 chez les herbivores. Cpm et cpm corrigé de cellules stimulées d'animaux normaux se situent entre plusieurs milliers et plus de 200 000.

L'index de stimulation de cellules provenant d'animaux normaux peut varier d'une dizaine à quelques centaines. L'index de stimulation après stimulation antigénique ou en culture lymphocytaire mixte donne, pour des animaux sensibilisés à l'antigène en question ou incompatibles, des valeurs comprises entre 3 et 20. Les animaux en période d'incubation de maladies infectieuses peuvent avoir un nombre de cpm normal ou légèrement augmenté (le double ou légèrement plus que le témoin, non en incubation). Les animaux leucémiques ont des augmentations en cpm de leurs cellules non stimulées de quelques milliers à plus de 10 000, parfois même 150 000.

### Tests de cytotoxicité lymphocytaire

Les tests de cytotoxicité constituent une autre technique permettant de tester l'état fonctionnel des lymphocytes quand cela est possible. Ils étudient la possibilité pour des lymphocytes de détruire des cellules tumorales cibles marquées au chrome radioactif (<sup>51</sup>Cr).

## Autre

Des impliq  
d'antic  
cellules  
sont ra  
faut pr  
lympho  
pratique  
courte.  
capable

## Tests

Les  
des ani  
peu re  
aux ar  
courant  
des ess  
et dép  
biochim  
chimio  
de la  
incluer  
essai d  
billes d  
oxygén  
n'existe  
pour c

## EXAM IN V

Les  
des im  
Les  
utiles  
retardé  
quemen  
la 10<sup>6</sup>  
l'antigè  
entre la  
comme  
cédème  
dose é  
centralé  
retardé  
inflamm  
minutes



### Autres tests

Des tests relativement compliqués peuvent impliquer la production d'immunoglobulines, d'anticorps ou de lymphokines par des cultures de cellules provenant de l'animal à évaluer. Ces tests sont rarement employés en clinique vétérinaire. Il faut préciser qu'en particulier, ceux relatifs aux lymphokines demeurent onéreux et difficiles à pratiquer. La demi-vie de ces substances est courte. Seuls les laboratoires spécialisés sont capables de les réaliser.

### Tests d'activités phagocytaires

Les tests d'activités phagocytaires réalisés sur des animaux en environnement non contrôlé sont peu reproductibles. Ils doivent donc être limités aux animaux en expérience. Les tests les plus couramment utilisés pour les polynucléaires sont des essais bactéricides (comprenant un anticorps et dépendant du complément), une évaluation biochimique, le test de chimioluminescence, le chimiotactisme, le test au formazan et l'évaluation de la mobilité. Les tests relatifs aux monocytes incluent : chimiotactisme, cytotoxicité cellulaire, essai de toxicité sur des bactéries, ingestion de billes de latex, essais de production de métabolites oxygénés, interleukine 1 et prostaglandines. Il n'existe aucune norme unanimement acceptée pour ces tests effectués chez l'animal.

## EXAMENS PRATIQUÉS IN VIVO

Les techniques permettant la détection in vivo des immunodéficiences sont relativement limitées.

Les tests cutanés (intradermoréaction) sont utiles pour analyser l'hypersensibilité de type retardé chez les animaux adultes. Macroscopiquement, la réaction positive débute entre la 5<sup>e</sup> et la 10<sup>e</sup> heure après l'injection intradermique de l'antigène sensibilisant. Elle atteint son apogée entre la 24<sup>e</sup> et la 72<sup>e</sup> heure. A la 96<sup>e</sup> heure, elle commence à diminuer. Elle se caractérise par un œdème dur qui peut être accompagné, en cas de dose exagérée de l'antigène, d'une nécrose centrale et même d'une ulcération. La réaction retardée peut parfois être précédée d'une réaction inflammatoire immédiate qui apparaît 15 à 30 minutes après l'injection antigénique. Cette réac-

tion se manifeste par un œdème mou qui disparaît en 1 à 5 heures.

Dans la pratique, les tests d'intradermoréaction les plus communément employés pour déceler des états d'hypersensibilité de type IV, chez les animaux, sont :

— la réaction à la tuberculine décrite par Koch, à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, qui consiste à injecter un extrait de bacille tuberculeux. Chez les bovins, il s'agit d'une inoculation de 0,05 ml de tuberculine PPD (Purified Protein Derivative) de *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* ou *M. avium* dans la peau de la région cervicale ou dans le derme mucocutané de la vulve, du pli anal. La réaction s'accompagne d'une élévation de la température corporelle. Plusieurs types de mycobactéries sont utilisés pour juger de la spécificité de la réaction, car une réaction positive peut être due à un antigène croisé avec d'autres mycobactéries (la réaction la plus forte sera donc la plus spécifique);

— la jhonine (extrait de *M. paratuberculosis*), par voie intradermique, est utilisée de la même manière que la tuberculine. Comme ce test peut donner des résultats négatifs chez des animaux malades, une variété intraveineuse est parfois utilisée. Une élévation de la température de plus de 1 °C est considérée comme positive dans ce dernier cas;

— de la même manière, on utilisera la brucelline (filtrat de culture en bouillon, âgée de 20 jours) ou le brucellergène (extrait nucléoprotéique) de *Brucella abortus*, l'histoplasmine, la coccidioidine, etc.;

— la malléine est utilisée en épreuve intradermopalpébrale pour détecter les animaux infectés par *Actinobacillus mallei*, agent de la morve.

Cependant, il ne faut pas oublier que les réactions d'hypersensibilité de type IV peuvent être négatives chez des animaux récemment infectés ou très sévèrement infectés et appelés « anergiques ».

Les réactions d'hypersensibilité de type IV peuvent être utilisées pour déceler les troupeaux infectés par des virus comme celui de la rhinotrachéite infectieuse bovine. Il suffit parfois d'une très petite quantité de protéines virales pour induire la réaction (de l'ordre de 0,02 µg). Comme dans le cas de la tuberculine, des réactions croisées entre des virus appartenant à une même famille peuvent apparaître. L'utilisation des tests d'hypersensibilité retardée pour le diagnostic de certaines maladies d'origine virale comporte plusieurs avantages. Tout d'abord, leur

grande facilité d'exécution, avantage particulièrement sensible dans les zones dépourvues de laboratoire, et ensuite la rapidité d'obtention des résultats avec une sensibilité suffisante. Néanmoins, il faut considérer qu'étant pratiqués in vivo, les tests d'hypersensibilité de type IV peuvent modifier l'état immun des animaux vis-à-vis de l'agent infectieux employé, surtout s'ils ont déjà été sensibilisés à cet agent. En outre, ces tests in vivo sont de valeur limitée chez les jeunes, qui n'ont pas eu la période nécessaire de sensibilisation aux antigènes banals. Cependant, les tests au 2,4-dinitrochlorobenzène, où l'on sensibilise l'animal contre cet haptène, peuvent être employés en médecine vétérinaire et apporter des résultats intéressants. Toutefois, ils doivent être complétés par des tests de laboratoire relatifs à l'étude des fonctions cellulaires.

Les tests cutanés basés sur l'utilisation des phytoagglutinines (un phytomitogène est un extrait de plante ayant des propriétés inductrices de divisions cellulaires) ont été préconisés, mais leurs limitations d'emploi n'ont pas permis d'établir une évaluation objective. Dans les tests cutanés, un témoin positif pour les réactions doit toujours être utilisé en parallèle avec un test réalisé sur un animal de même âge inoculé avec la même dose de phytomitogène ou d'antigène.

## EXAMENS POST MORTEM

### Examen macroscopique des tissus lymphoïdes pathologiques

Parfois, il peut exister chez des animaux immunodéficients, une absence presque totale ou

même totale d'un organe lymphoïde primaire, tel que le thymus chez l'homme, le cheval, le rat, la souris, le hamster, le cobaye, etc. Dans la majorité des cas, seule la taille des organes lymphoïdes est plus petite chez les animaux immunodéficients que chez leur témoin de même âge et de même sexe.

### Examen microscopique des tissus lymphoïdes pathologiques

L'examen sur coupe, après coloration classique ou après marquage par un antisérum polyclonal ou monoclonal, peut apporter des éléments extrêmement intéressants. Les lymphocytes B trouvés dans les follicules (rate, ganglions lymphatiques, plaques de Peyer) ou les lymphocytes T de la zone périartériolaire de la rate, paracorticale des ganglions ou interfolliculaire des plaques de Peyer peuvent être décelés de façon très précise en utilisant les réactifs adéquats. La muqueuse intestinale peut être également observée pour déceler si elle contient une population plasmocytaire normale.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARTA O. Laboratory techniques of veterinary clinical immunology. CC Thomas publ. Springfield, IL, USA, 1984, 189 pages.
- BARTA O, OYEKAN PP. Lymphocyte transformation test in veterinary clinical immunology. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 1981, 4 : 209-221.
- BRION A, FONTAINE M. Vade-Mecum du vétérinaire, 14<sup>e</sup> édition, Vigot, Paris, France, 1983, 813 pages.

B. Garin-

On enter qualitative immunologie ou de conf tieuse ou n population immunodi effectuée.

La quali ment liée lui-même; mais aussi; résultats ob

## PRÉLÈVE

Divers fa modifier la et de nuire gnostic.

imaire, tel  
, le rat, la  
Dans la  
s organes  
animaux  
de même

ques

n classique  
yclonal ou  
s extrême-  
B trouvés  
phatiques,  
de la zone  
e des gan-  
de Peyer  
précise en  
euse intes-  
r déceler si  
mocytaire

inical immu-  
A, 1984, 189  
ation test in  
an Microbiol

térinaire, 14<sup>e</sup>  
ges.

B. Garin-Bastuji, F. Moutou

## MÉTHODOLOGIE DE L'IMMUNODIAGNOSTIC

On entend par immunodiagnostic la recherche qualitative ou quantitative, par une technique immunologique, de molécules permettant d'étayer ou de confirmer un diagnostic de maladie, infectieuse ou non, au niveau d'un individu ou d'une population. Les prélèvements requis pour un tel immunodiagnostic dépendent de la recherche effectuée.

La qualité de l'immunodiagnostic est directement liée : 1) à la qualité du prélèvement lui-même; 2) à la qualité de l'échantillonnage, mais aussi; 3) à la qualité de l'interprétation des résultats obtenus.

### PRÉLÈVEMENT SANGUIN

Divers facteurs sont susceptibles d'altérer ou de modifier la qualité du sérum ou du plasma sanguin et de nuire ainsi à la qualité de l'immunodiagnostic.

Ce sont : les contaminations microbiennes, l'hémolyse, les variations importantes de température. Pour les éviter, certaines règles sont à respecter lors de la préparation des sérums, leur transport et leur conservation.

### OBTENTION ET PRÉPARATION

Le prélèvement de sang doit être effectué rapidement et proprement, sur une peau préalablement rasée et désinfectée, en évitant tout traumatisme de la veine. L'idéal est de recueillir le sang dans un tube de verre à usage unique et avec un matériel de prélèvement sous vide et stérile (type « Vacutainer ND »).

Pour obtenir du sérum, les prélèvements sanguins seront laissés au repos deux heures au minimum à une température stable comprise entre 10 et 20 °C. Après formation complète du caillot de coagulation, celui-ci sera décollé légèrement des parois du tube et retiré si possible, au moyen d'un crochet. Le sérum sera ensuite centrifugé à

500-1 000 g afin d'éliminer les cellules sanguines restantes.

Pour obtenir du plasma, on emploie un anticoagulant comme l'héparinate de lithium lyophilisé (15 U/ml de sang total). Le tube sera alors agité doucement par retournement puis centrifugé à 500-1 000 g.

Ces précautions réduisent le risque d'apparition d'une hémolyse et d'une contamination microbienne.

### CONSERVATION ET TRANSPORT DES SÉRUMS

Lors d'une utilisation immédiate des sérums, ceux-ci peuvent être conservés 2 heures au maximum à température ambiante (<25 °C) et de 2 à 48 heures au réfrigérateur (+4 °C).

Cette conservation à +4 °C peut être prolongée par l'emploi de conservateurs antiseptiques (azide de sodium, formol, merthiolate, à la concentration de 0,1 p. cent P/V ou de phénol à 0,5 p. cent V/V) et/ou par une filtration (0,45 µm). Dans de telles conditions, le sérum peut être maintenu sans altération majeure près d'une semaine à +4 °C.

Lors d'utilisation différée du sérum, la congélation (à -20 °C, voire à -80 °C) s'avère nécessaire. La conservation du sérum est meilleure si celui-ci est préalablement filtré (0,45 µm), et/ou additionné d'azide de sodium à 0,1 p. cent (P/V). L'altération physique des immunoglobulines, possible lors de la congélation et de la décongélation, est réduite par l'adjonction de glycérol à 50 p. cent (V/V) qui empêche la congélation à -20 °C.

La décongélation des sérums peut être réalisée soit rapidement (5 minutes) par mise au bain-marie à 37 °C, soit lentement (18 heures) à +4 °C. En aucun cas elle ne doit être effectuée à température ambiante ou sous l'eau chaude courante.

Pour le transport, le délai d'acheminement devra être le plus réduit possible (utilisation de services spéciaux de transport ou de poste), en maintenant les sérums à une température inférieure ou égale à +4 °C. Trois solutions sont alors possibles (de la moins bonne à la meilleure) :

- sérum à +4 °C en conteneur isotherme + bloc conservateur congelé;
- sérum à -20 °C en conteneur isotherme (avec ou sans bloc conservateur congelé);
- sérum à -20 °C en conteneur isotherme + neige carbonique.

Dans tous les cas, les sérums doivent être maintenus en tubes bouchés (pour limiter l'évaporation) remplis aux deux tiers au maximum, à l'abri de la lumière et remis à température ambiante avant toute utilisation.

### CONSÉQUENCES DES ALTÉRATIONS DU SÉRUM SUR LA QUALITÉ DU RÉSULTAT

#### Hémolyse

La lyse des globules rouges provoque la libération d'hémoglobine dans le milieu. Cette lyse peut apparaître lors d'une prise de sang mal réalisée (trop lente, traumatisante, aiguille trop fine, antiseptique hémolytique) ou lorsque le prélèvement est centrifugé avant la coagulation complète du caillot.

La coloration rouge du sérum provoquée par l'hémolyse nuit à la lecture de nombreuses épreuves sérologiques : agglutination, fixation du complément, hémagglutination, etc.

L'hémolyse peut également rendre le sérum anticomplémentaire\* (épreuve de fixation du complément) et provoquer l'apparition de réponses non spécifiques dans les épreuves immunoenzymatiques.

#### Contamination microbienne

Les contaminations microbiennes du sérum sont en général dues soit à de mauvaises conditions de prélèvement (peau de l'animal, matériel, manipulations septiques) soit à de mauvaises conditions de transport et de conservation. Les conséquences sont de deux ordres :

— présence de corps ou de métabolites bactériens entraînant une décomposition du milieu et pouvant nuire à la bonne lecture des analyses sérologiques ou interagissant avec celle-ci : techniques immunoenzymatiques, agglutination d'antigènes figurés ou non, de bactéries vivantes, fixation du complément, séroneutralisation (lyse du tapis cellulaire), etc.;

\* Sérums anticomplémentaires : certains sérums ont le pouvoir d'inhiber le complément. Ce phénomène mal connu est attribué par des auteurs soit au phénomène d'hémolyse, soit aux contaminations microbiennes soit à la présence d'immun-complexes, et semble plus fréquent si le prélèvement a lieu en période post-prandiale.

— lib  
riennes e  
globuline

#### Choc t

Qu'ils  
conserva  
décongé  
forte int  
une dégr  
et du con  
épreuves  
vent cep  
modifica  
leur déco  
tion du d  
soumettr  
de détrui  
le sérum  
une temp  
élevés. E  
samment  
complém  
de rendr  
une incu  
60 °C e  
décomple

#### CRITÈ

#### Diagno

L'exar  
réalisé;  
complém  
il sera d  
20 jours  
éventuell  
un antig

#### Diagno

La situ  
sanitaire  
un ou pl

— libération dans le milieu de protéases bactériennes entraînant une dégradation des immunoglobulines et du complément.

### Choc thermique

Qu'ils soient dus à de mauvaises conditions de conservation, de transport, de congélation ou de décongélation, ou à l'exposition à une lumière de forte intensité, les chocs thermiques entraînent une dégradation accélérée des immunoglobulines et du complément et nuisent ainsi à la qualité des épreuves d'immunodiagnostic. Les sérums peuvent cependant être délibérément soumis à une modification de température comme dans le cas de leur décomplémentation; dans l'épreuve de fixation du complément, il est en effet nécessaire de soumettre les sérums à un chauffage préalable afin de détruire le complément autologue présent dans le sérum. Les immunoglobulines résistent mal à une température et à un temps de chauffage trop élevés. En revanche, ceux-ci doivent être suffisamment importants pour inhiber totalement le complément sérique et les inhibiteurs susceptibles de rendre le sérum anticomplémentaire. Ainsi, une incubation au bain-marie de 30 minutes à 60 °C est le plus souvent conseillée pour la décomplémentation des sérums.

## CRITÈRES DE PRÉLÈVEMENT

### Diagnostic individuel

L'examen sérologique ne sera pas le seul réalisé; la clinique apportera des informations complémentaires. En cas de phénomène évolutif, il sera demandé une seconde prise de sang 15 ou 20 jours après la première afin d'apprécier une éventuelle cinétique des anticorps correspondant à un antigène suspect.

### Diagnostic collectif

La situation est toute autre. Pour évaluer l'état sanitaire d'une population animale par rapport à un ou plusieurs agents infectieux, il est rarement

possible de prélever, ne fût qu'une fois, l'ensemble de cette population et encore moins plusieurs fois. Elle n'est pas totalement accessible (faune sauvage en particulier), ou le prélèvement implique la mort de l'individu (recueil de sang à l'abattoir) et empêche tout suivi, ou les frais en temps, en moyen et en personnel seraient exorbitants pour le service ou l'administration demandant l'examen ou l'enquête. On est donc amené à travailler sur un échantillon de la population dans le but d'extrapoler les résultats obtenus à l'ensemble. Les contraintes sont en fait d'ordre économique et statistique.

### Échantillonnage [2, 6]

Par rapport à une entité pathologique définie, les questions qui se posent peuvent être les suivantes :

— l'agent correspondant existe-t-il dans la population ?

— combien d'individus possèdent la trace immunologique de cet agent ? Rapportée à une unité de temps (annuelle, mensuelle, voire instantanée) cette notion correspond à la *prévalence* de l'antigène dans la population. Elle peut également s'exprimer sous la forme d'un taux : nombre total de cas (ou de foyers) pendant une période ou à un instant donné, divisé par le nombre de sujets (ou de cheptels) de la population de référence;

— à quelle vitesse l'agent se transmet-il entre animaux contaminés et animaux sains ? Il s'agit de l'*incidence*, le nombre de nouveaux cas apparaissant pendant une période donnée, qui peut également s'exprimer sous forme d'un taux.

Trouver des réponses à ces questions correspond à des exercices classiques en épidémiologie [2, 6]. On peut en retenir que pour calculer l'effectif minimum d'un échantillon représentatif, à un seuil de confiance accepté, la taille de la population n'importe pas. Une première estimation de la prévalence de l'agent recherché est au contraire indispensable. La connaissance de l'incidence est liée à des systèmes de surveillance sanitaire, avec enregistrements réguliers des variations d'état des individus.

L'ensemble de ces méthodes doit permettre de constituer un échantillon représentatif de la population sondée, à partir du moment où le plan de sondage tient compte au mieux des biais possibles.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les critères d'interprétation des résultats reposent sur les qualités intrinsèques des techniques employées, sur la nature des effecteurs de la réponse immune et dépendent de l'objectif poursuivi par la mise en œuvre de l'épreuve d'immunodiagnostic.

Il faut également tenir compte de l'aspect individuel ou collectif des analyses, d'une estimation initiale de la prévalence de l'antigène recherché (très faible ou importante) ainsi que de l'exigence de fiabilité requise.

### VARIATIONS DE L'IMMUNODIAGNOSTIC EN FONCTION DE L'EFFECTEUR IMPLIQUÉ DANS LA RÉPONSE IMMUNE [5, 7]

L'importance respective de la réponse de type humoral et de celle de type cellulaire est très variable d'une pathologie à une autre, voire pour une même pathologie, d'un individu à un autre. Certaines maladies infectieuses induisent des réponses presque exclusivement cellulaires (tuberculose) d'autres des réponses humorales prédominantes, la plupart font intervenir les deux modes de réponse avec une variabilité dépendant souvent de l'individu et du stade évolutif de l'infection (brucellose des ruminants).

Au sein même de la réponse humorale, des variabilités existent, liées le plus souvent aux différents isotypes mis en jeu. De plus, les molécules d'anticorps n'ont pas toutes la même « réactivité » selon l'épreuve d'immunodiagnostic utilisée.

En effet, bien que les anticorps d'une même classe puissent dans l'absolu participer à de nombreuses réactions sérologiques, ils remplissent en pratique certaines fonctions mieux que d'autres (IgM vs IgG). On se souviendra par ailleurs que chaque anticorps présente une spécificité pour un épitope déterminé avec une affinité plus ou moins forte. La variabilité de « réactivité » propre aux anticorps se trouve alors accrue par celle des antigènes utilisés dans chaque épreuve d'immunodiagnostic.

## QUALITÉS D'UNE ÉPREUVE D'IMMUNODIAGNOSTIC [4, 7, 8]

### Praticabilité (Practicability)

La praticabilité correspond à la facilité de mise en œuvre d'une épreuve d'immunodiagnostic et dépend :

- du coût d'investissement et de maintenance;
- de la technicité requise pour la réalisation de l'épreuve;
- de la diffusion et de la disponibilité du matériel nécessaire;
- du risque éventuel pour le manipulateur et l'environnement.

Exemples :

— *l'épreuve à l'antigène tamponné* (recherche de brucellose) est une épreuve pratique : rapide, économique (coût individuel faible, peu d'investissement), ne requérant pas une technicité élevée du manipulateur et dont le matériel est aisément disponible sur le marché;

— *l'épreuve radio-immunologique* est assez peu pratique : peu rapide (lavages multiples), chère (radio-isotopes chers, coût élevé du lecteur et des installations de sécurité), elle requiert une haute qualification technique et peut présenter des risques (radioactivité), etc.

### Fiabilité (Reliability)

#### Exactitude (Accuracy)

Ce paramètre appelé aussi justesse, mesure la capacité d'une épreuve à donner le résultat exact. En d'autres termes, il exprime la qualité de l'accord entre l'estimation de la valeur mesurée et la valeur vraie, en dehors des erreurs fortuites. Son appréciation implique de connaître la valeur absolue d'échantillons de référence (unités internationales, produit étalon auquel est attribué un titre, etc.). Cette valeur est généralement établie par le laboratoire fabricant (laboratoire de référence, industriel) et calculée à partir d'un grand nombre d'épreuves réalisées dans des conditions optimales et avec un personnel hautement qualifié.

En général l'appréciation de l'exactitude est meilleure pour les techniques quantitatives et notamment les épreuves de type primaire (techniques immunoenzymatiques par exemple).

Le ter  
notions :

— la  
intervalle  
précision  
distribu  
optiques  
tants lors  
est disc  
siques, p

— la  
(ou fidél  
donner d  
répétées,  
des conc  
reproduct

On dis  
des mesu  
boratoire.  
La répéti  
rapport d  
du contr  
valeur ca  
réalisation  
tion (CV  
sèque de  
type des  
p. cent),  
plusieurs  
répéter au

Bien ente  
quand il  
effectuées  
plusieurs  
valeur qu

Le ter  
finalemen  
(fidélité)  
fiable dor

Limite in  
ou déte  
(Lower l

Ce par  
bilité) exp  
produit ré  
plus faibl  
du « blan  
(exemples)

### Précision (Precision)

Le terme de précision recouvre en fait deux notions :

— la première est relative à la taille des intervalles de mesure. Ceux-ci sont réduits et la précision est grande lorsque les mesures se distribuent selon une échelle continue (densités optiques en ELISA, par exemple), ou plus importants lorsque l'échelle de distribution des mesures est discontinue et logarithmique (titrages classiques, par exemple);

— la seconde signification du terme précision (ou fidélité) exprime la capacité de l'épreuve à donner des résultats cohérents lors de mesures répétées, effectuées sur un même échantillon dans des conditions constantes; on parle alors de reproductibilité ou de répétitivité.

On distingue plusieurs niveaux de variabilité des mesures : répétitivité intralaboratoire, interlaboratoire, intraopérateur, intraséance, interséance. La répétitivité de l'épreuve est calculée par le rapport de l'écart-type des mesures obtenues lors du contrôle, sur la valeur maximale acceptable, valeur calculée dans les conditions optimales de réalisation de l'épreuve. Le coefficient de variation (CV) permet d'évaluer la précision intrinsèque de l'épreuve. C'est le rapport de l'écart-type des mesures obtenues, à la moyenne (en p. cent), calculé lors d'une séance ou lors de répéter au moins trente fois l'épreuve individuelle. Bien entendu, le CV est généralement plus faible quand il est calculé sur les résultats de mesures effectuées lors d'une séance que sur ceux de plusieurs séances. Néanmoins, c'est cette dernière valeur qui traduit le mieux la qualité de l'épreuve.

Le terme de fiabilité (reliability) correspond finalement à une combinaison de la précision (fidélité) et de l'exactitude. Ainsi, une épreuve fiable donnera-t-elle toujours le résultat exact.

### Limite inférieure de détection (LID) ou détectabilité (Lower limit of detection)

Ce paramètre (parfois dénommé à tort sensibilité) exprime la plus petite quantité détectable du produit recherché ou titré, en d'autres termes la plus faible concentration qui peut être distinguée du « blanc » réalisé dans les mêmes conditions (exemples donnés dans le tableau 62-I).

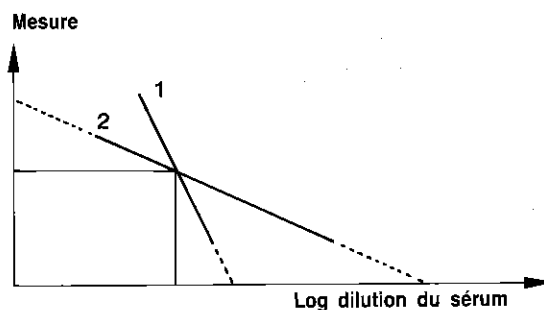
Tableau 62-I LID des épreuves sérologiques usuelles, d'après [1 et 3].

Epreuves	Dosage d'anticorps	Dosage d'antigènes
	Anticorps µg/ml	Antigènes µg/ml
RIA	$10^{-5}$ - $10^{-4}$	$10^{-6}$
ELISA	$10^{-4}$	
VN	$10^{-5}$ - $10^{-4}$	
IHA	0,001-0,005	
TN	0,003-0,01	
FC	0,05-1	
AGGL	0,05-10,00	
HAP	0,01-0,1	
RT	2-15	
IDG	0,3-30	1
ACP	0,008-32	

RIA : épreuve radioimmunologique; ELISA : épreuve immuno-enzymatique; VN : neutralisation virale; IHA : inhibition de l'hémagglutination; TN : neutralisation de toxine; FC : fixation du complément; AGGL : agglutination; HAP : hémagglutination passive; RT : ring-test; IDG : immunodiffusion en gélose; ACP : anaphylaxie cutanée passive.

### Sensibilité (Sensibility)

La sensibilité (critère de fiabilité) se définit comme le rapport de la variation d'amplitude de la mesure sur une variation donnée de la quantité d'anticorps spécifiques. Lorsque l'on trace une courbe dose-effet spécifique de l'épreuve, la sensibilité est représentée par la pente de la droite obtenue après transformation linéaire (Fig. 62-1).



EPREUVE	1	2
Sensibilité	Forte	Faible
LID	Elevée	Basse

Figure 62-1 Sensibilité et détectabilité (LID) d'après M Eloit, Communication personnelle.

### Critères d'efficacité (Efficacy)

Si les critères de fiabilité peuvent s'évaluer sur un exemplaire du produit à mesurer, les critères d'efficacité ne peuvent être appréciés qu'en éprouvant la méthode vis-à-vis d'un échantillon représentatif des produits que l'on aura à mesurer. Ces critères sont ceux le plus souvent pris en compte dans l'interprétation des résultats, car ce sont les plus représentatifs de la qualité de la méthode.

### Sensibilité et spécificité (Sensitivity and specificity)

L'efficacité d'une épreuve d'immunodiagnostic peut se définir comme l'aptitude à déceler les variations physiologiques ou pathologiques, et se mesure par rapport à une situation de référence, considérée comme la plus proche de la « vérité » ou simplement fixée arbitrairement comme référence.

Les relations entre le statut indemne/infecté de N individus et les résultats sérologiques peuvent être représentées par le tableau de contingence 2 par 2 (Tableau 62-II).

Sensibilité et spécificité varient souvent en sens

**Tableau 62-II** Relation entre statut sanitaire et résultats de l'épreuve d'immunodiagnostic [4].

Dans ce tableau, I+ correspond aux individus infectés et I- aux indemnes, T+ aux résultats positifs au test et T- aux négatifs. Pour évaluer au mieux une méthode, il faut choisir environ autant d'infectés (VP + FN) que d'indemnes (FP + VN). On peut alors déterminer les deux critères suivants d'efficacité de la méthode :

— Sensibilité (Sensitivity) :

C'est la proportion de sujets malades ou infectés révélée par l'épreuve d'immunodiagnostic parmi l'ensemble des sujets malades ou infectés.

$$\text{Sensibilité} = \text{VP}/(\text{VP} + \text{FN})$$

— Spécificité (Specificity) :

C'est la proportion de sujets classés indemnes par l'épreuve d'immunodiagnostic parmi l'ensemble des sujets indemnes.

$$\text{Spécificité} = \text{VN}/(\text{VN} + \text{FP})$$

Résultats de l'épreuve	Situation de référence		
	Infectés (I+)	Indemnes (I-)	
Positifs (T+)	Vrais positifs (VP)	Faux positifs (FP)	VP + FP
Négatifs (T-)	Faux négatifs (FN)	Vrais négatifs (VN)	FN + VN
	VP + FN	FP + VN	N

inverse et, pour une méthode donnée, leur valeur dépend comme nous le verrons plus loin du seuil de positivité, frontière entre les sérums positifs et les sérums négatifs.

Ainsi, les épreuves d'immunodiffusion en gel, dont la limite inférieure de détection est très élevée, sont en pratique peu sensibles. A l'inverse, la méthode d'hémagglutination passive, qui est très sensible est en revanche beaucoup moins spécifique (même remarque pour l'ELISA en comparaison avec la séroneutralisation virale).

La plupart des situations observées en matière de sensibilité et de spécificité peuvent être expliquées par la distribution des anticorps dans la population. Dans une population indemne, la plupart des animaux n'auront pas d'anticorps détectables. Néanmoins, certains animaux indemnes peuvent avoir un faible taux d'anticorps, dirigés contre des micro-organismes qui croisent du point de vue antigénique, ou qui interagissent faiblement et de manière non spécifique avec l'antigène. Dans une population infectée, le niveau moyen des anticorps est relativement élevé; néanmoins, les taux d'anticorps seront distribués de façon quasi normale, et des animaux effectivement infectés ayant un taux d'anticorps relativement faible donneront dans les épreuves des résultats faussement négatifs.

Dans une situation idéale, les niveaux les plus élevés d'anticorps chez les sujets indemnes devraient toujours être inférieurs aux niveaux les plus faibles d'anticorps chez les infectés. Ainsi une zone franche de séparation entre les infectés et les indemnes pourrait être établie et tant la sensibilité que la spécificité de l'épreuve seraient de 100 p. cent. En pratique, cette situation est bien entendu exceptionnelle et le pouvoir discriminant de l'épreuve peut être appréhendé par le taux d'analogie  $(\text{VP} + \text{VN})/N$  ou mieux par l'indice de Youden (sensibilité + spécificité - 1) =  $[\text{VP}/(\text{VP} + \text{FN}) + \text{VN}/(\text{VN} + \text{FP}) - 1]$ .

Le seuil de positivité d'une épreuve peut donc être calculé à partir de la limite inférieure de détection de la méthode. De nombreux auteurs préconisent, pour l'établissement de ce seuil, d'éprouver un échantillon statistiquement représentatif de la population indemne. Le seuil est calculé en ajoutant à la moyenne des valeurs obtenues deux ou trois écart-types selon le degré de précision souhaité. Ce seuil correspond alors à la valeur maximale que peut atteindre statistiquement un animal indemne.

En pratique la détermination du seuil est effectuée non plus sur des critères objectifs mais

en fonction des résultats obtenus par la méthode, échantillon par échantillon.

Les résultats négatifs obtenus par les épreuves de référence sont pris en compte dans l'interprétation des résultats, car ce sont les plus représentatifs de la qualité de la méthode.

### Valeurs

Sensibilité et spécificité sont des critères qui jugent qu'une méthode est bonne ou mauvaise. Ils sont exprimés en pourcentage de l'ensemble des résultats obtenus par la méthode par rapport à une situation de référence. La sensibilité est le rapport entre le nombre de résultats positifs obtenus par la méthode et le nombre de résultats positifs obtenus par la méthode de référence. La spécificité est le rapport entre le nombre de résultats négatifs obtenus par la méthode et le nombre de résultats négatifs obtenus par la méthode de référence.

La sensibilité et la spécificité sont des critères qui jugent qu'une méthode est bonne ou mauvaise. Ils sont exprimés en pourcentage de l'ensemble des résultats obtenus par la méthode par rapport à une situation de référence.

La sensibilité est le rapport entre le nombre de résultats positifs obtenus par la méthode et le nombre de résultats positifs obtenus par la méthode de référence. La spécificité est le rapport entre le nombre de résultats négatifs obtenus par la méthode et le nombre de résultats négatifs obtenus par la méthode de référence.

En fait, la sensibilité et la spécificité sont des critères qui jugent qu'une méthode est bonne ou mauvaise. Ils sont exprimés en pourcentage de l'ensemble des résultats obtenus par la méthode par rapport à une situation de référence. La sensibilité est le rapport entre le nombre de résultats positifs obtenus par la méthode et le nombre de résultats positifs obtenus par la méthode de référence. La spécificité est le rapport entre le nombre de résultats négatifs obtenus par la méthode et le nombre de résultats négatifs obtenus par la méthode de référence.

Aussi, la sensibilité et la spécificité sont des critères qui jugent qu'une méthode est bonne ou mauvaise. Ils sont exprimés en pourcentage de l'ensemble des résultats obtenus par la méthode par rapport à une situation de référence.



en fonction de l'application qui sera faite des résultats obtenus (diagnostic individuel ou collectif, évaluation d'une prévalence, éradication, dépistage, éventualité d'une confirmation a posteriori par une autre méthode plus spécifique, etc.).

Les conséquences des résultats faussement négatifs et faussement positifs doivent alors être prises en considération. Des réactions faussement positives peuvent alourdir le diagnostic et discréditer l'épreuve. De nombreux résultats faussement négatifs peuvent compromettre l'efficacité de programmes d'éradication fondés sur le dépistage sérologique.

### Valeurs prédictives [4, 7]

Sensibilité et spécificité sont des critères qui ne jugent que la méthode. Avec l'indice de Youden, ils sont indépendants de la composition en + et en - de l'échantillon pris comme situation de référence, même si le maximum de puissance est néanmoins obtenu avec des effectifs égaux. Les valeurs prédictives permettent d'établir la probabilité de l'existence de l'infection (ou de son absence) chez des individus dont les résultats de l'épreuve d'immunodiagnostic sont positifs (ou négatifs).

La valeur prédictive d'un résultat positif (VPRP) est donc la probabilité qu'un animal trouvé positif à un test soit infecté. Dans le tableau de contingence (Tableau 62-II) la  $VPRP = VP/(VP + FP)$ .

A l'inverse, la valeur prédictive d'un résultat négatif (VPRN) est la probabilité qu'un animal trouvé négatif à un test soit indemne. Dans le tableau de contingence (Tableau 62-II) la  $VPRN = VN/(VN + FN)$ .

En fait, la valeur prédictive d'un résultat (positif ou négatif) est étroitement liée à la prévalence de la maladie dans la population envisagée. Ainsi, les résultats faussement positifs (FP), s'ils sont peu nombreux, auront peu d'importance si la prévalence de l'infection est forte. A l'inverse, lorsque la prévalence de la maladie est faible (<1-2 p. cent), la majeure partie de la population sera négative et la proportion de faux positifs parmi les positifs sera élevée même si la spécificité et la sensibilité du test sont bonnes.

Aussi, de nombreux auteurs préfèrent-ils estimer ces valeurs prédictives en faisant intervenir la prévalence, selon les formules suivantes :

— la VPRP est estimée par :

$$\frac{\text{sens.} \times \text{prév.}}{(\text{sens.} \times \text{prév.}) + (1 - \text{prév.}) \times (1 - \text{spéc.})} \quad (\text{a})$$

— la VPRN est estimée par :

$$\frac{\text{spéc.} \times (1 - \text{prév.})}{(\text{spéc.} \times (1 - \text{prév.}) + \text{prév.} \times (1 - \text{sens.}))} \quad (\text{b})$$

sens. : sensibilité de la méthode  
spéc. : spécificité de la méthode  
prév. : prévalence estimée de la maladie après pré-enquête

Lorsque l'on utilise une épreuve de diagnostic très sensible (sens. >95 p. cent) la spécificité de l'épreuve et la prévalence estimée de la maladie déterminent la VPRP et la VPRN. La relation entre prévalence, spécificité et VPRP est illustrée dans les figures 62-2 et 62-3 (sens. >95 p. cent).

La figure 62-2 montre l'évolution de la VPRP en fonction de la prévalence estimée pour différents niveaux de spécificité du test; la VPRP peut ainsi être déterminée graphiquement.

Bien que, comme nous l'avons vu précédemment, la valeur précise de la VPRP soit donnée par la formule algébrique (a), l'estimation graphique est rapide et facile et permet de visualiser les effets, sur la VPRP, d'erreurs, mêmes faibles, dans la détermination de la spécificité, et la prévalence.

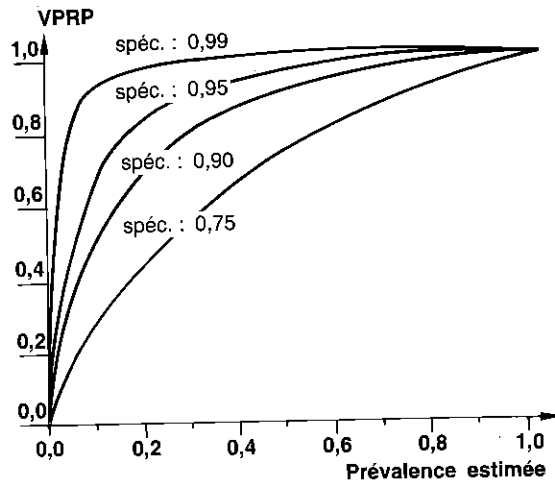


Figure 62-2 Relation entre la valeur prédictive d'un résultat positif et la prévalence estimée pour quatre niveaux de spécificité (sensibilité >95 p. cent), d'après [4].

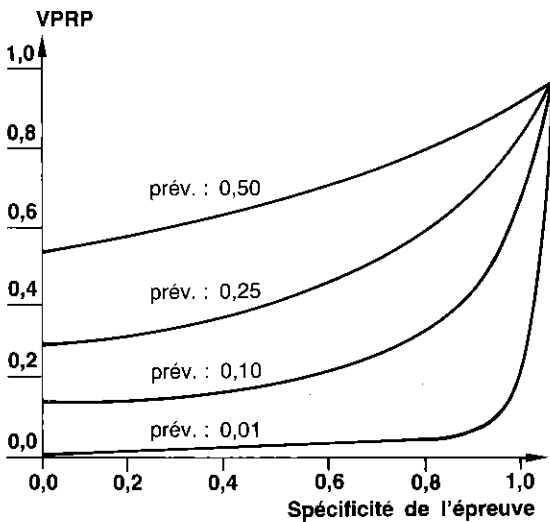


Figure 62-3 Relation entre la VPRP et la spécificité de l'épreuve pour quatre niveaux de prévalence estimée (sensibilité >95 p. cent), d'après [4].

La figure 62-3 montre l'évolution de la VPRP en fonction de la spécificité du test à différents niveaux de prévalence estimée (sens. 95 p. cent). On constate, lorsque la probabilité de l'infection est faible, qu'un diagnostic individuel est beaucoup moins fiable qu'on ne l'aurait imaginé.

## CONCLUSION

De nombreuses sources de variabilité, d'erreurs et d'incertitude peuvent conduire à une interprétation non fiable, erronée ou ambiguë des résultats obtenus dans les épreuves d'immunodiagnostic.

La première source d'erreurs tient à la qualité même des prélèvements réalisés. Traiter un prélèvement défectueux (hémolyse, contamination, insuffisance de volume, etc.) est une erreur. Ensuite, la précision d'une épreuve de diagnostic est toujours limitée par l'exactitude de l'appareillage car tous les instruments de diagnostic sont imparfaits à des degrés divers. Les biais liés à l'erreur humaine et aux artefacts de laboratoire seront également à prendre en considération. Il est raisonnable de prévoir qu'une partie des prélève-

ments sera mal étiquetée, préparée incorrectement ou collectée improprement. Il est impératif d'être garant de l'assurance et du maintien de la qualité tout au long de la chaîne qui va du prélèvement au résultat.

Une autre source d'incertitude est, bien entendu, la variation naturelle des valeurs physiologiques et pathologiques. Nous avons vu la difficulté d'établir un seuil de positivité, toujours dépendant du but recherché par la mise en œuvre du test.

La sensibilité et la spécificité de la technique employée doivent être évaluées. Les valeurs prédictives du résultat (négatif ou positif) doivent être calculées en fonction de la prévalence estimée de la maladie dans la population testée. On se rappellera toujours cependant, que l'on dose par les épreuves d'immunodiagnostic des anticorps (et souvent des fractions d'anticorps) qui ne sont en fait qu'un reflet (parfois peu fidèle) de l'existence de l'infection.

Évaluer la fiabilité d'une information diagnostique n'est pas entièrement intuitif et peut apparaître complexe en première approche. La connaissance de toutes les sources de biais et la compréhension des relations existant entre spécificité, sensibilité, valeurs prédictives et prévalence estimée de la maladie permettent une bonne interprétation des résultats et la détection aisée des informations non fiables.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Cours d'Immunologie Générale, Institut Pasteur, Paris, 1984.
2. DIGIACOMO RF, KOEPEL TD. Sampling for detection of infection or disease in animal populations. *JAVMA*, 1986, 189 (1) : 22-23.
3. GARIN-BASTUJI B. Techniques immunoenzymatiques quantitatives dans le diagnostic des maladies infectieuses vétérinaires. Actualité et mise au point. *Bull Lab Vet*, 1986, 22 : 11-41.
4. GERSTMAN BB, CAPPUCCI DT. Evaluating the reliability of diagnostic test results. *JAVMA*, 1986, 188 (3) : 248-251.
5. NIELSEN K, HECK FC, WAGNER GG et al. Comparative assessment of antibody isotypes to *Brucella abortus* by primary and secondary binding assays. *Prev Vet Med*, 1984, 2 : 197-204.
6. SCHWARTZ D. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Flammarion Médecines-Sciences, Paris, 1983, 318 p.
7. TIZARD I. Serologic assays. *JAVMA*, 1982, 181 (10) : 1162-1165.
8. TOMA B, DUFOUR B, BENET JJ et al. Glossaire d'épidémiologie animale 2<sup>e</sup> édition. Association pour l'Étude de l'Épidémiologie des maladies animales. Maisons-Alfort (Fond. M. Mérieux éd.), sous presse.

P. Desme

Longter  
des labor  
et d'un pe  
accessible  
ciens d'é  
Ce diagn  
la simplif  
utilisés, e  
mise en c

Bien q  
et décen  
seuls sero  
tics imm  
antigène-  
technique  
et ne néc

De tell  
diagnosti  
taires, po  
nglobuli

P. Desmettre

## DIAGNOSTIC RAPIDE ET DÉCENTRALISÉ

Longtemps centralisé, c'est-à-dire réalisé par des laboratoires dotés d'équipements performants et d'un personnel spécialisé, le diagnostic devient accessible aux vétérinaires praticiens, aux techniciens d'élevage, voire aux éleveurs eux-mêmes. Ce diagnostic décentralisé est rendu possible par la simplification des réactifs et des techniques utilisés, en même temps que par leur rapidité de mise en œuvre.

Bien que des diagnostics biochimiques rapides et décentralisés soient également disponibles, seuls seront évoqués dans ce chapitre les diagnostics immunologiques impliquant une réaction antigène-anticorps et entrant dans le cadre de techniques dont la durée est inférieure à une heure et ne nécessite pas d'instrumentation spécialisée.

De telles techniques sont utilisables pour le diagnostic des maladies infectieuses ou parasitaires, pour le dosage semi-quantitatif des immunoglobulines, pour la recherche et le dosage

semi-quantitatif de certaines hormones, et plus généralement pour la mise en évidence d'un antigène par l'anticorps correspondant ou inversement.

Disponibles sous forme d'ensembles comprenant tous les réactifs nécessaires à la réalisation du diagnostic et au contrôle ou à la validation des réactions, les trousse de diagnostic (également connues sous la dénomination anglo-saxonne de « kits ») comprennent également, sous forme de matériel à usage unique, tous les accessoires nécessaires.

Deux types de techniques sont essentiellement utilisées pour le diagnostic des maladies infectieuses ou parasitaires, soit pour le diagnostic direct (mise en évidence ou dosage de l'antigène), soit pour le diagnostic indirect (mise en évidence ou dosage des anticorps). Ces deux techniques sont :

- les techniques immunoenzymatiques;
- la technique d'agglutination.

## TECHNIQUES IMMUNOENZYMATIQUES

(Fig. 63-1)

Le principe de ces techniques, dont la plus connue est celle dite ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ou ses variantes, repose sur la mise en évidence des complexes antigène-anticorps par utilisation d'un marqueur enzymatique, lui-même révélablé par la transformation d'un substrat en un produit coloré.

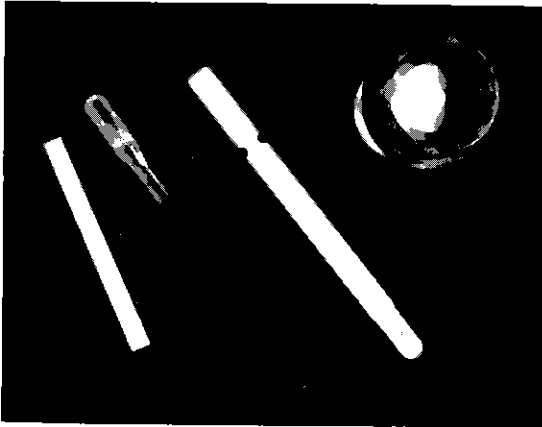


Figure 63-1 Les techniques immunoenzymatiques appliquées au diagnostic rapide.

Dans le diagnostic direct, l'antigène présent dans le prélèvement (virus, bactérie, parasite, etc.) est fixé à une phase solide au moyen d'un premier anticorps (1) qui peut être polyclonal ou monoclonal. Le couple antigène-anticorps ainsi formé est révélé par un deuxième anticorps (2) polyclonal ou monoclonal de spécificité le plus souvent différente au premier anticorps et marqué par un enzyme. La fixation du deuxième anticorps, donc de l'enzyme, est elle-même révélée par la transformation d'un substrat en un produit coloré par l'intermédiaire d'une substance chromogène.

Phase solide + anticorps (1) + antigène  
+ anticorps marqué par l'enzyme (2)

Les enzymes actuellement utilisés sont les peroxydases ou les phosphatases alcalines. La nature du substrat dépend bien sûr de la nature de l'enzyme (Tableau 63-I).

Tableau 63-I Principaux enzymes, substrats et chromogènes utilisés dans les techniques immunoenzymatiques.

Enzymes	Substrats	Chromogènes	Couleur du produit
Peroxydases	Peroxydes	Diaminobenzidine (DAB)	Brune
		Orthophénylène-diamine (OPD)	Jaune orangée
		Tetraméthylbenzidine (TMB)	Bleue
		Ethylbenzothiazoline sulfate (ABTS)	Verte
Phosphatases alcalines	X-HPO <sub>4</sub>	Paranitrophényl phosphate	Jaune

Dans le diagnostic indirect, l'antigène, vis-à-vis duquel ont recherché les anticorps éventuellement présents dans le prélèvement analysé, est couplé à la phase solide, soit directement, soit au moyen d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux. Après addition de l'échantillon à analyser, les complexes antigène-anticorps éventuellement formés sont mis en évidence au moyen d'un anticorps polyclonal ou monoclonal anti-immunoglobuline et marqué par un enzyme du type de ceux précédemment décrits, ce qui donne donc les deux schémas suivants :

Phase solide + antigène + anticorps  
+ anticorps anti-Ig marqué par un enzyme

Phase solide + anticorps + antigène + anticorps  
+ anticorps anti-Ig marqué par un enzyme

Dans le cas où l'antigène est couplé à la phase solide au moyen d'un anticorps, celui-ci doit provenir d'une espèce animale différente de celle de l'anticorps recherché de telle sorte qu'il ne puisse être reconnu par l'anticorps anti-immunoglobuline marqué par l'enzyme.

Les phases solides utilisées sont des matières plastiques de nature variable : polystyrène, chlorure de polyvinyl, polypropylène, etc. Elles revêtent des formes diverses : tubes ou microtubes, microcupules, billes, bâtonnets, bandelettes, membranes filtrantes.

Dans la filtrante du prélèvement de phase antigène technique immuno phase solide à partir de diagnostic lait, urine réactifs p mise en q qu'à en r L'interp qualitative ment d'un l'apprécia par l'utilis les résulta raison av observées évaluation tion de l entre des

## TECHNIQUE (CORPS OU TEST)

Les plu décentralis sur lame, certaines mycoplasma tamponné test »)...

Ces test anticorps, complexes donnant li tinats » vi

La présé en quelq faible volu nation) à t suspension colorés affi agglutinats

chromogènes  
es.Couleur  
du  
produit

Brune

Jaune  
orangée

Bleue

Verte

Jaune

e, vis-à-vis  
ntuellement  
est couplé à  
au moyen  
aux. Après  
complexes  
és sont mis  
polyclonal  
et marqué  
cédemment  
x schémascorps  
enzyme- anticorps  
enzymeé à la phase  
elui-ci doit  
nte de celle  
te qu'il ne  
nti-immuno-es matières  
olystyrène,  
, etc. Elles  
tubes ou  
bâtonnets,

Dans le cas des membranes, leurs propriétés filtrantes sont mises à profit pour la concentration du prélèvement en même temps qu'elles servent de phase solide pour l'immucapture des antigènes ou des anticorps. Il en résulte une technique tout à fait originale dite de concentration immunoenzymatique. Quelle que soit la phase solide, ces techniques sont utilisables à partir de prélèvements dont la nature dépend du diagnostic attendu : sang total, plasma, sérum, lait, urine, salive, larmes, fèces... L'utilisation de réactifs prêts à l'emploi contribue à simplifier la mise en œuvre des techniques, en même temps qu'à en réduire la durée.

L'interprétation des résultats, généralement qualitative, repose sur l'observation du développement d'une réaction colorée. Dans quelques cas, l'appréciation visuelle peut se trouver confortée par l'utilisation d'un lecteur interprétant lui-même les résultats en positif ou en négatif. Par comparaison avec une gamme-étalon, les réactions observées peuvent également conduire à une évaluation semi-quantitative situant la concentration de l'antigène ou de l'anticorps recherché entre des limites préalablement déterminées.

## TECHNIQUES D'AGGLUTINATION (CORPS BACTÉRIENS OU TEST AU LATEX)

Les plus anciens tests de diagnostic rapide décentralisé sont les tests d'agglutination rapide sur lame, à l'origine du diagnostic indirect de certaines infections bactériennes : salmonellose, mycoplasmosse, brucellose (test à antigène tamponné acide coloré au rose Bengale ou « card test »)...

Ces tests reposent sur la propriété de certains anticorps, principalement les IgM, de former des complexes avec des antigènes de bactéries donnant lieu à des amas bactériens ou « agglutinats » visibles à l'œil nu.

La présence d'anticorps peut ainsi être révélée, en quelques minutes, par simple mélange d'un faible volume de sérum ou de sang (hémagglutination) à tester, et d'un volume équivalent d'une suspension de corps bactériens, préalablement colorés afin de favoriser la mise en évidence des agglutinats.

Antigène (suspension de corps bacté- riens colorés)	+ Sérum (anticorps cor- respondant aux antigènes portés par des bactéries)	→ Agglutinats
--	---	---------------

Ces tests d'agglutination s'apparentent, dans leur principe, aux tests d'agglutination de particules de latex sensibilisées, encore appelés « tests au latex ».

Les tests au latex utilisent des microbilles de polystyrène d'un diamètre généralement compris entre 0,2  $\mu\text{m}$  et 0,8  $\mu\text{m}$  dont la surface a été spécialement traitée pour permettre le couplage d'antigènes (virus, sous-unités virales, fractions antigéniques bactériennes, fractions antigéniques parasitaires, etc.) ou d'anticorps. Lorsque l'antigène est fixé aux microbilles (diagnostic direct), il se forme des complexes antigènes-anticorps dont le réseau provoque des amas des billes de latex, visibles à l'œil nu, et qui correspondent aux agglutinats précédemment décrits.

Billes de latex sensibilisées par un antigène	+ Anticorps	→ Agglutinats
---	-------------	---------------

Billes de latex sensibilisées par un anticorps	+ Antigènes	→ Agglutinats
--	-------------	---------------

Spécifiques et sensibles, ces tests présentent en outre l'avantage d'une grande simplicité et rapidité de mise en œuvre.

La possibilité d'utiliser des billes de latex diversement colorées, sensibilisées avec différents



Figure 63-2 Test d'agglutination de particules de latex « sensibilisées ».

**Tableau 63-II** Applications des techniques de diagnostic rapide et décentralisé.

<i>Diagnostic des maladies infectieuses ou parasitaires</i>	
<i>Maladies virales</i>	
Maladie d'Aujeszky	Tests au latex
Leucose féline	Tests immunoenzymatiques
Syndrome d'immunodéficience acquise du chat	Tests immunoenzymatiques
Parvovirose canine	Tests immunoenzymatiques
<i>Maladies bactériennes</i>	
Brucellose	Test à l'antigène tamponné, acide coloré au rose Bengale
Typhose pullorose	Agglutination ou hémagglutination
Mycoplasmoses aviaires	Agglutination
Entérite colibacillaire néonatale du veau ou du porcelet	Tests immunoenzymatiques
Entérite à rotavirus du veau	Tests immunoenzymatiques
<i>Maladies parasitaires</i>	
Dirofilariose canine	Tests immunoenzymatiques
Ehrlichiose équine	Tests immunoenzymatiques
<i>Suivi de la reproduction</i>	
Diagnostic de non-gestation chez la vache	Tests immunoenzymatiques
<i>Dosages semi-quantitatifs</i>	
Immunoglobulines (hypogammaglobulinémie du poulain ou du veau)	Tests immunoenzymatiques
Hormone thyroïdienne T4 (dysfonctionnements thyroïdiens du chien et du chat)	Tests immunoenzymatiques

antigènes, fournit des réactifs polyvalents offrant une alternative aux tests immunoenzymatiques (Fig. 63-2).

## PRINCIPALES APPLICATIONS DES TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE

Les tests de diagnostic rapide trouvent leurs principales applications dans le diagnostic des

maladies infectieuses ou parasitaires (diagnostic direct ou indirect) ou dans le suivi des fonctions de reproduction. Ils sont également utilisables pour le contrôle de qualité des produits agroalimentaires, soit comme aide à la production, soit pour le contrôle des produits finis et seront, pour ce type d'application, traités dans un autre chapitre de cet ouvrage.

Par comparaison à une gamme-étalon, ils peuvent également fournir une interprétation semi-quantitative et, à ce titre, être utilisables pour effectuer différents dosages immunologiques (immunoglobulines, hormones, etc.).

A titre indicatif et sans prétendre la rendre exhaustive, une liste des principales applications de ces tests peut être ébauchée sur la base des réactifs actuellement disponibles (Tableau 63-II).

## CONCLUSION

Ces tests rapides, spécifiques et sensibles, représentent un progrès décisif dans le domaine du diagnostic immunologique en permettant sa décentralisation.

Appliqués au diagnostic de nombreuses maladies, au suivi de la reproduction et mis à la disposition des techniciens d'élevage ou des éleveurs eux-mêmes, ils leurs fournissent le moyen d'assurer une meilleure surveillance de l'élevage et donc d'en optimiser le rendement.

## BIBLIOGRAPHIE

- COPPE P. Les anticorps monoclonaux en diagnostic vétérinaire. *Ann Med Vet*, 1988, 132 : 243-250.
- DODET B. Les nouveaux diagnostics biologiques. *La Recherche*, 1987, 18 : 658-668.
- HADFIELD SG, LANE A, MCILLMURRAY MB. A novel coloured latex test for the detection and identification of more than one antigen. *J Immunol Methods*, 1987, 97 : 153-158.
- HECHEMY KE, MICHAEL EE. Latex particle assay in laboratory medicine. Part I. *Laboratory Management*, 1984, 21 : 27-40.
- HECHEMY KE, MICHAELSON EE. Latex particle assay in laboratory medicine. Part II. *Laboratory Management*, 1984, 22 : 26-35.
- KURSTAK E. *Enzyme immunodiagnosis*. Orlando, Academic Press, 1986, 235 pages.

A. Para

Les in  
aux indu  
à deux  
consiste  
trent sou  
détection  
complexe  
traitement  
à l'identi  
avec une  
ce qui d  
extrême  
détecter ju  
par millic  
ou de la c  
conséque  
d'immunc  
œuvre de  
L'imm  
grand no  
dire que  
période d  
les réacti

streptokinase/streptodornase, l'anatoxine tétanique, le virus des oreillons et la tuberculine. L'application simultanée de ces antigènes permet de classer les sujets testés en patients non répondeurs (pas de réaction positive : anergie), hyporépondeurs (une réponse positive sur 5 antigènes testés : anergie relative) ou normorépondeurs (au moins 2 réponses positives sur 5 antigènes testés).

## MESURE DES CYTOKINES

P. Franchimont, J. Collette

Deux méthodes de dosage sont utilisées pour quantifier le taux des cytokines dans différents milieux biologiques et dans les milieux de culture des cellules immunocompétentes : les méthodes biologiques et immunochimiques.

### MÉTHODES BIOLOGIQUES

Les méthodes biologiques reposent sur une propriété plus ou moins spécifique de la cytokine à doser. Ainsi, pour doser biologiquement l'interleukine 1 (IL-1), le paramètre habituellement étudié est la prolifération de cellules dépendantes de cette monokine, comme les thymocytes de souris (C3H/HeJ). La prolifération cellulaire est appréciée par l'incorporation de thymidine tritiée permettant de calculer l'activité spécifique de l'ADN.

Autre monokine, le facteur nécrosant des tumeurs (TNF- $\alpha$ ) est dosé biologiquement par sa cytotoxicité sur des cellules transformées maintenues en lignée continue comme par exemple les cellules WEHI 164 clone B. Le paramètre étudié dans ce test est la destruction cellulaire appréciée par le comptage des cellules survivantes, l'incorporation d'un colorant vital comme les sels de tétrazolium ou par la libération de chrome radioactif préalablement incorporé dans les cellules néoplasiques.

Les tests biologiques pour l'interleukine 2 (IL-2) reposent sur sa propriété de stimuler la multiplication des cellules T (habituellement de souris) dépendantes de l'IL-2. Le paramètre étudié

est la prolifération lymphoblastique, appréciée par l'incorporation de <sup>3</sup>H-thymidine.

Quant à l'interféron gamma, il est habituellement apprécié par son effet antiviral. Celui-ci est décelé par l'inhibition de la destruction cellulaire induite par le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV). Cette destruction cellulaire est appréciée par comptage au microscope.

Ces techniques présentent de nombreux inconvénients. Le premier est constitué par le manque de spécificité : de nombreuses substances biologiques sont capables d'induire l'effet biologique observé : prolifération cellulaire, cytotoxicité, inhibition de la destruction cellulaire par les virus. Par ailleurs, dans les différents milieux biologiques, il existe des substances inhibitrices de ces effets. Dès lors, l'effet biologique observé est la résultante des substances agonistes et antagonistes sur le paramètre étudié et non une action spécifique d'une cytokine déterminée.

Le deuxième inconvénient réside dans le manque de reproductibilité d'un laboratoire à l'autre, et dans un même laboratoire. Les variations des lignées cellulaires employées et, dans la même lignée, d'un clone à l'autre, en sont partiellement responsables mais également les conditions expérimentales qui influencent les résultats : présence ou absence de sérum dans le milieu de culture, nature de ce sérum, etc. La standardisation de ces techniques est très difficile.

Le troisième inconvénient, la lourdeur de la technique et son coût, en rend l'application difficile et peu répandue, réservée à quelques laboratoires expérimentés.

Le quatrième inconvénient des tests biologiques est le manque de précision. Ainsi, les préparations de référence sont-elles habituellement imparfaites, car elles sont produites au laboratoire par des cellules mononucléées en culture et enrichies. Elles sont employées en dilutions successives, ce qui fournit, en fait, des résultats semi-quantitatifs.

La sensibilité du dosage est mauvaise, sauf lorsque le signal mesuré est lié à la présence d'un isotope comme le tritium et le chrome.

### MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES

La synthèse des cytokines par génie génétique a permis de mettre au point des méthodes immuno- logiques utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre chacune de celles-ci. Dans cette méthodologie, des cytokines recombi-

nantes sont habituellement utilisées comme traceurs, immunogènes ou préparations de référence.

La technique utilisée est très variable d'une méthode à l'autre. Il peut s'agir d'un dosage radio-immunologique classique par compétition avec marquage de la cytokine à l' $^{125}\text{I}$  et son incubation en excès par rapport à l'antisérum. Le déplacement de la cytokine marquée de son anticorps est proportionnel à la quantité de cytokine non marquée ajoutée au milieu d'incubation [7].

Il peut aussi s'agir d'une méthode en sandwich où un anticorps (souvent monoclonal) est fixé à un support solide. L'antigène vient s'y fixer. Il y est révélé par un second anticorps dirigé contre un autre groupement antigénique de la cytokine. Ce second anticorps est marqué soit par l' $^{125}\text{I}$ , soit par un enzyme.

Ces techniques sont très spécifiques. Elles dosent uniquement les molécules possédant le déterminant antigénique contre lequel l'anticorps est dirigé. Ainsi, le dosage radio-immunologique d'une cytokine n'est pas influencé par une autre ni

par un quelconque inhibiteur. Cependant, si un précurseur de la cytokine ou un fragment métabolique possède l'épitope reconnu par l'anticorps, il sera également dosé.

La sous-évaluation quantitative est un autre piège de la méthode utilisant les anticorps monoclonaux. En effet, ceux-ci peuvent être dirigés contre un déterminant antigénique masqué de la molécule circulante ou d'une partie, fragile et rapidement dégradée, de celle-ci.

La méthode sandwich a l'avantage d'accroître encore la sensibilité déjà excellente pour tous les dosages immunologiques. Sa précision est bonne ainsi que son exactitude qui s'exprime par le rapport entre la quantité expérimentalement dosée et celle, connue, qui est ajoutée au milieu biologique.

La reproductibilité du résultat, d'un dosage à l'autre, présente des fluctuations habituellement inférieures à 15 p. cent. A titre d'exemple, le tableau 60-I donne les principaux critères de qualité de certains dosages immunochimiques de cytokines : IL-1, TNF alpha, IL-2, INF- $\gamma$ .

Idéalement, les résultats de ces dosages

Tableau 60-I Contrôle de qualité de dosages immunochimiques de certaines cytokines.

Cytokines	Méthode	Spécificité	Sensibilité	Exactitude (p. cent)	Précision : coefficient de variation intra-essai (p. cent)	Précision : coefficient de variation inter-essai (p. cent)	Références
IL-1 $\alpha$	Sandwich EIA <sup>1</sup>	Pas de réaction croisée avec les autres cytokines	2 pg/ml <sup>-1</sup>	92-98	<7	<7,5	14
IL-1 $\beta$	RIA <sup>2</sup>	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	99	<6,4	<12	11
TNF $\alpha$	RIA <sup>2</sup>	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<6	<10,5	6
TNF $\alpha$	IRMA <sup>3</sup>	Idem	5 pg/ml <sup>-1</sup>	81-102	<6	<7	
IL-2	RIA	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	79-95	<8	<11	1
IL-2	Sandwich mixte poly- et monoclonal : isotope	?	100-200 pg/ml <sup>-1</sup>	?	?	?	3
IL-2	Sandwich mixte récepteur et monoclonal : isotope	?	5 ng/ml	?			10
IL-2	Sandwich polyclonal : isotope	?	40 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<7,4	<9,3	5
INF $\gamma$	IRMA	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<10	?	4
INF $\gamma$	RIA	Idem	25 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<8	<12	12

<sup>1</sup> Sandwich immunoenzymoassay; <sup>2</sup> RIA : radio-immunoassay; <sup>3</sup> IRMA : immunoradiometric assay.

devraient  
employé  
est réal  
référénc  
actuelle  
tant biol  
60-II de  
gique et  
par gé  
TNF alp  
l'IL-2.

## BIBLIO

1. BERN  
Radic  
leukin



**Tableau 60-II** Quelques préparations de référence de cytokines.

Cyto-kines	Numéro de la préparation de référence	Origine de la préparation de référence	Equivalence avec la préparation recombinante pure
IL-1 $\beta$	86-55	National Institute for Biological Standards and control (NBSB) Hertforshire (UK)	1 U = 11,25 pg (Biogen)
TNF $\alpha$	86-659	Idem	1 U = 20 à 25 pg (Biogen et Genentech)
IL-2	ISDP : 841	Biological Response Modifiers Program National Cancer Institute BRMP-NCI	1 U = 75 pg (Jurkat)
$\gamma$ -IFN	Gg 23-901-530	NIH National Institute of Health, Bethesda, U.S.A.	1 U = 50 pg (Boehringer)

devraient être exprimés en unités communes et employées par tous les laboratoires. Une tentative est réalisée dans ce sens. Des préparations de référence, calibrées en unités biologiques, sont actuellement proposées pour exprimer les résultats tant biologiques qu'immunochimiques : le tableau 60-II donne l'équivalence entre une unité biologique et la masse de l'antigène à l'état pur obtenu par génie génétique pour l'IL-1 bêta, le TNF alpha et l'INF- $\gamma$  et, par extraction, pour l'IL-2.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BERNIER J, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Radioimmunological study of the regulation of interleukin-2 production in peripheral blood mononuclear cell

2. BRUNNER KT, ENGBERS HD, CEROTTINI JC. The  $^{51}\text{Cr}$  release assay as used for the quantitative measurement of cell-mediated cytotoxicity in vitro. *In* : BR Bloom and JR David. *In vitro Methods in Cell-mediated and Tumor Immunity*, NY, San Francisco, London, Academic Press, 1986, pp. 423-436.
3. CARDENAS JM, MARSHALL P, HENDERSON B et al. Human interleukin-2. Quantitation by a sensitive radioimmunoassay. *J Immunol Methods*, 1986, 89 : 181-189.
4. CHANG TW, MCKINNEY S, LIU V et al. Use of monoclonal antibodies as sensitive and specific probes for biologically active human gamma-interferon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81 : 5219-5222.
5. FERRUA B, AUSSEL C, FEHLMANN M. Human interleukin-2. Detection at the picomolar level by sandwich enzyme immunoassay. *J Immunol Methods*, 1987, 97 : 215-220.
6. FRANCHIMONT P, REUTER A, GYSEN P et al. Tumor necrosis factor alpha : un médiateur de la fonction macrophagique. *Actions biologiques et dosage radioimmunologique. Med et Hyg*, 1987, 45 : 2160-2168.
7. FRANCHIMONT P, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma and interleukin-2 by peripheral blood mononuclear cells of subjects suffering from rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1988, 17 : 203-212.
8. GALLI SJ, DVORAK AM. What do mast cells have to do with delayed hypersensitivity. *Lab Invest*, 1984, 50 : 365-368.
9. GORDON EH, KROUSE A, KINNEY JL et al. Delayed cutaneous hypersensitivity in normals : choice of antigens and comparison to in vitro assays of cell-mediated immunity. *J Allergy Clin Immunol*, 1983, 72 : 487-494.
10. OHIKE Y, IMAI M, TANAKA E et al. A radioimmunoassay that sandwiches human interleukin-2 between radiolabeled monoclonal antibody and the receptor on a hematopoietic cell line. *J Immunol Methods*, 1986, 87 : 245-249.
11. REUTER A, BERNIER J, GYSEN P et al. A RIA for tumor necrosis factor (TNF alpha) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) and their direct determination in serum. *In* : MC Powanda, JJ Opeenheim, MJ Kluger, CA Dinarella. *Monokines and other non-lymphocytic cytokines*, NY, Alan R Liss, Inc., 1988, pp. 377-381.
12. REUTER A, BERNIER J, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of interferon-gamma by peripheral blood mononuclear cells from normal subjects and from patients with rheumatoid arthritis. *Clin and Exp Rheumatol*, 1989, 6 : 347-354.
13. STITES DP. Clinical laboratory methods for detection of cellular immune function. *In* : D Stites, J Stobo, H Fundenberg, JV Wells. *Basic and Clinical Immunology*, Los Altos, California, Lange Medical Publications, 1984, pp. 353-371.
14. TANAKA K, ISHIKAWA E, OHMOTO Y et al. Sandwich enzyme immunoassay for human interleukin-1 alpha produced in vitro by peripheral blood mononuclear cells. *Clin Chim Acta*, 1987, 170 : 97-104.
15. TAKASUGI M, KLEIN E. A microassay for cell-mediated immunity. *Transplantation*, 1987, 9 : 219-227.
16. TURK JL. *Delayed hypersensitivity*. Elsevier, North Holland, Biomedical Press, 1980.

## Références

14

11

6

1

3

10

5

4

12

H. Bazin, O. Barta, V.-D. Barta, A. Aguilar-Setien

## **ÉVALUATION DU POTENTIEL IMMUNITAIRE**

L'évaluation du potentiel immunitaire peut être intéressante à effectuer chez le nouveau-né, l'adulte et le sujet âgé. Dans tous les cas, l'examen devra être interprété en fonction de l'anamnèse ou, à la rigueur, par comparaison avec un groupe témoin, aussi proche que possible du cas à analyser.

Quel sujet étudier ? Tout d'abord, ceux présentant des signes cliniques évocateurs tels que infections microbiennes ou mycoses répétitives, troubles sévères dus à une infection virale normalement bénigne ou à la suite d'une vaccination à l'aide d'un vaccin atténué, etc.; ensuite, les sujets en immunodépression médicamenteuse; enfin, dans le cadre d'une enquête sur une famille, une souche ou une race connue pour présenter un déficit immunitaire primitif.

### **TESTS PRÉLIMINAIRES**

#### **Numération sanguine**

Ce test peut être effectué sans difficulté sur un prélèvement sanguin. Les valeurs moyennes pour les espèces les plus communes peuvent être trouvées dans cet ouvrage ou dans divers manuels. Le nombre total de leucocytes et leur répartition entre les différents types peuvent être très instructifs.

#### **Numération lymphocytaire**

Une numération de lymphocytes inférieure à 1 000 ou 1 500 par mm<sup>3</sup> évoque généralement une

immunodéficience cellulaire. Par contre, une immunodéficience peut coexister avec un taux normal de lymphocytes.

### Détermination des protéines sériques totales

D'un point de vue immunologique, ce test ne permet pas de recueillir des informations très précises ni significatives. Il peut être effectué par réfractométrie ou par spectrophotométrie à 280 nm. Les techniques de Biuret et de Folin utilisant une protéine de référence, comme l'albumine bovine, sont préférables. Le tableau 61-I donne des fourchettes de valeurs, elles doivent être diminuées de 20 à 40 p. cent pour les nouveau-nés.

**Tableau 61-I** Concentrations en protéines sériques totales de quelques espèces animales.

	Cheval	Bovins	Mouton	Chèvre	Chien	Chat
Concentration en mg/ml	52-78	60-80	60-75	60-75	60-78	60-75

### Détermination des gammaglobulines

L'analyse électrophorétique simple, sur papier, acétate de cellulose ou en agar, permet d'avoir une idée semi-quantitative du taux d'immunoglobulines dans un sérum et est particulièrement significative en cas d'absence des Ig.

### Analyse immunoélectrophorétique

A l'aide d'un antiserum dirigé contre les protéines sériques totales, il est possible d'obtenir une certaine appréciation du taux d'IgG d'un sérum. Avec un peu d'habitude, on peut repérer les lignes d'IgM, d'IgA et d'IgG de la majorité des espèces animales et recueillir des informations sur ces isotypes. Pour une meilleure analyse, il faut employer des antisérums spécifiques de chaque isotype.

## ANALYSES PRATIQUÉES IN VITRO

### Immunité humorale

#### Quantification des immunoglobulines

Cette mesure fait appel à diverses méthodes semi-quantitatives (dilution maximale donnant une ligne de précipitation visible à l'œil nu en Ouchterlony) ou quantitatives (immunodiffusion radiale ou de Mancini, néphélométrie, ELISA). Ces techniques exigent des antisérums polyclonaux ou monoclonaux spécifiques de l'isotype d'immunoglobuline de l'espèce concernée, qui peuvent ou non être disponibles. Toutes ces méthodes fournissent des valeurs qui sont à comparer à des étalons de protéines qui peuvent être disponibles ou non. A défaut de véritables étalons, il est possible de comparer les valeurs des tests avec un sérum de la même espèce dit de référence. Des valeurs moyennes sont données aux chapitres consacrés à la description des systèmes immunitaires de plusieurs espèces animales. Le tableau 61-II donne une idée des valeurs moyennes rencontrées chez les mammifères domestiques. Cependant, des variations considérables peuvent apparaître en fonction de l'âge et de l'espèce. Les chats ont les taux sériques d'IgG les plus élevés (25 mg/ml ou plus) et les poules, les plus bas (5 mg/ml); les porcs ont des taux d'IgM moyens (environ 3 mg/ml) et d'IgA plus élevés (environ 2,5 mg/ml).

**Tableau 61-II** Concentrations moyennes d'immunoglobulines chez les mammifères domestiques.

	IgM	IgD	IgG	IgA	IgE
Concentration par ml	2-3 mg	Dizaine de µg	10-20 mg	0,5-2,5 mg	Dizaine de ng

Cependant, il faut savoir que les taux sériques d'immunoglobulines dépendent de l'espèce et surtout du milieu. Il est prudent, dans la mesure du possible de comparer les valeurs obtenues avec celles de quelques animaux de même âge et vivant dans les mêmes conditions.

Les animaux nouveau-nés ont souvent des taux d'immunoglobulines très bas ou indétectables.

Après ab  
ques en l  
des adult  
approxim  
sont infé

Une co  
inférieure  
même âg  
même en  
étant un s  
et doit i  
cliniques

L'augm  
peut être  
noglobuli  
isotype. L  
ou polycl  
de lymph  
polyclona  
rencontré  
parasitose  
immunese  
clones es  
pathies d  
séparées p  
Des augm  
classe pa  
être égale  
thiases, I  
IgA dans  
augmentat  
les myélo  
57).

### Mesure

Les ant  
tions ou a  
ronnemen  
méthodes  
Immunosc  
ment le t

### Mesure spécifique

De non  
pour déter  
tiser des  
les globul  
plupart d  
gammaglob  
patèle...)  
mesurer la  
pondantes

Après absorption du colostrum, leurs taux sériques en IgG sont généralement supérieurs à ceux des adultes de même espèce, en IgM ils sont approximativement égaux, tandis que ceux en IgA sont inférieurs.

Une concentration sérique en immunoglobulines inférieures à 50 p. cent de celle des animaux de même âge, de même espèce et vivant dans le même environnement, doit être considérée comme étant un signe de déficience en immunoglobulines et doit impliquer une recherche de symptômes cliniques d'immunodéficiência.

L'augmentation des immunoglobulines sériques peut être généralisée à toutes les classes d'immunoglobulines, ou plus ou moins limitée à un isotype. Elle peut être monoclonale, oligoclonale ou polyclonale en fonction du nombre de clones de lymphocytes B impliqués. Les augmentations polyclonales, ou gammopathies polyclonales, sont rencontrées dans les infections chroniques, les parasitoses, et parfois dans les maladies auto-immunes. Dans de rares cas, un nombre limité de clones est concerné. Ceci conduit à des gammopathies oligoclonales qui donnent des bandes séparées par analyse électrophorétique du sérum. Des augmentations plus ou moins limitées à une classe particulière d'immunoglobuline peuvent être également rencontrées : IgE dans les helminthiases, IgM dans les parasitoses à protozoaires, IgA dans les infections des muqueuses. Des augmentations monoclonales se rencontrent dans les myélomes et les plasmocytomes (voir chapitre 57).

#### *Mesure des anticorps préformés*

Les anticorps préformés, à la suite de vaccinations ou au contact d'antigènes banals de l'environnement, peuvent être recherchés à l'aide de méthodes variées, dont l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), qui semble être actuellement le test le plus approprié.

#### *Mesure de la production en anticorps spécifiques d'antigènes déterminés*

De nombreux antigènes peuvent être employés pour déterminer la capacité d'un animal à synthétiser des anticorps spécifiques. Certains, comme les globules rouges d'une espèce différente ou la plupart des protéines hétérologues (albumine, gammaglobuline, ferritine, hémocyanine de patèle...) sont thymo-dépendants et permettent de mesurer la production des cellules B et T correspondantes et des cellules présentatrices de

l'antigène. D'autres sont thymo-indépendants (comme les polysaccharides de certains vaccins bactériens, le ficoll, le dextran, etc.) et ne permettent d'évaluer que l'activité des lymphocytes B. Tous ces anticorps peuvent se mesurer par de nombreuses techniques, certaines très simples comme la lyse de globules rouges, la plupart plus compliquées et onéreuses comme l'ELISA. La recherche devra donc se faire en tenant compte de ces contraintes.

Il est difficile d'avoir une idée précise, a priori, du titre en anticorps obtenu après une immunisation. Il y a lieu de comparer l'animal ou les animaux suspects avec des témoins de même espèce et de même âge. Dans la mesure du possible, il faudra établir une courbe de la réponse immune en fonction du temps, en faisant un certain nombre de prélèvements, au minimum avant l'immunisation et à 7-10, puis 10-20 jours après l'injection antigénique. Ces délais de prélèvements pourront varier avec l'espèce animale étudiée.

#### *Titration du complément total et de ses composants*

Le complément consiste en une série de protéines ayant de nombreuses propriétés physiologiques, dont la plus connue est de lyser des cellules telles que des globules rouges, et des bactéries sensibilisées. C'est cette propriété qui est généralement utilisée, la cible étant les globules rouges d'espèces différentes.

Les composants du complément peuvent être quantifiés par immunodiffusion radiale si les sérums spécifiques correspondants et les standards de concentrations connues existent. Cependant, cette mesure quantitative ne donne aucune indication sur les fonctions des divers composants. Le niveau moyen du complément hémolytique des espèces animales domestiques, obtenu en utilisant les méthodes les plus sensibles, est exprimé en unités CH50 par ml et pour  $10^8$  érythrocytes (c'est-à-dire en unités hémolytiques pour 50 p. cent des globules rouges des espèces indiquées entre parenthèses) : cheval [globules rouges (GR) de porc] : 5-40; bœuf (GR de cobaye) : 80-450; mouton (GR de lapin) : 30-64; chèvre (GR de cobaye) : 18-75; porc (GR de mouton) : 75-210; chien (GR de mouton) : 35-240; chat (GR de cobaye) : 70-150; poulet (GR de porc ou de lapin) : 30-80. L'absence d'un seul composant conduit à une déficience totale du complément. Une diminution d'un seul composant ne modifie

pas la valeur totale du complément, sauf, si la concentration de ce composant atteint un seuil minimal critique.

## Immunité cellulaire

### Numération des lymphocytes T et B

La numération des lymphocytes totaux peut être améliorée par la détermination des proportions de lymphocytes T et B et, si cela est possible, par celles des T auxiliaires et des T suppresseurs ou cytotoxiques. Les techniques les plus fiables sont basées sur l'emploi d'anticorps monoclonaux conjugués à un composé fluorescent ou à un enzyme et réagissant avec des marqueurs fonctionnels, comme les molécules CD3, CD4, CD8 des récepteurs T ou les IgM/IgD des lymphocytes B. Les cellules colorées peuvent être comptées au microscope (à fluorescence, dans le cas de marqueurs comme la fluorescéine ou la rhodamine) ou à l'aide d'un cytofluoromètre à flux. Il faut éviter de confondre les lymphocytes B avec les cellules ne portant que des récepteurs pour la partie Fc des Ig, soit en utilisant des fragments Fab ou F(ab')<sub>2</sub> d'anticorps, soit en travaillant avec un grand excès de molécules d'Ig non marquées de la même origine que l'antisérum. Dans la majorité des espèces animales, les lymphocytes B représentent un faible pourcentage des lymphocytes périphériques (entre 10 et 35 p. cent suivant les techniques de détection et l'âge de l'animal). Les lymphocytes T forment la majorité des lymphocytes périphériques, entre 55 et 80 p. cent chez les animaux domestiques. Les cellules T auxiliaires sont plus nombreuses que les cellules T suppressives, donnant un Ta/Ts supérieur à 1, dans le sang périphérique de tous les animaux domestiques. Dans les immunodéficiences acquises, ce taux peut descendre en dessous de 1. En plus des lymphocytes T et B, il y a dans le sang périphérique un certain pourcentage de cellules nulles, dépourvues des marqueurs de ces deux types.

### Tests de transformation blastique des lymphocytes

Les capacités fonctionnelles des lymphocytes peuvent être étudiées par des tests de transformation, dans lesquels une population de cellules mononucléées (lymphocytes et monocytes) est exposée à divers mitogènes (par exemple, la concanavaleine A ou une phytohématagglutinine,

toutes deux mitogènes de populations différentes de lymphocytes T; l'agglutinine de l'arachide, la phytolac, un mitogène B thymo-dépendant; la protéine A, un mitogène B pour les lymphocytes porteurs de molécules d'IgG), à des antigènes (comme des virus, des bactéries, des protozoaires ou leurs extraits, mitogènes de lymphocytes sensibilisés) ou à des lymphocytes allogéniques (dans des cultures lymphocytaires mixtes). Ces tests ne sont pas d'une grande simplicité et doivent être exécutés dans le cadre de laboratoires spécialisés. Cependant, correctement effectués, ils peuvent fournir des données très utiles sur les fonctions physiologiques des lymphocytes.

Les résultats des tests de transformation lymphoblastique sont exprimés en coups par minute (cpm), cpm corrigé (cpm des cellules stimulées avec des mitogènes, diminués des cpm de cellules semblables non stimulées) ou en index de stimulation (IS) c'est-à-dire cpm des cellules stimulées avec un mitogène divisés par les cpm de cellules semblables non stimulées. Les valeurs moyennes varient en fonction des mitogènes employés, de l'espèce, de l'âge, du patrimoine génétique et des conditions expérimentales.

En général, les cpm des cellules non stimulées se situent dans une fourchette de 50 à 500 chez les carnivores et de 200 à 5 000 chez les herbivores. Cpm et cpm corrigé de cellules stimulées d'animaux normaux se situent entre plusieurs milliers et plus de 200 000.

L'index de stimulation de cellules provenant d'animaux normaux peut varier d'une dizaine à quelques centaines. L'index de stimulation après stimulation antigénique ou en culture lymphocytaire mixte donne, pour des animaux sensibilisés à l'antigène en question ou incompatibles, des valeurs comprises entre 3 et 20. Les animaux en période d'incubation de maladies infectieuses peuvent avoir un nombre de cpm normal ou légèrement augmenté (le double ou légèrement plus que le témoin, non en incubation). Les animaux leucémiques ont des augmentations en cpm de leurs cellules non stimulées de quelques milliers à plus de 10 000, parfois même 150 000.

### Tests de cytotoxicité lymphocytaire

Les tests de cytotoxicité constituent une autre technique permettant de tester l'état fonctionnel des lymphocytes quand cela est possible. Ils étudient la possibilité pour des lymphocytes de détruire des cellules tumorales cibles marquées au chrome radioactif (<sup>51</sup>Cr).

### Autres tests

Des tests peuvent impliquer d'anticorps, cellules primaires, sont rarement faut préciser lymphokines pratiquer. Surtout, courts. Surtout, capables de

### Tests d'immunité

Les tests des animaux peu repro- aux animaux couramment des essais et dépendent biochimiques chimiotactes de la mobilité incluent : essai de tiges de la oxygénés, n'existe pas pour ces

### EXAMEN IN VIVO

Les tests des immu-

Les tests utiles pour retardé chronique, la 10<sup>e</sup> heure l'antigène entre la 2<sup>e</sup> commencent œdème du dose exacte centrale et retardée par inflammatoire minutes après

streptokinase/streptodornase, l'anatoxine tétanique, le virus des oreillons et la tuberculine. L'application simultanée de ces antigènes permet de classer les sujets testés en patients non répondeurs (pas de réaction positive : anergie), hyporépondeurs (une réponse positive sur 5 antigènes testés : anergie relative) ou normorépondeurs (au moins 2 réponses positives sur 5 antigènes testés).

## MESURE DES CYTOKINES

P. Franchimont, J. Collette

Deux méthodes de dosage sont utilisées pour quantifier le taux des cytokines dans différents milieux biologiques et dans les milieux de culture des cellules immunocompétentes : les méthodes biologiques et immunochimiques.

### MÉTHODES BIOLOGIQUES

Les méthodes biologiques reposent sur une propriété plus ou moins spécifique de la cytokine à doser. Ainsi, pour doser biologiquement l'interleukine 1 (IL-1), le paramètre habituellement étudié est la prolifération de cellules dépendantes de cette monokine, comme les thymocytes de souris (C3H/HeJ). La prolifération cellulaire est appréciée par l'incorporation de thymidine tritiée permettant de calculer l'activité spécifique de l'ADN.

Autre monokine, le facteur nécrosant des tumeurs (TNF- $\alpha$ ) est dosé biologiquement par sa cytotoxicité sur des cellules transformées maintenues en lignée continue comme par exemple les cellules WEHI 164 clone B. Le paramètre étudié dans ce test est la destruction cellulaire appréciée par le comptage des cellules survivantes, l'incorporation d'un colorant vital comme les sels de tétrazolium ou par la libération de chrome radioactif préalablement incorporé dans les cellules néoplasiques.

Les tests biologiques pour l'interleukine 2 (IL-2) reposent sur sa propriété de stimuler la multiplication des cellules T (habituellement de souris) dépendantes de l'IL-2. Le paramètre étudié

est la prolifération lymphoblastique, appréciée par l'incorporation de 3H-thymidine.

Quant à l'interféron gamma, il est habituellement apprécié par son effet antiviral. Celui-ci est décelé par l'inhibition de la destruction cellulaire induite par le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV). Cette destruction cellulaire est appréciée par comptage au microscope.

Ces techniques présentent de nombreux inconvénients. Le premier est constitué par le manque de spécificité : de nombreuses substances biologiques sont capables d'induire l'effet biologique observé : prolifération cellulaire, cytotoxicité, inhibition de la destruction cellulaire par les virus. Par ailleurs, dans les différents milieux biologiques, il existe des substances inhibitrices de ces effets. Dès lors, l'effet biologique observé est la résultante des substances agonistes et antagonistes sur le paramètre étudié et non une action spécifique d'une cytokine déterminée.

Le deuxième inconvénient réside dans le manque de reproductibilité d'un laboratoire à l'autre, et dans un même laboratoire. Les variations des lignées cellulaires employées et, dans la même lignée, d'un clone à l'autre, en sont partiellement responsables mais également les conditions expérimentales qui influencent les résultats : présence ou absence de sérum dans le milieu de culture, nature de ce sérum, etc. La standardisation de ces techniques est très difficile.

Le troisième inconvénient, la lourdeur de la technique et son coût, en rend l'application difficile et peu répandue, réservée à quelques laboratoires expérimentés.

Le quatrième inconvénient des tests biologiques est le manque de précision. Ainsi, les préparations de référence sont-elles habituellement imparfaites, car elles sont produites au laboratoire par des cellules mononucléées en culture et enrichies. Elles sont employées en dilutions successives, ce qui fournit, en fait, des résultats semi-quantitatifs.

La sensibilité du dosage est mauvaise, sauf lorsque le signal mesuré est lié à la présence d'un isotope comme le tritium et le chrome.

### MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES

La synthèse des cytokines par génie génétique a permis de mettre au point des méthodes immunologiques utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre chacune de celles-ci. Dans cette méthodologie, des cytokines recombi-

cytes T par exemple, perçoit le complexe formé par l'antigène et les molécules du CMH et transmet un signal à la cellule.

Après une stimulation antigénique, des lymphoblastes apparaissent. Ce sont de grandes cellules à cytoplasme volumineux contenant divers organites. Le premier signal de prolifération est donné par l'antigène ou le mitogène et fait passer les cellules de la phase G0 à la phase G1. L'activation d'un récepteur membranaire provoque, dans les lymphocytes B et T, comme dans d'autres cellules, l'augmentation de la concentration en ions  $Ca^{++}$  et celle de l'activité des protéines-kinases C. Au cours de la phase G1, les lymphocytes B et T deviennent sensibles à d'autres signaux de stimulation : qui sont respectivement les lymphokines BCGF et IL-2. Dans les lymphocytes T, la transcription des gènes codant pour l'IL-2 et pour son récepteur est induite par la stimulation antigénique ou par des mitogènes. La densité des récepteurs augmente progressivement sur la membrane au cours de la phase G1. Certains lymphocytes, les T auxiliaires, produisent d'autres lymphokines qui permettent aux cellules activées par l'antigène de passer de la phase G1 à la phase S du cycle cellulaire. Les récepteurs qui ont lié l'IL-2 sont internalisés et la cellule T entre en division.

Certaines substances mitogènes, dont des lectines d'origine végétale comme la concanavaline A (Con A) et la phytohémmagglutinine (PHA), ont la propriété de se lier à la membrane des lymphocytes d'une façon non spécifique et de donner le signal d'activation. Il en résulte une réponse polyclonale qui se déroule selon les mêmes étapes que la transformation lymphoblastique induite par l'antigène et la libération de lymphokines.

La capacité des cellules du sang périphérique de répondre aux signaux d'activation par une transformation lymphoblastique peut être évaluée in vitro [13]. Les lymphocytes, isolés par une technique de centrifugation sur gradient de densité, sont mis en culture avec un antigène particulier ou un mitogène, en présence de thymidine tritiée. Après quelques jours, la culture est récoltée sur des filtres qui sont lavés puis placés dans un compteur à scintillation. La mesure d'une radioactivité importante témoigne d'une incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN et donc d'une réponse proliférative à l'antigène ou au mitogène.

Les lymphocytes subissent deux phases principales de prolifération. La première est associée à

leur différenciation à partir de précurseurs. La seconde est consécutive à un stimulus antigénique approprié. L'expansion clonale des lymphocytes résulte de la succession de plusieurs cycles de division.

Le test de transformation lymphoblastique (TTL) est utilisé pour analyser certaines immunodéficiences; il permet de mettre en évidence un défaut de maturation de certaines sous-populations lymphocytaires en réponse à une stimulation.

## MESURE DE LA CYTOTOXICITÉ CELLULAIRE

### G. Degiovanni

Ces techniques consistent à étudier la survie ou, à l'inverse, la destruction des cellules cibles (cellules normales ou transformées) en présence de cellules effectrices plus ou moins purifiées : lymphocytes T cytotoxiques, cellules tueuses naturelles (NK), monocytes, cellules tueuses activées par l'interleukine 2 (LAK), et cellules intervenant dans l'ADCC (Antibody Dependent Cell Cytotoxicity).

Différents tests permettent une appréciation quantitative de la réponse lymphocytaire T cytolytique (CTL) : ils sont de courte durée (3 à 6 h) ou de longue durée (24 à 48 h). Les tests de courte durée mesurent essentiellement une activité cytotoxique « directe » que les cellules immunes possèdent déjà au moment où elles sont testées; l'activité cytotoxique exprimée au cours de tests de longue durée peut non seulement résulter de cette activité cytotoxique « directe » mais aussi d'activités cytotoxiques consécutives à l'expression d'autres mécanismes ou résultant de la réactivation des lymphocytes effecteurs par les cellules cibles.

Parmi les tests de longue durée, le plus représentatif est celui décrit par Takasugi et Klein [15] dans lequel la cytotoxicité des cellules effectrices est exprimée par le pourcentage de réduction du nombre de cellules cibles par rapport aux tests témoins dans lesquels des cellules effectrices proviennent de sujets non immuns.

Parmi les tests de courte durée, c'est le test de relargage du chrome 51 qui a été et est le plus souvent employé [2]. Ce test est basé sur le marquage des cellules cibles par des ions

chromates  
ions diffu  
cibles et s  
une périod  
cellules m  
les cellule  
pas réinco  
L'utilis  
la mesur  
libèrent s  
Dans ces  
est en re  
lysées. E  
sont pas  
marquées  
spontanée

Pratiqu  
suit : 10  
les cellul  
dans un v  
à 6 heur  
surnagean  
testé pot  
l'isotope  
l'absenc  
spontané  
maximum  
spécifiqu  
trices/cel  
vante :

Relargage  
Relargage

Pour c  
centage  
cellules  
fonction  
logarithm  
p. cent d  
1). L'un  
comme  
nécessai  
cellules  
du test.  
tique de  
ou forte  
moins g  
nombre  
cellules  
testés.  
Ces t

eurs. La  
rigénique  
phocytes  
cycles de

blastique  
immuno-  
ence un  
pulations  
lation.

urvie ou,  
s cibles  
présence  
urifiées :  
tueuses  
ises acti-  
cellules  
dependent

réciation  
T cytoly-  
à 6 h) ou  
de courte  
ité cyto-  
immunes  
testées;  
de tests  
sulter de  
ais aussi  
l'expres-  
t de la  
par les

le plus  
et Klein  
cellules  
ntage de  
r rapport  
cellules

le test de  
t le plus  
é sur le  
les ions

chromates radioactifs. Dans ces conditions, les ions diffusent à travers la membrane des cellules cibles et sont retenus dans le cytoplasme pendant une période plus ou moins longue. Lorsque les cellules marquées au <sup>51</sup>Cr sont endommagées par les cellules effectrices, le <sup>51</sup>Cr est libéré et n'est pas réincorporé par les cellules intactes.

L'utilisation de ce test n'est possible que dans la mesure où les cellules cibles marquées ne libèrent spontanément que très peu d'isotopes. Dans ces conditions, le pourcentage de <sup>51</sup>Cr libéré est en relation avec le pourcentage de cellules lysées. En général, les tests de longue durée ne sont pas réalisables avec des cellules cibles marquées au <sup>51</sup>Cr en raison d'une libération spontanée excessive de l'isotope.

Pratiquement, le test au <sup>51</sup>Cr est réalisé comme suit : 10 000 cellules cibles sont mélangées avec les cellules effectrices dans différents rapports dans un volume de 0,2 ml par micropuits. Après 3 à 6 heures d'incubation à 37 °C, 0,1 ml du surnageant est prélevé de chacun des micropuits et testé pour sa radioactivité. Le relargage de l'isotope par les cellules cibles est aussi évalué en l'absence des cellules effectrices (relargage spontané) et en présence de détergent (relargage maximum). On détermine le pourcentage de lyse spécifique pour chaque rapport cellules effectrices/cellules cibles en utilisant la formule suivante :

$$\frac{\text{Relargage expérimental} - \text{Relargage spontané}}{\text{Relargage maximum} - \text{Relargage spontané}} \times 100$$

Pour quantifier l'activité cytotoxique, le pourcentage de lyse est calculé pour chaque rapport cellules effectrices/cellules cibles et rapporté en fonction de ces rapports sur du papier semi-logarithmique. Une courbe linéaire entre 20 et 80 p. cent de lyse est généralement obtenue (Fig. 60-1). L'unité lytique (LU) est arbitrairement définie comme étant le nombre de cellules effectrices nécessaires pour obtenir 50 p. cent de lyse des cellules cibles dans les conditions de réalisation du test. Selon que l'intensité de l'activité cytolytique des populations cellulaires testées est faible ou forte, une LU sera exprimée par un plus ou moins grand nombre de cellules effectrices. Le nombre de LU peut être calculé par millions de cellules effectrices, par culture et/ou par organe testés.

Ces techniques permettent d'évaluer l'activité

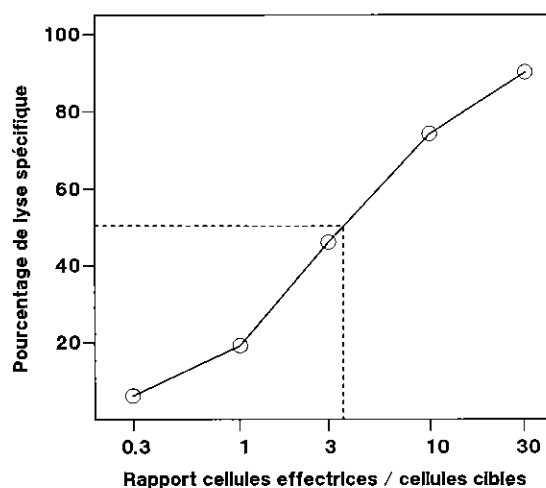


Figure 60-1 Courbe de référence utilisée pour apprécier la cytotoxicité directe.

Ordonnée : pourcentage de lyse spécifique; échelle arithmétique.

Abscisse : rapport cellules effectrices - cellules cibles en échelle logarithmique.

Une unité de lyse correspond au rapport cellules effectrices : cellules cibles, entraînant 50 p. cent de lyse des cellules cibles (ligne pointillée).

cytolytique de différentes populations de cellules effectrices :

- cellules T cytolytiques;
- cellules tueuses naturelles (NK) dont l'activité cytolytique ne résulte pas d'une immunisation préalable; ces cellules effectrices tuent certaines lignées tumorales;
- cellules tueuses (K), monocytes et polynucléaires qui tuent les cellules cibles recouvertes d'anticorps spécifiques dont elles possèdent le récepteur Fc correspondant (ADCC);
- les cellules tueuses activées par les lymphokines (LAK) qui sont induites in vitro en présence de fortes concentrations d'interleukine 2 et qui lysent préférentiellement les cellules tumorales.

Enfin, une tout autre manière d'évaluer de façon quantitative une réponse cytotoxique spécifique d'un antigène donné est d'établir la fréquence des précurseurs T cytolytiques (CTL-P). Cette mesure requiert des conditions de cultures bien définies (besoins en IL-2 exogène et en cellules nourricières) permettant une expansion clonale de populations lymphocytaires T.



## ÉVALUATION IN VIVO DE L'IMMUNITÉ CELLULAIRE

M. Radermecker

Les tests cutanés d'hypersensibilité retardée sont une expression clinique de la réaction d'immunité cellulaire. Simples et fiables, ils sont utilisés en médecine dans un but diagnostique ou épidémiologique et en vue d'étudier l'immunité cellulaire chez les sujets suspects de déficience immunitaire.

### RÉACTION CUTANÉE D'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

La capacité d'un antigène d'induire une immunité de type cellulaire varie en fonction de sa nature chimique, de sa taille, de sa voie de pénétration et de sa persistance dans l'organisme. Ce sont surtout les antigènes bactériens, viraux ou fongiques, responsables d'infections latentes ou chroniques et persistant longtemps dans les phagocytes, qui produisent une immunité de type cellulaire [16]. Chez le sujet ainsi sensibilisé, l'injection intradermique de l'antigène induit une réaction d'hypersensibilité de type retardé. Le test tuberculinique (Mantoux) est un exemple classique de cette réaction qui est caractérisée par une induration érythémateuse survenant quelques heures après l'injection de l'antigène, atteignant son acmé en 24-72 h et disparaissant en quelques jours. L'induration cutanée, qui doit être prise en considération dans l'interprétation des résultats, est causée par l'accumulation dans le derme de cellules mononucléées (monocytes, lymphocytes) qui s'activent mutuellement. L'afflux des cellules mononucléées est facilité par une augmentation locale de la perméabilité vasculaire liée à la dégranulation des mastocytes/basophiles [8].

### INTÉRÊT DES TESTS CUTANÉS D'HYPERSENSIBILITÉ RETARDÉE

#### Dans un but diagnostique

On les pratique en dermatologie (patch-tests) pour rechercher l'agent chimique responsable d'un eczéma de contact.

En médecine, ils sont utilisés pour étayer un diagnostic d'infection à mycobactéries (tuberculine, PPD, sensitines), à champignon (histoplasmine, blastomycine, etc.) ou à virus (infection par le virus herpès bovin de type 1, etc.). Une réaction positive démontre que le sujet est ou a été en contact avec l'antigène considéré, mais ne permet pas d'affirmer une infection évolutive. Un test négatif infirme le diagnostic en l'absence de déficit immunitaire. Il est donc capital d'exclure un état d'anergie et, dans ce but, il importe de tester parallèlement d'autres antigènes contre lesquels le sujet devrait être normalement sensibilisé (antigènes de rappel).

#### Dans le but d'évaluer l'immunité cellulaire

On peut étudier l'immunité cellulaire à l'aide de réactions dites primaires, c'est-à-dire vis-à-vis d'antigènes qui n'ont pas encore été rencontrés par l'organisme. Dans ce cas, on sensibilise l'individu à un antigène donné puis, 3 à 6 semaines plus tard, on étudie sa réaction d'hypersensibilité retardée lors d'une seconde administration du même antigène. Comme antigène, on utilise certaines substances telles que le dinitrochlorobenzène (DNCB), le dinitrofluorobenzène (DNFB) ou le chlorure de picryle. L'application cutanée de ces produits (0,1 ml d'une solution à 20 p. cent dans l'acétone) induit une immunisation chez tous les sujets normaux. Trois semaines plus tard, l'application cutanée d'une solution plus diluée du produit (50 à 100 µg) induira normalement une réaction d'hypersensibilité retardée. Ces produits, très allergisants, donnent parfois des réactions phlycténulaires violentes [9].

On peut également étudier la capacité de l'organisme de développer une réaction cutanée d'hypersensibilité retardée à l'injection intradermique d'antigènes auxquels il devrait être normalement sensibilisé (réaction dite secondaire). Ces antigènes dits « de rappel » sont des produits ubiquitaires d'origine infectieuse : extraits de mycobactéries, de champignons, de virus, de streptocoque, etc. Il n'existe toutefois aucun antigène pour lequel on puisse garantir que la totalité de la population est immunisée. L'utilisation d'une batterie d'antigènes (5 à 8) est, dès lors, indispensable pour tester l'immunité cellulaire : les antigènes de rappel donnant le plus grand pourcentage de réactivité chez l'homme normal sont la candidine, la tricophytine, la

streptoki  
nique, le  
L'applica  
de classe  
répondeur  
hyporépo  
antigènes  
deurs (a  
antigènes

P. Franc

Deux m  
quantifier  
milieux b  
des cellul  
biologique

Les m  
propriété  
à doser.  
l'interleuk  
ment étud  
dantes de  
de souris  
appréciée  
permettan  
l'ADN.

Autre  
tumeurs  
cytotoxicité  
nues en li  
cellules W  
dans ce te  
par le con  
poration d  
tétrazoliu  
radioactif  
cellules né

Les test  
2) repose  
multiplicat  
souris) dép

streptokinase/streptodornase, l'anatoxine tétanique, le virus des oreillons et la tuberculine. L'application simultanée de ces antigènes permet de classer les sujets testés en patients non répondeurs (pas de réaction positive : anergie), hyporépondeurs (une réponse positive sur 5 antigènes testés : anergie relative) ou normorépondeurs (au moins 2 réponses positives sur 5 antigènes testés).

## MESURE DES CYTOKINES

P. Franchimont, J. Collette

Deux méthodes de dosage sont utilisées pour quantifier le taux des cytokines dans différents milieux biologiques et dans les milieux de culture des cellules immunocompétentes : les méthodes biologiques et immuno-chimiques.

### MÉTHODES BIOLOGIQUES

Les méthodes biologiques reposent sur une propriété plus ou moins spécifique de la cytokine à doser. Ainsi, pour doser biologiquement l'interleukine 1 (IL-1), le paramètre habituellement étudié est la prolifération de cellules dépendantes de cette monokine, comme les thymocytes de souris (C3H/HeJ). La prolifération cellulaire est appréciée par l'incorporation de thymidine tritiée permettant de calculer l'activité spécifique de l'ADN.

Autre monokine, le facteur nécrosant des tumeurs (TNF- $\alpha$ ) est dosé biologiquement par sa cytotoxicité sur des cellules transformées maintenues en lignée continue comme par exemple les cellules WEHI 164 clone B. Le paramètre étudié dans ce test est la destruction cellulaire appréciée par le comptage des cellules survivantes, l'incorporation d'un colorant vital comme les sels de tétrazolium ou par la libération de chrome radioactif préalablement incorporé dans les cellules néoplasiques.

Les tests biologiques pour l'interleukine 2 (IL-2) reposent sur sa propriété de stimuler la multiplication des cellules T (habituellement de souris) dépendantes de l'IL-2. Le paramètre étudié

est la prolifération lymphoblastique, appréciée par l'incorporation de 3H-thymidine.

Quant à l'interféron gamma, il est habituellement apprécié par son effet antiviral. Celui-ci est décelé par l'inhibition de la destruction cellulaire induite par le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV). Cette destruction cellulaire est appréciée par comptage au microscope.

Ces techniques présentent de nombreux inconvénients. Le premier est constitué par le manque de spécificité : de nombreuses substances biologiques sont capables d'induire l'effet biologique observé : prolifération cellulaire, cytotoxicité, inhibition de la destruction cellulaire par les virus. Par ailleurs, dans les différents milieux biologiques, il existe des substances inhibitrices de ces effets. Dès lors, l'effet biologique observé est la résultante des substances agonistes et antagonistes sur le paramètre étudié et non une action spécifique d'une cytokine déterminée.

Le deuxième inconvénient réside dans le manque de reproductibilité d'un laboratoire à l'autre, et dans un même laboratoire. Les variations des lignées cellulaires employées et, dans la même lignée, d'un clone à l'autre, en sont partiellement responsables mais également les conditions expérimentales qui influencent les résultats : présence ou absence de sérum dans le milieu de culture, nature de ce sérum, etc. La standardisation de ces techniques est très difficile.

Le troisième inconvénient, la lourdeur de la technique et son coût, en rend l'application difficile et peu répandue, réservée à quelques laboratoires expérimentés.

Le quatrième inconvénient des tests biologiques est le manque de précision. Ainsi, les préparations de référence sont-elles habituellement imparfaites, car elles sont produites au laboratoire par des cellules mononucléées en culture et enrichies. Elles sont employées en dilutions successives, ce qui fournit, en fait, des résultats semi-quantitatifs.

La sensibilité du dosage est mauvaise, sauf lorsque le signal mesuré est lié à la présence d'un isotope comme le tritium et le chrome.

### MÉTHODES IMMUNOCHIMIQUES

La synthèse des cytokines par génie génétique a permis de mettre au point des méthodes immunologiques utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux dirigés contre chacune de celles-ci. Dans cette méthodologie, des cytokines recombi-

nantes sont habituellement utilisées comme traceurs, immunogènes ou préparations de référence.

La technique utilisée est très variable d'une méthode à l'autre. Il peut s'agir d'un dosage radio-immunologique classique par compétition avec marquage de la cytokine à l' $^{125}\text{I}$  et son incubation en excès par rapport à l'antisérum. Le déplacement de la cytokine marquée de son anticorps est proportionnel à la quantité de cytokine non marquée ajoutée au milieu d'incubation [7].

Il peut aussi s'agir d'une méthode en sandwich où un anticorps (souvent monoclonal) est fixé à un support solide. L'antigène vient s'y fixer. Il y est révélé par un second anticorps dirigé contre un autre groupement antigénique de la cytokine. Ce second anticorps est marqué soit par l' $^{125}\text{I}$ , soit par un enzyme.

Ces techniques sont très spécifiques. Elles dosent uniquement les molécules possédant le déterminant antigénique contre lequel l'anticorps est dirigé. Ainsi, le dosage radio-immunologique d'une cytokine n'est pas influencé par une autre ni

par un quelconque inhibiteur. Cependant, si un précurseur de la cytokine ou un fragment métabolique possède l'épitope reconnu par l'anticorps, il sera également dosé.

La sous-évaluation quantitative est un autre piège de la méthode utilisant les anticorps monoclonaux. En effet, ceux-ci peuvent être dirigés contre un déterminant antigénique masqué de la molécule circulante ou d'une partie, fragile et rapidement dégradée, de celle-ci.

La méthode sandwich a l'avantage d'accroître encore la sensibilité déjà excellente pour tous les dosages immunologiques. Sa précision est bonne ainsi que son exactitude qui s'exprime par le rapport entre la quantité expérimentalement dosée et celle, connue, qui est ajoutée au milieu biologique.

La reproductibilité du résultat, d'un dosage à l'autre, présente des fluctuations habituellement inférieures à 15 p. cent. A titre d'exemple, le tableau 60-I donne les principaux critères de qualité de certains dosages immunochimiques de cytokines : IL-1, TNF alpha, IL-2, INF- $\gamma$ .

Idéalement, les résultats de ces dosages

Tableau 60-I Contrôle de qualité de dosages immunochimiques de certaines cytokines.

Cytokines	Méthode	Spécificité	Sensibilité	Exactitude (p. cent)	Précision : coefficient de variation intra-essai (p. cent)	Précision : coefficient de variation inter-essai (p. cent)	Références
IL-1 $\alpha$	Sandwich EIA <sup>1</sup>	Pas de réaction croisée avec les autres cytokines	2 pg/ml <sup>-1</sup>	92-98	<7	<7,5	14
IL-1 $\beta$	RIA <sup>2</sup>	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	99	<6,4	<12	11
TNF $\alpha$	RIA <sup>2</sup>	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<6	<10,5	6
TNF $\alpha$	IRMA <sup>3</sup>	Idem	5 pg/ml <sup>-1</sup>	81-102	<6	<7	
IL-2	RIA	Idem	100 pg/ml <sup>-1</sup>	79-95	<8	<11	1
IL-2	Sandwich mixte poly- et monoclonal : isotope	?	100-200 pg/ml <sup>-1</sup>	?	?	?	3
IL-2	Sandwich mixte récepteur et monoclonal : isotope	?	5 ng/ml	?			10
IL-2	Sandwich polyclonal : isotope	?	40 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<7,4	<9,3	5
INF $\gamma$	IRMA	Idem	20 pg/ml <sup>-1</sup>	?	<10	?	4
INF $\gamma$	RIA	Idem	25 pg/ml <sup>-1</sup>	98	<8	<12	12

<sup>1</sup> Sandwich immunoenzymoassay; <sup>2</sup> RIA : radio-immunoassay; <sup>3</sup> IRMA : immunoradiometric assay.

devraient  
employée  
est réalis  
référence  
actuellem  
tant biolo  
60-II don  
gique et l  
par gén  
TNF alph  
l'IL-2.

## BIBLIOG

1. BERNIER  
Radioim  
leukin-2

Tableau 60-II Quelques préparations de référence de cytokines.

Cyto-kines	Numéro de la préparation de référence	Origine de la préparation de référence	Equivalence avec la préparation recombinante pure
IL-1 $\beta$	86-55	National Institute for Biological Standards and control (NBSB) Hertforshire (UK)	1 U = 11,25 pg (Biogen)
TNF $\alpha$	86-659	Idem	1 U = 20 à 25 pg (Biogen et Genentech)
IL-2	ISDP : 841	Biological Response Modifiers Program National Cancer Institute BRMP-NCI	1 U = 75 pg (Jurkat)
$\gamma$ -IFN	Gg 23-901-530	NIH National Institute of Health, Bethesda, U.S.A.	1 U = 50 pg (Boehringer)

devraient être exprimés en unités communes et employées par tous les laboratoires. Une tentative est réalisée dans ce sens. Des préparations de référence, calibrées en unités biologiques, sont actuellement proposées pour exprimer les résultats tant biologiques qu'immunochimiques : le tableau 60-II donne l'équivalence entre une unité biologique et la masse de l'antigène à l'état pur obtenu par génie génétique pour l'IL-1 bêta, le TNF alpha et l'INF- $\gamma$  et, par extraction, pour l'IL-2.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BERNIER J, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Radioimmunological study of the regulation of interleukin-2 production in peripheral blood mononuclear cell

2. BRUNNER KT, ENGERS HD, CEROTTINI JC. The  $^{51}\text{Cr}$  release assay as used for the quantitative measurement of cell-mediated cytotoxicity in vitro. *In* : BR Bloom and JR David. *In vitro Methods in Cell-mediated and Tumor Immunity*, NY, San Francisco, London, Academic Press, 1986, pp. 423-436.
3. CARDENAS JM, MARSHALL P, HENDERSON B et al. Human interleukin-2. Quantitation by a sensitive radioimmunoassay. *J Immunol Methods*, 1986, 89 : 181-189.
4. CHANG TW, MCKINNEY S, LIU V et al. Use of monoclonal antibodies as sensitive and specific probes for biologically active human gamma-interferon. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984, 81 : 5219-5222.
5. FERRUA B, AUSSEL C, FEHLMANN M. Human interleukin-2. Detection at the picomolar level by sandwich enzyme immunoassay. *J Immunol Methods*, 1987, 97 : 215-220.
6. FRANCHIMONT P, REUTER A, GYSEN P et al. Tumor necrosis factor alpha : un médiateur de la fonction macrophagique. *Actions biologiques et dosage radioimmunologique. Med et Hyg*, 1987, 45 : 2160-2168.
7. FRANCHIMONT P, REUTER A, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma and interleukin-2 by peripheral blood mononuclear cells of subjects suffering from rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 1988, 17 : 203-212.
8. GALLI SJ, DVORAK AM. What do mast cells have to do with delayed hypersensitivity. *Lab Invest*, 1984, 50 : 365-368.
9. GORDON EH, KROUSE A, KINNEY JL et al. Delayed cutaneous hypersensitivity in normals : choice of antigens and comparison to in vitro assays of cell-mediated immunity. *J Allergy Clin Immunol*, 1983, 72 : 487-494.
10. OHIKE Y, IMAI M, TANAKA E et al. A radioimmunoassay that sandwiches human interleukin-2 between radiolabeled monoclonal antibody and the receptor on a hematopoietic cell line. *J Immunol Methods*, 1986, 87 : 245-249.
11. REUTER A, BERNIER J, GYSEN P et al. A RIA for tumor necrosis factor (TNF alpha) and interleukin-1 beta (IL-1 beta) and their direct determination in serum. *In* : MC Powanda, JJ Opeenheim, MJ Kluger, CA Dinarella. *Monokines and other non-lymphocytic cytokines*, NY, Alan R Liss, Inc., 1988, pp. 377-381.
12. REUTER A, BERNIER J, VRINDTS-GEVAERT Y et al. Production of interferon-gamma by peripheral blood mononuclear cells from normal subjects and from patients with rheumatoid arthritis. *Clin and Exp Rheumatol*, 1989, 6 : 347-354.
13. STITES DP. Clinical laboratory methods for detection of cellular immune function. *In* : D Stites, J Stobo, H Fundenberg, JV Wells. *Basic and Clinical Immunology*, Los Altos, California, Lange Medical Publications, 1984, pp. 353-371.
14. TANAKA K, ISHIKAWA E, OHMOTO Y et al. Sandwich enzyme immunoassay for human interleukin-1 alpha produced in vitro by peripheral blood mononuclear cells. *Clin Chim Acta*, 1987, 170 : 97-104.
15. TAKASUGI M, KLEIN E. A microassay for cell-mediated immunity. *Transplantation*, 1987, 9 : 219-227.
16. TURK JL. *Delayed hypersensitivity*. Elsevier, North Holland, Biomedical Press, 1980.

## Références

14

11

6

1

3

10

5

4

12

H. Bazin, O. Barta, V.-D. Barta, A. Aguilar-Setien

## ÉVALUATION DU POTENTIEL IMMUNITAIRE

L'évaluation du potentiel immunitaire peut être intéressante à effectuer chez le nouveau-né, l'adulte et le sujet âgé. Dans tous les cas, l'examen devra être interprété en fonction de l'anamnèse ou, à la rigueur, par comparaison avec un groupe témoin, aussi proche que possible du cas à analyser.

Quel sujet étudier ? Tout d'abord, ceux présentant des signes cliniques évocateurs tels que infections microbiennes ou mycoses répétitives, troubles sévères dus à une infection virale normalement bénigne ou à la suite d'une vaccination à l'aide d'un vaccin atténué, etc.; ensuite, les sujets en immunodépression médicamenteuse; enfin, dans le cadre d'une enquête sur une famille, une souche ou une race connue pour présenter un déficit immunitaire primitif.

### TESTS PRÉLIMINAIRES

#### Numération sanguine

Ce test peut être effectué sans difficulté sur un prélèvement sanguin. Les valeurs moyennes pour les espèces les plus communes peuvent être trouvées dans cet ouvrage ou dans divers manuels. Le nombre total de leucocytes et leur répartition entre les différents types peuvent être très instructifs.

#### Numération lymphocytaire

Une numération de lymphocytes inférieure à 1 000 ou 1 500 par  $\text{mm}^3$  évoque généralement une

immunodéficiência cellulaire. Par contre, une immunodéficiência peut coexister avec un taux normal de lymphocytes.

### Détermination des protéines sériques totales

D'un point de vue immunologique, ce test ne permet pas de recueillir des informations très précises ni significatives. Il peut être effectué par réfractométrie ou par spectrophotométrie à 280 nm. Les techniques de Biuret et de Folin utilisant une protéine de référence, comme l'albumine bovine, sont préférables. Le tableau 61-I donne des fourchettes de valeurs, elles doivent être diminuées de 20 à 40 p. cent pour les nouveau-nés.

**Tableau 61-I** Concentrations en protéines sériques totales de quelques espèces animales.

	Cheval	Bovins	Mouton	Chèvre	Chien	Chat
Concentration en mg/ml	52-78	60-80	60-75	60-75	60-78	60-75

### Détermination des gammaglobulines

L'analyse électrophorétique simple, sur papier, acétate de cellulose ou en agar, permet d'avoir une idée semi-quantitative du taux d'immunoglobulines dans un sérum et est particulièrement significative en cas d'absence des Ig.

### Analyse immunoélectrophorétique

A l'aide d'un antisérum dirigé contre les protéines sériques totales, il est possible d'obtenir une certaine appréciation du taux d'IgG d'un sérum. Avec un peu d'habitude, on peut repérer les lignes d'IgM, d'IgA et d'IgG de la majorité des espèces animales et recueillir des informations sur ces isotypes. Pour une meilleure analyse, il faut employer des antisérums spécifiques de chaque isotype.

## ANALYSES PRATIQUÉES IN VITRO

### Immunité humorale

#### Quantification des immunoglobulines

Cette mesure fait appel à diverses méthodes semi-quantitatives (dilution maximale donnant une ligne de précipitation visible à l'œil nu en Ouchterlony) ou quantitatives (immunodiffusion radiale ou de Mancini, néphélométrie, ELISA). Ces techniques exigent des antisérums polyclonaux ou monoclonaux spécifiques de l'isotype d'immunoglobuline de l'espèce concernée, qui peuvent ou non être disponibles. Toutes ces méthodes fournissent des valeurs qui sont à comparer à des étalons de protéines qui peuvent être disponibles ou non. A défaut de véritables étalons, il est possible de comparer les valeurs des tests avec un sérum de la même espèce dit de référence. Des valeurs moyennes sont données aux chapitres consacrés à la description des systèmes immunitaires de plusieurs espèces animales. Le tableau 61-II donne une idée des valeurs moyennes rencontrées chez les mammifères domestiques. Cependant, des variations considérables peuvent apparaître en fonction de l'âge et de l'espèce. Les chats ont les taux sériques d'IgG les plus élevés (25 mg/ml ou plus) et les poules, les plus bas (5 mg/ml); les porcs ont des taux d'IgM moyens (environ 3 mg/ml) et d'IgA plus élevés (environ 2,5 mg/ml).

**Tableau 61-II** Concentrations moyennes d'immunoglobulines chez les mammifères domestiques.

	IgM	IgD	IgG	IgA	IgE
Concentration par ml	2-3 mg	Dizaine de µg	10-20 mg	0,5-2,5 mg	Dizaine de ng

Cependant, il faut savoir que les taux sériques d'immunoglobulines dépendent de l'espèce et surtout du milieu. Il est prudent, dans la mesure du possible de comparer les valeurs obtenues avec celles de quelques animaux de même âge et vivant dans les mêmes conditions.

Les animaux nouveau-nés ont souvent des taux d'immunoglobulines très bas ou indétectables.

Après  
ques e  
des ad  
approx  
sont in  
Une  
inférie  
même  
même  
étant u  
et doit  
cliniqu

L'au  
peut être  
noglob  
isotype  
ou poly  
de lym  
polycl  
rencont  
parasité  
immun  
clones  
pathies  
séparée  
Des au  
classe  
être ég  
thiases  
IgA da  
augmer  
les myé  
57).

Mesur

Les a  
tions ou  
ronnem  
méthod  
Immunc  
ment le

Mesur  
spécifi

De n  
pour dé  
tiser de  
les glob  
plupart  
gamma  
patèle.  
mesurer  
pondan

Après absorption du colostrum, leurs taux sériques en IgG sont généralement supérieurs à ceux des adultes de même espèce, en IgM ils sont approximativement égaux, tandis que ceux en IgA sont inférieurs.

Une concentration sérique en immunoglobulines inférieures à 50 p. cent de celle des animaux de même âge, de même espèce et vivant dans le même environnement, doit être considérée comme étant un signe de déficience en immunoglobulines et doit impliquer une recherche de symptômes cliniques d'immunodéficience.

L'augmentation des immunoglobulines sériques peut être généralisée à toutes les classes d'immunoglobulines, ou plus ou moins limitée à un isotype. Elle peut être monoclonale, oligoclonale ou polyclonale en fonction du nombre de clones de lymphocytes B impliqués. Les augmentations polyclonales, ou gammopathies polyclonales, sont rencontrées dans les infections chroniques, les parasitoses, et parfois dans les maladies auto-immunes. Dans de rares cas, un nombre limité de clones est concerné. Ceci conduit à des gammopathies oligoclonales qui donnent des bandes séparées par analyse électrophorétique du sérum. Des augmentations plus ou moins limitées à une classe particulière d'immunoglobuline peuvent être également rencontrées : IgE dans les helminthiases, IgM dans les parasitoses à protozoaires, IgA dans les infections des muqueuses. Des augmentations monoclonales se rencontrent dans les myélomes et les plasmocytomes (voir chapitre 57).

#### *Mesure des anticorps préformés*

Les anticorps préformés, à la suite de vaccinations ou au contact d'antigènes banals de l'environnement, peuvent être recherchés à l'aide de méthodes variées, dont l'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), qui semble être actuellement le test le plus approprié.

#### *Mesure de la production en anticorps spécifiques d'antigènes déterminés*

De nombreux antigènes peuvent être employés pour déterminer la capacité d'un animal à synthétiser des anticorps spécifiques. Certains, comme les globules rouges d'une espèce différente ou la plupart des protéines hétérologues (albumine, gammaglobuline, ferritine, hémocyanine de patèle...) sont thymo-dépendants et permettent de mesurer la production des cellules B et T correspondantes et des cellules présentatrices de

l'antigène. D'autres sont thymo-indépendants (comme les polysaccharides de certains vaccins bactériens, le ficoll, le dextran, etc.) et ne permettent d'évaluer que l'activité des lymphocytes B. Tous ces anticorps peuvent se mesurer par de nombreuses techniques, certaines très simples comme la lyse de globules rouges, la plupart plus compliquées et onéreuses comme l'ELISA. La recherche devra donc se faire en tenant compte de ces contraintes.

Il est difficile d'avoir une idée précise, a priori, du titre en anticorps obtenu après une immunisation. Il y a lieu de comparer l'animal ou les animaux suspects avec des témoins de même espèce et de même âge. Dans la mesure du possible, il faudra établir une courbe de la réponse immune en fonction du temps, en faisant un certain nombre de prélèvements, au minimum avant l'immunisation et à 7-10, puis 10-20 jours après l'injection antigénique. Ces délais de prélèvements pourront varier avec l'espèce animale étudiée.

#### *Titration du complément total et de ses composants*

Le complément consiste en une série de protéines ayant de nombreuses propriétés physiologiques, dont la plus connue est de lyser des cellules telles que des globules rouges, et des bactéries sensibilisées. C'est cette propriété qui est généralement utilisée, la cible étant les globules rouges d'espèces différentes.

Les composants du complément peuvent être quantifiés par immunodiffusion radiale si les sérums spécifiques correspondants et les standards de concentrations connues existent. Cependant, cette mesure quantitative ne donne aucune indication sur les fonctions des divers composants. Le niveau moyen du complément hémolytique des espèces animales domestiques, obtenu en utilisant les méthodes les plus sensibles, est exprimé en unités CH50 par ml et pour  $10^8$  érythrocytes (c'est-à-dire en unités hémolytiques pour 50 p. cent des globules rouges des espèces indiquées entre parenthèses) : cheval [globules rouges (GR) de porc] : 5-40; bœuf (GR de cobaye) : 80-450; mouton (GR de lapin) : 30-64; chèvre (GR de cobaye) : 18-75; porc (GR de mouton) : 75-210; chien (GR de mouton) : 35-240; chat (GR de cobaye) : 70-150; poulet (GR de porc ou de lapin) : 30-80. L'absence d'un seul composant conduit à une déficience totale du complément. Une diminution d'un seul composant ne modifie

pas la valeur totale du complément, sauf, si la concentration de ce composant atteint un seuil minimal critique.

## Immunité cellulaire

### Numération des lymphocytes T et B

La numération des lymphocytes totaux peut être améliorée par la détermination des proportions de lymphocytes T et B et, si cela est possible, par celles des T auxiliaires et des T suppresseurs ou cytotoxiques. Les techniques les plus fiables sont basées sur l'emploi d'anticorps monoclonaux conjugués à un composé fluorescent ou à un enzyme et réagissant avec des marqueurs fonctionnels, comme les molécules CD3, CD4, CD8 des récepteurs T ou les IgM/IgD des lymphocytes B. Les cellules colorées peuvent être comptées au microscope (à fluorescence, dans le cas de marqueurs comme la fluorescéine ou la rhodamine) ou à l'aide d'un cytofluoromètre à flux. Il faut éviter de confondre les lymphocytes B avec les cellules ne portant que des récepteurs pour la partie Fc des Ig, soit en utilisant des fragments Fab ou F(ab')<sub>2</sub> d'anticorps, soit en travaillant avec un grand excès de molécules d'Ig non marquées de la même origine que l'anti-sérum. Dans la majorité des espèces animales, les lymphocytes B représentent un faible pourcentage des lymphocytes périphériques (entre 10 et 35 p. cent suivant les techniques de détection et l'âge de l'animal). Les lymphocytes T forment la majorité des lymphocytes périphériques, entre 55 et 80 p. cent chez les animaux domestiques. Les cellules T auxiliaires sont plus nombreuses que les cellules T suppressives, donnant un Ta/Ts supérieur à 1, dans le sang périphérique de tous les animaux domestiques. Dans les immunodéficiences acquises, ce taux peut descendre en dessous de 1. En plus des lymphocytes T et B, il y a dans le sang périphérique un certain pourcentage de cellules nulles, dépourvues des marqueurs de ces deux types.

### Tests de transformation blastique des lymphocytes

Les capacités fonctionnelles des lymphocytes peuvent être étudiées par des tests de transformation, dans lesquels une population de cellules mononucléées (lymphocytes et monocytes) est exposée à divers mitogènes (par exemple, la concanavaleine A ou une phytohémagglutinine,

toutes deux mitogènes de populations différentes de lymphocytes T; l'agglutinine de l'arachide, la phytolac, un mitogène B thymo-dépendant; la protéine A, un mitogène B pour les lymphocytes porteurs de molécules d'IgG), à des antigènes (comme des virus, des bactéries, des protozoaires ou leurs extraits, mitogènes de lymphocytes sensibilisés) ou à des lymphocytes allogéniques (dans des cultures lymphocytaires mixtes). Ces tests ne sont pas d'une grande simplicité et doivent être exécutés dans le cadre de laboratoires spécialisés. Cependant, correctement effectués, ils peuvent fournir des données très utiles sur les fonctions physiologiques des lymphocytes.

Les résultats des tests de transformation lymphoblastique sont exprimés en coups par minute (cpm), cpm corrigé (cpm des cellules stimulées avec des mitogènes, diminués des cpm de cellules semblables non stimulées) ou en index de stimulation (IS) c'est-à-dire cpm des cellules stimulées avec un mitogène divisés par les cpm de cellules semblables non stimulées. Les valeurs moyennes varient en fonction des mitogènes employés, de l'espèce, de l'âge, du patrimoine génétique et des conditions expérimentales.

En général, les cpm des cellules non stimulées se situent dans une fourchette de 50 à 500 chez les carnivores et de 200 à 5 000 chez les herbivores. Cpm et cpm corrigé de cellules stimulées d'animaux normaux se situent entre plusieurs milliers et plus de 200 000.

L'index de stimulation de cellules provenant d'animaux normaux peut varier d'une dizaine à quelques centaines. L'index de stimulation après stimulation antigénique ou en culture lymphocytaire mixte donne, pour des animaux sensibilisés à l'antigène en question ou incompatibles, des valeurs comprises entre 3 et 20. Les animaux en période d'incubation de maladies infectieuses peuvent avoir un nombre de cpm normal ou légèrement augmenté (le double ou légèrement plus que le témoin, non en incubation). Les animaux leucémiques ont des augmentations en cpm de leurs cellules non stimulées de quelques milliers à plus de 10 000, parfois même 150 000.

### Tests de cytotoxicité lymphocytaire

Les tests de cytotoxicité constituent une autre technique permettant de tester l'état fonctionnel des lymphocytes quand cela est possible. Ils étudient la possibilité pour des lymphocytes de détruire des cellules tumorales cibles marquées au chrome radioactif (<sup>51</sup>Cr).

## Autre

Des implications d'anticorps cellulaires sont rapportées pour les lymphocytes pratiques courtes. capable

## Tests

Les des anti peu rep aux an couram des ess et dépe biochim chimiot de la n incluent essai d billes d oxygène n'existe pour ce

## EXAM IN V

Les t des imm Les utiles p retardé quemen la 10<sup>e</sup> l'antigène entre la commer œdème dose e centrale retardée inflamm minutes



### Autres tests

Des tests relativement compliqués peuvent impliquer la production d'immunoglobulines, d'anticorps ou de lymphokines par des cultures de cellules provenant de l'animal à évaluer. Ces tests sont rarement employés en clinique vétérinaire. Il faut préciser qu'en particulier, ceux relatifs aux lymphokines demeurent onéreux et difficiles à pratiquer. La demi-vie de ces substances est courte. Seuls les laboratoires spécialisés sont capables de les réaliser.

### Tests d'activités phagocytaires

Les tests d'activités phagocytaires réalisés sur des animaux en environnement non contrôlé sont peu reproductibles. Ils doivent donc être limités aux animaux en expérience. Les tests les plus couramment utilisés pour les polynucléaires sont des essais bactéricides (comprenant un anticorps et dépendant du complément), une évaluation biochimique, le test de chimioluminescence, le chimiotactisme, le test au formazan et l'évaluation de la mobilité. Les tests relatifs aux monocytes incluent : chimiotactisme, cytotoxicité cellulaire, essai de toxicité sur des bactéries, ingestion de billes de latex, essais de production de métabolites oxygénés, interleukine 1 et prostaglandines. Il n'existe aucune norme unanimement acceptée pour ces tests effectués chez l'animal.

## EXAMENS PRATIQUÉS IN VIVO

Les techniques permettant la détection in vivo des immunodéficiences sont relativement limitées.

Les tests cutanés (intradermoréaction) sont utiles pour analyser l'hypersensibilité de type retardé chez les animaux adultes. Macroscopiquement, la réaction positive débute entre la 5<sup>e</sup> et la 10<sup>e</sup> heure après l'injection intradermique de l'antigène sensibilisant. Elle atteint son apogée entre la 24<sup>e</sup> et la 72<sup>e</sup> heure. A la 96<sup>e</sup> heure, elle commence à diminuer. Elle se caractérise par un œdème dur qui peut être accompagné, en cas de dose exagérée de l'antigène, d'une nécrose centrale et même d'une ulcération. La réaction retardée peut parfois être précédée d'une réaction inflammatoire immédiate qui apparaît 15 à 30 minutes après l'injection antigénique. Cette réac-

tion se manifeste par un œdème mou qui disparaît en 1 à 5 heures.

Dans la pratique, les tests d'intradermoréaction les plus communément employés pour déceler des états d'hypersensibilité de type IV, chez les animaux, sont :

— la réaction à la tuberculine décrite par Koch, à la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, qui consiste à injecter un extrait de bacille tuberculeux. Chez les bovins, il s'agit d'une inoculation de 0,05 ml de tuberculine PPD (Purified Protein Derivative) de *Mycobacterium bovis*, *M. tuberculosis* ou *M. avium* dans la peau de la région cervicale ou dans le derme mucocutané de la vulve, du pli anal. La réaction s'accompagne d'une élévation de la température corporelle. Plusieurs types de mycobactéries sont utilisés pour juger de la spécificité de la réaction, car une réaction positive peut être due à un antigène croisé avec d'autres mycobactéries (la réaction la plus forte sera donc la plus spécifique);

— la jhonine (extrait de *M. paratuberculosis*), par voie intradermique, est utilisée de la même manière que la tuberculine. Comme ce test peut donner des résultats négatifs chez des animaux malades, une variété intraveineuse est parfois utilisée. Une élévation de la température de plus de 1 °C est considérée comme positive dans ce dernier cas;

— de la même manière, on utilisera la bruceline (filtrat de culture en bouillon, âgée de 20 jours) ou le brucellergène (extrait nucléoprotéique) de *Brucella abortus*, l'histoplasmine, la coccidioïdine, etc.;

— la malléine est utilisée en épreuve intradermopalpébrale pour détecter les animaux infectés par *Actinobacillus mallei*, agent de la morve.

Cependant, il ne faut pas oublier que les réactions d'hypersensibilité de type IV peuvent être négatives chez des animaux récemment infectés ou très sévèrement infectés et appelés « anergiques ».

Les réactions d'hypersensibilité de type IV peuvent être utilisées pour déceler les troupeaux infectés par des virus comme celui de la rhinotrachéite infectieuse bovine. Il suffit parfois d'une très petite quantité de protéines virales pour induire la réaction (de l'ordre de 0,02 µg). Comme dans le cas de la tuberculine, des réactions croisées entre des virus appartenant à une même famille peuvent apparaître. L'utilisation des tests d'hypersensibilité retardée pour le diagnostic de certaines maladies d'origine virale comporte plusieurs avantages. Tout d'abord, leur

grande facilité d'exécution, avantage particulièrement sensible dans les zones dépourvues de laboratoire, et ensuite la rapidité d'obtention des résultats avec une sensibilité suffisante. Néanmoins, il faut considérer qu'étant pratiqués in vivo, les tests d'hypersensibilité de type IV peuvent modifier l'état immun des animaux vis-à-vis de l'agent infectieux employé, surtout s'ils ont déjà été sensibilisés à cet agent. En outre, ces tests in vivo sont de valeur limitée chez les jeunes, qui n'ont pas eu la période nécessaire de sensibilisation aux antigènes banals. Cependant, les tests au 2,4-dinitrochlorobenzène, où l'on sensibilise l'animal contre cet haptène, peuvent être employés en médecine vétérinaire et apporter des résultats intéressants. Toutefois, ils doivent être complétés par des tests de laboratoire relatifs à l'étude des fonctions cellulaires.

Les tests cutanés basés sur l'utilisation des phytoagglutinines (un phytomitogène est un extrait de plante ayant des propriétés inductrices de divisions cellulaires) ont été préconisés, mais leurs limitations d'emploi n'ont pas permis d'établir une évaluation objective. Dans les tests cutanés, un témoin positif pour les réactions doit toujours être utilisé en parallèle avec un test réalisé sur un animal de même âge inoculé avec la même dose de phytomitogène ou d'antigène.

## EXAMENS POST MORTEM

### Examen macroscopique des tissus lymphoïdes pathologiques

Parfois, il peut exister chez des animaux immunodéficients, une absence presque totale ou

même totale d'un organe lymphoïde primaire, tel que le thymus chez l'homme, le cheval, le rat, la souris, le hamster, le cobaye, etc. Dans la majorité des cas, seule la taille des organes lymphoïdes est plus petite chez les animaux immunodéficients que chez leur témoin de même âge et de même sexe.

### Examen microscopique des tissus lymphoïdes pathologiques

L'examen sur coupe, après coloration classique ou après marquage par un antisérum polyclonal ou monoclonal, peut apporter des éléments extrêmement intéressants. Les lymphocytes B trouvés dans les follicules (rate, ganglions lymphatiques, plaques de Peyer) ou les lymphocytes T de la zone périartériolaire de la rate, paracorticale des ganglions ou interfolliculaire des plaques de Peyer peuvent être décelés de façon très précise en utilisant les réactifs adéquats. La muqueuse intestinale peut être également observée pour déceler si elle contient une population plasmocytaire normale.

## BIBLIOGRAPHIE

- BARTA O. Laboratory techniques of veterinary clinical immunology. CC Thomas publ. Springfield, IL, USA, 1984, 189 pages.
- BARTA O, OYEKAN PP. Lymphocyte transformation test in veterinary clinical immunology. *Comp Immun Microbiol Infect Dis*, 1981, 4 : 209-221.
- BRION A, FONTAINE M. Vade-Mecum du vétérinaire, 14<sup>e</sup> édition, Vigot, Paris, France, 1983, 813 pages.

B. Gar

On e  
qualitat  
immunod  
ou de c  
tieuse o  
populat  
immunod  
effectué

La q  
ment l  
lui-mêm  
mais au  
résultats

PRÉLÈ

Diver  
modifié  
et de n  
gnostic.

B. Garin-Bastuji, F. Moutou

## MÉTHODOLOGIE DE L'IMMUNODIAGNOSTIC

On entend par immunodiagnostic la recherche qualitative ou quantitative, par une technique immunologique, de molécules permettant d'étayer ou de confirmer un diagnostic de maladie, infectieuse ou non, au niveau d'un individu ou d'une population. Les prélèvements requis pour un tel immunodiagnostic dépendent de la recherche effectuée.

La qualité de l'immunodiagnostic est directement liée : 1) à la qualité du prélèvement lui-même; 2) à la qualité de l'échantillonnage, mais aussi; 3) à la qualité de l'interprétation des résultats obtenus.

### PRÉLÈVEMENT SANGUIN

Divers facteurs sont susceptibles d'altérer ou de modifier la qualité du sérum ou du plasma sanguin et de nuire ainsi à la qualité de l'immunodiagnostic.

Ce sont : les contaminations microbiennes, l'hémolyse, les variations importantes de température. Pour les éviter, certaines règles sont à respecter lors de la préparation des sérums, leur transport et leur conservation.

### OBTENTION ET PRÉPARATION

Le prélèvement de sang doit être effectué rapidement et proprement, sur une peau préalablement rasée et désinfectée, en évitant tout traumatisme de la veine. L'idéal est de recueillir le sang dans un tube de verre à usage unique et avec un matériel de prélèvement sous vide et stérile (type « Vacutainer ND »).

Pour obtenir du sérum, les prélèvements sanguins seront laissés au repos deux heures au minimum à une température stable comprise entre 10 et 20 °C. Après formation complète du caillot de coagulation, celui-ci sera décollé légèrement des parois du tube et retiré si possible, au moyen d'un crochet. Le sérum sera ensuite centrifugé à

500-1 000 g afin d'éliminer les cellules sanguines restantes.

Pour obtenir du plasma, on emploie un anticoagulant comme l'héparinate de lithium lyophilisé (15 U/ml de sang total). Le tube sera alors agité doucement par retournement puis centrifugé à 500-1 000 g.

Ces précautions réduisent le risque d'apparition d'une hémolyse et d'une contamination microbienne.

### CONSERVATION ET TRANSPORT DES SÉRUMS

Lors d'une utilisation immédiate des sérums, ceux-ci peuvent être conservés 2 heures au maximum à température ambiante (<25 °C) et de 2 à 48 heures au réfrigérateur (+4 °C).

Cette conservation à +4 °C peut être prolongée par l'emploi de conservateurs antiseptiques (azide de sodium, formol, merthiolate, à la concentration de 0,1 p. cent P/V ou de phénol à 0,5 p. cent V/V) et/ou par une filtration (0,45 µm). Dans de telles conditions, le sérum peut être maintenu sans altération majeure près d'une semaine à +4 °C.

Lors d'utilisation différée du sérum, la congélation (à -20 °C, voire à -80 °C) s'avère nécessaire. La conservation du sérum est meilleure si celui-ci est préalablement filtré (0,45 µm), et/ou additionné d'azide de sodium à 0,1 p. cent (P/V). L'altération physique des immunoglobulines, possible lors de la congélation et de la décongélation, est réduite par l'adjonction de glycérol à 50 p. cent (V/V) qui empêche la congélation à -20 °C.

La décongélation des sérums peut être réalisée soit rapidement (5 minutes) par mise au bain-marie à 37 °C, soit lentement (18 heures) à +4 °C. En aucun cas elle ne doit être effectuée à température ambiante ou sous l'eau chaude courante.

Pour le transport, le délai d'acheminement devra être le plus réduit possible (utilisation de services spéciaux de transport ou de poste), en maintenant les sérums à une température inférieure ou égale à +4 °C. Trois solutions sont alors possibles (de la moins bonne à la meilleure) :

- sérum à +4 °C en conteneur isotherme + bloc conservateur congelé;
- sérum à -20 °C en conteneur isotherme (avec ou sans bloc conservateur congelé);
- sérum à -20 °C en conteneur isotherme + neige carbonique.

Dans tous les cas, les sérums doivent être maintenus en tubes bouchés (pour limiter l'évaporation) remplis aux deux tiers au maximum, à l'abri de la lumière et remis à température ambiante avant toute utilisation.

### CONSÉQUENCES DES ALTÉRATIONS DU SÉRUM SUR LA QUALITÉ DU RÉSULTAT

#### Hémolyse

La lyse des globules rouges provoque la libération d'hémoglobine dans le milieu. Cette lyse peut apparaître lors d'une prise de sang mal réalisée (trop lente, traumatisante, aiguille trop fine, antiseptique hémolytique) ou lorsque le prélèvement est centrifugé avant la coagulation complète du caillot.

La coloration rouge du sérum provoquée par l'hémolyse nuit à la lecture de nombreuses épreuves sérologiques : agglutination, fixation du complément, hémagglutination, etc.

L'hémolyse peut également rendre le sérum anticomplémentaire\* (épreuve de fixation du complément) et provoquer l'apparition de réponses non spécifiques dans les épreuves immunoenzymatiques.

#### Contamination microbienne

Les contaminations microbiennes du sérum sont en général dues soit à de mauvaises conditions de prélèvement (peau de l'animal, matériel, manipulations septiques) soit à de mauvaises conditions de transport et de conservation. Les conséquences sont de deux ordres :

— présence de corps ou de métabolites bactériens entraînant une décomposition du milieu et pouvant nuire à la bonne lecture des analyses sérologiques ou interagissant avec celle-ci : techniques immunoenzymatiques, agglutination d'antigènes figurés ou non, de bactéries vivantes, fixation du complément, séroneutralisation (lyse du tapis cellulaire), etc.;

\* Sérums anticomplémentaires : certains sérums ont le pouvoir d'inhiber le complément. Ce phénomène mal connu est attribué par des auteurs soit au phénomène d'hémolyse, soit aux contaminations microbiennes soit à la présence d'immuno-complexes, et semble plus fréquent si le prélèvement a lieu en période post-prandiale.

— libération dans le milieu de protéases bactériennes entraînant une dégradation des immunoglobulines et du complément.

### Choc thermique

Qu'ils soient dus à de mauvaises conditions de conservation, de transport, de congélation ou de décongélation, ou à l'exposition à une lumière de forte intensité, les chocs thermiques entraînent une dégradation accélérée des immunoglobulines et du complément et nuisent ainsi à la qualité des épreuves d'immunodiagnostic. Les sérums peuvent cependant être délibérément soumis à une modification de température comme dans le cas de leur décomplémentation; dans l'épreuve de fixation du complément, il est en effet nécessaire de soumettre les sérums à un chauffage préalable afin de détruire le complément autologue présent dans le sérum. Les immunoglobulines résistent mal à une température et à un temps de chauffage trop élevés. En revanche, ceux-ci doivent être suffisamment importants pour inhiber totalement le complément sérique et les inhibiteurs susceptibles de rendre le sérum anticomplémentaire. Ainsi, une incubation au bain-marie de 30 minutes à 60 °C est le plus souvent conseillée pour la décomplémentation des sérums.

## CRITÈRES DE PRÉLÈVEMENT

### Diagnostic individuel

L'examen sérologique ne sera pas le seul réalisé; la clinique apportera des informations complémentaires. En cas de phénomène évolutif, il sera demandé une seconde prise de sang 15 ou 20 jours après la première afin d'apprécier une éventuelle cinétique des anticorps correspondant à un antigène suspect.

### Diagnostic collectif

La situation est toute autre. Pour évaluer l'état sanitaire d'une population animale par rapport à un ou plusieurs agents infectieux, il est rarement

possible de prélever, ne fût qu'une fois, l'ensemble de cette population et encore moins plusieurs fois. Elle n'est pas totalement accessible (faune sauvage en particulier), ou le prélèvement implique la mort de l'individu (recueil de sang à l'abattoir) et empêche tout suivi, ou les frais en temps, en moyen et en personnel seraient exorbitants pour le service ou l'administration demandant l'examen ou l'enquête. On est donc amené à travailler sur un échantillon de la population dans le but d'extrapoler les résultats obtenus à l'ensemble. Les contraintes sont en fait d'ordre économique et statistique.

### Échantillonnage [2, 6]

Par rapport à une entité pathologique définie, les questions qui se posent peuvent être les suivantes :

— l'agent correspondant existe-t-il dans la population ?

— combien d'individus possèdent la trace immunologique de cet agent ? Rapportée à une unité de temps (annuelle, mensuelle, voire instantanée) cette notion correspond à la *prévalence* de l'antigène dans la population. Elle peut également s'exprimer sous la forme d'un taux : nombre total de cas (ou de foyers) pendant une période ou à un instant donné, divisé par le nombre de sujets (ou de cheptels) de la population de référence;

— à quelle vitesse l'agent se transmet-il entre animaux contaminés et animaux sains ? Il s'agit de l'*incidence*, le nombre de nouveaux cas apparaissant pendant une période donnée, qui peut également s'exprimer sous forme d'un taux.

Trouver des réponses à ces questions correspond à des exercices classiques en épidémiologie [2, 6]. On peut en retenir que pour calculer l'effectif minimum d'un échantillon représentatif, à un seuil de confiance accepté, la taille de la population n'importe pas. Une première estimation de la prévalence de l'agent recherché est au contraire indispensable. La connaissance de l'incidence est liée à des systèmes de surveillance sanitaire, avec enregistrements réguliers des variations d'état des individus.

L'ensemble de ces méthodes doit permettre de constituer un échantillon représentatif de la population sondée, à partir du moment où le plan de sondage tient compte au mieux des biais possibles.

## INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

Les critères d'interprétation des résultats reposent sur les qualités intrinsèques des techniques employées, sur la nature des effecteurs de la réponse immune et dépendent de l'objectif poursuivi par la mise en œuvre de l'épreuve d'immunodiagnostic.

Il faut également tenir compte de l'aspect individuel ou collectif des analyses, d'une estimation initiale de la prévalence de l'antigène recherché (très faible ou importante) ainsi que de l'exigence de fiabilité requise.

### VARIATIONS DE L'IMMUNODIAGNOSTIC EN FONCTION DE L'EFFECTEUR IMPLIQUÉ DANS LA RÉPONSE IMMUNE [5, 7]

L'importance respective de la réponse de type humoral et de celle de type cellulaire est très variable d'une pathologie à une autre, voire pour une même pathologie, d'un individu à un autre. Certaines maladies infectieuses induisent des réponses presque exclusivement cellulaires (tuberculose) d'autres des réponses humorales prédominantes, la plupart font intervenir les deux modes de réponse avec une variabilité dépendant souvent de l'individu et du stade évolutif de l'infection (brucellose des ruminants).

Au sein même de la réponse humorale, des variabilités existent, liées le plus souvent aux différents isotypes mis en jeu. De plus, les molécules d'anticorps n'ont pas toutes la même « réactivité » selon l'épreuve d'immunodiagnostic utilisée.

En effet, bien que les anticorps d'une même classe puissent dans l'absolu participer à de nombreuses réactions sérologiques, ils remplissent en pratique certaines fonctions mieux que d'autres (IgM vs IgG). On se souviendra par ailleurs que chaque anticorps présente une spécificité pour un épitope déterminé avec une affinité plus ou moins forte. La variabilité de « réactivité » propre aux anticorps se trouve alors accrue par celle des antigènes utilisés dans chaque épreuve d'immunodiagnostic.

## QUALITÉS D'UNE ÉPREUVE D'IMMUNODIAGNOSTIC [4, 7, 8]

### Praticabilité (Practicability)

La praticabilité correspond à la facilité de mise en œuvre d'une épreuve d'immunodiagnostic et dépend :

- du coût d'investissement et de maintenance;
- de la technicité requise pour la réalisation de l'épreuve;
- de la diffusion et de la disponibilité du matériel nécessaire;
- du risque éventuel pour le manipulateur et l'environnement.

Exemples :

— l'épreuve à l'antigène tamponné (recherche de brucellose) est une épreuve pratique : rapide, économique (coût individuel faible, peu d'investissement), ne requérant pas une technicité élevée du manipulateur et dont le matériel est aisément disponible sur le marché;

— l'épreuve radio-immunologique est assez peu pratique : peu rapide (lavages multiples), chère (radio-isotopes chers, coût élevé du lecteur et des installations de sécurité), elle requiert une haute qualification technique et peut présenter des risques (radioactivité), etc.

### Fiabilité (Reliability)

#### Exactitude (Accuracy)

Ce paramètre appelé aussi justesse, mesure la capacité d'une épreuve à donner le résultat exact. En d'autres termes, il exprime la qualité de l'accord entre l'estimation de la valeur mesurée et la valeur vraie, en dehors des erreurs fortuites. Son appréciation implique de connaître la valeur absolue d'échantillons de référence (unités internationales, produit étalon auquel est attribué un titre, etc.). Cette valeur est généralement établie par le laboratoire fabricant (laboratoire de référence, industriel) et calculée à partir d'un grand nombre d'épreuves réalisées dans des conditions optimales et avec un personnel hautement qualifié.

En général l'appréciation de l'exactitude est meilleure pour les techniques quantitatives et notamment les épreuves de type primaire (techniques immunoenzymatiques par exemple).

### Précision

Le terme notions :

— la précision est la mesure de la dispersion des résultats obtenus lors d'une série de mesures répétées, effectuées dans les mêmes conditions (ou fidèles) et par le même opérateur. Elle est donnée par l'écart-type ou la variance des données.

On distingue la précision absolue (ou fidèle) et la précision relative (ou fidèle). La précision absolue est la mesure de la dispersion des résultats exprimée en unités absolues (par exemple, p. cent). La précision relative est la mesure de la dispersion des résultats exprimée en pourcentage de la valeur mesurée. Bien entendu, la précision relative est plus élevée que la précision absolue.

Le terme de fiabilité (fidélité) désigne la mesure de la précision d'une méthode.

### Limite inférieure ou détectable (Lower Limit of Detection)

Ce paramètre exprime la plus faible quantité d'antigène ou d'anticorps que l'on peut détecter avec une certaine probabilité (exemples :

### Précision (Precision)

Le terme de précision recouvre en fait deux notions :

— la première est relative à la taille des intervalles de mesure. Ceux-ci sont réduits et la précision est grande lorsque les mesures se distribuent selon une échelle continue (densités optiques en ELISA, par exemple), ou plus importants lorsque l'échelle de distribution des mesures est discontinue et logarithmique (titrages classiques, par exemple);

— la seconde signification du terme précision (ou fidélité) exprime la capacité de l'épreuve à donner des résultats cohérents lors de mesures répétées, effectuées sur un même échantillon dans des conditions constantes; on parle alors de reproductibilité ou de répétitivité.

On distingue plusieurs niveaux de variabilité des mesures : répétitivité intralaboratoire, interlaboratoire, intraopérateur, intraséance, interséance. La répétitivité de l'épreuve est calculée par le rapport de l'écart-type des mesures obtenues lors du contrôle, sur la valeur maximale acceptable, valeur calculée dans les conditions optimales de réalisation de l'épreuve. Le coefficient de variation (CV) permet d'évaluer la précision intrinsèque de l'épreuve. C'est le rapport de l'écart-type des mesures obtenues, à la moyenne (en p. cent), calculé lors d'une séance ou lors de plusieurs séances. Ceci nécessite en général de répéter au moins trente fois l'épreuve individuelle. Bien entendu, le CV est généralement plus faible quand il est calculé sur les résultats de mesures effectuées lors d'une séance que sur ceux de plusieurs séances. Néanmoins, c'est cette dernière valeur qui traduit le mieux la qualité de l'épreuve.

Le terme de fiabilité (reliability) correspond finalement à une combinaison de la précision (fidélité) et de l'exactitude. Ainsi, une épreuve fiable donnera-t-elle toujours le résultat exact.

### Limite inférieure de détection (LID) ou détectabilité (Lower limit of detection)

Ce paramètre (parfois dénommé à tort sensibilité) exprime la plus petite quantité détectable du produit recherché ou titré, en d'autres termes la plus faible concentration qui peut être distinguée du « blanc » réalisé dans les mêmes conditions (exemples donnés dans le tableau 62-I).

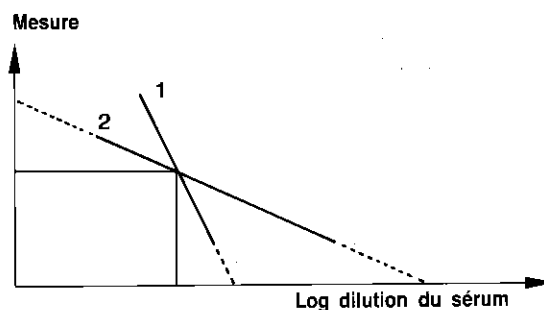
Tableau 62-I LID des épreuves sérologiques usuelles, d'après [1 et 3].

Epreuves	Dosage d'anticorps	Dosage d'antigènes
	Anticorps µg/ml	Antigènes µg/ml
RIA	$10^{-5}$ - $10^{-4}$	$10^{-6}$
ELISA	$10^{-4}$	
VN	$10^{-5}$ - $10^{-4}$	
IHA	0,001-0,005	
TN	0,003-0,01	
FC	0,05-1	
AGGL	0,05-10,00	
HAP	0,01-0,1	
RT	2-15	
IDG	0,3-30	1
ACP	0,008-32	

RIA : épreuve radioimmunologique; ELISA : épreuve immuno-enzymatique; VN : neutralisation virale; IHA : inhibition de l'hémagglutination; TN : neutralisation de toxine; FC : fixation du complément; AGGL : agglutination; HAP : hémagglutination passive; RT : ring-test; IDG : immunodiffusion en gélose; ACP : anaphylaxie cutanée passive.

### Sensibilité (Sensitivity)

La sensibilité (critère de fiabilité) se définit comme le rapport de la variation d'amplitude de la mesure sur une variation donnée de la quantité d'anticorps spécifiques. Lorsque l'on trace une courbe dose-effet spécifique de l'épreuve, la sensibilité est représentée par la pente de la droite obtenue après transformation linéaire (Fig. 62-1).



EPREUVE	1	2
Sensibilité	Forte	Faible
LID	Elevée	Basse

Figure 62-1 Sensibilité et détectabilité (LID) d'après M Eloit, Communication personnelle.

## Critères d'efficacité (Efficacy)

Si les critères de fiabilité peuvent s'évaluer sur un exemplaire du produit à mesurer, les critères d'efficacité ne peuvent être appréciés qu'en éprouvant la méthode vis-à-vis d'un échantillon représentatif des produits que l'on aura à mesurer. Ces critères sont ceux le plus souvent pris en compte dans l'interprétation des résultats, car ce sont les plus représentatifs de la qualité de la méthode.

### Sensibilité et spécificité (Sensitivity and specificity)

L'efficacité d'une épreuve d'immunodiagnostic peut se définir comme l'aptitude à déceler les variations physiologiques ou pathologiques, et se mesure par rapport à une situation de référence, considérée comme la plus proche de la « vérité » ou simplement fixée arbitrairement comme référence.

Les relations entre le statut indemne/infecté de N individus et les résultats sérologiques peuvent être représentées par le tableau de contingence 2 par 2 (Tableau 62-II).

Sensibilité et spécificité varient souvent en sens

**Tableau 62-II** Relation entre statut sanitaire et résultats de l'épreuve d'immunodiagnostic [4].

Dans ce tableau, I+ correspond aux individus infectés et I- aux indemnes, T+ aux résultats positifs au test et T- aux négatifs. Pour évaluer au mieux une méthode, il faut choisir environ autant d'infectés (VP + FN) que d'indemnes (FP + VN). On peut alors déterminer les deux critères suivants d'efficacité de la méthode :

— Sensibilité (Sensitivity) :

C'est la proportion de sujets malades ou infectés révélée par l'épreuve d'immunodiagnostic parmi l'ensemble des sujets malades ou infectés.

$$\text{Sensibilité} = \frac{VP}{VP + FN}$$

— Spécificité (Specificity) :

C'est la proportion de sujets classés indemnes par l'épreuve d'immunodiagnostic parmi l'ensemble des sujets indemnes.

$$\text{Spécificité} = \frac{VN}{VN + FP}$$

Résultats de l'épreuve	Situation de référence		
	Infectés (I+)	Indemnes (I-)	
Positifs (T+)	Vrais positifs (VP)	Faux positifs (FP)	VP + FP
Négatifs (T-)	Faux négatifs (FN)	Vrais négatifs (VN)	FN + VN
	VP + FN	FP + VN	N

inverse et, pour une méthode donnée, leur valeur dépend comme nous le verrons plus loin du seuil de positivité, frontière entre les sérums positifs et les sérums négatifs.

Ainsi, les épreuves d'immunodiffusion en gel, dont la limite inférieure de détection est très élevée, sont en pratique peu sensibles. A l'inverse, la méthode d'hémagglutination passive, qui est très sensible est en revanche beaucoup moins spécifique (même remarque pour l'ELISA en comparaison avec la séroneutralisation virale).

La plupart des situations observées en matière de sensibilité et de spécificité peuvent être expliquées par la distribution des anticorps dans la population. Dans une population indemne, la plupart des animaux n'auront pas d'anticorps détectables. Néanmoins, certains animaux indemnes peuvent avoir un faible taux d'anticorps, dirigés contre des micro-organismes qui croisent du point de vue antigénique, ou qui interagissent faiblement et de manière non spécifique avec l'antigène. Dans une population infectée, le niveau moyen des anticorps est relativement élevé; néanmoins, les taux d'anticorps seront distribués de façon quasi normale, et des animaux effectivement infectés ayant un taux d'anticorps relativement faible donneront dans les épreuves des résultats faussement négatifs.

Dans une situation idéale, les niveaux les plus élevés d'anticorps chez les sujets indemnes devraient toujours être inférieurs aux niveaux les plus faibles d'anticorps chez les infectés. Ainsi une zone franche de séparation entre les infectés et les indemnes pourrait être établie et tant la sensibilité que la spécificité de l'épreuve seraient de 100 p. cent. En pratique, cette situation est bien entendu exceptionnelle et le pouvoir discriminant de l'épreuve peut être appréhendé par le taux d'analogie  $(VP + VN)/N$  ou mieux par l'indice de Youden (sensibilité + spécificité - 1) =  $[VP/(VP + FN) + VN/(VN + FP) - 1]$ .

Le seuil de positivité d'une épreuve peut donc être calculé à partir de la limite inférieure de détection de la méthode. De nombreux auteurs préconisent, pour l'établissement de ce seuil, d'éprouver un échantillon statistiquement représentatif de la population indemne. Le seuil est calculé en ajoutant à la moyenne des valeurs obtenues deux ou trois écart-types selon le degré de précision souhaité. Ce seuil correspond alors à la valeur maximale que peut atteindre statistiquement un animal indemne.

En pratique la détermination du seuil est effectuée non plus sur des critères objectifs mais

en fond  
résultats  
lectif, é  
dépistag  
riori par

Les  
négatifs  
prises e  
positive  
diter l'é  
négatifs  
program  
sérologi

Valeurs

Sensib  
jugent q  
ils sont  
— de  
réfere  
néanmo  
valeurs  
lité de  
absence  
l'épreuv  
négatifs)

La v  
(VPRP)  
trouv  
tableau  
VPRP =

A l'in  
négatif  
trouv  
tableau  
VPRN =

En fa  
(positif  
prévalen  
envisagé  
(FP), s'  
d'import  
forte. A  
maladie  
partie de  
tion de f  
même si  
bonnes.

Aussi,  
estimer  
venir la p



en fonction de l'application qui sera faite des résultats obtenus (diagnostic individuel ou collectif, évaluation d'une prévalence, éradication, dépistage, éventualité d'une confirmation a posteriori par une autre méthode plus spécifique, etc.).

Les conséquences des résultats faussement négatifs et faussement positifs doivent alors être prises en considération. Des réactions faussement positives peuvent alourdir le diagnostic et discréditer l'épreuve. De nombreux résultats faussement négatifs peuvent compromettre l'efficacité de programmes d'éradication fondés sur le dépistage sérologique.

#### Valeurs prédictives [4, 7]

Sensibilité et spécificité sont des critères qui ne jugent que la méthode. Avec l'indice de Youden, ils sont indépendants de la composition en + et en - de l'échantillon pris comme situation de référence, même si le maximum de puissance est néanmoins obtenu avec des effectifs égaux. Les valeurs prédictives permettent d'établir la probabilité de l'existence de l'infection (ou de son absence) chez des individus dont les résultats de l'épreuve d'immunodiagnostic sont positifs (ou négatifs).

La valeur prédictive d'un résultat positif (VPRP) est donc la probabilité qu'un animal trouvé positif à un test soit infecté. Dans le tableau de contingence (Tableau 62-II) la  $VPRP = VP/(VP + FP)$ .

A l'inverse, la valeur prédictive d'un résultat négatif (VPRN) est la probabilité qu'un animal trouvé négatif à un test soit indemne. Dans le tableau de contingence (Tableau 62-II) la  $VPRN = VN/(VN + FN)$ .

En fait, la valeur prédictive d'un résultat (positif ou négatif) est étroitement liée à la prévalence de la maladie dans la population envisagée. Ainsi, les résultats faussement positifs (FP), s'ils sont peu nombreux, auront peu d'importance si la prévalence de l'infection est forte. A l'inverse, lorsque la prévalence de la maladie est faible (<1-2 p. cent), la majeure partie de la population sera négative et la proportion de faux positifs parmi les positifs sera élevée même si la spécificité et la sensibilité du test sont bonnes.

Aussi, de nombreux auteurs préfèrent-ils estimer ces valeurs prédictives en faisant intervenir la prévalence, selon les formules suivantes :

$$\text{— la VPRP est estimée par :} \\ \frac{\text{sens.} \times \text{prév.}}{(\text{sens.} \times \text{prév.}) + (1 - \text{prév.}) \times (1 - \text{spéc.})} \quad (a)$$

$$\text{— la VPRN est estimée par :} \\ \frac{\text{spéc.} \times (1 - \text{prév.})}{(\text{spéc.} \times 1 - \text{prév.}) + \text{prév.} \times (1 - \text{sens.})} \quad (b)$$

sens. : sensibilité de la méthode  
spéc. : spécificité de la méthode  
prév. : prévalence estimée de la maladie après préenquête

Lorsque l'on utilise une épreuve de diagnostic très sensible (sens. >95 p. cent) la spécificité de l'épreuve et la prévalence estimée de la maladie déterminent la VPRP et la VPRN. La relation entre prévalence, spécificité et VPRP est illustrée dans les figures 62-2 et 62-3 (sens. >95 p. cent).

La figure 62-2 montre l'évolution de la VPRP en fonction de la prévalence estimée pour différents niveaux de spécificité du test; la VPRP peut ainsi être déterminée graphiquement.

Bien que, comme nous l'avons vu précédemment, la valeur précise de la VPRP soit donnée par la formule algébrique (a), l'estimation graphique est rapide et facile et permet de visualiser les effets, sur la VPRP, d'erreurs, mêmes faibles, dans la détermination de la spécificité, et la prévalence.

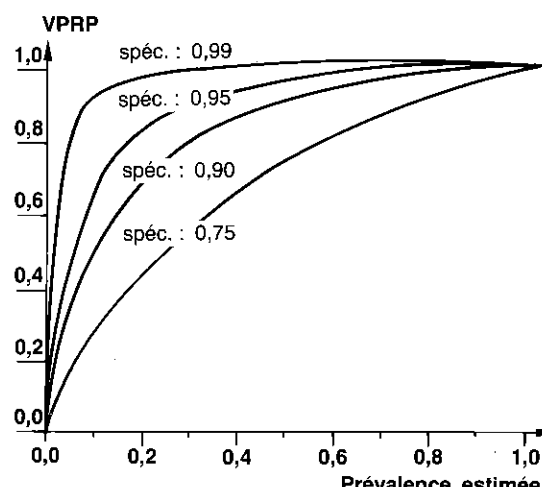


Figure 62-2 Relation entre la valeur prédictive d'un résultat positif et la prévalence estimée pour quatre niveaux de spécificité (sensibilité >95 p. cent), d'après [4].

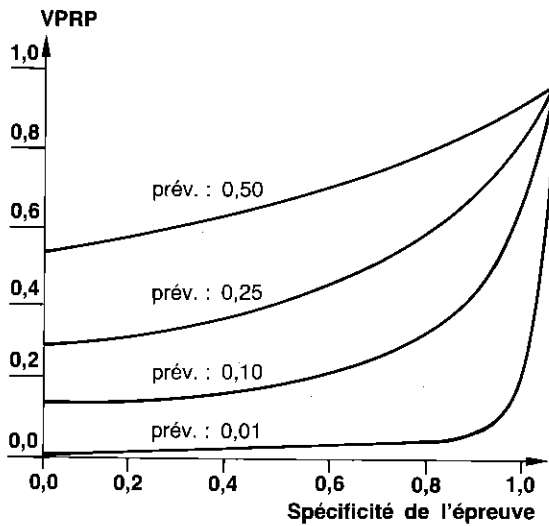


Figure 62-3 Relation entre la VPRP et la spécificité de l'épreuve pour quatre niveaux de prévalence estimée (sensibilité >95 p. cent), d'après [4].

La figure 62-3 montre l'évolution de la VPRP en fonction de la spécificité du test à différents niveaux de prévalence estimée (sens. 95 p. cent). On constate, lorsque la probabilité de l'infection est faible, qu'un diagnostic individuel est beaucoup moins fiable qu'on ne l'aurait imaginé.

## CONCLUSION

De nombreuses sources de variabilité, d'erreurs et d'incertitude peuvent conduire à une interprétation non fiable, erronée ou ambiguë des résultats obtenus dans les épreuves d'immunodiagnostic.

La première source d'erreurs tient à la qualité même des prélèvements réalisés. Traiter un prélèvement défectueux (hémolyse, contamination, insuffisance de volume, etc.) est une erreur. Ensuite, la précision d'une épreuve de diagnostic est toujours limitée par l'exactitude de l'appareillage car tous les instruments de diagnostic sont imparfaits à des degrés divers. Les biais liés à l'erreur humaine et aux artefacts de laboratoire seront également à prendre en considération. Il est raisonnable de prévoir qu'une partie des prélève-

ments sera mal étiquetée, préparée incorrectement ou collectée improprement. Il est impératif d'être garant de l'assurance et du maintien de la qualité tout au long de la chaîne qui va du prélèvement au résultat.

Une autre source d'incertitude est, bien entendu, la variation naturelle des valeurs physiologiques et pathologiques. Nous avons vu la difficulté d'établir un seuil de positivité, toujours dépendant du but recherché par la mise en œuvre du test.

La sensibilité et la spécificité de la technique employée doivent être évaluées. Les valeurs prédictives du résultat (négatif ou positif) doivent être calculées en fonction de la prévalence estimée de la maladie dans la population testée. On se rappellera toujours cependant, que l'on dose par les épreuves d'immunodiagnostic des anticorps (et souvent des fractions d'anticorps) qui ne sont en fait qu'un reflet (parfois peu fidèle) de l'existence de l'infection.

Evaluer la fiabilité d'une information diagnostique n'est pas entièrement intuitif et peut apparaître complexe en première approche. La connaissance de toutes les sources de biais et la compréhension des relations existant entre spécificité, sensibilité, valeurs prédictives et prévalence estimée de la maladie permettent une bonne interprétation des résultats et la détection aisée des informations non fiables.

## BIBLIOGRAPHIE

1. Cours d'Immunologie Générale, Institut Pasteur, Paris, 1984.
2. DIGIACOMO RF, KOEPEL TD. Sampling for detection of infection or disease in animal populations. JAVMA, 1986, 189 (1) : 22-23.
3. GARIN-BASTUJ B. Techniques immunoenzymatiques quantitatives dans le diagnostic des maladies infectieuses vétérinaires. Actualité et mise au point. Bull Lab Vet, 1986, 22 : 11-41.
4. GERSTMAN BB, CAPPUCCI DT. Evaluating the reliability of diagnostic test results. JAVMA, 1986, 188 (3) : 248-251.
5. NIELSEN K, HECK FC, WAGNER GG et al. Comparative assessment of antibody isotypes to *Brucella abortus* by primary and secondary binding assays. Prev Vet Med, 1984, 2 : 197-204.
6. SCHWARTZ D. Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes. Flammarion Médecines-Sciences, Paris, 1983, 318 p.
7. TIZARD I. Serologic assays. JAVMA, 1982, 181 (10) : 1162-1165.
8. TOMA B, DUFOUR B, BENET JJ et al. Glossaire d'épidémiologie animale 2<sup>e</sup> édition. Association pour l'Étude de l'Épidémiologie des maladies animales. Maisons-Alfort (Fond. M. Mérieux éd.), sous presse.

P. Desmet

Longtemp  
des laborat  
et d'un pers  
accessible a  
ciens d'élev  
Ce diagnosti  
la simplific  
utilisés, en  
mise en œu

Bien que  
et décentra  
seuls seront  
tics immu  
antigène-ant  
techniques d  
et ne néces

De telles  
diagnostic  
taires, pour  
noglobulines

rectement  
atif d'être  
la qualité  
vement au

est, bien  
rs physio-  
ns vu la  
, toujours  
en œuvre

technique  
s valeurs  
f) doivent  
e estimée  
e. On se  
dose par  
icorps (et  
e sont en  
existence

diagnos-  
eut appa-  
che. La  
biais et la  
tre spéci-  
révalence  
ne bonne  
aisée des

teur, Paris,

detection of  
MA, 1986,

iques quan-  
infectieuses  
I Lab Vet,

eliability of  
: 248-251.

Comparative  
abortus by  
Vet Med,

des méde-  
s-Sciences,

181 (10) :

d'épidémio-  
l'Étude de  
isons-Alfort

P. Desmettre

## DIAGNOSTIC RAPIDE ET DÉCENTRALISÉ

Longtemps centralisé, c'est-à-dire réalisé par des laboratoires dotés d'équipements performants et d'un personnel spécialisé, le diagnostic devient accessible aux vétérinaires praticiens, aux techniciens d'élevage, voire aux éleveurs eux-mêmes. Ce diagnostic décentralisé est rendu possible par la simplification des réactifs et des techniques utilisés, en même temps que par leur rapidité de mise en œuvre.

Bien que des diagnostics biochimiques rapides et décentralisés soient également disponibles, seuls seront évoqués dans ce chapitre les diagnostics immunologiques impliquant une réaction antigène-anticorps et entrant dans le cadre de techniques dont la durée est inférieure à une heure et ne nécessite pas d'instrumentation spécialisée.

De telles techniques sont utilisables pour le diagnostic des maladies infectieuses ou parasitaires, pour le dosage semi-quantitatif des immunoglobulines, pour la recherche et le dosage

semi-quantitatif de certaines hormones, et plus généralement pour la mise en évidence d'un antigène par l'anticorps correspondant ou inversement.

Disponibles sous forme d'ensembles comprenant tous les réactifs nécessaires à la réalisation du diagnostic et au contrôle ou à la validation des réactions, les trousse de diagnostic (également connues sous la dénomination anglo-saxonne de « kits ») comprennent également, sous forme de matériel à usage unique, tous les accessoires nécessaires.

Deux types de techniques sont essentiellement utilisées pour le diagnostic des maladies infectieuses ou parasitaires, soit pour le diagnostic direct (mise en évidence ou dosage de l'antigène), soit pour le diagnostic indirect (mise en évidence ou dosage des anticorps). Ces deux techniques sont :

- les techniques immunoenzymatiques;
- la technique d'agglutination.

## TECHNIQUES IMMUNOENZYMATIQUES

(Fig. 63-1)

Le principe de ces techniques, dont la plus connue est celle dite ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) ou ses variantes, repose sur la mise en évidence des complexes antigène-anticorps par utilisation d'un marqueur enzymatique, lui-même révélabl par la transformation d'un substrat en un produit coloré.

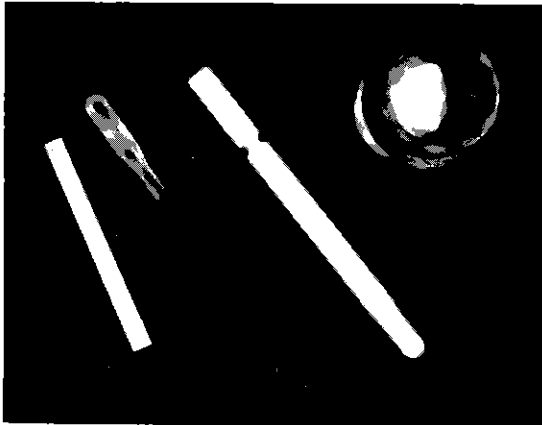


Figure 63-1 Les techniques immunoenzymatiques appliquées au diagnostic rapide.

Dans le diagnostic direct, l'antigène présent dans le prélèvement (virus, bactérie, parasite, etc.) est fixé à une phase solide au moyen d'un premier anticorps (1) qui peut être polyclonal ou monoclonal. Le couple antigène-anticorps ainsi formé est révélé par un deuxième anticorps (2) polyclonal ou monoclonal de spécificité le plus souvent différente au premier anticorps et marqué par un enzyme. La fixation du deuxième anticorps, donc de l'enzyme, est elle-même révélée par la transformation d'un substrat en un produit coloré par l'intermédiaire d'une substance chromogène.

Phase solide + anticorps (1) + antigène  
+ anticorps marqué par l'enzyme (2)

Les enzymes actuellement utilisés sont les peroxydases ou les phosphatases alcalines. La nature du substrat dépend bien sûr de la nature de l'enzyme (Tableau 63-I).

Tableau 63-I Principaux enzymes, substrats et chromogènes utilisés dans les techniques immunoenzymatiques.

Enzymes	Substrats	Chromogènes	Couleur du produit
Peroxydases	Peroxydes	Diaminobenzidine (DAB)	Brune
		Orthophénylène-diamine (OPD)	Jaune orangée
		Tetraméthylbenzidine (TMB)	Bleue
		Ethylbenzothiazoline sulfate (ABTS)	Verte
Phosphatases alcalines	X-HPO <sub>4</sub>	Paranitrophényl phosphate	Jaune

Dans le diagnostic indirect, l'antigène, vis-à-vis duquel ont recherché les anticorps éventuellement présents dans le prélèvement analysé, est couplé à la phase solide, soit directement, soit au moyen d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux. Après addition de l'échantillon à analyser, les complexes antigène-anticorps éventuellement formés sont mis en évidence au moyen d'un anticorps polyclonal ou monoclonal anti-immunoglobuline et marqué par un enzyme du type de ceux précédemment décrits, ce qui donne donc les deux schémas suivants :

Phase solide + antigène + anticorps  
+ anticorps anti-Ig marqué par un enzyme

Phase solide + anticorps + antigène + anticorps  
+ anticorps anti-Ig marqué par un enzyme

Dans le cas où l'antigène est couplé à la phase solide au moyen d'un anticorps, celui-ci doit provenir d'une espèce animale différente de celle de l'anticorps recherché de telle sorte qu'il ne puisse être reconnu par l'anticorps anti-immunoglobuline marqué par l'enzyme.

Les phases solides utilisées sont des matières plastiques de nature variable : polystyrène, chlorure de polyvinyl, polypropylène, etc. Elles revêtent des formes diverses : tubes ou microtubes, microcupules, billes, bâtonnets, bandelettes, membranes filtrantes.

Dans filtrantes du prélève de phas antigènes technique tion imm phase so partir de diagnosti lait, urini réactifs p mise en qu'à en L'inter qualitativ ment d'u l'appréci par l'utili les résult raison a observées évaluation tion de entre des

## TECHN (CORP OU TE

Les pl décentral sur lame certaines mycoplas tamponné test »)...

Ces tes anticorps, complexe donnant tinat » v

La prés en quelq faible vol nation) à suspension colorés agglutinat

chromogènes  
es.Couleur  
du  
produit

Brune

Jaune  
orangée

Bleue

Verte

Jaune

e, vis-à-vis  
ntuellement  
est couplé à  
au moyen  
aux. Après  
complexes  
és sont mis  
polyclonal  
et marqué  
cédemment  
x schémasrps  
enzymeanticorps  
enzymeà la phase  
lui-ci doit  
ate de celle  
e qu'il ne  
ti-immuno-es matières  
polystyrène,  
etc. Elles  
tubes ou  
bâtonnets,

Dans le cas des membranes, leurs propriétés filtrantes sont mises à profit pour la concentration du prélèvement en même temps qu'elles servent de phase solide pour l'immuno-capture des antigènes ou des anticorps. Il en résulte une technique tout à fait originale dite de concentration immunoenzymatique. Quelle que soit la phase solide, ces techniques sont utilisables à partir de prélèvements dont la nature dépend du diagnostic attendu : sang total, plasma, sérum, lait, urine, salive, larmes, fèces... L'utilisation de réactifs prêts à l'emploi contribue à simplifier la mise en œuvre des techniques, en même temps qu'à en réduire la durée.

L'interprétation des résultats, généralement qualitative, repose sur l'observation du développement d'une réaction colorée. Dans quelques cas, l'appréciation visuelle peut se trouver confortée par l'utilisation d'un lecteur interprétant lui-même les résultats en positif ou en négatif. Par comparaison avec une gamme-étalon, les réactions observées peuvent également conduire à une évaluation semi-quantitative situant la concentration de l'antigène ou de l'anticorps recherché entre des limites préalablement déterminées.

## TECHNIQUES D'AGGLUTINATION (CORPS BACTÉRIENS OU TEST AU LATEX)

Les plus anciens tests de diagnostic rapide décentralisé sont les tests d'agglutination rapide sur lame, à l'origine du diagnostic indirect de certaines infections bactériennes : salmonellose, mycoplasmosse, brucellose (test à antigène tamponné acide coloré au rose Bengale ou « card test »)...

Ces tests reposent sur la propriété de certains anticorps, principalement les IgM, de former des complexes avec des antigènes de bactéries donnant lieu à des amas bactériens ou « agglutinats » visibles à l'œil nu.

La présence d'anticorps peut ainsi être révélée, en quelques minutes, par simple mélange d'un faible volume de sérum ou de sang (hémagglutination) à tester, et d'un volume équivalent d'une suspension de corps bactériens, préalablement colorés afin de favoriser la mise en évidence des agglutinats.

Antigène (suspension de corps bactériens colorés)	+ Sérum (anticorps cor- respondant aux antigènes portés par des bactéries)	→ Agglutinats
--	---	---------------

Ces tests d'agglutination s'apparentent, dans leur principe, aux tests d'agglutination de particules de latex sensibilisées, encore appelés « tests au latex ».

Les tests au latex utilisent des microbilles de polystyrène d'un diamètre généralement compris entre 0,2  $\mu\text{m}$  et 0,8  $\mu\text{m}$  dont la surface a été spécialement traitée pour permettre le couplage d'antigènes (virus, sous-unités virales, fractions antigéniques bactériennes, fractions antigéniques parasitaires, etc.) ou d'anticorps. Lorsque l'antigène est fixé aux microbilles (diagnostic direct), il se forme des complexes antigènes-anticorps dont le réseau provoque des amas des billes de latex, visibles à l'œil nu, et qui correspondent aux agglutinats précédemment décrits.

Billes de latex sensibilisées par un antigène	+ Anticorps	→ Agglutinats
---	-------------	---------------

Billes de latex sensibilisées par un anticorps	+ Antigènes	→ Agglutinats
--	-------------	---------------

Spécifiques et sensibles, ces tests présentent en outre l'avantage d'une grande simplicité et rapidité de mise en œuvre.

La possibilité d'utiliser des billes de latex diversement colorées, sensibilisées avec différents

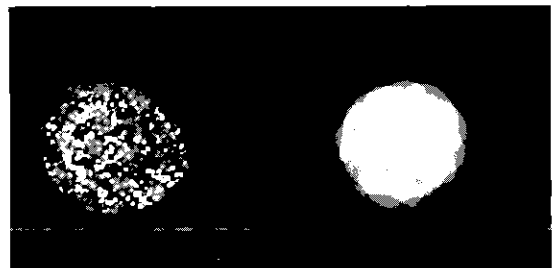


Figure 63-2 Test d'agglutination de particules de latex « sensibilisées ».

**Tableau 63-II** Applications des techniques de diagnostic rapide et décentralisé.

<i>Diagnostic des maladies infectieuses ou parasitaires</i>	
<i>Maladies virales</i>	
Maladie d'Aujeszky	Tests au latex
Leucose féline	Tests immunoenzymatiques
Syndrome d'immunodéficience acquise du chat	Tests immunoenzymatiques
Parvovirose canine	Tests immunoenzymatiques
<i>Maladies bactériennes</i>	
Brucellose	Test à l'antigène tamponné, acide coloré au rose Bengale
Typhose pullorose	Agglutination ou hémagglutination
Mycoplasmoses aviaires	Agglutination
Entérite colibacillaire néonatale du veau ou du porcelet	Tests immunoenzymatiques
Entérite à rotavirus du veau	Tests immunoenzymatiques
<i>Maladies parasitaires</i>	
Dirofilariose canine	Tests immunoenzymatiques
Ehrlichiose équine	Tests immunoenzymatiques
<i>Suivi de la reproduction</i>	
Diagnostic de non-gestation chez la vache	Tests immunoenzymatiques
<i>Dosages semi-quantitatifs</i>	
Immunoglobulines (hypogammaglobulinémie du poulain ou du veau)	Tests immunoenzymatiques
Hormone thyroïdienne T4 (dysfonctionnements thyroïdiens du chien et du chat)	Tests immunoenzymatiques

antigènes, fournit des réactifs polyvalents offrant une alternative aux tests immunoenzymatiques (Fig. 63-2).

## PRINCIPALES APPLICATIONS DES TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE

Les tests de diagnostic rapide trouvent leurs principales applications dans le diagnostic des

maladies infectieuses ou parasitaires (diagnostic direct ou indirect) ou dans le suivi des fonctions de reproduction. Ils sont également utilisables pour le contrôle de qualité des produits agroalimentaires, soit comme aide à la production, soit pour le contrôle des produits finis et seront, pour ce type d'application, traités dans un autre chapitre de cet ouvrage.

Par comparaison à une gamme-étalon, ils peuvent également fournir une interprétation semi-quantitative et, à ce titre, être utilisables pour effectuer différents dosages immunologiques (immunoglobulines, hormones, etc.).

A titre indicatif et sans prétendre la rendre exhaustive, une liste des principales applications de ces tests peut être ébauchée sur la base des réactifs actuellement disponibles (Tableau 63-II).

## CONCLUSION

Ces tests rapides, spécifiques et sensibles, représentent un progrès décisif dans le domaine du diagnostic immunologique en permettant sa décentralisation.

Appliqués au diagnostic de nombreuses maladies, au suivi de la reproduction et mis à la disposition des techniciens d'élevage ou des éleveurs eux-mêmes, ils leurs fournissent le moyen d'assurer une meilleure surveillance de l'élevage et donc d'en optimiser le rendement.

## BIBLIOGRAPHIE

- COPPE P. Les anticorps monoclonaux en diagnostic vétérinaire. *Ann Med Vet*, 1988, 132 : 243-250.
- DODET B. Les nouveaux diagnostics biologiques. *La Recherche*, 1987, 18 : 658-668.
- HADFIELD SG, LANE A, McILLMURRAY MB. A novel coloured latex test for the detection and identification of more than one antigen. *J Immunol Methods*, 1987, 97 : 153-158.
- HECHEMY KE, MICHAEL EE. Latex particle assay in laboratory medicine. Part I. *Laboratory Management*, 1984, 21 : 27-40.
- HECHEMY KE, MICHAELSON EE. Latex particle assay in laboratory medicine. Part II. *Laboratory Management*, 1984, 22 : 26-35.
- KURSTAK E. *Enzyme immunodiagnosis*. Orlando, Academic Press, 1986, 235 pages.

A. Para

Les in  
aux indu  
à deux  
consiste  
trent sou  
détection  
complexé  
traitemen  
à l'identi  
avec une  
ce qui e  
extrême  
détecter j  
par millio  
ou de la c  
conséque  
d'immun  
œuvre de  
L'imm  
grand no  
dire que  
période c  
les réact

(diagnostic  
s fonctions  
utilisables  
ts agroali-  
ction, soit  
eront, pour  
un autre

n, ils peu-  
tion semi-  
bles pour  
nologiques

la rendre  
pplications  
base des  
eau 63-II).

sensibles,  
omaine du  
mettant sa

mbreuses  
t mis à la  
e ou des  
nissent le  
illance de  
ndement.

c vétérinaire.

ogiques. La

3. A novel  
ntification of  
, 1987, 97 :

in laboratory  
1984, 21 :

le assay in  
Management,

, Academic

A. Paraf

## UTILISATION DES ANTICORPS DANS L'AGRICULTURE ET L'ALIMENTATION

Les immunoessais destinés à l'agriculture et aux industries agro-alimentaires doivent répondre à deux sortes de besoins fort différents. L'un consiste à identifier des produits qui se rencontrent souvent en quantités énormes, mais dont la détection est rendue difficile, soit par le milieu complexe dans lequel ils se trouvent, soit par les traitements qu'ils ont subi. L'autre doit faire face à l'identification de molécules que l'on rencontre avec une grande rareté dans un milieu complexe, ce qui oblige à utiliser des techniques d'une extrême sensibilité puisqu'il faut pouvoir les détecter jusqu'à une dilution supérieure à une partie par million, c'est-à-dire de l'ordre du picogramme ou de la dizaine de picogrammes par millilitre. En conséquence, pour chacun de ces deux groupes d'immunoessais, les chercheurs ont dû mettre en œuvre des techniques très différentes.

L'immunochimie a été déjà utilisée dans un grand nombre de domaines. Cependant, on peut dire que nous sommes seulement à l'aube d'une période qui va voir se multiplier très rapidement les réactifs immunochimiques en agriculture et

dans les industries agro-alimentaires où ils pourront résoudre de nombreux problèmes. Ces techniques devront répondre à un ensemble de conditions très différentes de celles rencontrées en médecine :

— la technique devant être utilisée par des mains peu expertes, elle devra être d'une grande simplicité;

— ces tests doivent permettre un diagnostic rapide, si possible en quelques minutes ou en quelques dizaines de minutes;

— ils doivent être adaptés à de grandes séries. Ainsi les tests immunochimiques nécessités par des contrôles en ligne de processus de fabrication, devront-ils atteindre un rendement de plusieurs dizaines par heure;

— certains d'entre eux devront être réalisés en dehors de toute installation de laboratoire ou même d'atelier et nécessiteront donc des instruments de mesure simples, légers et portables;

— une dernière caractéristique de ces immunoessais est qu'il faudra souvent les appliquer à des substances extrêmement complexes et insolubles,

de sorte qu'il sera nécessaire de mettre au point des techniques d'extraction et de solubilisation, elles aussi simples et rapides.

## PRODUCTION ANIMALE

L'aspect non médical de l'emploi des anticorps dans la production animale réside dans l'application à la reproduction ou à la production proprement dite.

En matière de reproduction, les anticorps anti-hormones stéroïdiennes représentent l'essentiel de l'approche expérimentale et de ses applications. L'analyse des concentrations en progestérone dans le lait ou dans le plasma a permis la définition de nombreux paramètres de la reproduction [8]. Longtemps confinées aux radio-immunoessais, les techniques se sont diversifiées grâce à la découverte des techniques enzymologiques. Ces tests permettent d'identifier avec une grande précision les phases folliculaire et lutéale du cycle œstral chez la vache et ont été également très utilisés chez la jument pour identifier l'œstrus [1].

Les anticorps anti-œstrogènes induits activement peuvent augmenter le nombre de follicules arrivant à maturité : les anticorps anti-androsténone accroissent de façon notable le nombre d'agneaux par portée, grâce à un taux d'ovulation supérieur [4].

L'immunisation contre l'androsténone n'est malheureusement pas toujours efficace et, récemment, on a montré que certaines races de moutons sont sensibles à ce type d'immunisation (en particulier la race Galway) alors que d'autres le sont beaucoup moins. Un aspect intéressant est l'immunisation des femelles contre les phyto-œstrogènes qui ont causé des pertes économiques importantes parmi les troupeaux de moutons australiens. Des anticorps contre différentes hormones stéroïdes ont été utilisés pour identifier in vivo le fonctionnement de l'axe hypophysossexuel, en étudiant les phénomènes de régulation provoqués par la diminution d'une hormone provoquée par une réaction immune dirigée contre elle.

L'immunisation contre les hormones peptidiques hypothalamiques et hypophysaires a été utilisée : ainsi l'immunisation contre la Gonadotrophin Releasing Hormone (hormone relargant la gonadotrophine) (GnRH) permet d'aboutir à la

castration du mâle. Cette technique est en particulier employée avec succès chez le bélier. Chez la jument, l'immunisation contre la GnRH permet d'obtenir l'anaœstrus, ce qui peut être intéressant pour les chevaux de sport. Chez le mâle, l'immunisation active contre la gonado-libérine (ou LH-RH) est suivie de castration et peut être utilisée chez le chat, le chien et le bélier.

L'administration d'anticorps anti-somatostatine donne des résultats pratiques pour la production proprement dite. En particulier, les travaux de Spencer [10] ont permis d'obtenir une croissance accélérée et une augmentation de poids importante après 20 semaines, sans que l'absorption d'aliments croisse dans les mêmes proportions, de sorte que le rendement en viande est augmenté.

Encore au stade de la recherche, l'identification du sexe des embryons de bovins pourrait être obtenue par des méthodes immunochimiques mettant en évidence un antigène spécifique du mâle qui serait absent chez la femelle.

## PRODUCTION VÉGÉTALE

### Physiologie des plantes

L'immunochimie qui était encore peu utilisée dans ce domaine il y a seulement 6 ou 7 ans, voit se développer avec une rapidité grandissante l'usage des anticorps dans l'analyse de la physiologie des plantes. Les anticorps polyclonaux ou monoclonaux sont utilisés pour identifier les antigènes de la membrane plasmique des protoplastes dans le but de suivre les phénomènes de fusion protoplastique dont l'importance est grandissante pour l'obtention d'hybrides et de variétés particulières [6].

De nombreuses recherches ont été réalisées sur la structure des protéines de réserve de différentes plantes, telles que le blé [9], le pois, l'orge, le soja.

L'immunochimie a également été utilisée pour identifier et quantifier la production de phytohormones ou pour étudier des enzymes tels que la nitrate-réductase avec des anticorps monoclonaux. L'analyse immunochimique, peut permettre également l'étude de la production soit d'hormones soit de produits à haute valeur industrielle par les tissus des plantes en culture in vitro.

## Pathologie

Les plantes ou de v importantes réalisés dan Les techniq polyclonau germes path soit par diff C'est en m ment de grandes ap contrôler le chez tous l'absence d culture de recherches d'anticorps de la toma

## TECHNIQUE AGRO-

L'immun dans les in celle du la production comme ex permettent peut être procédés i

Au niv important sera utilisé vue, la m un grand in relation en lait et la

La défi poursuivre tels que le lesquels il savoir si mammites

La rech manière première Aucune t mettre l'a dans la fe



## Pathologie des plantes

Les plantes sont soumises à l'attaque de bactéries ou de virus entraînant des pertes économiques importantes. De très nombreux travaux ont été réalisés dans ce domaine dès la fin des années 70. Les techniques mises au point avec des anticorps polyclonaux visent à identifier rapidement les germes pathogènes, soit par immunofluorescence, soit par différentes techniques immunochimiques. C'est en matière de virologie que le développement de l'immunochimie a permis les plus grandes applications, autant pour identifier et contrôler le développement d'une maladie à virus chez tous les végétaux, que pour s'assurer de l'absence des virus dans les plantules obtenues par culture de méristèmes. Le développement de ces recherches a abouti à la production industrielle d'anticorps contre les virus de la pomme de terre, de la tomate et de la vigne.

## TECHNOLOGIE AGRO-ALIMENTAIRE

L'immunochimie a de nombreuses applications dans les industries de fermentations, en particulier celle du lait, mais aussi celle de la bière et de la production d'antibiotiques. Nous prendrons comme exemple les fermentations lactiques qui permettent de comprendre que l'immunochimie peut être utilisée à des niveaux très divers des procédés industriels.

Au niveau de la matière première, il est important de reconnaître la qualité du matériel qui sera utilisé pour la fermentation et, de ce point de vue, la mesure d'activités enzymatiques présente un grand intérêt car il a été montré qu'il existe une relation entre la quantité de certaines enzymes du lait et la fraîcheur du produit [7].

La définition de la qualité du lait doit se poursuivre par la recherche des agents pathogènes tels que le streptocoque et le staphylocoque contre lesquels il existe des anticorps qui permettent de savoir si du lait provenant de vaches atteintes de mammite a été utilisé.

La recherche des antibiotiques est aussi une manière de définir la qualité de la matière première puisque le lait doit en être dépourvu. Aucune trace d'antibiotique qui puisse compromettre l'action ultérieure des bactéries impliquées dans la fermentation lactique n'est autorisée [11].

Au niveau de la fermentation, des recherches se poursuivent à l'heure actuelle pour identifier par des anticorps spécifiques, le ferment qui est par exemple utilisé dans la fabrication des fromages. Ce ferment consiste en effet en un mélange de nombreuses souches bactériennes souvent mal définies et dont les proportions sont actuellement inconnues. On a pu ainsi préparer des anticorps spécifiques de *Streptococcus cremoris* et de *Streptococcus lactis*, de *Leuconostocs*, etc. Durant la fermentation, il est aussi indispensable de pouvoir mesurer les ferments afin que le phénomène se poursuive dans des conditions convenables, à l'abri de toute contamination susceptible de modifier la qualité du produit fini. Des anticorps ont ainsi été produits contre les levures, contre *Clostridium thyrobutyricum* ou contre les bactériophages EM. La recherche d'agents pathogènes devient une nécessité pour le contrôle de qualité des produits alimentaires destinés à l'homme ou aux animaux (voir paragraphe suivant).

Actuellement une nouvelle orientation des recherches se porte sur l'utilisation des anticorps dans le contrôle et le suivi en ligne des procédés utilisés par les industries agro-alimentaires : les fermentations industrielles seraient le champ d'application le plus aisé à atteindre.

## RECHERCHE DES ADDITIFS, DES CONTAMINANTS ET DES TOXIQUES DANS L'ALIMENTATION

### Additifs

Ce sont des substances qui sont ajoutées aux aliments, soit avant, soit au cours de la préparation industrielle, en vue d'améliorer les qualités d'un produit (colorants, gélifiants, mousses, conservateurs) ou frauduleusement, pour abaisser le prix de revient de l'aliment. Lorsque l'additif est ajouté dans la matière première non traitée, son identification par voie immunochimique répond à des règles assez simples qu'il n'est point besoin d'expliquer ici. Par contre, lorsque l'additif doit être identifié dans l'aliment fini ayant subi des traitements complexes, on se heurte à deux difficultés : l'insolubilité des produits obtenus qui les rendent difficiles à tester par voie

immunochimique, et la nécessité d'une extraction avant l'identification et la quantification de l'additif. C'est ainsi que dans l'industrie de la conserve de champignons, on s'était aperçu il y a quelques années que les boîtes en provenance de certains pays contenaient des champignons qui, après égouttage, s'avéraient beaucoup plus lourds que ceux produits localement. Ceci était dû à l'adjonction, préalablement au chauffage à 135 °C, de blanc d'œuf qui, en coagulant, bouchait les tubes des champignons, séquestrant ainsi l'eau de cuisson qui ne pouvait s'écouler lors de l'égouttage. Le dépistage de la fraude a fait appel au dosage de l'albumine par test ELISA [2, 3].

De la même manière, on a pu découvrir des additifs autorisés ou non dans le lait ou dans la bière, ou dans des produits carnés (adjonction de viande d'espèce différente ou de soja).

### Contaminants

Ce sont des substances qui apparaissent accidentellement dans les aliments au cours de leur préparation ou de leur stockage. Ils peuvent en altérer le goût et c'est en particulier le cas des bactéries psychrophiles que l'on rencontre plus volontiers dans les produits d'origine animale (viandes ou lait) soumis à de longs stockages : le passage répété de l'aliment de la température ambiante à celle d'installations frigorifiques, comme cela est couramment pratiqué lors de la commercialisation, favorise considérablement le développement de ces bactéries psychrophiles.

On a pu montrer [5] que les viandes tout particulièrement pouvaient se montrer très riches en ce type de bactéries qui, par leurs protéases provoquent l'apparition de peptides ayant des goûts divers, mais en particulier des peptides amers.

Les contaminants bactériens ou viraux pathogènes sont rencontrés en particulier dans les produits d'origine animale et peuvent représenter un grand danger pour l'homme : ils proviennent d'un animal malade abattu ou d'un homme ayant participé à la manutention du produit au cours de la préparation. Les techniques d'immunoprécipitation et ELISA ont été utilisées pour la détection de salmonelles ou de staphylocoques qui représentent les deux espèces les plus communément rencontrées.

### Toxiques

Ce sont des substances provenant d'agents microbiens (toxines) ou de produits chimiques

(voir paragraphe suivant). Il est indispensable de pouvoir détecter les toxines avec des tests d'une extrême sensibilité qui ne peuvent être réalisés qu'en laboratoire.

Ainsi l'orge est-il souvent contaminé par des champignons, en particulier lors d'entreposage dans des conditions humides qui peuvent provoquer l'apparition de mycotoxines pouvant entraîner des intoxications graves. Des anticorps ont été développés contre certaines d'entre elles, en particulier l'aflatoxine et l'ochratoxine.

Si l'on désire identifier un toxique ou une toxine, il faut obtenir des degrés de sensibilité extrêmement élevés pouvant atteindre la dizaine de picogrammes ou le picogramme par millilitre de produit solubilisé. Dans ce cas, un ELISA simple est lui-même insuffisant et l'on doit recourir à des techniques complexes qui doivent être mises en œuvre par des experts dans des laboratoires spécialisés sous peine d'aboutir à de nombreux échecs.

Deux de ces techniques sont à souligner : l'une consiste à employer des produits radioactifs que l'on utilise dans des radio-immunoessais sous leurs différentes formes. Le gros handicap d'une telle technique est que les laboratoires doivent être agréés par les autorités compétentes et répondre à des normes rigoureuses.

Le second type de technique de l'ELISA recourt à une compétition entre un anticorps fixé non marqué et un anticorps libre marqué.

## CONTRÔLE DES PESTICIDES ET POLLUTION DE L'ENVIRONNEMENT

La nécessité de tests particulièrement sensibles a conduit au développement de techniques radio-immunologiques pour la recherche d'insecticides comme le parathion, susceptibles de détecter de l'ordre de 10 ng/g dans les extraits de végétaux, sans qu'il soit nécessaire de réaliser une extraction préalable. De la même manière, des anticorps monoclonaux permettent la détection du paraoxon avec une sensibilité de l'ordre du µg/ml tout en restant parfaitement spécifique.

La réactivité croisée des anticorps à l'égard de différents insecticides organophosphorés est un problème que l'on rencontre avec les anticorps polyclonaux et qui peut être résolu dans la

majorité de monoclonaux.

L'application de ces méthodes de phase gazeuse performantes d'autres techniques sont trop optiques du un immunisomères ne permet poussée. Des propriétés de la dimil est le Bay qu'avec gra alors qu'u cation.

Il faut in des analyse Ceci est pa qui doivent endroits po La standar Dans le cas de se répa drainage p poissons, c immunochi quantités tr

Toutes c doivent être molécule p anticorps s

Dans un relatif à la lait, on a parties par bonne méth parties par dans ce ca partition pré que lorsqu moindre. Pa plexes sont liquide en

## CONCLUSION

Deux gra de l'applica

majorité des cas par l'emploi des anticorps monoclonaux.

L'application de l'immunochimie est particulièrement intéressante dans le cas où d'autres méthodes telles que la chromatographie liquide en phase gazeuse, la chromatographie de haute performance en phase liquide (HPLC) ou encore d'autres techniques, présentent des difficultés ou sont trop onéreuses. Dans le cas d'isomères optiques du groupe de l'alléthrine, on a développé un immunoessai spécifique de chacun de ces isomères alors que les autres techniques physiques ne permettaient pas une différenciation aussi poussée. Dans le cas où des pesticides présentent des propriétés physiques quasiment identiques (cas de la dimiline, dont l'un des nombreux composés est le Bay Sir 8514), ils ne peuvent être séparés qu'avec grande difficulté par une colonne d'HPLC alors qu'un immunoessai en permet l'identification.

Il faut insister sur l'intérêt de pouvoir réaliser des analyses immunochimiques en grand nombre. Ceci est particulièrement vrai pour les pesticides qui doivent être recherchés en de très nombreux endroits pour connaître l'étendue d'une pollution. La standardisation des analyses est primordiale. Dans le cas du thiocarbamate qui a l'inconvénient de se répandre rapidement dans les eaux de drainage puis dans les rivières en tuant les poissons, ce procédé a permis, par simple analyse immunochimique de l'eau, d'en identifier des quantités très faibles.

Toutes ces molécules sont des haptènes qui doivent être couplés de façon covalente à une molécule porteuse pour obtenir aisément des anticorps spécifiques.

Dans un cas relaté par Wie et Hammock [12], relatif à la recherche du diflubenzurone dans le lait, on a obtenu une sensibilité atteignant 2 parties par milliard. En mettant au point une bonne méthode d'extraction on est arrivé à 10 parties par trillion. Toutefois, il faut souligner que dans ce cas, les techniques d'extraction et de partition préalables sont beaucoup plus laborieuses que lorsque l'on recherche une sensibilité moindre. Par contre, même ces techniques complexes sont plus rapides que la chromatographie liquide en phase gazeuse ou l'HPLC.

## CONCLUSION

Deux grandes difficultés sont rencontrées lors de l'application des méthodes immunologiques à

la recherche de substances étrangères dans des aliments ayant subi différents procédés industriels de préparation. La première réside dans l'insolubilisation de l'aliment après ce traitement, nécessitant une extraction qui doit être appropriée à l'aliment considéré. La seconde difficulté tient à des phénomènes de dénaturation souvent très poussée. Le traitement thermique, en particulier, provoque la disparition d'un grand nombre d'épitopes, rendant l'identification difficile avec des anticorps dirigés contre la molécule native. Il devient alors nécessaire de préparer des anticorps spécifiques contre la molécule dénaturée purifiée en reproduisant au laboratoire la dénaturation prévue au cours des procédés. Il existe des cas où cette dénaturation n'empêche pas l'identification du produit par un anticorps contre la molécule native, mais il vaut mieux se prémunir contre un éventuel échec en réalisant les différentes techniques à la fois avec un anticorps dirigé contre la molécule native et avec un anticorps dirigé contre la molécule dénaturée.

Lorsqu'il s'agit de contaminants ou d'additifs nous ne saurions trop insister sur l'importance de la mise en œuvre d'une technique quantitative; lorsqu'il s'agit d'un toxique ou d'une toxine, seule la sensibilité de la technique d'identification importe, et toute trace révélée doit entraîner la saisie de l'aliment.

## BIBLIOGRAPHIE

### Références générales

VAN REGENMORTEL M. The potential for using monoclonal antibodies in the detection of plant viruses. *In* : RAC Jones and L Torrence. Developments and applications in virus testing. Warwick, 1986, pp. 89-101.

### Références

1. ALLEN WE, PORTER DS. Comparison of radio-immunoassay and enzymolinked immunoassay for the measurement of progestagen in equine plasma and milk. *The Veterinary Record*, 1987, 120 : 429-431.
2. BRETON C, PHAN THANH L, PARAF A. Immunochemical properties of native and heat denatured ovalbumin additive in canned mushrooms. *J Food Science*, 1988, 53 : 222-225.
3. BRETON C, PHAN THANH L, PARAF A. Immunochemical identification and quantification of ovalbumin additive in canned mushrooms. *J Food Science*, 1988, 53 : 226-230.
4. COX RJ. Increased lambing percentages in sheep using a controlled active immunization against steroids. *In* : TW Scott. Application of immunization techniques to improve livestock productivity. *Proc Aust Soc Animal Production*, 1984, 15 : 182-186.

5. LABADIE JC. Choix d'un antigène pour la détection par ELISA des pseudomonas dans les viandes et produits carnés. *Sci Aliments*, 1987, 7 : 64-83.
6. METCALF TN III, VIELANUEVA MA, SCHINDLER M et al. Monoclonal antibodies directed against protoplasts of soybean cells : analysis of the lateral mobility of plasma membrane-bound antibody MUS-I. *Cell Biology*, 1986, 102 : 1350-1357.
7. MIRANDA G, GRIPPON JC. Enzyme, nature et incidences technologiques de la protéolyse dans le lait. *Le Lait* 1986, 66 : 1-18.
8. SAUER MJ, COOKSON AD, MAC DONALD BJ et al. *In* : ELISA-its use in veterinary research and diagnosis et JR Growther and RC Wardley. Brussels and Luxembourg Commission of the European Communities, 1982.
9. SKERRITT JH, SMITH RA, WRIGLEY CW et al. Monoclonal antibodies to gliadin proteins used to examine cerealgrain protein homologues. *J Cereal Science*, 1974, 2 : 215-224.
10. SPENCER GSG. Immuno-neutralization of somatostatin and its effects on animal production. *Domestic Animal Endocrinology*, 1986, 3 : 55-68.
11. VON MARTLBAUER E, TERPLAN G. Ein enzymimmunologischer Nachweis von Chloramphenicol in Milch. *Arch Lebensmittel Hygiene*, 1987, 38 : 1-32.
12. WIE SI, HAMMOCK BD. Comparison of coating and immunizing antigen structure on the sensitivity and specificity of immunoassays for benzoylphenylurea insecticides. *J Agric Food Chem*, 1984, 32 : 1294-1301.

J.-L. Guér

Les êtres  
diverse aux  
présents da  
rencontre h  
fatale pour  
particules  
au contrain  
C'est ce qu  
tuberculeux  
nisme des  
conditions  
ovidés ou  
l'organism  
de toute év  
situation es  
des infecti  
Cependan  
sont plus  
situations  
pathogène  
une série  
fois en gr  
Il est fr

J.-L. Guénet, X. Montagutelli

## RÉSISTANCE GÉNÉTIQUE AUX INFECTIONS

Les êtres vivants réagissent de façon très diverse aux agressions par des agents pathogènes présents dans leur milieu. Dans de rares cas, la rencontre hôte-agent pathogène est régulièrement fatale pour l'hôte et ceci, même si le nombre de particules infectantes est minime. Dans d'autres, au contraire, la résistance de l'hôte est totale. C'est ce qui se passe, par exemple, avec le bacille tuberculeux qui peut facilement infecter l'organisme des bovidés et des suidés mais qui, dans les conditions naturelles, n'infecte pas celui des ovidés ou des équidés. Ici, la résistance de l'organisme concerne l'espèce entière et elle est, de toute évidence, sous contrôle génétique. Cette situation est presque toujours la règle dans le cas des infections virales (voir chapitre 21).

Cependant, dans la plupart des cas, les choses sont plus nuancées et il existe une multitude de situations où la rencontre entre l'hôte et l'agent pathogène, quel qu'il soit, s'accompagne de toute une série d'états pathologiques très variables à la fois en gravité et en durée.

Il est fréquent qu'après un épisode infectieux

explosif l'animal guérisse ad integrum. Il arrive aussi qu'il reste infecté et plus ou moins affaibli.

Avec le temps et l'expérience, les hommes ont trouvé les moyens de faire tourner fréquemment le combat hôte-agent pathogène au profit de l'hôte en utilisant des sérums, des vaccins ou des produits chimiques variés. Ils sont même arrivés à faire disparaître complètement certains agents pathogènes, comme par exemple celui de la variole humaine.

La pathologie infectieuse et surtout la pathologie parasitaire restent néanmoins, pour les vétérinaires, des problèmes préoccupants en raison de leurs conséquences économiques. Il est donc intéressant d'envisager, en outre la fabrication de sérums et de vaccins spécifiques ou la mise au point de chimiothérapies efficaces, l'emploi d'autres moyens pour augmenter la résistance de l'hôte aux agressions par les agents pathogènes. Parmi ces moyens, la sélection ou la production d'animaux génétiquement résistants à certaines maladies est une opération qui pourrait s'avérer rentable.

## MÉTHODES D'ÉTUDE

Deux approches expérimentales sont généralement employées pour l'étude du contrôle génétique de la résistance aux maladies infectieuses ou parasitaires :

— la première consiste à étudier la pathologie directement sur l'espèce naturellement infectée, pour connaître les mécanismes biochimiques ou cellulaires de la résistance, tenter de détecter des marqueurs génétiques (par exemple certains antigènes d'histocompatibilité) qui sont associés au phénotype de résistance et sélectionner d'éventuelles lignées résistantes;

— la seconde consiste à étudier la pathologie à partir d'un modèle expérimental, tel qu'un animal de laboratoire, lorsqu'il est difficile, pour des raisons pratiques ou économiques, de travailler sur l'espèce naturellement sensible, ou pour bénéficier des nombreuses connaissances accumulées sur la physiologie, l'immunologie, la génétique et la pathologie de ces animaux de laboratoire.

Quelle que soit l'approche expérimentale retenue, le protocole est presque toujours le même :

— il consiste en premier lieu à mettre en évidence une différence de nature génétique en identifiant une population (c'est-à-dire une collection d'individus) sensible et, a contrario, une population d'animaux résistants;

— il consiste en second lieu à étudier et à interpréter le déterminisme génétique qui sous-tend l'observation précédente en procédant à des croisements, autrement dit en faisant ségréger les caractères.

Le protocole habituel consiste à produire des hybrides de première génération (F1), entre la lignée sensible et la lignée résistante, puis à réaliser des croisements en retour entre ces F1 et l'une des lignées parentales, ou à produire une deuxième génération entre individus F1 (F2) pour finalement analyser le degré de résistance des descendants. L'analyse statistique, avec des tests appropriés, de la distribution des individus résistants et sensibles permet de savoir si le caractère étudié (la résistance) est sous un contrôle génétique simple (monogénique, lié ou non au sexe) ou complexe (polygénique).

La souris est un animal de choix pour ces études génétiques, eu égard aux outils très puissants que constituent les lignées consanguines, recombinantes consanguines et congéniques (voir glossaire).

## DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE

Le déterminisme génétique de la résistance aux infections bactériennes ou virales ou aux infestations parasitaires présente des aspects très divers. Il se traduit parfois, dans des cas relativement rares, par un phénotype en « tout ou rien » faisant apparaître deux classes d'animaux : ceux qui sont sensibles à l'infection et ceux qui sont résistants. C'est le cas par exemple de certaines diarrhées du porcelet, provoquées par la bactérie *Escherichia coli*, et pour lesquelles il existe des individus et des races génétiquement résistants tandis que d'autres sont génétiquement sensibles; c'est encore le cas des infections de la souris par les orthomyxovirus où l'espèce *Mus musculus domesticus* se répartit en deux catégories : les souris sensibles et les souris résistantes, ces dernières supportant l'inoculation d'une dose 500 fois plus forte que les souris sensibles.

Lorsque la résistance à la maladie dépend d'un déterminisme génétique aussi simple, ceci signifie qu'il y a une relation directe entre le produit du (ou des) gène(s) concerné(s) et la physiopathologie de l'infection. Avec les agents bactériens, et surtout les agents viraux, la sensibilité ou la résistance à un agent particulier dépend, entre autres, de la présence ou de l'absence d'un récepteur à la surface des cellules sur lesquelles se fixe l'agresseur. L'absence ou la mutation du gène codant pour cette protéine (ou cette glycoprotéine) peut rendre l'infection impossible; l'espèce est alors résistante.

Le fait qu'il existe, au sein d'une même espèce des animaux génétiquement sensibles et d'autres génétiquement résistants, avec un déterminisme simple, permet de transférer ce caractère d'une race à l'autre par le jeu de la reproduction sexuée, pour créer une race qui possède, en plus d'un certain nombre de caractéristiques zootechniques intéressantes, la propriété de résister à une certaine maladie.

Dans la plupart des cas, la résistance à la maladie dépend d'un déterminisme plus complexe, et souvent même beaucoup plus complexe, où l'on rencontre, à la fois, des gènes qui agissent indépendamment les uns des autres et des gènes dont l'effet est additif. Ceci s'explique par le fait que, contrairement aux exemples donnés précédemment, les mécanismes qui confèrent la résistance à la maladie ne sont ni simples, ni directs. Il est logique d'imaginer par exemple que, si l'on décidait de sélectionner des bovins ayant une peau considérablement plus épaisse que la normale, les

tiques les im-  
moins. La  
transmises p  
mais de fac  
Le param  
mesurer l'é  
population  
(comme par  
tion parasit  
Cette varia  
calculer à  
donnée par

où P est la  
moyenne de  
de N indivi  
Cette var  
accès résult  
élémentaires

—  $V_G$ , la  
tement d'un  
additifs;

—  $V_E$ , la  
mesure l'ef  
moment de  
mesure;

—  $V_I$ , ex  
entre  $V_G$  et

On peut

Pour ren  
relève d'un  
ciens font a  
tabilité me  
participe  
déterminé.

où  $h^2$  repré

Il est int  
déterminée  
génétique d  
condition e  
sement, si  
que de l'en  
par exemple  
n'est pas h

La valeur  
ritabilité d'  
que les pop

tiques les importeraient probablement beaucoup moins. La résistance aux maladies parasitaires transmises par ces acariens serait alors modifiée mais de façon très indirecte.

Le paramètre le plus communément utilisé pour mesurer l'étendue des différences au sein d'une population et pour un paramètre déterminé (comme par exemple la sensibilité à une infestation parasitaire) est la variance phénotypique  $V_P$ . Cette variance, que l'on peut très facilement calculer à partir d'une série de mesures, est donnée par la formule :

$$V_P = \frac{\sum (P_i - \mu)^2}{N}$$

où  $P$  est la valeur du paramètre mesuré, et  $\mu$  la moyenne des valeurs mesurées sur un échantillon de  $N$  individus ( $i$  = individuelle).

Cette variante  $V_P$  à laquelle le généticien a accès résulte elle-même de plusieurs composantes élémentaires :

—  $V_G$ , la variance génétique, qui résulte directement d'un certain nombre de gènes à effets additifs;

—  $V_E$ , la variance due à l'environnement, qui mesure l'effet des facteurs ayant agi depuis le moment de la conception jusqu'au moment de la mesure;

—  $V_I$ , enfin, qui mesure un facteur interactif entre  $V_G$  et  $V_E$ .

On peut donc écrire que :

$$V_P = V_G + V_E + V_I.$$

Pour rendre compte de cette situation, qui relève d'une hérédité multifactorielle, les généticiens font appel à la notion d'héritabilité. L'héritabilité mesure la composante héréditaire qui participe à l'expression d'un phénotype déterminé. Par définition :

$$h^2 = V_G/V_P$$

où  $h^2$  représente l'héritabilité.

Il est intuitif que si la résistance à une maladie déterminée ne dépend que de la constitution génétique de l'individu,  $V_G = V_P$  et  $h^2 = 1$ . La condition est alors entièrement héréditaire. Inversement, si la sensibilité à la maladie ne dépend que de l'environnement (la nutrition, ou le climat par exemple),  $V_G = 0$  et  $h^2 = 0$ . La condition n'est pas héréditaire.

La valeur, mesurée expérimentalement, de l'héritabilité d'un caractère est d'autant plus élevée que les populations ayant servi pour cette évaluation

Tableau 65-1 Héritabilité de la résistance à quelques maladies infectieuses ou parasitaires.

Maladie ou agent pathogène	Caractère étudié	Héritabilité
<i>Porc</i>		
Leptospirose	Résistance à une infection expérimentale	0,20-0,21
<i>Mouton</i>		
<i>Haemonchus contortus</i>	Comptage des œufs dans les fèces après infestation expérimentale	0,25
<i>Bovins</i>		
Leucose bovine enzootique	Infection spontanée détectée par sérologie	0,13-0,4
Mammites	Incidence en première lactation	0,3-0,5
	Incidence en deuxième lactation	0-0,1
	Incidence (toutes lactations confondues)	0,1-0,3
Parasitisme par les tiques	Comptage des tiques après infestation expérimentale	0,2

sont éloignées génétiquement et présentent un important polymorphisme pour les gènes contrôlant ce caractère.

La résistance aux maladies infectieuses ou parasitaires est plus ou moins héréditaire et le tableau 65-1, compilé à partir de la littérature spécialisée, rend compte de ce phénomène.

## MÉCANISMES IMPLIQUÉS [10]

La connaissance du pouvoir pathogène et du devenir dans l'organisme d'un agent infectieux permet souvent de suspecter le ou les mécanismes qui peuvent être responsables d'une meilleure résistance à cet agent. Ainsi, une plus grande activité des macrophages constitue-t-elle une défense plus efficace face à des infections causées par des micro-organismes intracellulaires (bactéries ou parasites) qui survivent et se multiplient à l'intérieur des cellules phagocytaires après phagocytose. La réponse immune humorale, au contraire, est essentielle dans les infections à germes extracellulaires qui ne sont phagocytés et

tués qu'après opsonisation par des anticorps. Une importante réactivité des cellules T est responsable d'une meilleure protection vis-à-vis de certaines infections virales ou bactériennes par le recrutement de cellules inflammatoires que suscite la production de lymphokines. Enfin, on connaît le rôle de la production d'interféron dans nombre d'infections virales. Ces différents mécanismes coexistent toujours lors d'une réponse anti-infectieuse mais l'un d'entre eux est souvent prédominant.

Dans cette description des mécanismes de résistance, les travaux réalisés sur la souris nous fourniront plusieurs exemples. Le tableau 65-II présente le déterminisme génétique de la résistance à quelques infections bactériennes ou virales chez la souris.

La sélection, par Biozzi et coll., de lignées de souris à fortes et faibles productions d'anticorps à la suite d'une stimulation complexe a mis en évidence une corrélation négative, dans ces lignées, entre le niveau de production d'anticorps et l'intensité de la réponse phagocytaire. Ainsi les lignées à faible réponse humorale résistent-elles mieux aux infections contrôlées par les macrophages, tandis que les lignées à forte réponse humorale sont moins sensibles aux infections dans lesquelles le rôle des anticorps et des cellules T spécifiques d'antigène est prépondérant; enfin, les deux types de lignées résistent de la même façon aux infections contrôlées par une réaction inflammatoire locale.

Si l'on comprend à peu près les mécanismes par lesquels agissent les gènes responsables de déficits immunitaires profonds - par exemple, chez la souris, *nu* (nude : chromosome 11) qui rend les souris athymiques donc privées de lymphocytes T, *xid* (X-linked immune deficiency : chromosome X) qui provoque un déficit des cellules B et une forte réduction du taux d'IgM, ou *scid* (severe combined immune deficiency : chromosome 16) responsable d'un déficit grave de l'immunité cellulaire et de l'immunité humorale - on ignore presque tout de la façon dont agissent les gènes qui contrôlent la résistance spécifique à un agent pathogène (voir chapitre 50).

Dans certains cas, le phénotype de résistance est étroitement spécifique d'un agent pathogène. C'est le cas de la résistance naturelle des souris à l'infection par les orthomyxovirus. En 1963, Lindenmann et coll. [7] observèrent les premiers qu'il existait, chez les souris de laboratoire, une différence considérable de sensibilité à un inoculum virulent du virus de l'influenza. La

Tableau 65-II Déterminisme génétique de la résistance à quelques infections bactériennes ou virales chez la souris.

Agent pathogène	Déterminisme génétique	Mécanismes impliqués
<i>Rickettsia tsutsugamushi</i>	Un gène de résistance <i>Ric</i> -Chr. 5	Défenses macrophagiques
<i>Rickettsia ackari</i>	Contrôle polygénique	Défenses macrophagiques
<i>Salmonella typhimurium</i>	Un gène de résistance <i>Ity</i> -Chr. 1	Défenses macrophagiques
	Un gène de résistance <i>xid</i> -Chr. X	Faible taux d'IgM
	Un gène de résistance <i>Lps</i> -Chr. 4	Stimulation de la réponse immune par le LPS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Contrôle polygénique	
<i>Corynebacterium kutscheri</i>	Un gène de résistance <i>Ack</i> autosomal	Contrôle de la multiplication précoce
<i>Listeria monocytogenes</i>	Phase précoce	Contrôle de la multiplication précoce
	Phase tardive	
<i>Mycobacterium bovis</i> (BCG)	Un gène de résistance <i>Bcg</i> -Chr. 1	Défenses macrophagiques
Flavivirus	Un gène non lié au CMH, résistance dominante	
Hépatite virale murine type 2	Un gène non lié au CMH, sensibilité dominante	
Orthomyxovirus	<i>Mx</i> , résistance dominante	Inhibition de la réplication virale
Herpès simplex type 1	Contrôle polygénique, résistance dominante	
Herpès simplex type 2	Un gène de résistance-Chr. X, résistance dominante	
Cytomégalovirus	Contrôle polygénique	

plupart des lignées testées succombent à l'inoculation en 48/72 heures alors que la lignée consanguine A2G résiste définitivement à une dose 500 fois plus forte. Haller et ses collaborateurs montrèrent en 1987 [2] que cette observation était en fait généralisable à toute l'espèce *Mus musculus domesticus*.

Cette différence de sensibilité, qui prend ici des proportions extrêmes, est contrôlée par un gène unique, le gène *Mx* (Myxovirus resistance : chromosome 16), qui possède deux allèles : *Mx+*, l'allèle de résistance et *Mx-*, l'allèle de sensi-

bilité, *Mx* nisme cellu ment élu spécificité (produit macroph nucléaire inhibe spé virus infl montré en présentait (lignées C (lignée C comme da de la cha

Dans l interveni chez la *Salmonel* moins tro *Lps* (dém la résist la quelle u de la bac l'évolutio encore le deux gèn

La rés *typhimuri* l'allèle *I* sensibles *Bcg<sup>R</sup>* rési tubercule *Lsh<sup>R</sup>* rési *vani*.

Les tro dans une souris et l les trois r des défer ensemble trois sym nique (un seul et m au moins

Un mêm phénotyp résistance *typhimuri* *ackari*, *E* Les sou sensibles le lipide A ries à Gra



bilité,  $Mx+$  étant dominant sur  $Mx-$ . Le mécanisme cellulaire de cette résistance a été récemment élucidé et se révèle d'une extraordinaire spécificité. Stimulées par l'interféron de type I (produit notamment lors d'infections virales), les macrophages  $Mx+$  synthétisent une protéine nucléaire de 72 kd, codée par le gène  $Mx$ , qui inhibe spécifiquement la réplication du génome du virus influenza. Haller et ses collaborateurs ont montré en 1988 que le gène  $Mx$  des lignées  $Mx-$  présentait soit une délétion de 424 nucléotides (lignées BALB/c), soit une mutation non-sens (lignée CBA/J), ce qui conduit, dans un cas comme dans l'autre, à une terminaison prématurée de la chaîne polypeptidique.

Dans d'autres cas, plusieurs gènes peuvent intervenir dans le phénotype de résistance. Ainsi, chez la souris, la résistance à l'infection par *Salmonella typhimurium* est conditionnée par au moins trois gènes : *Ity* (dominant), *xid* (récessif), *Lps* (dominant). Un autre exemple est fourni par la résistance à *Listeria monocytogenes* pour laquelle un gène contrôlerait l'élimination précoce de la bactérie alors qu'un autre gène influencerait l'évolution plus tardive de l'infection. On ignore encore les mécanismes précis par lesquels ces deux gènes agiraient.

La résistance à l'infection par *Salmonella typhimurium* est conférée aux souris qui portent l'allèle  $Ity^R$  alors que les souris  $Ity^S/Ity^S$  sont sensibles à cette infection. De même les souris  $Bcg^R$  résistent-elles à une infection par le bacille tuberculeux ou le bacille de la lèpre et les souris  $Lsh^R$  résistent à l'infection par *Leishmania donovani*.

Les trois gènes *Ity*, *Bcg*, *Lsh* ont été localisés dans une même région du chromosome 1 de la souris et les allèles  $Ity^R$ ,  $Bcg^R$ ,  $Lsh^R$ , qui sont tous les trois responsables d'une plus grande efficacité des défenses macrophagiques, ségrègent souvent ensemble de sorte qu'on ne sait pas encore si ces trois symboles désignent un complexe multigénique (un haplotype) ou ne représentent qu'un seul et même gène, qui contrôlerait la résistance à au moins trois types d'infections.

Un même gène peut en effet contrôler plusieurs phénotypes. Le gène *Lps* est impliqué dans la résistance à plusieurs infections : *Salmonella typhimurium*, *Klebsiella pneumoniae*, *Rickettsia ackari*, *Escherichia coli*, *Neisseria meningitidis*. Les souris qui possèdent l'allèle  $Lps^d$  sont sensibles à ces infections et ne reconnaissent pas le lipide A du lipopolysaccharide (LPS) des bactéries à Gram négatif. Chez les souris résistantes, le

LPS joue le rôle de facteur chimiotactique, stimule la réaction inflammatoire et favorise l'élimination de l'infection.

## EXEMPLES DE RÉSISTANCE GÉNÉTIQUE CHEZ LES ANIMAUX DOMESTIQUES

### Bovins [4, 5, 6, 11]

Les infections de la mamelle chez la vache sont à l'origine de pertes économiques considérables. La lutte contre les mammites utilise habituellement des mesures d'ordre sanitaire (désinfection de la mamelle, désinfection et entretien du matériel de traite) mais aussi l'emploi de doses massives d'antibiotiques.

Il existe cependant dans la population bovine une variabilité reconnue de la sensibilité aux mammites et plusieurs études ont démontré la possibilité de sélectionner des lignées de vaches moins sensibles aux mammites que d'autres. L'indice d'héritabilité de la prédisposition génétique à ces infections varie, selon les auteurs, de 0,10 (faible) à 0,38 (importante) selon les populations d'animaux et les caractères étudiés.

On ignore encore quels sont les gènes responsables de cette variabilité. On connaît cependant un certain nombre de caractères morphologiques (affectant le trayon ou le sphincter) ou biochimiques (composition en acide gras du lactosébum) susceptibles d'affecter la sensibilité aux mammites et sur lesquels des programmes de sélection pourraient être engagés.

Les bovins de la race Hereford développent avec une fréquence élevée des pathologies oculaires, des néoplasies ou des kératoconjunctivites infectieuses dues à *Moraxella bovis*, favorisées par l'action d'une lumière intense sur une peau peu pigmentée. La sélection d'animaux aux paupières pigmentées a permis de réduire de façon sensible l'incidence de ces affections.

Les trypanosomiasés sont un problème majeur en Afrique. Les bovins (espèce *Bos taurus*) sont résistants aux trypanosomes, ou trypanotolérants, alors que les zébus (espèce *Bos indicus*), sont trypanosensibles. Des données précises manquent encore sur le déterminisme génétique de cette résistance; néanmoins, des liaisons génétiques

avec des marqueurs biochimiques facilement repérables ont été observées. La résistance serait conférée par la capacité à produire rapidement des taux élevés d'anticorps dirigés contre des antigènes de surface du parasite.

Le parasitisme par les tiques constitue, notamment chez les bovins, un double danger pour la santé animale, car, en plus de leur action spoliatrice, elles véhiculent plusieurs hémoprotozoaires très pathogènes. En Australie, où l'incidence du parasitisme par *Boophilus microplus* est élevée, des programmes de sélection ont permis de créer la race Australian Friesian Sahiwal qui associe la résistance naturelle à ce parasite des bovins Sahiwal et la forte production laitière des Frisonne-Holstein.

### Ovins [1]

Les races de moutons n'ont pas toutes la même sensibilité aux strongles digestifs. Les races Dorset-Rambouillet ou Southdown sont beaucoup plus sensibles à l'infestation par *Haemonchus contortus* que les races Charmoise ou Florida Native. Plusieurs études, au cours desquelles ces races ont été croisées entre elles de différentes manières, indiquent que ce déterminisme est complexe. Malgré cette difficulté, ces différences ont déjà été mises à profit dans quelques plans de sélection.

### Porcs [13]

Les diarrhées néonatales du porcelet sont responsables d'une importante mortalité et de lourdes pertes économiques. Elles résultent fréquemment d'une infection par la bactérie *Escherichia coli* possédant un antigène de surface, appelé K88, qui se fixe à un récepteur spécifique des cellules épithéliales de l'intestin des porcelets. Une fois attachées, les bactéries prolifèrent et libèrent une entérotoxine qui produit une diarrhée qui peut être fatale.

Il existe des bactéries qui ne possèdent pas l'antigène K88 et qui, pour cette raison, ne sont pas pathogènes. Il existe aussi des porcelets qui n'ont pas le récepteur pour l'antigène K88 et qui de ce fait ne sont pas sensibles à l'infection. Ce caractère est sous le contrôle d'un gène *s* qui, lorsqu'il existe à l'état homozygote, rend le porcelet résistant.

Pour éliminer l'infection, il suffit d'accoupler des verrats résistants *s/s* avec des truies *s/s* ou *S/s*.

Dans le second cas, les porcelets *s/s* (50 p. cent) sont génétiquement résistants alors que les porcelets *S/s* sont génétiquement sensibles mais immunologiquement protégés par le colostrum. Les seuls animaux susceptibles de développer une infection sont les porcelets nés d'une truie résistante *s/s* et d'un verrot sensible.

La difficulté consiste à identifier les verrats résistants. Dans ce but, Snodgrass [12] a développé un test *in vitro* qui permet de détecter les mâles *s/s* à partir d'une biopsie de muqueuse digestive.

### Lapins

Les lapins développent fréquemment des lésions d'origine traumatique sous les tarsi lorsqu'ils sont maintenus pendant de longues périodes dans des cages à fond métallique. Alors que les lapins de race Fauve de Bourgogne sont régulièrement atteints, les Néo-Zélandais sont, eux, épargnés par cette pathologie.

### Volailles [3, 4]

Les tumeurs induites par des rétrovirus ou des virus herpès sont une des dominantes pathologiques de la poule. C'est le cas du sarcome de Rous ou de la maladie de Marek (voir chapitre 36). De nombreux auteurs ont étudié les relations entre les haplotypes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et le degré de résistance à l'infection ou au développement de néoplasies.

Dans le cas de la maladie de Marek, les allèles  $B^2$ ,  $B^6$  et  $B^{21}$  sont associés à une résistance moyenne ou élevée, alors que les allèles  $B^3$ ,  $B^5$ ,  $B^{13}$ ,  $B^{19}$  et  $B^{27}$  sont associés à une forte sensibilité. Les animaux  $B^2/B^2$  développent fréquemment une paralysie transitoire à la suite de l'infection, contrairement aux animaux  $B^1/B^1$  ou  $B^2/B^1$ . Ceci laisse supposer que la résistance à ce syndrome est un caractère dominant.

L'étude de la régression des tumeurs induites par le virus du sarcome de Rous a montré que des animaux  $B^{23}/B^{26}$  sont plus résistants que les animaux  $B^{23}/B^{23}$  et  $B^{26}/B^{26}$  : ceci suggère qu'il existe une complémentarité des haplotypes qui influence la réponse contre le virus du sarcome de Rous.

Cette complémentarité pourrait être utilisée pour réduire simultanément l'incidence de ces deux infections puisque l'allèle  $B^{21}$  est associé à une bonne résistance à la maladie de Marek et que

l'allèle  $B^2$  capacité d le virus intéressant même ani

Une liai pour la r Pasteurell

La sain pullorum.

été entrep permis de de 28 p. d résistants ment que

en cas d' fébrile pr nismes de tion de la qui est re souches d

Enfin, tance à coccidiose développ

retardée antigènes de sélecti

### Poissons

Plusieu de progr en partic virus (né (*Coryneb* ficients d

Dorsoi triploïdes la truite a hémorrag l'omble d

### Abeilles

La loc rienne ca sable d'u contamin nies et e mieux à l de résista p. cent i

(50 p. cent) e les porce- mais immu- strum. Les lopper une truite résis-

les verrats [2] a déve- détecter les muqueuse

nement des les torses de longues que. Alors gogne sont ndais sont,

virus ou des pathologi- me de Rous (tre 36). De ns entre les ocompatibi- l'infection

, les allèles résistance les B<sup>3</sup>, B<sup>5</sup>, une forte oppent fré- la suite de x B<sup>1</sup>/B<sup>1</sup> ou stance à ce

urs induites ntré que des ts que les ggère qu'il otypes qui sarcome de

tre utilisée nce de ces st associé à arek et que

l'allèle B<sup>2</sup> est associé à un effet similaire et à la capacité de faire régresser les tumeurs induites par le virus du sarcome de Rous. Il serait donc intéressant d'associer ces deux allèles chez le même animal.

Une liaison au CMH a également été démontrée pour la résistance au choléra aviaire (causé par *Pasteurella multocida*).

La salmonellose aviaire est due à *Salmonella pullorum*. Dès les années 1920, une sélection a été entreprise sur des poules White-Leghorn qui a permis de faire passer la résistance des poussins de 28 p. cent à 74 p. cent en 9 ans. Les poussins résistants ont la capacité d'augmenter plus rapidement que les autres leur température corporelle et, en cas d'infection, ils développent une réaction fébrile précoce. Cette fièvre exacerbe les mécanismes de défense immune et accélère l'élimination de la bactérie. C'est un phénomène similaire qui est responsable de la résistance de certaines souches de lapins aux pneumocoques.

Enfin, la corrélation qui existe entre la résistance à *Eimeria tenella* (un des agents de la coccidiose aviaire) et la capacité des animaux à développer une réaction d'hypersensibilité retardée (mesurée par un test cutané) à des antigènes du parasite pourrait être utilisée aux fins de sélection d'individus plus résistants.

#### Poissons [8]

Plusieurs maladies infectieuses ont fait l'objet de programmes de sélection d'animaux résistants, en particulier chez les salmonidés, vis-à-vis de virus (nécrose hématopoïétique) ou de bactéries (*Corynebacterium*, *Vibrio anguillarum*). Les coefficients d'héritabilité sont cependant assez faibles.

Dorson et Chevassus ont obtenu des hybrides triploïdes possédant les qualités zootechniques de la truite arc-en-ciel et la résistance à la septicémie hémorragique virale du saumon Coho ou de l'omble de fontaine.

#### Abeilles [4]

La loque américaine est une maladie bactérienne causée par *Bacillus larvae* qui est responsable d'une mortalité importante dans les ruches contaminées. En infectant délibérément des colonies et en sélectionnant celles qui résistaient le mieux à la maladie, Park réussit à obtenir un taux de résistance des colonies de 75 p. cent (contre 28 p. cent initialement). L'étude du comportement

des animaux permet de montrer que, dans les colonies résistantes, les individus chargés du nettoyage de la ruche avaient une plus grande faculté à détecter la maladie à un stade précoce et nettoyaient très rapidement les alvéoles infectées. Les larves contaminées étaient donc éliminées avant que la bactérie n'ait pu sporuler. Par la suite, il fut montré que le taux de survie des larves infectées avait aussi augmenté et était passé de 25 à 67 p. cent.

## UTILISATION DE LA CONNAISSANCE DES MÉCANISMES DE RÉSISTANCE ET DU DÉTERMINISME GÉNÉTIQUE

### Sélection de lignées résistantes

Le fait que la résistance ou la sensibilité à une infection soit déterminée, dans la plupart des cas, par un grand nombre de gènes difficiles à identifier individuellement a de très nombreuses conséquences. La première, et la plus importante, est qu'il est indispensable de développer, pour chaque espèce domestique, une véritable cartographie des gènes aussi documentée que possible, qu'il s'agisse de gènes marqueurs, sans importance zootechnique réelle, de gènes codant pour des protéines fondamentales comme les antigènes du CMH ou des gènes impliqués dans l'intensité de la réponse immune [14]. Une bonne connaissance de la carte génétique permet de gagner un temps précieux dans un programme de sélection et, surtout, de diriger celle-ci en évitant certains effets indésirables. A quoi servirait-il par exemple d'avoir des moutons résistants à telle ou telle maladie infectieuse si le prix à payer est une réduction du nombre de gestations gémeuses !

Le fait que le déterminisme génétique de la résistance à la maladie infectieuse soit multigénique entraîne aussi, pour le zootechnicien, la nécessité de conserver au maximum le polymorphisme génétique d'une espèce domestique car, par définition même, la sélection est inopérante lorsqu'elle agit sur une population non polymorphe. Cela veut dire qu'il faut absolument conserver, au besoin sous forme d'embryons congelés lorsque cela est faisable, le plus grand

nombre possible de races. Cela veut dire aussi qu'il faut éventuellement retourner à l'espèce sauvage, lorsqu'elle existe encore, ou à des espèces voisines lorsque l'hybridation est possible, pour récupérer dans la nature la matière première de la sélection : le polymorphisme génétique.

### Transgénèse

La sélection de races ou de lignées résistantes présente deux inconvénients majeurs :

— elle n'est possible, comme nous l'avons dit, que dans la mesure où la population est polymorphe pour le caractère de résistance à une maladie déterminée;

— elle ne peut se faire qu'au terme d'un très grand nombre de croisements accompagnés d'un travail de sélection ininterrompu et souvent onéreux.

C'est la raison pour laquelle les généticiens ont envisagé d'autres moyens de rendre une espèce animale génétiquement résistante à une maladie. Parmi ces moyens, la transgénèse est le plus prometteur, même si, à l'heure actuelle, elle n'est encore qu'au stade de la recherche fondamentale [9].

Cette technique consiste à produire un embryon dans lequel on a littéralement « greffé » un gène cloné, pouvant éventuellement provenir d'une autre espèce, d'un autre genre, ou même d'une autre classe. Ceci peut se faire directement, c'est-à-dire mécaniquement, en injectant avec une pipette de verre étiré, au stade initial du développement de l'embryon, très peu de temps après la fécondation de l'ovocyte, le gène cloné dans l'un des pronuclei (Fig. 65-1). Ceci peut aussi se faire en injectant les cellules embryonnaires avec un rétrovirus génétiquement manipulé ou en injectant dans un embryon des cellules modifiées génétiquement *in vitro*.

Le gène greffé dans les cellules de l'embryon se transmet alors à la manière d'un nouveau caractère mendélien. Dans certains cas il s'exprime, c'est-à-dire qu'il est transcrit en ARN puis traduit en protéine.

Cette technique de transgénèse est une véritable révolution pour la génétique. Entre autres choses elle permet le transfert direct de caractères génétiques sans passer par la voie sexuée et, de ce fait, représente une génétique par addition qui s'oppose à la génétique traditionnelle, par substitution, dans laquelle deux allèles au maximum, pour un même

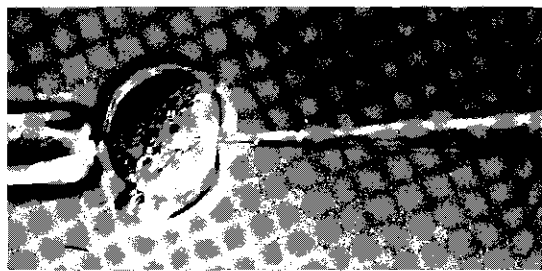


Figure 65-1 Transgénèse. L'aiguille de verre représentée sur le cliché ci-dessus permet l'injection d'un gène cloné dans le pronucleus mâle. Ce gène peut provenir d'une espèce différente et s'intégrer dans l'un des chromosomes de l'espèce réceptrice. Ceci permet l'addition d'un caractère génétique au patrimoine héréditaire d'une espèce (cliché C. Babinet).

gène, peuvent se trouver dans un génome déterminé.

Elle est susceptible d'applications nombreuses, en particulier pour la production de races résistantes à certaines maladies. Un exemple nous est fourni par la résistance aux orthomyxovirus qui dépend, comme nous l'avons vu chez la souris, de l'intervention d'une protéine unique codée par le gène *Mx*. Certains chercheurs considèrent en effet que s'il existe des souris résistantes à la « grippe » grâce au produit du gène *Mx*, il doit être possible d'« emprunter » ce mécanisme de résistance que l'évolution a mis au point chez les muridés pour le transposer dans d'autres espèces domestiques en greffant purement et simplement le gène qui code la protéine *Mx*. Ceci a déjà été tenté chez le porc dans le but de le protéger de la grippe porcine.

### CONCLUSION

La sélection d'animaux génétiquement résistants aux maladies infectieuses est donc une opération des plus rentables du point de vue zootechnique dans la mesure où elle n'altère pas les autres caractéristiques de la lignée, de la race, ou de la souche.

En revanche, il serait déconseillé de sélectionner des animaux génétiquement résistants à une maladie infectieuse pour laquelle une réglementation sanitaire prévoit l'élimination systéma-

tique des  
tuberculose  
s'exposera  
bas bruit,  
éradication  
Tout eff  
coordonné

Remerci  
la compila

### BIBLIOGR

1. COURTNEY  
in sheep  
Animal
2. HALLER  
resistanc  
occur at  
Research
3. HARTMAN  
on resist  
Poultry
4. HUTT  
In: Ani  
pp. 535-
5. LANTIER  
resistanc  
Reprodu  
1988.
6. LIE O.  
Milchwi  
496
7. LINDENM

tique des animaux infectés (par exemple la tuberculose ou la brucellose chez les bovins). On s'exposerait en effet à voir circuler l'infection à bas bruit, ce qui rendrait encore plus difficile son éradication.

Tout effort de sélection doit être soigneusement coordonné, car il implique un travail coûteux et

soutenu portant sur de nombreuses générations. Plus il s'appuie sur une carte génétique documentée, plus il est précis, plus il est standardisé. Enfin la génétique moléculaire moderne, grâce notamment à la transgénèse ouvre des perspectives prometteuses pour la création de races résistantes aux maladies infectieuses.

*Remerciements : Les auteurs tiennent à remercier Thierry Le Draoulec pour son aide précieuse dans la compilation des documents bibliographiques.*

## BIBLIOGRAPHIE

1. COURTNEY CH. Host genetic factors in helminth control in sheep. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, 1986, 2 : 433-438.
2. HALLER O, ACKLIN M, STAEHEL P. Influenza virus resistance of wild mice : wild-type and mutant *Mx* alleles occur at comparable frequencies. *Journal of Interferon Research*, 1987, 7 : 647-656.
3. HARTMANN W. The effect of selection and genetic factors on resistance to disease in fowls. A review. *World's Poultry Science Journal*, 1985, 41 : 20-35.
4. HUTT FB, RASMUSEN BA. Genetic resistance to disease. *In : Animal Genetics*, 2nd Ed., New York, Wiley, 1982, pp. 535-567.
5. LANTIER F, VU TIEN KHANG J. Genetic variability of resistance to infectious diseases. 3<sup>e</sup> Congrès Mondial Reproduction et Sélection des Bovins à Viande, Paris, 1988.
6. LIE O. Genetic approach to mastitis control. *Kieler Milchwirtschaftliche Forschungsberichte*, 1985, 37 : 487-496.
7. LINDENMANN J, LANCE CA, HOBSON D. The resistance of A2G mice to orthomyxoviruses. *J Immunol*, 1963, 90 : 942-951.
8. PRICE DJ. Genetics of susceptibility and resistance to disease in fishes. *Journal of Fish Biology*, 1985, 26 : 509-519.
9. RENARD JP, BABINET C. Genetic engineering in farm animals : the lessons from the genetic mouse model. *Theriogenology*, 1987, 27 : 181-200.
10. ROSENSTREICH DL, WEINBLATT AC, O'BRIEN AD. Genetic control of resistance to infection in mice. *CRC Critical Reviews in Immunology*, 1982, 3 : 263-330.
11. SEIFERT GW. Selection of beef cattle in Northern Australia for resistance to the cattle tick (*Boophilus microplus*); research and application. *Preventive Veterinary Medicine*, 1984, 2 : 553-558.
12. SNODGRASS DR, CHANDLER DS, MAKIN TJ. Inheritance of *Escherichia coli* K88 adhesion in pigs : identification of non adhesive phenotypes in a commercial herd. *Veterinary Records*, 1981, 109 : 461-463.
13. STRAW BE. Genetic influences on liability of acquired disease. *In : Diseases of swine*, 6nd Ed., Ames, Iowa State University Press, 1986, pp. 717-724.
14. WOMACK JE. Molecular cytogenetics of cattle : a genomic approach to disease resistance and productivity. *Journal of Dairy Science*, 1988, 71 : 1116-1123.

Y. Richard

## ADJUVANTS DE L'IMMUNITÉ

On s'accorde pour appeler adjuvants des substances capables d'augmenter ou parfois même de faire apparaître un pouvoir immunogène lorsqu'elles sont injectées avec un antigène (adjuvantité).

Le concept d'adjuvant de l'immunité (du latin adjuvans : qui aide) est né des observations et des travaux de Ramon qui a constaté un accroissement de la production d'anticorps quand il mélange l'antigène injecté à des substances telles que tapioca, lanoline, chlorure de calcium, amidon, lait, huile, mie de pain, lécithine, sérum desséché, gélose, charbon animal, huiles diverses, pus, suspension bactérienne tuée (principe des vaccins associés),... et parle alors de « substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité » [13].

Une autre étape décisive dans la mise au point des adjuvants est franchie par Freund qui, en 1942, mis au point une émulsion d'huile minérale et de mycobactéries tuées; c'est l'adjuvant complet de Freund (ACF).

On a d'abord pensé que, pour exercer leur action, les adjuvants devaient être mélangés à

l'antigène et introduits avec lui dans l'organisme, mais il est apparu que dans certaines circonstances et avec certains adjuvants, l'effet pouvait être obtenu en les injectant en des points différents et à distance des antigènes.

On peut donc supposer a priori deux mécanismes d'action des adjuvants : action sur la molécule antigénique elle-même et/ou action sur les cellules immunocompétentes de l'organisme receveur.

Les adjuvants doivent cependant être distingués, parmi les substances susceptibles de renforcer la réponse immune, des immunostimulants qui interviennent seuls, de façon non spécifique, en augmentant l'activité des cellules immunitaires. Il s'avère cependant que très souvent les adjuvants administrés seuls stimulent le système immunitaire dans son ensemble et que les immunostimulants mélangés à un antigène jouent le rôle des substances adjuvantes de l'immunité.

A l'heure actuelle, les vaccins, qu'ils soient obtenus par des moyens classiques, par génie génétique ou par synthèse chimique, ont plus que

jamais besoin d'être potentialisés. En effet, leur purification ou leur réduction à des structures plus simples diminue souvent leur immunogénicité. On prévoit donc l'utilisation de différents « véhicules » ou d'adjuvants nouveaux dépourvus d'effets secondaires toxiques.

## PRINCIPAUX ADJUVANTS

Nous présenterons brièvement, compte tenu de leur intérêt actuel et futur, les adjuvants minéraux, les extraits microbiens, les adjuvants huileux, les agents à action de surface, les liposomes et les iscoms.

### Adjuvants minéraux

A la suite du travail de Glenn (1926) montrant que l'alun de potassium est capable de précipiter l'anatoxine diphtérique et augmente le pouvoir antigène de celle-ci, de nombreux sels minéraux ont été proposés comme adjuvants. C'est le cas de l'hydroxyde et du phosphate d'alumine encore largement utilisés en médecine vétérinaire, du phosphate de calcium préconisé pour les vaccinations chez l'homme, du sulfate de béryllium et de l'oxyde de fer [5, 14].

La silice, le kaolin ou le charbon sont également de bons adjuvants pour la production d'anticorps. La stimulation de la production des anticorps est paradoxalement d'autant plus nette que ces adjuvants sont injectés longtemps avant l'injection d'antigène. Le silicate d'aluminium favorise en plus le développement d'une hypersensibilité retardée.

### Extraits microbiens

C'est à Ramon et Zoeller (1926) que revient le mérite de la première découverte des vaccins associés démontrant que les bacilles typhiques et paratyphiques possèdent une activité adjuvante à l'égard des anatoxines diphtérique et tétanique.

Ultérieurement, de nombreux bacilles tels que *Brucella*, mycobactéries, corynebactéries, *Bordetella pertussis*, etc., furent reconnus comme doués des mêmes propriétés.

Les endotoxines des bactéries à Gram négatif se sont révélées de précieux adjuvants de l'immunité

(Boivin, 1933). Ajoutées à une préparation antigénique, elles augmentent la production d'anticorps, et peuvent rompre un état de tolérance. Les endotoxines sont cependant sans action sur les réactions d'hypersensibilité retardée, bien que ce point soit l'objet de controverses. Elles agissent à la fois sur les lymphocytes B et sur les macrophages [3]. L'utilisation de ces diverses substances comme adjuvants de l'immunité a été réalisée dans des conditions variables car les micro-organismes ou les endotoxines ne sont pas sans danger pour l'hôte inoculé.

De nombreuses tentatives ont donc été faites pour extraire ou purifier les constituants responsables de l'effet adjuvant afin d'en limiter la toxicité. C'est en particulier le cas des lipides A des endotoxines et des extraits pariétaux des mycobactéries (cire, WSA, MDP) [1, 4].

Le MDP ou N-acétyl-muramyl-L-alanyl-D-isoglutamine se révèle être la structure minimale capable de remplacer les mycobactéries dans l'ACF.

L'effet adjuvant peut être obtenu sans, ou mieux, avec couplage covalent à l'antigène. Il est observé en solution aqueuse et huileuse, intéresse à la fois la production d'anticorps contre les antigènes thymo-dépendants et (à un moindre degré) thymo-indépendants. Il peut être actif par voie orale pour la production d'IgA [3].

La production d'anticorps est accrue par le MDP quand celui-ci est administré avec des antigènes aussi divers que des protéines, des vaccins classiques (vaccin grippal, antigène de l'hépatite B, vaccin antidiphtérique, antitétanique) voire des vaccins entièrement synthétiques. Enfin, des essais positifs de castration par immunisation à l'aide d'une hormone synthétique couplée à un dérivé du MDP ont été rapportés.

Le MDP peut aussi, dans certaines conditions, avoir un effet dépresseur, en particulier sur la production d'interleukine 2, la synthèse des IgE, l'hypersensibilité à basophiles et le rejet des allogreffes (peut-être par stimulation de cellules T suppressives). Par ailleurs, le MDP a un effet pyrogène et hypnogène, mais certains de ses analogues, comme le murabutide, conservent les propriétés adjuvantes et immunostimulantes sans exercer ces deux effets secondaires.

A partir du MDP, plusieurs centaines de dérivés ont pu être synthétisés.

Cette « famille » des muramylpeptides constitue un ensemble de molécules immunoadjuvantes dont l'intérêt réside essentiellement dans le fait qu'elles sont synthétiques et que certaines

d'entre e  
pharmac  
nocifs.

Bien q  
en méde  
« génér  
perspecti  
obtention  
solution  
systèmes  
dissociati  
gique et  
chimiques  
tisés.

### Adjuvants

Freund  
eau dans  
augmenter  
d'une faç  
l'huile, se  
huile dans

Le che  
incomplet  
tensioactif  
ND) et d'

De nom  
variée ont  
d'exemple

p. cent),  
p. cent) e  
p. cent). L  
dans l'huile  
d'aluminium  
vaccination  
peu de réal

Valette,  
qu'un mél  
d'huile vé  
l'activité in  
porcine, la  
salmonellos  
lanoline fur

La méth  
composition  
jouent un  
vaccins pré  
tent une ré  
préparés av  
lement, plu  
élevée est l

En médec  
lanoline, l'a

d'entre elles conservent leur propriété immunopharmacologique tout en étant dépourvues d'effets nocifs.

Bien que les essais soient encore peu nombreux en médecine vétérinaire, il est probable que cette « génération » d'immuno-adjuvants ouvre des perspectives nouvelles en matière de vaccination : obtention d'adjuvants synthétiques utilisables en solution aqueuse ou associés avec d'autres systèmes : liposomes, iscoms, permettant une dissociation plus poussée entre activité immunologique et toxicité, et susceptibles d'être couplés chimiquement à des antigènes eux aussi synthétisés.

### Adjuvants huileux

Freund (1947) a souligné l'intérêt d'émulsions, eau dans l'huile ou huile dans l'eau, pour augmenter la capacité antigénique des anatoxines : d'une façon générale les émulsions, eau dans l'huile, se révèlent plus actives que les émulsions huile dans l'eau.

Le chef de file de ce groupe est l'adjuvant incomplet de Freund (AIF), mélange d'un agent tensioactif, le mono-oléate de mannitol (Arlacel ND) et d'huile de paraffine.

De nombreux adjuvants huileux de composition variée ont été étudiés. On peut ainsi citer à titre d'exemple le Bayol F, composé de paraffine (42,5 p. cent), de naphthalène monocyclique (31,4 p. cent) et de naphthalène polycyclique (26,1 p. cent). L'adjuvant 65, qui est une émulsion eau dans l'huile d'arachide contenant du monostéarate d'aluminium, a été utilisé chez l'homme dans la vaccination contre la grippe. Cet adjuvant donne peu de réaction locale.

Valette, Joubert, Gattefossé [11] ont révélé qu'un mélange huileux de paraffine fluide et d'huile végétale accroît de façon importante l'activité immunogène de vaccins contre la peste porcine, la fièvre aphteuse et la colibacillose ou la salmonellose. Le cholestérol, la lécithine, la lanoline furent également utilisés.

La méthode de préparation, la pureté et la composition des agents utilisés dans ces émulsions jouent un rôle important : par exemple, les vaccins préparés avec de l'huile d'arachide suscitent une réponse immune plus faible que ceux préparés avec de l'huile de paraffine; généralement, plus visqueuse est la suspension, plus élevée est la réponse en anticorps.

En médecine vétérinaire, différentes huiles : la lanoline, l'aracel, la mayoline, etc., ont été

utilisées dans l'immunisation contre la paratuberculose, le charbon, la brucellose, la maladie de Newcastle, la grippe équine, la rhinopneumonie équine, l'encéphalite équine, la fièvre aphteuse chez le porc et surtout en aviculture pour la vaccination des reproducteurs (maladie de Gumboro, etc.).

Il semble également intéressant d'associer d'autres substances telles que le Tween, la vitamine E, la vitamine A, le lipide A, le tréhalose dimycolate dans la formulation des vaccins à adjuvants huileux.

Un nouveau type d'adjuvant huileux sous forme d'une émulsion d'huile dans l'eau associant lécithine, glycérine et huile d'arachide a été proposé pour la mise au point d'un vaccin contre l'encéphalomyélite vénézuélienne équine (Lipovant ND de Reynolds, 1980). L'intérêt de cet adjuvant est son absence de dépôt dans les tissus [5].

Enfin, il faut souligner que l'activité de tous ces agents est considérablement augmentée si on leur adjoint des mycobactéries ou des extraits de type MDP (adjuvant complet de Freund).

### Adjuvant complet de Freund

L'ACF, comme l'AIF, augmente de façon importante la production des anticorps et rend même immunogéniques des doses d'antigènes qui ne l'étaient pas spontanément. Les adjuvants de Freund stimulent aussi les réponses secondaires et peuvent inhiber l'induction de tolérance, ou même entraîner dans certains cas la rupture de tolérance. L'ACF peut modifier la classe des anticorps produits et en particulier il diminue la production d'IgE ce qui l'oppose à l'action d'autres adjuvants (alun, *Bordetella pertussis*).

L'ACF favorise de façon souvent spectaculaire le développement des réactions d'hypersensibilité retardée. L'ACF est d'ailleurs indispensable au développement d'une hypersensibilité retardée vis-à-vis d'antigènes simples comme les polypeptides synthétiques.

Les effets préférentiels de l'ACF sur l'immunité cellulaire et la production d'anticorps vis-à-vis d'antigènes thymodépendants incitent à penser que l'ACF stimule plus particulièrement la prolifération des lymphocytes T.

Signalons enfin qu'il a été rapporté que l'ACF stimulait les macrophages qui le phagocytent (en augmentant notamment la clairance du carbone colloïdal) ainsi que les cellules impliquées dans le



phénomène ADCC. Il augmenterait aussi la synthèse d'interféron par les macrophages [3].

L'ACF est nécessaire au développement des maladies auto-immunes expérimentales comme l'encéphalomyélite et la thyroïdite allergiques. L'injection répétée d'ACF peut en outre provoquer des arthrites.

### Agents à action de surface

Nous avons regroupé arbitrairement sous ce vocable les adjuvants dont l'activité est de favoriser la dispersion et la stabilité des molécules antigéniques par la coexistence de phases lipophiles et hydrophiles.

Il s'agit de substances à propriétés émulsifiantes, de polymères non ioniques, possédant des groupements hydrophiles et lipophiles, et de dérivés à longue chaîne de carbone de type amines aliphatiques.

Un très grand nombre de substances émulsifiantes ont la propriété d'augmenter la synthèse des anticorps. C'est le cas des hydroxydes colloïdo-métalliques, de l'alginate, de la lanoline, des sels d'ammonium quaternaire, de certains phospholipides, de la carboxyméthyl-cellulose, de certaines protéines et des dérivés sulfurés des guanidines.

Parmi toutes ces substances, un extrait de la saponaire, quillaja saponaria molina ou Quil A, est utilisé comme adjuvant en médecine vétérinaire pour des vaccins antiviraux (virus herpès, picornavirus, parvovirus,...), antiparasitaires (Babesia), antibactériens (piétin) [5].

A l'heure actuelle, son application la plus intéressante réside dans la fabrication des iscoms [8].

Les polymères associent dans la même molécule des composés hydrophiles (polyoxyéthylène,...) et hydrophobes (polyoxypropylène,...). Le pouvoir adjuvant est d'autant plus marqué que ces substances sont plus lipophiles. Un de ces composés, L 121, se révèle un adjuvant intéressant en association avec une huile minérale (Drakeol ou Eicosan) [5].

L'intérêt de ces polymères est de pouvoir s'incorporer aux adjuvants huileux en favorisant la stabilité des molécules antigéniques [6]. Ils peuvent constituer une alternative à l'adjuvant complet de Freund (copolymère de l'éthylène-vinyl acétate) [9].

Les amines aliphatiques, en particulier celles possédant une longue chaîne carbonée C16, sont de bons adjuvants mais elles sont toxiques. Dans

ce groupe, deux dérivés ont été retenus : le diméthyl-dioctadecylamine (DDA ND) et surtout le NN-dioctadecyl N'-N' bis 2-hydroxyéthylpropanediamine (Avridine ND). L'avridine s'est révélée un bon adjuvant avec divers antigènes : fièvre aphteuse, parvovirus porcin, virus de Newcastle et virus de la gastroentérite transmissible pour lequel on a noté une augmentation de l'immunité locale [5].

L'étude de ces adjuvants huileux et les améliorations apportées par les substances à action de surface ont conduit à envisager l'utilisation de porteurs pour les épitopes : ce sont les liposomes et les iscoms.

### Liposomes

Ils se présentent sous la forme de sphères microscopiques constituées des mêmes phospholipides que les membranes cellulaires. Les phospholipides forment des sphères pleines d'eau parce qu'ils sont « amphiphiles », c'est-à-dire que les molécules phospholipidiques comportent une queue hydrophobe (insoluble dans l'eau) et une tête hydrophile (soluble dans l'eau) [15].

Lors de la formation des liposomes, les substances dissoutes se retrouvent à l'intérieur du liposome, tandis que les substances liposolubles s'intègrent à la double couche lipidique; on se fonde sur ce phénomène afin de « charger » les liposomes avec divers déterminants antigéniques. Ceux-ci peuvent être simplement fixés sur la surface des liposomes par adsorption non spécifique ou peuvent s'insérer dans les couches lipidiques s'ils sont hydrophobes.

Les liposomes utilisés comme transporteurs d'épitopes favorisent la réponse humorale. Pour obtenir une réponse de type cellulaire, il est nécessaire d'associer d'autres adjuvants comme les sels d'aluminium et surtout les extraits microbiens, lipide A, dérivés du MDP (6 D-stearogyl, muramyl-dipeptide) qui s'incorporent directement par des liaisons hydrophobes (Fig. 66-1).

### Iscoms (ou complexes immunostimulants)

Les iscoms sont formés par l'association de la Quil A, qui joue le rôle de micelle porteuse, et des déterminants antigéniques fixés par des liaisons hydrophobes. Ils se présentent sous forme de particules de 35 nm de diamètre, à structure grillagée et de poids moléculaire 19 S (voir Fig. 66-1).

Figure 66  
et iscoms

Ils pr  
riser l'i  
ment hu  
des ant  
emploi  
vaccins  
biotechn  
Ainsi  
actuelle  
grippe,  
etc.). U  
est com  
Les i  
d'appro  
trovirus

MOD

Le m  
que la  
tions n  
cellules  
directer  
excrétio

retenus : le  
et surtout  
roxyéthyl-  
ridine s'est  
antigènes :  
virus de  
e transmis-  
entation de

les amélio-  
action de  
lisation de  
liposomes

de sphères  
s phospho-  
Les phos-  
ines d'eau  
-à-dire que  
portent une  
au) et une  
15].

, les subs-  
térieur du  
liposolubles  
que; on se  
arger » les  
tigiéniques.  
nés sur la  
non spéci-  
couches

ansporteurs  
orale. Pour  
ire, il est  
nts comme  
aits micro-  
-stearogyl,  
directement  
-1).

imulants)

ation de la  
porteuse, et  
ar des liai-  
s forme de  
à structure  
19 S (voir

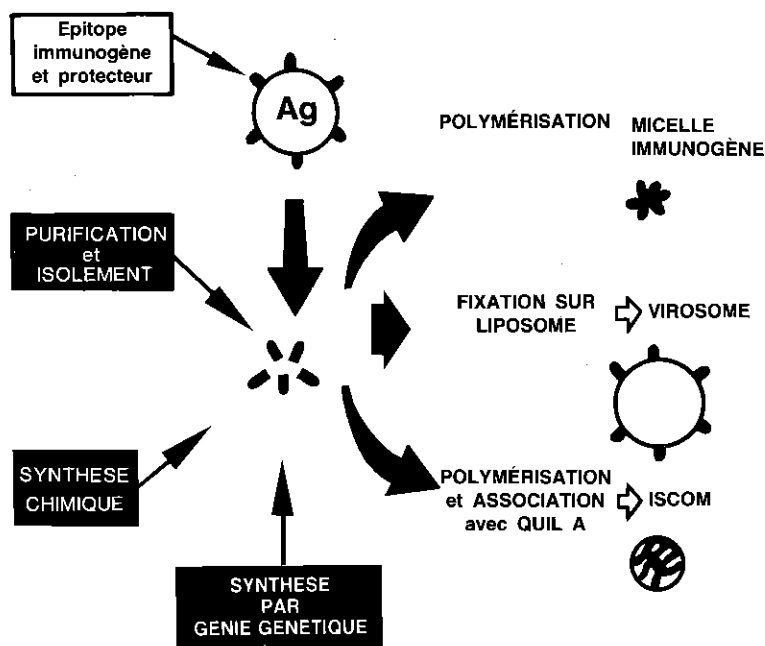


Figure 66-1 Obtention des virosomes et iscoms.

Ils présentent un intérêt particulier pour favoriser l'induction des réponses immunes non seulement humorale mais également cellulaire à l'égard des antigènes de faible poids moléculaire et leur emploi semble prometteur dans le domaine des vaccins sous-unités issus des progrès de la biotechnologie [7].

Ainsi, de nombreux vaccins expérimentaux sont actuellement à l'étude (leucose féline, rougeole, grippe, maladie des muqueuses, toxoplasmes, etc.). Un vaccin de ce type contre la grippe équine est commercialisé en Suède.

Les iscoms constituent certainement une voie d'approche dans la production des vaccins antirétrovirus [8] et antiparasitaires.

## MODE D'ACTION

Le mode d'action est d'autant plus complexe que la réaction immunitaire met en jeu des interactions multicellulaires au cours desquelles les cellules peuvent se transmettre des messages directement par contact, ou indirectement par exécution de médiateurs.

On peut considérer que les adjuvants agissent à deux niveaux : sur l'antigène et au niveau cellulaire (Fig. 66-2).

## Actions sur les antigènes

Les adjuvants peuvent modifier soit la molécule de l'antigène soit sa métabolisation [11].

Dans le premier cas, l'action de l'adjuvant s'exerce sur le caractère immunogène, sans modifier la spécificité de l'épitope. Cette action est encore mal connue, mais l'antigène et l'adjuvant doivent être intimement liés avant leur injection. L'effet adjuvant se confond avec l'effet porteur, nécessaire à une meilleure présentation des épitopes aux cellules immunocompétentes (virosomes, Quil A et iscoms, polymères).

Ce phénomène peut s'accompagner de changements conformationnels et de modifications de la charge électrique globale de la molécule antigénique.

Dans le deuxième cas, l'adjuvant modifie le devenir de l'antigène, soit en favorisant son maintien au point d'inoculation (effet dépôt), soit en modifiant sa localisation, soit en jouant sur son catabolisme par les cellules phagocytaires.

Le rôle des adjuvants comme l'hydroxyde

Tableau 66-1

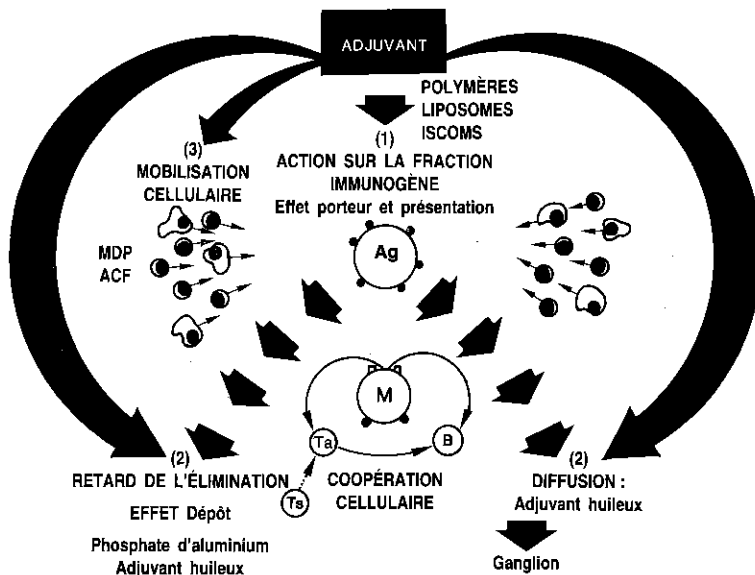


Figure 66-2 Principaux modes d'action des adjuvants.

- Ag = Antigène
- M = Macrophage
- B = Lymphocyte B
- Ta = Lymphocyte T auxiliaire
- Ts = Lymphocyte T suppresseur
- Adjuvant
- Epitope

d'aluminium ou celui des adjuvants huileux est de favoriser le maintien de l'antigène au point d'inoculation, phénomène qui s'accompagne d'un relargage lent de l'antigène dans la circulation sanguine et lymphatique et qui se traduit par l'apparition d'une réaction inflammatoire non nécessaire mais favorable à la stimulation des cellules immunocompétentes [2].

Les adjuvants minéraux et certains adjuvants huileux provoquent, lorsqu'ils sont injectés avec l'antigène, un véritable granulome inflammatoire (Tableau 66-1).

Les adjuvants huileux permettent en outre la dispersion de l'antigène à travers le système lymphatique à partir de multiples microfoyers formés par les gouttelettes de l'émulsion eau dans l'huile.

Cependant, le rôle des adjuvants ne se borne pas à réaliser une simple modification physique de l'antigène ou à favoriser l'apparition d'un granulome au point d'injection. Ils interviennent dans les interactions cellulaires impliquées dans la réponse immune [10].

Tableau 66-1 Mode d'action des principaux adjuvants.

	Réaction locale			Réaction focale	Caractères de la réponse immune	Principaux effets	Commentaires
	Persistance de l'antigène	Réaction cellulaire	Persistance de la réaction				
Antigène en solution aqueuse	Transitoire	Polynucléaires neutrophiles	Transitoire	Réaction ganglionnaire	Réponse humorale type IgM		
Antigène et sels minéraux	2-3 semaines au centre du granulome	Granulome immunogène (macrophages, lymphocytes, plasmocytes)	Réaction plasmocytaire pendant 2 mois	Cellules plasmocytaires dans ganglions satellites	Réponse humorale de type secondaire	Libération lente de l'antigène. Modification de l'antigène (charge)	Capacités d'absorption adjuvant-Ag : fonction concentration, pH, sels et ions. Intérêt du phosphate de calcium

Antigène et adjuvant huileux (AIF-P65)

Antigène et adjuvant complet de Freund (ACF)

*Bordetella pertussis*

Vitamine A  
Silice  
Sels de Béryllium

Vitamine E

Avridine

QUIL A

Polymères surfactants

Acides polyribonucléiques

Tableau 66-1 Mode d'action des principaux adjuvants (suite).

	Réaction locale			Réaction focale	Caractères de la réponse immune	Principaux effets	Commentaires
	Persistance de l'antigène	Réaction cellulaire	Persistance de la réaction				
Antigène et adjuvant huileux (AIF-P65)	Plusieurs mois	Léger granulome (macrophages, lymphocytes et nombreux plasmocytes)	Plusieurs mois	Dépôt antigène dans ganglions, rate, poumons	Réponse humorale de type secondaire	Libération lente de l'antigène. Diffusion. Présentation antigène par les micelles lipidiques	Doit être biodégradable; huile d'origine minérale plus efficace. Réaction locale doit être limitée
Antigène et adjuvant complet de Freund (ACF)	Plusieurs mois	Granulome important (prolifération de cellules épithélioïdes et géantes). Peu de plasmocytes	Plusieurs mois	Granulome dans organes lymphoïdes périphériques	Réponse de type IgG. Réponse de type cellulaire	Effet dépôt, diffusion. Activation macrophages, LT. Plasmocytome. Rupture tolérance	Mycobactéries peuvent être remplacées par MDP, polymères
<i>Bordetella pertussis</i>					Sécrétion IgE		
Vitamine A Silice Sels de Béryllium					Réponse humorale	Activation des macrophages (fragilisation de la membrane lysosomiale)	Sels de Béryllium toxiques
Vitamine E					Réponse humorale	Activation des macrophages et coopération cellulaire	Pas d'action sur la réponse immune cellulaire
Avridine						Inducteur interféron. Activation macrophages (IL1)	Association avec liposomes
QUIL A					Réponse humorale	Solubilisation des molécules hydrophobes. Activation des LB	ISCOMS = association antigènes d'enveloppe et QUIL A = réponses humorale et cellulaire
Polymères surfactants					Réponse humorale	Coexistence entre phases lipophile et hydrophile	Association avec adjuvants huileux
Acides polyribonucléiques					IgG et IgE	Activation LT cytotoxique, macrophages, cellules NK, inducteur interféron	Toxicité

## Actions sur les cellules

Les adjuvants sont actifs sur tous les types de cellules du système lymphoïde, lymphocytes B (endotoxines-corynébactéries), lymphocytes T (ACF) et surtout macrophages.

Ainsi la vitamine A, la silice, les sels de béryllium, *B. pertussis*, exercent leur activité adjuvante par une action sur les membranes lysosomiales des cellules phagocytaires [10].

L'ACF, le MDP, l'avridine, le DEAE dextran induisent une augmentation des sécrétions d'interleukine 1 par les macrophages. Il en résulte que les cellules T auxiliaires (CD4) synthétisent et sécrètent davantage d'interleukine 2 ou d'autres facteurs lymphocytaires, incitant les cellules B à produire plus d'anticorps et, d'autres sous-populations de cellules T, à manifester des réactions comme la cytotoxicité. Outre l'amplification de la réponse immune résultant de l'expansion des cellules T auxiliaires, on pense qu'il y a, dans une certaine mesure, inhibition de la suppression [4].

Au niveau moléculaire, les adjuvants exercent très probablement une action membranaire, susceptible de favoriser les interactions entre les cellules immunocompétentes et d'induire la synthèse accrue de molécules régulatrices du type des interleukines [1].

## CONCLUSION

Les adjuvants de l'immunité sont représentés par des substances d'origines très diverses dont il est impossible de dresser une liste exhaustive. Ils sont susceptibles de modifier la synthèse des anticorps ainsi que l'expression de la sensibilité retardée et de la tolérance immune.

Cependant ils peuvent avoir, au niveau du système immunitaire, des effets variables, allant de l'immunostimulation à l'immunodépression, ou même n'avoir aucune influence sur la réactivité immune de l'hôte. Ainsi, le choix d'un adjuvant est-il d'autant plus difficile que son effet *in vivo* dépend de nombreux facteurs, soulignant tout particulièrement l'étroite interrelation entre l'hôte, l'antigène et l'adjuvant lui-même. La nature et la dose de l'antigène et de l'adjuvant utilisés, le moment et la voie de leur administration, l'asso-

ciation d'adjuvants différents, le mode de préparation du vaccin, le nombre d'inoculations vaccinales, l'espèce et même l'individu sont des facteurs qui peuvent influencer, d'une manière ou d'une autre, la réponse immune spécifique de l'hôte. Chaque adjuvant offre des avantages et des inconvénients; il est donc peu probable qu'un seul adjuvant puisse jamais être employé dans toutes les procédures de vaccination.

## BIBLIOGRAPHIE

1. ARCHAMBAULT D, MORIN G, ELHAZARY MSAY. Adjuvants et stimulants de l'immunité : propriétés immunorégulatrices du muramyl-dipeptide, des corynébactéries anaérobies et du diéthylthiocarbamate de sodium. *Can Vet J*, 1988, 29 : 51-58.
2. BALOUET G, LEVADITI JC, RELYVELD E. Le « granulome immunogène » : histopathologie expérimentale des lésions liées à des injections vaccinales associées à divers adjuvants de l'immunité. *Bull Inst Pasteur*, 1975, 73 : 383-409.
3. BACH JF. Adjuvants et Immunostimulants. *In* : Immunologie, chapitre 3.5, 3<sup>e</sup> édition, Flammarion Ed., 1986.
4. CHEDID L. Adjuvants of Immunity. *Ann Inst Pasteur*, 1985, 136 D : 283-291.
5. DALSGAARD. Adjuvants. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987, 17 : 145-152.
6. HUNTER R, STRICKLAND F, KEZDY F. The adjuvant activity of nonionil block polymer surfactants. 1) The role of hydrophile-lipophile balance. *J Immunol*, 1981, 127 : 1244-1250.
7. MOREIN B, SIMONS K. Subunit vaccines against enveloped viruses : virosomes, micelles and other protein complexes. *Vaccine*, 1985, 3 : 83-93.
8. MOREIN B, SUNDQUIST B, HOGLUND S et al. Iscom, a novel structure for antigenic presentation of membrane proteins from enveloped viruses. *Nature*, 1984, 308 : 457-460.
9. NIEMI SM, FOX JG, BROWN LR et al. Evaluation of Ethylene-Vinyl acetate Copolymer as a Non-Inflammatory Alternative to Freund's Complete Adjuvant in Rabbits. *Lab Anim Sci*, 1985, 35 : 609-612.
10. OSEBOLD JW. Mechanisms of action by immunologic adjuvants. *JAVMA*, 1982, 181 : 983-987.
11. PARAF A. Mécanisme d'action des adjuvants de l'immunité. *Ann Inst Pasteur*, 1970, 118 : 419-441.
12. RAMON G. Sur l'augmentation anormale de l'antitoxine chez les chevaux producteurs de sérum antidiphthérique. *Soc Centr Med Vet*, 1925, 101 : 227.
13. RAMON G. Les substances adjuvantes et stimulantes de l'immunité. Bases; étude expérimentale; applications. *Rev Path Gen Comp*, 1957, 57 : 1-70.
14. RELYVELD EH, LEVADITI JCC, RAVISSE P. Adjuvants minéraux. *Med Mal Inf*, 1978, 8 : 494-499.
15. ROUSE BT. Liposomes as carriers of antigens as well as other molecules involved in immunity. *FAVMA*, 1982, 181 : 988-991.

F. Blecha

Les im  
d'origine  
à-dire au  
immune.  
des subst  
qui augm  
seconde p  
lées imm

IMMU

Lévamis

Le léva  
anthelmin  
cine vétér  
porc, et d  
également

e prépara-  
oculations  
u sont des  
manière ou  
ificque de  
ges et des  
qu'un seul  
ans toutes

SAY. Adju-  
s immunoré-  
ynébactéries  
sodium. Can

« granulome  
e des lésions  
es à divers  
1975, 73 :

n : Immuno-  
Ed., 1986.  
Inst Pasteur,

munopathol,

The adjuvant  
. 1) The role  
1981, 127 :

gainst enve-  
ther protein

al. Iscom, a  
of membrane  
1984, 308 :

valuation of  
inflammatory  
in Rabbits.

immunologic

adjuvants de  
419-441.

: l'antitoxine  
idiphtérique.

imulantes de  
ications. Rev

P. Adjuvants  
)

ns as well as  
VMA, 1982,

F. Blecha, A. Govaerts, P.-P. Pastoret, O. Barta

## IMMUNOMODULATION

Les immunomodulateurs sont des substances d'origine variée [13] qui peuvent moduler, c'est-à-dire augmenter ou déprimer, la réponse immune. La première partie de ce chapitre traitera des substances, appelées immunopotentiateurs, qui augmentent la capacité de réponse. La seconde partie sera dévolue aux substances, appelées immunodépresseurs, qui diminuent celle-ci.

### IMMUNOPOTENTIATEURS

#### Lévamisole et thiabendazole

Le lévamisole [6] et le thiabendazole sont deux anthelminthiques couramment utilisés en médecine vétérinaire, notamment chez les bovins et le porc, et dont les effets immunomodulateurs ont également été exploités.

L'effet immunostimulant du lévamisole a été observé pour la première fois par Renoux et Renoux en 1971. Depuis cette première observation d'une augmentation de la réponse envers *Brucella abortus* après vaccination de souris traitées au lévamisole [11], plusieurs auteurs ont proposé des hypothèses sur le mécanisme d'action du lévamisole en tant qu'immunomodulateur [12]. Mais si l'effet immunopotentiateur du lévamisole ne semble pas faire de doute, son efficacité chez les bovins dépend étroitement de l'état physiologique de l'animal au moment du traitement (cette molécule paraît particulièrement active chez les animaux stressés ou immunocompromis), de la dose utilisée et du moment de l'administration. Le lévamisole administré à raison de 6 mg/kg à des veaux non stressés au moment de la vaccination provoque une diminution des réponses humorale et cellulaire envers le *Bovine herpesvirus 1* (virus de la rhinotrachéite infectieuse bovine). Néanmoins si cette administration est faite, avec une dose identique, à des veaux qui viennent de subir

un transport, on observe une augmentation de la réponse humorale [1].

D'autres résultats contradictoires ont également été obtenus. On a, par exemple, montré que l'administration de lévamisole diminuait la réponse primaire mais augmentait la réponse secondaire de porcs à l'égard d'érythrocytes de mouton. En outre l'administration de lévamisole ne corrige pas l'effet immunodépresseur des glucocorticoïdes comme la dexaméthasone, contrairement au thiabendazole.

Chez l'homme, le lévamisole a montré une certaine activité dans l'immunothérapie du cancer mais sa toxicité pour les polynucléaires, responsable de leucopénies graves, représente une contre-indication que ne compense pas un effet immunopotentiateur incertain.

Dès lors, en dépit du fait que le lévamisole et le thiabendazole ont, dans certaines expériences, montré une réelle efficacité comme immunopotentiateurs, leur indication en tant qu'immunomodulateurs chez les animaux est limitée dans la pratique par les effets parfois contradictoires observés et par l'importance critique de la dose et du moment de l'administration.

### Imuthiol

Les effets inconstants du lévamisole sur les fonctions des lymphocytes T ont orienté les recherches vers des agents dépourvus d'effets inhibiteurs. Le diéthylthiocarbamate de sodium ou imuthiol est un immunomodulateur qui stimule remarquablement les fonctions des lymphocytes T in vivo. Les effets de l'imuthiol ne paraissent pas dépendre du temps ni de la dose, contrairement à ceux du lévamisole. Les animaux immunodéprimés, traités par l'imuthiol, récupèrent des fonctions lymphocytaires T normales.

L'imuthiol augmente les réponses lymphoprolifératives aux antigènes et aux mitogènes, et la production d'interleukine 2 (après une période initiale de dépression); il induit la formation de lymphocytes Tc et accroît l'activité NK. Il a aussi, dans plusieurs études, accru la réponse humorale après vaccination contre l'influenza et est actuellement utilisé dans le traitement du SIDA.

### Avridine

L'avridine est une amine (N,N-dioctadecyl-N', N'-bis [2-hydroxyéthyl] propanediamine),

auparavant désignée sous le sigle CP20, 961, qui présente des propriétés d'inducteur de l'interféron [8].

Les neutrophiles de veau traités in vivo par de l'avridine encapsulée dans des liposomes présentent une activité bactéricide accrue à l'égard d'*Escherichia coli*, de *Pasteurella multocida* et de *Staphylococcus aureus*, de même qu'une meilleure lymphoprolifération en réponse aux mitogènes. En outre, l'avridine permet de redresser certains effets immunodépresseurs de la dexaméthasone. Cependant le traitement par l'avridine provoque une réponse inflammatoire aiguë et une hyperthermie transitoire.

### Isoprinosine

L'isoprinosine [10] est un composé synthétique d'inosine et du p-acétamidobenzoate de N-N-diméthylamine-2-propanolol qui augmente la prolifération lymphocytaire induite par les antigènes et les mitogènes, accroît la production des interleukines 1 et 2 et stimule les fonctions des macrophages. Chez l'homme, il semble accroître l'activité NK à différents stades évolutifs du SIDA, quoique ses effets in vivo soient moins nets que ceux observés in vitro.

Les études réalisées chez le porc et les bovins notamment ont fourni des résultats parfois contradictoires. Cette molécule permet en effet de compenser les effets immunodépresseurs d'un état de stress chez le porc alors qu'elle est sans effet chez les bovins soumis à une inoculation d'épreuve par le *Bovine herpesvirus 1* [3].

### Cytokines (voir chapitre 11)

Certaines cytokines produites par les techniques de l'ingénierie génétique étant actuellement disponibles en grande quantité sous forme purifiée, leurs effets immunomodulateurs ont été étudiés dans différentes espèces dont l'homme, les bovins et le porc. Les principales molécules étudiées sont les interférons et l'interleukine 2.

Chez l'homme, l'interféron  $\alpha$  a été utilisé avec succès dans la leucémie myéloïde chronique, entraînant des rémissions complètes avec disparition du chromosome de Philadelphie dans plus de deux tiers des cas. L'hépatite B chronique et surtout l'hépatite non A-non B ont aussi montré des améliorations spectaculaires.

L'interféron recombinant humain  $\alpha_2$  [14] et le recombinant bovin  $\alpha_1$  [2] ont été utilisés chez les

bovins pour *Bovine herpesvirus 1*. L'interféron n'exerce pas d'effet sur la réponse virale in vivo du virus à l'égard de la réponse à surmonter *Pasteurella multocida*. même si, d'ailleurs, n'exercent aucun effet sur l'interféron. L'effet immunodépresseur résulte de la présence d'antigènes alvéolaires.

Les effets immunodépresseurs de l'administration d'infection par le *pleuropneumoniae*.

D'autres études ont montré que les bovins pourvus d'IL-2 recevant un vaccin contre le *herpesvirus 1* ont une meilleure réponse à l'épreuve. L'effet est confirmé par un test de stress par 6 chez les bovins de la vaccination supporté l'interféron non traité. L'effet de l'IL-2 s'accroît d'autant plus qu'il est combiné avec d'autres

### Vitamines

L'effet de la vitamine fait l'objet de nombreuses études nutritionnelles et de l'état de déficience. L'usage de vitamines supérieures permet de moduler la réponse.

Ainsi la vitamine augmente-t-elle l'activité des neutrophiles et des lymphocytes T. La vitamine C peut augmenter la réponse à l'injection et le sélectif, notamment

bovins pour le traitement de l'infection par le *Bovine herpesvirus 1*. Le traitement par l'interféron n'exerce aucun effet direct sur la multiplication virale in vivo et n'empêche pas l'installation du virus à l'état latent, mais semble aider l'animal à surmonter les surinfections comme celle par *Pasteurella haemolytica*, ce qui suggère que, même si, dans ce cas, les interférons utilisés n'exercent aucun effet antiviral direct, ils peuvent intervenir par leurs effets immunorégulateurs. L'effet immunomodulateur pourrait notamment résulter de l'amplification d'expression d'antigènes du CMH (I) sur les macrophages alvéolaires.

Les effets de l'administration d'IL-2 recombinante humaine ont été étudiés chez le porc; cette administration augmente la réponse immune lors d'infection ou de vaccination par *Haemophilus pleuropneumoniae*.

D'autres expériences ont été conduites chez les bovins pour mesurer l'effet de l'administration d'IL-2 recombinante bovine sur des bovins vaccinés contre l'infection par le *Bovine herpesvirus 1* [4], puis soumis à une inoculation d'épreuve. La réponse immune humorale mesurée par un test de séroneutralisation était multipliée par 6 chez les bovins traités par l'IL-2 au moment de la vaccination et ces animaux ont mieux supporté l'inoculation d'épreuve que des témoins non traités. Malheureusement l'administration d'IL-2 s'accompagne d'effets secondaires indésirables aux doses utilisées.

### Vitamines et minéraux

L'effet de la nutrition sur la réponse immune fait l'objet du chapitre 40, mais l'association entre nutrition et réponse immune ne se limite pas aux états de déficits sévères ou modérés; par exemple, l'usage de vitamines et de minéraux à des doses supérieures à la normale a été recommandé pour moduler la réponse immune.

Ainsi la vitamine C administrée à des bovins augmente-t-elle le métabolisme oxydatif des neutrophiles et la réaction de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps à laquelle ces neutrophiles participent. L'administration de vitamine C permettrait également de réduire dans une certaine mesure l'immunodépression provoquée par l'injection de glucocorticoïdes. La vitamine E et le sélénium exercent également un effet, notamment en augmentant la réponse humorale.

## IMMUNODÉPRESSEURS

Très largement utilisés en transplantation d'organes, greffe de moelle osseuse et dans le traitement de nombreuses maladies auto-immunes, les agents immunodépresseurs se répartissent en plusieurs catégories: thiopurines, agents alkylants, antibiotiques, corticostéroïdes, immunoglobulines antilymphocytes ou antithymocytes, anticorps monoclonaux anti-récepteurs T, irradiation.

### Thiopurines

Ce sont des analogues de l'hypoxanthine qui comportent principalement la 6-mercaptopurine (6-MP) et son dérivé nitro-imidazolé, l'azathioprine [9]. L'azathioprine, dont la molécule est dégradée en 6-MP dans le foie, bloque la synthèse de l'ADN par substitution moléculaire en remplaçant l'adénine (6-aminopurine), interfère avec la synthèse de novo des purines et inhibe plusieurs enzymes intervenant dans le métabolisme des acides nucléiques. Agissant pendant la phase S du cycle cellulaire, elle empêche l'activation des lymphocytes T et entrave le processus de reconnaissance de l'antigène. Son action porte donc surtout sur la fonction lymphocytaire T et elle déprime particulièrement l'immunité de greffe et l'hypersensibilité retardée, alors que la réduction de la synthèse des anticorps est beaucoup moins évidente. Elle entraîne une lymphopénie et une neutropénie modérées.

### Agents alkylants

Ils établissent des liaisons entre les nucléotides des chaînes d'ADN. Parmi eux, la cyclophosphamide est l'un des plus puissants immunodépresseurs chimiques. Elle peut réduire considérablement la synthèse d'anticorps et induire une tolérance à l'égard de nombreux antigènes. Son action sur l'immunité cellulaire est moins puissante, bien qu'elle soit très toxique pour les cellules en cours de différenciation et de prolifération.

A titre expérimental, des veaux recevant 5 mg/kg/2 jours de cyclophosphamide montrent une réduction importante du taux d'immunoglobulines et d'anticorps spécifiques. Chez le poulet, seules des doses très élevées (50 mg/kg pendant 3 jours) ont un effet sur le poids du thymus et la réponse immune secondaire en réduisant le taux des IgA et des IgG.



## Antibiotiques

Dans ce groupe, c'est la cyclosporine [5, 7], polypeptide composé de 11 acides aminés, qui est le principal immunodépresseur utilisé pour la prévention du rejet des transplants et greffons allogéniques. Sa synthèse chimique, réalisée en 1980, n'est pas encore appliquée à la production industrielle, toujours réalisée par culture du champignon (*Tolypocladium inflatum* Gams) et purification consécutive.

La molécule comporte un acide aminé jusqu'alors inconnu, la méthyl-butényl-N-méthyl-L-thréonine, et son activité immunodépresseive dépend de la liaison de cet acide aminé avec ses deux voisins, l'acide  $\alpha$ -aminobutyrique et la méthylvaline. La cyclosporine diffuse dans le cytoplasme des lymphocytes T, se lie à la cyclophiline et le complexe formé bloque l'activation du gène de l'interleukine 2, empêchant la synthèse de cette cytokine et l'activation des lymphocytes CD4.

L'action de la cyclosporine est donc très sélective (elle ne porte que sur les CD4, à un stade très précoce de la réponse immune) et réversible. Utilisée à raison de 17 mg/kg/jour elle n'est que peu toxique mais le surdosage prolongé provoque des lésions vasculaires et rénales. La cyclosporine a, chez l'homme, permis le remarquable développement de la transplantation rénale, l'essor de la transplantation des autres organes et de la greffe de moelle osseuse ainsi que d'intéressants résultats dans le traitement de plusieurs maladies auto-immunes. Elle n'est guère utilisée en médecine vétérinaire en dépit d'études fructueuses réalisées chez le chien notamment.

## Corticostéroïdes

Initialement reconnus comme médicaments anti-inflammatoires, les corticostéroïdes possèdent une puissante activité immunodépresseive et sont très largement utilisés à cet effet tant en médecine humaine que vétérinaire. Les corticostéroïdes se lient à l'ADN, par l'intermédiaire d'un récepteur cellulaire, et bloquent ainsi l'expression génique et la synthèse de l'ARN messager de nombreux peptides impliqués dans les réactions inflammatoire et immune. L'expression des antigènes d'histocompatibilité de classe II par les cellules présentatrices de l'antigène (CPA) est ainsi sensiblement réduite par les corticostéroïdes, de même que la production d'interleukine 1 par les macrophages et celle d'interleukine 6 et de TNF

(Facteur nécrosant des tumeurs) par les lymphocytes T activés. Les corticostéroïdes sont aussi responsables d'une redistribution des lymphocytes [et particulièrement des T(CD4<sup>+</sup>)] dans le compartiment extravasculaire et probablement d'une stimulation des lymphocytes T suppresseurs.

Il en résulte qu'une injection unique d'une dose élevée de corticostéroïdes entraîne une réduction sensible mais transitoire (environ 18 heures) du nombre des lymphocytes T (surtout CD4<sup>+</sup>) et B circulants, ainsi que des monocytes et éosinophiles. La fonction phagocytaire des monocytes, macrophages et polynucléaires neutrophiles est entravée et la synthèse des IgG est diminuée. Outre ces propriétés immunodépresseives, les corticostéroïdes ont une puissante activité anti-inflammatoire liée notamment à leur action inhibitrice sur la libération d'enzymes protéolytiques par les lysosomes et d'amines vasoactives par les mastocytes.

Les corticostéroïdes jouent donc un rôle important dans la prévention du rejet des allotransplants et dans le traitement de nombreuses maladies auto-immunes. Leur administration, à doses élevées et pendant des temps prolongés, présente cependant de très sérieux inconvénients qui obligent, en transplantation d'organes, à limiter leurs indications au traitement momentané du rejet aigu, tandis que la prévention continue de ce rejet est principalement assurée par la cyclosporine et, en pathologie auto-immune, à recourir à des associations médicamenteuses.

## Globulines antilymphocytes (GAL) ou antithymocytes

Ce sont des anticorps généralement obtenus chez le cheval ou le lapin par injections répétées de lymphocytes ou de thymocytes humains cultivés *in vitro*. Elles ont été très utiles en transplantation d'organes avant la découverte de la cyclosporine, et demeurent intéressantes dans le traitement aigu des crises de rejet.

Ces immunoglobulines se fixent sur les récepteurs lymphocytaires de surface, interférant ainsi avec le mécanisme de reconnaissance de l'antigène et entraînant l'opsonisation des lymphocytes, perceptible par la technique d'immunofluorescence. La phagocytose des lymphocytes opsonisés ne joue, cependant, qu'un rôle secondaire car la lymphopénie n'est que modérée sous traitement par les GAL qui d'ailleurs ne sont pas

## Anticorp

Quelqu  
parés, dir  
molécule  
phocytes  
entraîne u  
d'une lysi  
lymphopé  
et durable  
après une  
pagnée de  
TNF qui  
rables. C  
s'observen  
tement, et  
de globuli

La préve  
clonaux di  
cytaires sé  
l'IL-2, est

## Autres m

Certaines  
cours d'étu  
15-dexyspe

## Irradiation

Avec ou  
elle est indi  
tations, de  
giques, et a  
diation par  
entre les de  
séparation d  
leuco-lymph  
digestifs gra  
infections s  
l'irradiation

## BIBLIOGR

Références gé  
BACH JF, STR  
pressive ager

lymphocy-  
sont aussi  
ymphocytes  
dans le  
obablement  
T suppres-

d'une dose  
e réduction  
heures) du  
D4<sup>+</sup>) et B  
s et éosi-  
taire des  
éaires neu-  
es IgG est  
immunodé-  
e puissante  
ment à leur  
d'enzymes  
d'amines

rôle impor-  
transplants  
s maladies  
doses éle-  
, présente  
nients qui  
, à limiter  
né du rejet  
de ce rejet  
sporine et,  
rir à des

L)  
nt obtenus  
épétées de  
as cultivés  
plantation  
cyclosporine,  
ment aigu

les récep-  
érant ainsi  
sance de  
des lym-  
l'immuno-  
phocytes  
rôle secon-  
dérée sous  
e sont pas

dénuées d'inconvénients : thrombopénie et sensibi-  
lisation aux protéines hétérologues entraînant  
une maladie sérique.

### Anticorps monoclonaux

Quelques anticorps monoclonaux ont été pré-  
parés, dirigés notamment contre un épitope de la  
molécule CD3 associée aux récepteurs des lym-  
phocytes T pour l'antigène. Leur injection *in vivo*  
entraîne une opsonisation des lymphocytes suivie  
d'une lyse dépendante du complément et une  
lymphopénie subséquente qui peut être importante  
et durable. Les lymphocytes CD3<sup>+</sup> sont inactivés  
après une brève phase de stimulation accom-  
pagnée de la libération de cytokines, telles que le  
TNF qui provoque des effets secondaires indési-  
rables. Ces concentrations élevées de TNF  
s'observent pendant les premiers jours du trai-  
tement, et il en est de même après administration  
de globulines antithymocytes.

La prévention du rejet par des anticorps mono-  
clonaux dirigés contre certains épitopes lym-  
phocytaires sélectionnés, par exemple le récepteur de  
l'IL-2, est certainement une méthode prometteuse.

### Autres molécules immunodépressives

Certaines d'entre elles sont actuellement en  
cours d'étude : il en est ainsi du FK506 et du  
15-dexyspergalin.

### Irradiation lymphoïde totale

Avec ou sans préservation de la moelle osseuse,  
elle est indiquée dans certains cas d'allotransplan-  
tations, de néoplasies lymphoïdes et hématolo-  
giques, et avant greffe de moelle osseuse. L'irra-  
diation par rayons X induit la formation de ponts  
entre les deux chaînes de l'ADN et empêche la  
séparation des chromosomes à l'anaphase. Une  
leuco-lympho-thrombopénie sévère, des troubles  
digestifs graves et une extrême sensibilité aux  
infections sont les principales complications de  
l'irradiation totale.

### BIBLIOGRAPHIE

#### Références générales

BACH JF, STROM TB. The mode of action of immunosup-  
pressive agents. Elsevier 1985.

- BARTA O, BARTA V. Immunodeficiencies and immunosuppres-  
sions in domestic animals. Monographs on Veterinary  
Clinical Immunology, n° 1. Blacksburg, Virginia, 1989.
- BLECHA F. Stress and immunity in farm animals. *Rec Med  
Vet*, 1988, in press.
- BOREL JF. The cyclosporins. *Transpl Proc*, 1989, 21 :  
810-815.
- FENICHEL RL, CHIRIGOS MA. Immune modulation agents and  
their mechanisms. Marcel Dekker, Inc., New York, 1984.
- KELLEY KW. Stress and immune function : a bibliographic  
review. *Ann Rech Vet*, 1980, 11 : 445.
- KENDE M, GAINER J, CHIRIGOS M. Chemical regulation of  
immunity in veterinary medicine. Alan R. Liss, Inc., New  
York, 1984.
- MULCAHY G, QUINN PJ. A review of immunomodulators and  
their application in veterinary medicine. *J Vet Pharmacol  
Therapeut*, 1986, 9 : 119-139.
- REVILLARD JP, VINCENT C, BONNEFOY N et al. Immunosup-  
pression by antilymphocyte antibodies. What did we learn  
from ALG, ATG and monoclonal antibodies ? *Transplant  
Clin Immunol*. In : JL Touraine et al. (Eds), *Excerpta  
Medica*, 1989, 20 : 21-24.
- SYMOENS J, ROSENTHAL M. Levamisole in the modulation of  
the immune response : the current experimental and clinical  
state. *Res J Reticuloendothel Soc*, 1977, 21 : 175.

#### Références

- BABIUK LA, MISRA V. Effect of levamisole in immune  
responses to bovine herpesvirus-1. *Amer J Vet Res*, 1982,  
43 : 1349.
- BABIUK LA, BIELEFELDT OHMANN H, GIFFORD G et al.  
Effect of bovine  $\alpha_1$  interferon on bovine herpesvirus type  
1-induced respiratory disease. *J Gen Virol*, 1985, 66 :  
2383.
- BLECHA F, ANDERSON GA, OSORIO SK et al. Influence of  
isoprinosine on bovine herpesvirus type-1 infection in  
cattle. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987a, 15 : 253.
- BLECHA F, ANDERSON GA, MINOCHA HC et al. Bovine  
recombinant interleukin-2 increases immunity in bovine  
herpesvirus vaccinated and challenged calves. *Conf Res  
Workers Anim Dis*, 1987b, 68 : 295.
- BLOEMENA E, VAN LIER RAW, VAN OERS MHJ et al.  
The effects of prednisolone and cyclosporin A on  
monocyte-dependent and independent human T-cell proli-  
feration *in vitro*. *Transpl Proc*, 1989, 21 : 861-865.
- BRUNNER CJ, MUSCOPLAT CC. Immunomodulatory  
effects of levamisole. *J Amer Vet Med Assoc*, 1980,  
176 : 1159.
- FOXWELL BMJ, WONG WC, BOREL JF et al. A compa-  
rison of cyclosporine binding by cyclophilin and calmo-  
dulin. *Transpl Proc*, 1989, 21 : 873-875.
- HOFFMAN WW, KORST JJ, NIBLACK JF. N, N-Diocta-  
decyl-N', N'-bis (2-hydroxyethyl) propanediamine : anti-  
viral activity and interferon stimulation in mice. *Antimi-  
crob Agents Chemother*, 1973, 3 : 498.
- HOMO-DELARCHE F, BACH JF, DARDENNE et al. *In vitro*  
inhibition of prostaglandin inhibition by azathioprine and  
6-mercaptopurine. *Prostaglandins*, 1988, 35 : 479-491.
- O'NEILL BB, GINSBERG T, HADDEN J. Immunopharmacolo-  
gy of the hypoxanthine containing compounds isopri-  
nosine and NPT 15392. In : N Kende, J Gainer, M  
Chirigos (Ed.). *Chemical regulation of immunity in  
veterinary medicine*. Alan R. Liss, New York, 1984,  
pp. 525-541.

11. RENOUX G, RENOUX M. Effet immunostimulant d'un imidothiazole sur l'immunisation des souris par *Brucella abortus*. CR Acad Sci Paris, 1971, 269 D : 1467.
12. RENOUX G, RENOUX M. Diethyldithiocarbamate (DTC) a biological augmenting agent specific for T cells. In : RL Fenichel, MA Chirigos (Ed.). Immune modulation agents and their mechanisms. Marcel Dekker, Inc., New York, 1984, pp. 7-20.
13. ROTH JA, KAEBERLE ML. In vivo effect of ascorbic acid on neutrophil function in healthy and dexamethasone-treated cattle. Amer J Vet Res, 1985, 46 : 2434.
14. VANDEN BROECKE C, PIRAK M, THIRY E et al. Use of recombinant human interferon (Hu-IFN $\alpha_2$ ) in bovine herpesvirus 1 infection in cattle. In : P-P Pastoret, E Thiry, J Saliki (Ed.). Commission of the European Communities. Report EUR 9737 EN. Immunity to herpesvirus infections of domestic animals, 1985, pp. 303-316.

P. Desme

Largement  
grandes en  
prévention  
tion perme  
moyen d'a  
spécifiques  
et bactérie

La déco  
ment très  
Perses ava  
temps rec  
variologique  
récidive. Il  
de confère  
pratiquant  
tion à des  
pustules va  
bénignes.

La vario  
de risque,  
en 1776, l'  
Il avait en  
ferme viva

P. Desmettre, G. Chappuis

## VACCINS ET VACCINATION

Largement utilisée dans la lutte contre les grandes enzooties et plus généralement dans la prévention des maladies infectieuses, la vaccination permet de protéger l'animal en activant, au moyen d'antigènes appropriés, ses mécanismes spécifiques de défense contre les infections virales et bactériennes ou les infestations parasitaires.

La découverte de la vaccination est probablement très ancienne puisque les Chinois puis les Perses avaient, semble-t-il, remarqué depuis des temps reculés que, chez l'homme, l'infection variolique n'était qu'exceptionnellement suivie de récurrence. Ils en avaient déduit qu'il était possible de conférer une protection contre la variole en pratiquant la variolisation, c'est-à-dire l'inoculation à des sujets sains de pus provenant des pustules varioliques d'individus atteints de formes bénignes.

La variolisation n'étant pas toujours dépourvue de risque, le médecin anglais Edward Jenner eut, en 1776, l'idée de la remplacer par la vaccination. Il avait en effet observé que les travailleurs de ferme vivant au contact d'animaux atteints de

variole bovine, encore appelée vaccine, étaient résistants au virus de la variole. Il décida d'inoculer à l'homme du pus de lésion de variole bovine, découvrant ainsi la vaccination en même temps que l'utilisation d'un agent hétérologue pour induire une protection.

Près d'un siècle plus tard Louis Pasteur, à la suite de Jenner et d'un certain nombre d'autres pionniers, devait préciser le concept de vaccination et en établir les bases scientifiques en même temps qu'il développait des vaccins préparés à partir de micro-organismes dont la virulence était atténuée par l'action conjuguée du vieillissement et d'agents physiques (chaleur) ou chimiques (phénol).

Le vaccin du choléra des poules, le vaccin du rouget du porc, le vaccin du charbon bactérien furent ainsi les principales applications vétérinaires des travaux de Pasteur, travaux qui devaient trouver leur apogée dans la vaccination antirabique pratiquée, d'abord sur des chiens, puis sur la personne du jeune Joseph Meister le 5 juillet 1885.

Un nouveau pas décisif dans l'histoire de la vaccination fut franchi en 1923 par le vétérinaire Gaston Ramon avec la démonstration de la possibilité de détoxifier certaines toxines bactériennes et d'utiliser les anatoxines ainsi obtenues pour la préparation de vaccins. Soucieux d'accroître l'immunogénicité des anatoxines, Ramon découvrit aussi les propriétés adjuvantes de l'immunité de certaines substances, ouvrant ainsi la voie à la préparation des vaccins à bactéries ou à virus inactivés.

D'abord principalement consacrés à l'immunisation contre les maladies bactériennes, les vaccins ont progressivement été utilisés pour la prévention des maladies virales en même temps qu'évoluaient les connaissances dans le domaine de la virologie et qu'étaient mises en œuvre les techniques de cultures tissulaires ou cellulaires permettant la multiplication des virus.

Ce fut d'abord la mise au point, par Frenkel, du premier vaccin « inactivé » de la fièvre aphteuse produit « in vitro » à partir de virus multipliés sur lambeaux d'épithélium lingual bovin maintenus en survie dans un milieu approprié, puis celle par Salk, en 1954, du premier vaccin « inactivé » de la poliomyélite, produit à partir de virus multipliés sur des cellules rénales de singe (cellules de primo-explantation).

Le champ d'application des vaccins s'est ensuite étendu aux infestations parasitaires avec le développement d'un vaccin de la strongylose pulmonaire bovine préparé à partir de larves irradiées puis, plus récemment, d'un vaccin de la babésiose canine, rendu possible par la découverte de certains antigènes impliqués dans les stades initiaux de l'infection. D'autres applications des vaccins résident dans l'éventuelle régulation immunologique des fonctions hormonales de reproduction ou dans une amélioration de la croissance.

## VACCINS « CLASSIQUES »

Les vaccins viraux, bactériens ou parasitaires actuellement disponibles sont de trois types :

— vaccins à virus ou micro-organismes vivants, dont le pouvoir pathogène se trouve atténué, improprement mais commodément appelés vaccins « vivants » ou « atténués »;

— vaccins à virus ou micro-organismes inactivés ou vaccins « inactivés »;

— vaccins préparés à partir de fractions immunogènes plus ou moins purifiées et dénommés vaccins de « sous-unités » ou vaccins purifiés.

Les virus, bactéries, ou parasites vivants ou inactivés, ainsi que les fractions immunogènes qui en dérivent, constituent les principes actifs de nature protéique, glycoprotéique ou polysaccharidique des vaccins.

Lorsqu'ils existent, les types et sous-types antigéniques d'un même micro-organisme sont choisis en fonction de l'épidémiologie de l'infection, de telle sorte que la réponse immunitaire induite confère une protection optimale au sujet vacciné.

## Vaccins « inactivés »

Les principes actifs des vaccins inactivés sont obtenus à partir de souches virales ou bactériennes choisies pour la qualité de leur équipement antigénique et multipliées de telle sorte qu'elles conservent ces propriétés. Dans le cas des vaccins viraux, il est nécessaire de disposer d'un substrat cellulaire adapté à la multiplication des particules virales :

— inoculation d'œufs embryonnés, par voie chorioallantoïdienne, intra-allantoïdienne ou intravitelline et récolte des enveloppes ou des liquides contenant le virus;

— inoculation de cultures de cellules sensibles (cellules d'oiseaux ou de mammifères) de primo-explantation ou établies en lignées continues, et récolte des cellules infectées et/ou des surnageants de cultures renfermant le virus.

L'activité métabolique des bactéries et leur indépendance vis-à-vis des substrats cellulaires simplifie les conditions de leur culture en masse qui peut être réalisée dans ou sur des milieux inertes (milieux solides ou plus généralement milieux liquides) plus ou moins chimiquement définis. Dans le cas particulier où les immunogènes protecteurs ne sont pas constitués par les bactéries elles-mêmes mais par certains de leurs métabolites (exotoxines bactériennes par exemple), il importe que les conditions de culture permettent d'obtenir un niveau d'expression optimal. Virus, bactéries et toxines sont inactivés par l'action d'agents soit physiques (chaleur, rayonnement ultraviolet ou ionisant,...), soit chimiques (formaldéhyde, phénol,  $\beta$ -propiolactone, éthylèneimine,...), soit par l'action conjuguée de deux ou plusieurs agents (chaleur et formaldéhyde par ex.).

Séparés du milieu de culture par une succession

d'étapes de principes font alors cours de valences v adjuvants saponine, agents de benzylique lement ajc

En dépit de l'imm vaccins in que celui administrat tions sépar en primo-va tion satisf vaccinatior l'animal du de sensibil

## Vaccins « purifiés »

Les vaccins représentent vés dans la tués des actives des métabolites permettent en réduisant adverses év ou générale bilité). Le sous-unités vés au moins de concentr tées par d purification protectrices protéines de ment bactériens, ou antigène séparées et compatible. Comme pour doivent être l'immunité p qualités prot constituent u vaccins inact

d'étapes de purification et de concentration, les principes actifs portant les antigènes sélectionnés font alors l'objet de l'étape dite de formulation, au cours de laquelle plusieurs principes actifs (ou valences vaccinales) peuvent être mélangés. Des adjuvants de l'immunité (hydroxyde d'alumine, saponine, huiles minérales ou végétales,...) et des agents de stabilisation et de conservation (alcool benzylique, merthiolate sodique,...) sont généralement ajoutés.

En dépit de l'utilisation de puissants adjuvants de l'immunité, le pouvoir immunogène des vaccins inactivés demeure en général plus faible que celui des vaccins vivants et nécessite une administration répétée (généralement deux injections séparées par quatre semaines) pour obtenir en primovaccination l'établissement d'une protection satisfaisante et durable. Des rappels de vaccination sont nécessaires pour protéger l'animal durant sa vie économique ou sa période de sensibilité à l'infection.

### **Vaccins « de sous-unités » ou « purifiés »**

Les vaccins « de sous-unités » ou « purifiés » représentent une forme élaborée de vaccins inactivés dans laquelle les principes actifs sont constitués des seules fractions immunologiquement actives des virus, des bactéries ou de leurs métabolites, et des parasites. Ces fractions permettent d'obtenir un niveau de protection élevé en réduisant ou en éliminant certains des effets adverses éventuels des vaccins (réactions locales ou générales, induction d'un état d'hypersensibilité). Le mode de préparation des vaccins de sous-unités s'apparente à celui des vaccins inactivés au moins dans ses phases initiales. Les étapes de concentration et de purification sont complétées par des étapes de fractionnement et de purification au cours desquelles les fractions protectrices (glycoprotéines de l'enveloppe virale, protéines de la capsid virale, facteurs d'attachement bactériens, protéines et polysaccharides bactériens, exotoxines bactériennes, exoantigènes ou antigènes parasitaires de structure,...) sont séparées et obtenues à un niveau de purification compatible avec la formulation des vaccins. Comme pour les vaccins inactivés, ces fractions doivent être associées à de puissants adjuvants de l'immunité pour la préparation de vaccins dont les qualités protectrices alliées à la parfaite innocuité constituent un progrès décisif dans le domaine des vaccins inactivés.

### **Vaccins « vivants » ou « atténués »**

Les principes actifs des vaccins vivants sont des virus, des bactéries ou des parasites dont le pouvoir pathogène est atténué ou a disparu à la faveur de mutations survenues soit spontanément, soit à l'occasion de passages répétés sur des animaux ou des cellules différents de ceux de l'espèce sensible, soit dans des conditions de culture infra-optimales, soit encore par l'effet d'agents physiques ou chimiques. Ce sont parfois aussi des virus, des bactéries ou des parasites dont le pouvoir pathogène, bien que conservé, ne peut s'exprimer par la voie d'administration choisie, ou qui sont dépourvus de pouvoir pathogène pour l'espèce animale cible mais présentent une parenté antigénique suffisante pour induire une protection croisée. Dans tous les cas, les modes d'obtention s'apparentent, dans les étapes initiales de multiplication, de concentration et de purification, à celui des vaccins inactivés ou de sous-unités.

L'étape de stabilisation ou de conservation du pouvoir de multiplication des souches vaccinales est décisive dans la préparation des vaccins vivants. Cette stabilisation peut être obtenue soit par congélation dans un milieu cryoprotecteur, ce qui nécessite le maintien rigoureux de la chaîne du froid jusqu'au stade de l'utilisation du vaccin, soit plus généralement, par cryodessiccation sous vide (lyophilisation) en présence d'un stabilisateur appelé substrat de lyophilisation.

A la différence des vaccins inactivés ou de sous-unités, les vaccins vivants ne nécessitent pas d'adjuvant de l'immunité ni, en règle générale, d'administrations répétées en primovaccination car ils induisent une réponse immune rapide, intense et relativement durable. Parfois transmis des animaux vaccinés à ceux vivant à leur contact, de tels vaccins peuvent contrarier les tentatives d'éradication de la maladie, en rendant difficile la distinction entre animaux vaccinés et animaux infectés. Ils sont moins stables que les vaccins inactivés et requièrent donc des conditions de conservation et d'utilisation plus strictes. Rarement associés pour des raisons d'incompatibilité ou de difficultés de production, ils se prêtent relativement mal à la préparation de vaccins multivalents sauf dans les cas où ils sont associés à des vaccins inactivés ou de sous-unités.

La préexistence d'une immunité chez l'animal vacciné empêche la multiplication de la souche vaccinale, conduisant ainsi à une réponse immune insuffisante, voire absente, ce qui nécessite une

vigilance accrue dans l'établissement des programmes de vaccination.

Enfin, l'atténuation du pouvoir pathogène reposant pour l'essentiel sur des mutations, un risque potentiel de retour à la virulence demeure, même si, préalablement à leur utilisation, ces souches vaccinales s'avèrent génétiquement stables et si leur usage contrôlé permet, dans la très grande majorité des cas, de conclure à leur totale innocuité.

## VACCINS ISSUS DES NOUVELLES TECHNOLOGIES

### Vaccins obtenus par génie génétique

La difficulté de disposer des principes actifs dans des conditions économiquement acceptables et le risque potentiel de contamination humaine ou de l'environnement sont des facteurs limitant le développement des vaccins. Dans de rares cas, l'impossibilité de multiplier le virus ou le parasite condamne toute approche vaccinale conventionnelle. Depuis 1973, la recombinaison génétique, en permettant l'intégration de gènes étrangers dans un génome hôte et leur expression, a ouvert de nouvelles voies de production des vaccins. Cette technique impose toutefois de connaître le ou les antigènes actifs portés par le virus, la bactérie ou le parasite et d'isoler le ou les gènes qui les codent (ou leur ADN complémentaire dans le cas des virus à ARN). Ces gènes sont alors insérés dans différents systèmes vecteurs-hôtes : l'expression par un système procaryote (principalement *Escherichia coli*) ou eucaryote (levure, cellules de mammifère, d'oiseau ou d'insecte,...) permet l'obtention d'antigènes qui, purifiés, fournissent les principes actifs de vaccins de sous-unités. L'expression par des systèmes viraux (poxvirus, virus herpès, adénovirus,...) donne naissance à des virus recombinants qui sont utilisés en vaccins vivants ou, dans de plus rares cas (intégration de l'antigène néoformé au niveau de l'enveloppe ou de la capsid virale), comme vaccins inactivés. La possibilité de faire exprimer par des procaryotes (*Escherichia coli*, *Salmonella*,...) des antigènes capables de s'intégrer dans des protéines de la membrane externe de ces bactéries permet la préparation de vaccins vivants utilisables par voie orale.

Un nombre croissant d'immunogènes est actuellement identifié et les gènes qui les codent peuvent être insérés dans des systèmes vecteurs d'expression. Les vaccins obtenus par les techniques de l'ingénierie génétique offrent en outre l'avantage de pouvoir les souches de marqueurs, permettant ultérieurement de distinguer les animaux vaccinés des infectés.

### Vaccins « synthétiques »

Les déterminants immunogènes susceptibles d'induire une réponse immune protectrice peuvent parfois être synthétisés : ce sont de courts peptides souvent faiblement immunogènes qui doivent donc être couplés à des protéines porteuses et injectés avec des adjuvants appropriés : leur pouvoir immunogène est, dans certains cas, comparable à celui des vaccins conventionnels ou de recombinaison génétique. Ils ont été utilisés avec un succès relatif pour induire la formation d'anticorps neutralisants contre divers types et sous-types du virus de la fièvre aphteuse. Ce sont des peptides de quelques dizaines d'acides aminés correspondant aux déterminants antigéniques majeurs d'une des protéines de la capsid virale (protéine VP 1); couplés à différentes molécules porteuses (hémocyanine de *Megathura crenulata* ou KLH, anatoxine tétanique,...) et administrés avec un adjuvant (adjuvant incomplet de Freund, émulsions d'huiles minérales, hydroxyde d'alumine,...) à différents animaux (cobaye, bovins, moutons, porcs), ils ont, dans un certain nombre de cas et sans qu'il soit encore possible d'établir une règle générale quant à la structure immunogène réellement impliquée, induit des anticorps neutralisants. Si d'importants progrès doivent encore être faits dans la connaissance des déterminants antigéniques, de leur couplage et des molécules porteuses, les résultats obtenus confirment l'efficacité d'une vaccination fondée sur la synthèse chimique des antigènes utilisés.

### Vaccins « anti-idiotypes »

La théorie du réseau « idiotypique » (voir chapitre 8) postule que l'idiotype de chaque anticorps peut induire la formation d'autres anticorps dont les idiotopes sont eux-mêmes à l'origine d'anticorps dont certains ressemblent à l'anticorps initial et partagent avec lui la spécificité de liaison à l'épitope :

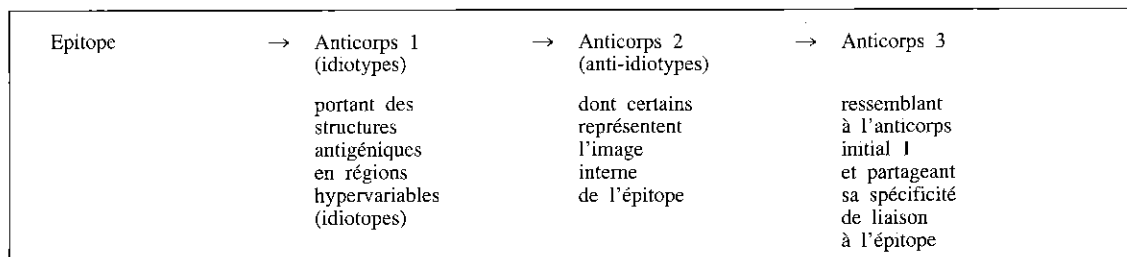
Epitope

la possibilité anti-idiotypes l'épitope dont la base d'une dont l'activité certain nombre (induction d'a *Listeria monoculosis* (ind parasites dont d'une protecti trouve facilité clonaux dont dant être ren Ces vaccins p spécificité et p utiles pour vis-à-vis d'ant pour lesquels vaccins s'avèr diques ou l'adverses comp l'utilisation de tions locales o provenant d'es toutefois être outre une res immune vis-à- idiotypes a été généralisation

### Vaccins « an

Classiquement maladies infect peuvent également immunologique Amélioration au contraire parmi les prin hormones dont accroissement d

est actuel-  
es codent  
s vecteurs  
les techni-  
en outre  
marqueurs,  
nguer les



susceptibles  
peuvent  
ts peptides  
i doivent  
rteuses et  
iés : leur  
cains cas,  
ionnels ou  
té utilisés  
formation  
types et  
e. Ce sont  
les aminés  
igéniques  
side virale  
molécules  
*crenulata*  
administrés  
le Freund,  
e d'alumi-  
, bovins,  
in nombre  
e d'établir  
re immu-  
s anticorps  
s doivent  
es détermi-  
e et des  
us confir-  
dée sur la  
és.

la possibilité d'induire au moyen d'anticorps anti-idiotypes des anticorps capables de se lier à l'épitope dont ils sont indirectement issus fournit la base d'une méthode d'immunisation originale dont l'activité a pu être démontrée vis-à-vis d'un certain nombre de virus, tel que le virus de la rage (induction d'anticorps neutralisants), de bactéries *Listeria monocytogenes* et *Mycobacterium tuberculosis* (induction d'une protection) ou de parasites dont *Schistosoma mansoni* (induction d'une protection). La production de tels vaccins se trouve facilitée par l'utilisation d'anticorps monoclonaux dont le pouvoir immunogène doit cependant être renforcé par des adjuvants appropriés. Ces vaccins présentent l'avantage de leur extrême spécificité et pourraient se révéler particulièrement utiles pour l'obtention de réponses immunes vis-à-vis d'antigènes faiblement immunogènes ou pour lesquels le développement d'autres formes de vaccins s'avère difficile : antigènes polysaccharidiques ou lipopolysaccharides... Des effets adverses comparables à ceux observés lors de l'utilisation de certains vaccins inactivés (réactions locales ou dues à des anticorps monoclonaux provenant d'espèces animales différentes) peuvent toutefois être observés avec de tels vaccins. En outre une restriction génétique de la réponse immune vis-à-vis de certains anticorps anti-idiotypes a été observée qui pourrait limiter la généralisation de cette approche vaccinale.

### Vaccins « anti-hormones »

Classiquement destinés à la prévention des maladies infectieuses ou parasitaires, les vaccins peuvent également être utilisés pour la régulation immunologique des fonctions hormonales.

Amélioration de la croissance, de la prolificité, ou au contraire castration immunologique, sont parmi les principales cibles des vaccins anti-hormones dont la première application fut un accroissement de la folliculogénèse chez la brebis

par immunisation au moyen d'hormones stéroïdiennes (androstènedione, testostérone, œstradiol) conjuguées à des molécules porteuses et administrées avec un adjuvant de l'immunité.

Divers vaccins destinés à la castration immunologique d'animaux mâles et femelles appartenant à différentes espèces sont en phase finale de développement. Ils utilisent l'hormone peptidique LH-RH (Luteinizing Hormone, Releasing Hormone) couplée à une molécule porteuse et sont également administrés en association avec un puissant adjuvant de l'immunité. La figure 68-1 présente les diverses formes galéniques des vaccins.



Figure 68-1 Formes galéniques des vaccins.

## VACCINATION

La vaccination est un acte médical toujours délicat qui se situe au confluent de plusieurs risques : celui de la maladie, celui des complications vaccinales et celui des échecs de vaccination. C'est un acte médical préventif, individuel ou collectif, de précaution ou de nécessité, visant



à induire l'immunisation statistiquement probable d'un sujet ou d'une collectivité contre une ou plusieurs maladies. La vaccination animale est principalement utilisée dans la prévention de maladies non curables dont l'impact épidémiologique est économiquement important (ex : fièvre aphteuse), ou d'infections qui peuvent avoir une incidence sur la santé humaine (ex : rage). Mais, elle s'étend aussi à d'autres domaines que la pathologie infectieuse : vaccins antihormonaux, antigènes désensibilisants, anti-allergènes...

### Types d'immunité sollicitée

La vaccination ne devrait pas entraîner, chez les individus vaccinés, plus de réaction clinique que ne le fait l'agent infectieux dans les formes inapparentes de la maladie, et la réaction immunitaire idéale serait, dans sa cinétique et par sa vigueur, celle obtenue lors de ces mêmes formes inapparentes. Il serait illusoire de penser que la vaccination suscite une immunité supérieure à ce qui est obtenu naturellement au moins dans l'état présent de nos connaissances. Elle pourra conduire :

- à une protection partielle, effaçant les symptômes cliniques de la maladie;
- ou à une protection totale : clinique mais empêchant aussi la multiplication de l'agent pathogène, son excrétion (continue ou discontinue) et son portage chronique.

Dans les maladies systémiques, la vaccination efficace provoquera une immunité locale au site d'entrée de l'agent et une immunité générale empêchant virémie, bactériémie ou parasitémie. Dans les maladies localisées, cutanées, respiratoires ou digestives, seule l'immunité locale est nécessaire.

Traditionnellement, la vaccination est pratiquée par la voie parentérale (sous-cutanée, intramusculaire, intradermique) alors que les infections naturelles par contact direct se réalisent au niveau de la peau, des muqueuses respiratoires ou digestives. Il s'ensuit que les voies d'introduction de l'antigène étant variées, les types d'immunité ne sont pas identiques. La voie parentérale a pour but de solliciter une réponse générale active de l'organisme; elle ne sera pas d'un grand intérêt pour les maladies qui sont localisées, sauf lorsqu'elle confère une immunité passive par le colostrum ou le lait. Ainsi, dans les rotaviroses ou dans les coronaviroses digestives — telle la gastroentérite transmissible du porc — l'immunité active obtenue par voie parentérale ne présente aucun avantage. L'immunité locale peut, par

contre, être déclenchée par l'administration locale d'un vaccin, vivant le plus souvent.

La vaccination à l'aide de vaccin « vivant modifié » entraîne généralement une réponse immunitaire rapide, intense et durable (ex : parvovirose canine, hépatite contagieuse canine, maladie de Carré, panleucopénie féline, peste porcine classique). L'antigène se multipliant dans l'organisme, la stimulation antigénique est optimale.

La vaccination par des vaccins inactivés est réalisée lorsque les antigènes n'ont pas pu être « modifiés », stabilisés dans leur non-virulence, ou qu'il s'agit d'agents présentant des dérivés antigéniques continus (ex : fièvre aphteuse, grippe équine ou porcine).

Les vaccins de sous-unités virales très purifiés présentent l'avantage d'être très spécifiques et permettent ainsi parfois de distinguer, par des tests sérologiques appropriés, les animaux vaccinés des infectés.

### Réponse d'un animal et d'une population à la vaccination

Lors de l'emploi d'un vaccin, il faut considérer deux aspects.

**L'aspect intrinsèque :** c'est le résultat du contrôle d'activité au laboratoire, destiné à vérifier la conformité du produit par rapport à des normes, ou à quantifier sa « valeur » immunogène. On a recours à des techniques standardisées :

- indirectes (évaluation de l'antigène *in vitro*, vaccination d'animaux non ciblés, sérologie);
- ou mieux, directes (sur l'espèce-cible avec contrôle de l'immunité par épreuve virulente).

**L'aspect extrinsèque :** correctement utilisé, en se conformant au mode d'emploi, le vaccin protégera efficacement l'individu ou la population non vaccinée. Cet effet est mieux perçu lorsqu'une population non vaccinée sert de témoin. A titre d'exemple, considérons la vaccination antirabique par vaccin inactivé additionné d'hydroxyde d'alumine comme substance adjuvante. Sur le plan des contrôles intrinsèques, ce vaccin subit des tests indirects : évaluation de la quantité de glycoprotéines immunogènes par dose, activité relative indirecte sur souris par le test dit du NIH, sérologie à temps fixe sur des chiens standardisés; et des tests directs sur l'espèce-cible : cinétique des anticorps post-vaccinaux et protection appréciée par une épreuve virulente. Si

l'on compare les anticorps au laboratoire, la campagne de vaccination est satisfaisante (Fig. 68-2).

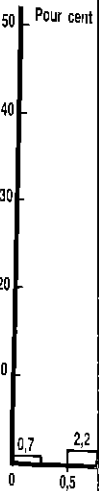


Figure 68-2  
noire : chiens terrain.



Figure 68-3  
log 10).

ion locale

« vivant  
réponse  
: parvo-  
canine,  
me, peste  
liant dans  
nique est

ctivés est  
s pu être  
virulence,  
s dérivés  
aphteuse,

s purifiés  
ifiques et  
par des  
animaux

population

considérer

sultat du  
né à véri-  
ort à des  
» immu-  
s standar-

e in vitro,  
ologie);  
tible avec  
ulente).

utilisé, en  
e vaccin  
population  
x perçu  
sert de  
la vacci-  
additionné  
nce adju-  
èques, ce  
ion de la  
par dose,  
le test dit  
es chiens  
l'espèce-  
cinaux et  
ulente. Si

l'on compare la cinétique des moyennes en anticorps séroneutralisants de chiens vaccinés au laboratoire à celles de chiens vaccinés lors d'une campagne de vaccination, on observe un parallélisme, quoique la cinétique moyenne des chiens vaccinés sur le terrain soit significativement inférieure du fait de la diversité de l'effectif (race, sexe, âge) et des conditions d'entretien. Mais, après 36 mois, la moyenne des titres demeure satisfaisante et représentative d'une bonne immunité (Fig. 68-2 et 68-3). On notera cependant que,

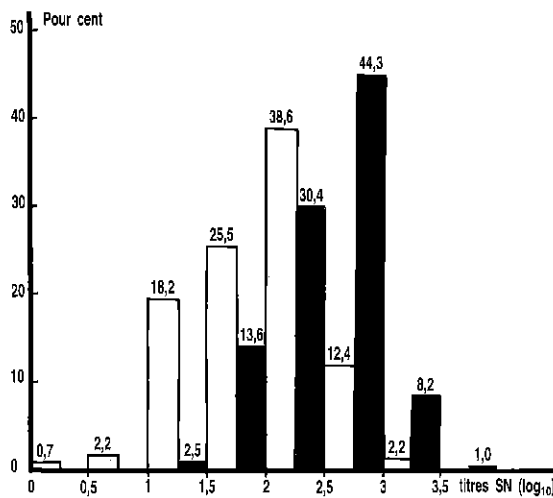


Figure 68-2 Répartition par niveaux d'anticorps. Colonne noire : chiens de laboratoire. Colonne blanche : chiens de terrain.

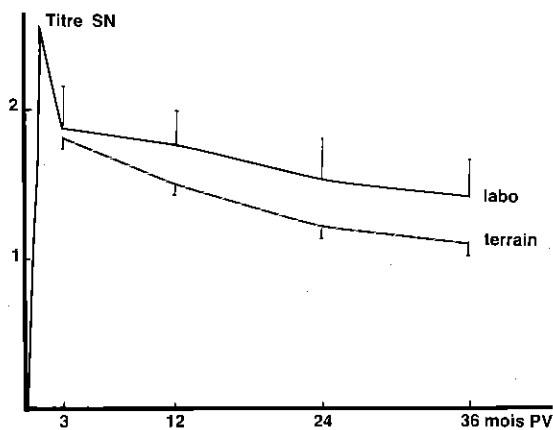


Figure 68-3 Cinétique des anticorps antirabiques (titres SN log 10).

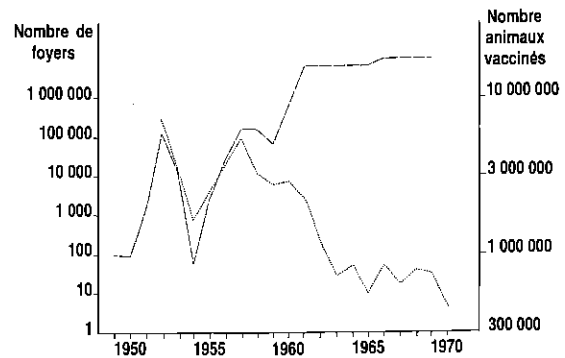


Figure 68-4 Evolution de la fièvre aphteuse en France depuis 1949. Comparaison entre le nombre d'animaux vaccinés et le nombre de foyers (d'après J Fontaine [6]).

pour un même vaccin donné, les réponses individuelles, même sur des animaux de laboratoire (de race, âge et sexe identiques) peuvent être dispersées; certains chiens, mauvais répondeurs, présentent des titres en anticorps 100 fois inférieurs à la moyenne.

Dans le cadre de prophylaxies collectives, l'important est de noter l'impact de la vaccination sur l'évolution du nombre de foyers de la maladie contre laquelle on vaccine. Dans le cas de la fièvre aphteuse, la figure 68-4 compare le nombre d'animaux vaccinés à celui de foyers de la maladie et montre qu'un effort continu de vaccination d'une espèce sensible à l'aide d'un vaccin de qualité bien standardisée peut aboutir à l'éradication d'une maladie.

### Facteurs qui interfèrent avec l'immunisation

Les contrôles de qualité appliqués à un vaccin avant sa commercialisation ne garantissent pas son efficacité : le respect des règles classiques de conservation au froid (assurant la stabilité de l'antigène) et des conditions d'emploi est essentiel. La seringue servant aux inoculations parentérales, ou le solvant des produits oraux, doivent être indemnes d'antiseptique et de substances susceptibles de dégrader l'antigène. Les associations vaccinales non autorisées par le fabricant sont évidemment proscrites. Le respect de la voie de vaccination ainsi qu'une bonne connaissance des indications et contre-indications sont également indispensables.

Mais c'est aussi l'animal à immuniser qui peut, pour de multiples raisons, entraver sa propre

immunisation. Il est classique d'indiquer que la vaccination doit être pratiquée sur un animal en « bonne santé ». Or la prophylaxie collective ou les vaccinations d'urgence en milieu infecté font peu de cas de l'individu. L'examen individuel prévacinal est néanmoins réalisé en médecine canine et féline; mais il n'a guère la possibilité de mettre en évidence un déficit immunitaire congénital ou acquis et il peut arriver qu'il soit réalisé dans la phase d'incubation, donc préclinique, de la maladie. La vaccination d'un animal sous traitement est, bien entendu, contre-indiquée; la malnutrition et les parasitoses digestives sont aussi des situations très défavorables à l'établissement d'une bonne immunité. Mais le facteur le plus défavorable est, comme pour l'immunisation par l'agent infectieux, la présence d'anticorps passifs d'origine maternelle. Chez les oiseaux les anticorps maternels sont transmis par voie vitelline, chez le lapin et le cobaye la transmission est transplacentaire, pour les équins, porcins, ovins, caprins et bovins, ainsi que pour les chiens et les chats, l'immunité passive est essentiellement d'origine colostrale. Ces notions ont été développées dans divers chapitres de l'Immunologie générale. Rappelons uniquement que, chez les chiens, le titre d'anticorps est maximum 2 à 3 jours après la naissance, puis décroît progressivement. La demi-vie des anticorps est directement

proportionnelle à la croissance des animaux : les races à croissance rapide ou les chiots d'une portée qui grossissent plus vite « éliminent » plus rapidement des anticorps et, en milieu infecté, ils peuvent être plus précocement atteints. Ceci a été particulièrement bien étudié à l'occasion de la parvovirose canine (Fig. 68-5).

Ces anticorps d'origine maternelle ou consécutifs à une infection pendant le jeune âge conditionnent donc le calendrier de vaccination. Plus tard, les anticorps post-vaccinaux sont eux aussi susceptibles d'interférer avec les rappels de vaccination. L'effet « rappel » d'un vaccin, objectivé par l'augmentation du titre des anticorps circulants, est d'autant plus important que le taux des anticorps préexistants est faible. A partir d'un certain titre d'anticorps, le rappel est totalement inefficace.

### Protocoles de vaccination

Les protocoles de vaccination visent à définir le calendrier optimum des interventions vaccinales destinées à prendre le relais de l'immunité passive d'origine maternelle, en évitant tout hiatus immunitaire précédant cette immunisation active et maintenant cette dernière à un niveau stable par des injections de rappel appropriées.

Afin de simplifier ce calendrier, il est particulièrement intéressant d'associer les antigènes et de vacciner ainsi simultanément le maximum de sujets contre plusieurs maladies; on distinguera :

- la vaccination associée ou combinée dans laquelle plusieurs antigènes prémélangés ou mélangés extemporanément au moment de l'emploi sont inoculés en un seul point de l'organisme;
- la vaccination simultanée : les vaccins sont administrés à des endroits différents ou par des voies différentes (intradermique, intramusculaire, sous-cutanée, par scarification, par voie orale ou conjonctivale).

Dans le cas d'une population totalement réceptive à une nouvelle maladie, tous les individus sensibles et réceptifs seront vaccinés. Si les sujets sont issus de mères vaccinées ou convalescentes, il conviendra d'attendre l'âge de disparition des anticorps maternels, sauf s'il y a un risque d'infection avant même que les anticorps d'origine maternelle aient totalement disparu. Un calendrier idéal, individuel, pourrait théoriquement être défini à la suite du titrage précis de ces anticorps résiduels.

De toute manière une vaccination de confirmation pratiquée après l'âge d'élimination totale des

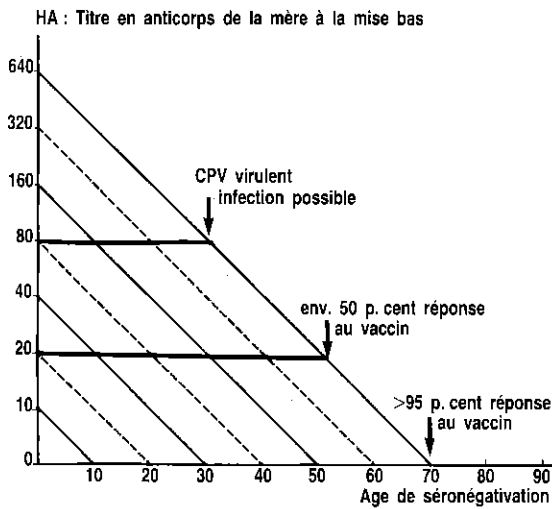


Figure 68-5 Parvovirose canine. Normographe illustrant l'âge de sensibilité des chiots au virus sauvage, l'âge auquel 50 p. cent environ et plus de 95 p. cent des chiots peuvent s'immuniser par voie parentérale à l'aide du vaccin à base de virus vivant modifié (d'après LE Carmichael).

anticorps d'origine immunitaire de rappel éliminés (sagées) mair immune.

### Effets indésirables

Ils doivent être comparés au risque de la vaccination. Le vaccin a permis la réduction de certaines maladies infectieuses.

### Effets indésirables liés au processus

Lorsque la maladie courante...

— le vaccin avait été injecté...

— le vaccin était insuffisant...

exacerbée par la souche vaccinale vivante ne...

certaines personnes temporaires...

agents infectieux pathogènes...

bilité à l'égard de certains con...

provoquer une protéine structurale féline semblable à l'immunité.

provoquée par une inapparente tonite infectieuse.

Enfin, le vaccin est un agent étranger purifié. C'est de vaccins nécessaires à des cellules de culture du virus.

Risques liés à l'usage des excipients que les anticorps de culture (suspension lyophilisée).

anticorps maternels homogénéisera le statut immunitaire de tous les individus et des injections de rappel éventuelles (selon les maladies envisagées) maintiendront définitivement la protection immune.

### Effets indésirables de la vaccination

Ils doivent être évalués avec objectivité et comparés aux avantages individuels et collectifs de la vaccination en se rappelant que celle-ci a permis la régression importante de la plupart des maladies infectieuses et même l'éradication de certaines d'entre elles.

#### Effets indésirables liés au principe actif du vaccin

Lorsque des animaux vaccinés développent la maladie correspondante, on doit distinguer :

- le vaccin « inactivé » dont l'inactivation avait été incomplète;
- le vaccin « vivant » dont l'atténuation est insuffisante et dont la virulence résiduelle s'est exacerbée par réversion progressive (lorsque la souche vaccinale est excrétée). Tous les vaccins vivants ne sont pas identiquement atténués; certains peuvent entraîner une immunodépression temporaire permettant la prolifération d'autres agents infectieux ubiquistes qui deviennent à leur tour pathogènes. Des manifestations d'hypersensibilité à l'antigène vaccinal peuvent survenir. Certains composants de l'agent infectieux peuvent provoquer une immunodépression : ainsi la protéine structurale p15E du virus de la leucose féline semble nuisible à l'établissement de l'immunité. La présence d'anticorps facilitants provoquée par une vaccination ou une infection inapparente ne doit pas être oubliée (ex : péritonite infectieuse féline).

Enfin, le principe actif peut être contaminé par un agent étranger non détecté lors des contrôles de pureté. C'est l'exemple du pestivirus contaminant de vaccins vivants et provenant du sérum bovin nécessaire au milieu de croissance des cellules, ou des cellules elles-mêmes supports de multiplication du virus.

#### Risques liés aux excipients

Les excipients sont toutes les substances autres que les antigènes spécifiques : résidus de milieu de culture (sérum, antibiotiques), stabilisateurs de lyophilisation, résidus d'agents d'inactivation,

substances adjuvantes de l'immunité. Ils peuvent donc donner lieu à :

- des réactions locales inflammatoires septiques (faisant suite à une faute d'asepsie);
- des réactions locales inflammatoires aseptiques, provoquées par des substances irritantes contenues dans le vaccin (ex : adjuvant);
- une hypersensibilité locale liée à un état de sensibilisation antérieure;
- des réactions générales révélant un état d'hypersensibilité soit *immédiate* (choc anaphylactique éventuellement mortel), soit *retardée*, apparaissant deux à plusieurs jours après la vaccination (réaction eczématiforme, encéphalites allergiques,...).

#### Effets indésirables liés à l'animal vacciné

En évaluant l'innocuité, il est normal de considérer le stress vaccinal consécutif à la manipulation des animaux. L'expression clinique du stress est fonction de l'espèce considérée et de son état physiologique. A titre d'exemples :

- avortement des femelles gestantes;
- baisse de production laitière des ruminants;
- baisse de ponte chez les volailles;
- accidents cardiaques ou neurologiques chez les individus prédisposés.

Au plan de l'efficacité, il faut considérer le statut immunitaire de l'individu :

- neutralisation du vaccin par les anticorps passifs d'origine maternelle;
- réaction immunitaire nulle ou médiocre due à un déficit immunitaire primitif ou acquis, définitif ou provisoire;
- administration du vaccin pendant la période d'incubation de la maladie;
- associations vaccinales intempestives.

### BIBLIOGRAPHIE

- BONA CA. Les vaccins du futur. La Recherche, 1987, 188 : 672.
- CARMICHAEL LE, JOUBERT JC, POLLOCK RVH. A modified live vaccine parvovirus vaccine : Immune response. Cornell Vet, 1983, 73 : 13-29.
- DAVOUST B, MULLER G, CHAPPUIS G. Vaccinations associées du chien : réponse sérologique à un vaccin hexavalent utilisé en rappel. Revue Méd Vet, 1985, 136 : 363-372.
- EVERMANN JF, HALL JA, HOWLETT JR. Clinical and diagnostic evaluation of post-vaccination reactions. Bovine Pract, 1982, 6 : 7-16.
- FONTAINE J. Epizootiologie de la fièvre aphteuse. Son évolution au cours des dernières années. Conséquences pratiques. Bull Off Int Epiz, 1972, 77 : 497-519.

- GAUDRY D. Rabies vaccines : The Mérioux Experience. Vet Med/SAC, 1983, 78 : 525-530.
- HIERNAUX JR. Idiotypic vaccines and infectious diseases. Infection and Immunity, 1988, 56 : 1407-1413.
- JOUBERT L, LERY L, LERY N. Accidents et échecs de vaccination vétérinaire. Sci Vet Med Comp, 1988, 90 : 67-82.
- MURRAY PK. Prospects for molecular vaccines in veterinary parasitology. Veterinary Parasitol, 1987, 25 : 121-133.
- STEVENS VC. Current status of infertility vaccines using gonadotropin immunogens. Immunol Today, 1986, 7 : 369.
- STEWART MW, HOWARD CR. Synthetic peptides : a next generation of vaccines ? Immunol Today, 1987, 8 : 51.
- ZANETTI M, SERCARZ E, SALK J. The immunology of new generation vaccines. Immunol Today, 1987, 8 : 18-25.

A. Depelch

Un état d  
(maladie infec  
nation) peut  
transfert des e  
Ainsi, le tran  
sensibilisé au  
receveur syng  
traduisant par  
s'agit d'une in  
mentalement m  
cause des diffé  
et receveur. A  
peut être aisé  
anticorps d'un  
immunisé crée  
passive. Ce tra  
sérum immun  
gammaglobulin

Une transmis  
naturellement d  
celui-ci pendant

A. Depelchin, P. Coppe

## IMMUNITÉ PASSIVE ET CONGÉNITALE

Un état d'immunité induit naturellement (maladie infectieuse) ou artificiellement (vaccination) peut être transmis à un receveur par transfert des effecteurs spécifiques de l'immunité. Ainsi, le transfert des lymphocytes d'un sujet sensibilisé au bacille tuberculeux créera chez un receveur syngénique une immunité cellulaire se traduisant par un test tuberculinique positif; il s'agit d'une *immunité adoptive*, exploitée expérimentalement mais non utilisée dans la pratique à cause des différences allogéniques entre donneur et receveur. Au contraire, l'immunité humorale peut être aisément transmise; le transfert des anticorps d'un donneur immun à un receveur non immunisé crée chez ce dernier un état d'*immunité passive*. Ce transfert peut se faire sous forme de sérum immun ou sous forme de sa fraction gammaglobulinique.

Une transmission passive d'anticorps se produit naturellement de la mère au nouveau-né et protège celui-ci pendant les premières semaines de la vie

contre les agents pathogènes vis-à-vis desquels la mère possède une protection humorale. Ce type d'immunité passive est appelé « *immunité congénitale* ». Le transfert d'immunoglobulines maternelles se fait différemment selon les espèces. Chez la femme dont la structure placentaire est de type hémochorial, le passage transplacentaire d'immunoglobulines est possible au cours de la grossesse, mais il est limité aux IgG. Ces immunoglobulines se trouvent chez l'enfant au moment de la naissance à un taux sérique identique à celui de la mère. Il en va de même chez les autres primates, et, partiellement, chez les rongeurs.

Dans les autres espèces domestiques, l'organisation placentaire est différente (de type épithélio-chorial chez la jument et la truie, syndesmochorial chez les ruminants, endothélio-chorial chez les carnivores) et le passage d'immunoglobulines est impossible; certaines d'entre elles se concentrent dans le colostrum à des taux nettement plus élevés que dans le sang maternel, et passent chez le

nouveau-né au niveau de l'épithélium intestinal lors des premières tétées. Cependant, ce transfert par voie digestive est limité aux 12 à 18 heures qui suivent la naissance; passé ce délai, des modifications au niveau de la résorption intestinale empêchent le passage des immunoglobulines colostrales.

## IMMUNITÉ PASSIVE. SÉROTHÉRAPIE

### NATURE DES IMMUNOGLOBULINES TRANSFÉRÉES

#### Immunoglobulines homologues ou hétérologues

Comme toute protéine, les immunoglobulines (Ig) expriment un nombre plus ou moins grand d'épitopes qui déterminent leur spécificité antigénique.

Les régions constantes des chaînes H et L supportent les spécificités isotypiques caractérisant chaque classe et sous-classe d'Ig au sein d'une espèce. Bien qu'une certaine homologie existe entre les Ig de même classe parmi les mammifères (par exemple, les IgG de lapin donnent une réaction croisée avec du sérum anti-IgG humaines), des différences d'isotypie marquent les Ig de chaque espèce.

Après transfert à un individu d'une autre espèce, des Ig y seront d'autant plus immunogènes que les deux espèces sont phylogéniquement plus éloignées. Par rapport à l'espèce receveuse, les Ig de l'espèce donneuse sont dites « hétérologues ». Des Ig transmises entre sujets de la même espèce sont appelées « homologues ».

En médecine humaine, l'usage de gammaglobulines humaines a totalement éliminé le recours à des Ig d'origine animale. Pour la pratique vétérinaire, des Ig de l'espèce animale à traiter seront rarement disponibles; les Ig d'une autre espèce (cheval), voire des gammaglobulines humaines, seront des Ig hétérologues.

En outre, tout en conservant leur isotypie, certaines classes d'Ig peuvent présenter des variantes antigéniques appelées allotypes (voir chapitre 5).

#### Gammaglobulines intactes ou protéolysées

Le bénéfice recherché dans la sérothérapie étant de transmettre des immunoglobulines-anticorps, il est indiqué d'isoler celles-ci des autres protéines sériques inutiles. Cette purification vise essentiellement à isoler la fraction contenant les IgG, qui sont les immunoglobulines dont la concentration est de loin la plus importante. Ces IgG se situent après électrophorèse dans la fraction gamma; elles sont couramment dénommées *gammaglobulines*.

Pour la préparation des gammaglobulines, la séparation électrophorétique n'est pas exploitée car quantitativement peu rentable. Les méthodes de séparation se fondent sur leurs différences de comportement dans diverses conditions physico-chimiques. A des fins analytiques, des IgG (totales ou sous-classes séparées) peuvent être obtenues à l'état pur après chromatographie par échange d'ions sur résine anionique (DEAE-cellulose) ou par immunoabsorption spécifique sur colonne d'affinité.

Pour l'usage thérapeutique, les gammaglobulines sont isolées par différentes méthodes basées sur leurs différences de solubilité par rapport aux autres constituants sériques: c'est ainsi que les gammaglobulines humaines sont préparées par précipitation à l'éthanol froid selon la méthode de Cohn ou par chromatographie échangeuse d'ions et que les gammaglobulines animales (équines ou ovines le plus souvent) sont obtenues sous forme de fraction précipitée en présence de sulfate d'ammonium à 35 p. cent de saturation.

Ces dernières sont souvent protéolysées ensuite par la pepsine et présentées sous forme de F(ab')<sub>2</sub>. Les déterminants isotypiques portés par le fragment Fc en sont donc éliminés, ce qui réduit d'autant le pouvoir immunogène de ces gammaglobulines protéolysées. Toutefois ces IgG protéolysées conservent les déterminants isotypiques de la chaîne L et du fragment Fd de la chaîne H. En outre, la protéolyse peut faire apparaître une antigénicité nouvelle non exprimée par les molécules intactes (épitopes masqués rendus apparents par la protéolyse ?) [1]. D'autre part, le fragment Fc d'une IgG doit être intact pour que sa

résorption t  
rulaire; sa  
plus ou m  
gammaglob  
phylactique  
de leur ad  
valle.

#### Gammaglob

Des prép  
posséder un  
exemple an  
antivarirole,  
ques exist  
gammaglob  
partir de p  
vés 15 jour  
procédé de  
récolte plas  
ment de sa

Des prép  
provenant  
lable, sont  
but de réta  
cient ou da  
naturels da  
spécifiques  
sur la prés  
corps dans  
très large  
rassemblem  
immunes su  
avec de m

Certains  
antigènes r  
seront prés  
les gamma  
contre des  
une minorit  
ront fortem  
de départ é  
bulinique e

#### Anticorps

L'immu  
qu'au moy  
soit de la f  
immuns. U  
possible de  
de spécific  
production

résorption tubulaire ait lieu après filtration glomérulaire; sa disparition entraîne une élimination plus ou moins rapide des F(ab')<sub>2</sub>. L'usage de gammaglobulines protéolysées dans un but prophylactique doit donc prévoir le renouvellement de leur administration à quelques jours d'intervalle.

### Gammaglobulines standard ou spécifiques

Des préparations gammaglobuliniques peuvent posséder une activité anticorps particulière : par exemple anti-Rhésus, antitétanique, antirabique, antivariolique, etc. Ce type de préparations spécifiques existe le plus souvent sous forme de gammaglobulines humaines; elles sont préparées à partir de plasmas de donneurs immunisés, prélevés 15 jours après leur rappel de vaccination par le procédé de la plasmaphérèse qui permet une récolte plasmatique plus abondante que le prélèvement de sang total.

Des préparations de gammaglobulines standard, provenant de donneurs sans immunisation préalable, sont aussi utilisées chez l'homme dans le but de rétablir un taux immunoglobulinique déficient ou dans l'espoir de transfuser des anticorps naturels dans les cas où des gammaglobulines spécifiques ne sont pas disponibles : on compte sur la présence de nombreuses spécificités anticorps dans la préparation, provenant d'un mélange très large de plasmas de nombreux donneurs et rassemblant de ce fait l'ensemble des réponses immunes suite à leurs confrontations individuelles avec de multiples agents pathogènes.

Certains anticorps correspondant à des antigènes rencontrés par la majorité des donneurs seront présents en concentrations suffisantes dans les gammaglobulines standard, mais les anticorps contre des antigènes particuliers, présents chez une minorité seulement des donneurs, se retrouveront fortement dilués dans le mélange de plasmas de départ et donc dans la préparation gammaglobulinique obtenue.

### Anticorps monoclonaux

L'immunité passive ne se réalise actuellement qu'au moyen du transfert soit de sérums immuns soit de la fraction gammaglobulinique de plasmas immuns. Un espoir est qu'à l'avenir, il soit possible de recourir à des anticorps monoclonaux de spécificité appropriée. Dans l'état actuel de la production classique des anticorps monoclonaux,

ceux-ci proviennent de souris ou de rats, et leur usage a le désavantage d'être des immunoglobulines hétérologues tant pour l'homme que pour les animaux domestiques. A moins que la maîtrise d'hétéro-hybridation entre cellules myéломateuses de souris et cellules lymphocytaires d'un sujet immunisé ne conduise à l'avenir à l'obtention d'anticorps monoclonaux ayant l'isotypie de l'espèce à laquelle appartient ce sujet immunisé. Cet espoir est permis pour la sérothérapie humaine; il est possible qu'il se concrétise aussi pour la sérothérapie animale [2].

### INDICATIONS

Les indications majeures du transfert passif d'immunoglobulines résident dans la prévention ou le traitement de maladies infectieuses graves.

### Séroprophylaxie

On appelle séroprophylaxie l'immunité passive induite momentanément par un transfert unique d'immunoglobulines spécifiques en vue de prévenir l'apparition d'une maladie infectieuse. Les séroprophylaxies les plus courantes sont : la prévention du tétanos chez les sujets non vaccinés en cas de plaies propices à la germination des spores tétaniques, la prévention de la rage chez les sujets à risque d'incubation courte (morsure à la face), la prévention de certaines infections virales en cas de contact de sujets à risque avec des malades (rougeole, hépatite B, rubéole chez l'homme, maladie de Carré chez le chien, rouget chez le porc). Le traitement des morsures de serpents venimeux peut également être pris en considération, l'effet escompté étant la neutralisation de l'activité du venin par un antiserum. Cette neutralisation doit intervenir avant que le venin n'ait eu le temps d'exercer son effet. Le principe actif des venins est représenté par différents enzymes tels que des estérases, des phosphatases, des oxydases et des coagulases.

### Sérothérapie curative

La sérothérapie curative vise à apporter à un sujet atteint d'une infection des anticorps spécifiques de l'agent pathogène en vue de son élimination. Les situations les plus fréquentes où cette sérothérapie s'indique sont les maladies causées par des toxines bactériennes (tétanos, diphtérie,



gangrène gazeuse) : l'administration de gammaglobulines spécifiques (antitoxines) permet de neutraliser les toxines circulantes non encore fixées sur leur cible. L'antibiothérapie et les campagnes de vaccination limitent considérablement cette indication thérapeutique de nos jours, tant chez l'homme que chez les animaux.

L'injection de gammaglobulines est aussi instituée en vue de passer le cap d'une infection grave, au cours de laquelle la consommation des anticorps par l'agent infectieux est supérieure au taux de leur synthèse par l'organisme. Ce traitement aura le plus souvent recours à des gammaglobulines standard car des gammaglobulines spécifiques ne seront pas toujours disponibles; l'usage de gammaglobulines standard autorise par ailleurs le traitement sans identification préalable de l'agent causal. Leur administration devra être appliquée durant plusieurs jours d'affilée, en même temps que toute autre mesure anti-infectieuse (antibiothérapie, etc.).

### Sérothérapie substitutive

Une sérothérapie substitutive est celle qui corrige un défaut de synthèse endogène d'anticorps, de nature congénitale (agammaglobulinémie) ou acquise. Cette substitution, qui vise à suppléer tout le spectre immunoglobulinique que le patient est incapable de synthétiser, se fait sous forme de gammaglobulines standard; ces préparations comprennent des IgG dont la durée de vie en situation homologue est relativement longue (demi-vie de 21 jours environ) et ont seules, de ce fait, un intérêt pratique. Les IgM, outre leur courte durée de vie, sont facilement activatrices du complément avec effet anaphylactogène; les IgA ne sont utiles qu'au niveau des muqueuses sous forme d'IgA sécrétoires; l'injection d'IgA sériques ne peut souvent y suppléer; leur caractère dimérique peut même parfois conduire à des accidents transfusionnels.

**Tableau 69-1** Comparaison des diverses classes d'immunoglobulines chez les bovidés. Concentration en mg/ml (valeurs moyennes) (d'après JE Butler).

	IgM	IgG1	IgG2	IgA
Sérum sanguin	3,69	10,06	9,04	0,34
Colostrum	8,70	64,9	2,2	3,5
Lait	0,04	0,64	0,05	0,13

L'administration de gammaglobulines devra ici être prévue à un taux et à un rythme de renouvellement correspondant à leur catabolisme (0,5 ml/kg de la solution à 16,5 p. cent toutes les 2 ou 3 semaines).

## IMMUNITÉ CONGÉNITALE. COLOSTROTHÉRAPIE

### PROPRIÉTÉS IMMUNOLOGIQUES DU COLOSTRUM

#### Facteurs de l'immunité spécifique

Le colostrum est formé par transsudation de protéines sériques (plus particulièrement des immunoglobulines) au niveau de la mamelle [3]. Ce phénomène s'amorce peu avant la parturition et est même accentué par un transfert actif de certaines classes d'anticorps. A ce mécanisme, il convient d'ajouter l'existence d'une synthèse locale dans le système lymphatique mammaire de certains composants colostraux.

Chez les bovidés, les IgG1 sont les immunoglobulines majoritaires du colostrum (Tableau 69-1). Le rapport IgG1/IgG2 proche de l'unité dans le sérum sanguin des bovins adultes est de 30 pour 1 dans le colostrum, les IgG1 pouvant représenter de 70 à 80 p. cent des protéines colostrales. Ce passage préférentiel des IgG1 est lié à l'existence sur la membrane plasmique des cellules des acini mammaires d'un récepteur pour le fragment Fc de cette sous-classe [4]. Grâce à ce récepteur, les IgG1 sont concentrées dans le colostrum par un mécanisme actif. La prévalence des IgG1 dans le colostrum et dans le lait est une caractéristique des ruminants.

Le colostrum bovin est par contre relativement pauvre en IgA, ce qui le différencie de celui des monogastriques. Ces IgA proviennent en majeure partie d'une synthèse locale par des plasmocytes sous-muqueux des acini mammaires, le reste dérivant du sérum sanguin. Durant le passage au travers de l'épithélium, l'IgA se combine avec la pièce sécrétoire, cette dernière fonctionnant comme un véritable récepteur assurant le transfert de l'IgA dimérique dans la lumière des acini mammaires. Chez les espèces monogastriques, les

IgA sécrétioi  
trum ou d  
antigénique  
peut en surv  
entérite [5].  
correspond à  
IgA de l'i  
Arrivés dan  
transforment  
dans le lait.  
être démontr  
nisation pare  
ralement dar  
type IgG.

Les IgM r  
immunoglob  
principaleme  
reste étant  
mammaires.

Quant aux  
dans la ma  
colostrum de

Après la r  
noglobulines  
abrupte. Ce  
à la dispariti  
les cellules  
dilution des  
de la sécréti  
dans le colo  
9 heures et  
situation n'es  
puisque celui  
bulines que d

#### Facteurs de

Les princ  
anticorps du  
lactoferrine e

#### Lysozyme

Le lait des  
comparativen  
100 ml contr  
lysozyme cou  
muramique e  
doglycanes d  
positif et de l  
à Gram négat  
glycane est re

IgA sécrétoires (SIgA) apparaissent dans le colostrum ou dans le lait après une stimulation antigénique du tractus gastro-intestinal, comme il peut en survenir par exemple à l'occasion d'une entérite [5]. Ce lien entéromammaire de type IgA correspond à une migration des immunocytes à IgA de l'intestin vers la glande mammaire. Arrivés dans cet organe, ces immunocytes se transforment en plasmocytes et sécrètent leurs IgA dans le lait. Un tel lien entéromammaire n'a pu être démontré chez les ruminants. En cas d'immunisation parentérale par contre, on retrouve généralement dans la sécrétion lactée une réponse de type IgG.

Les IgM représentent moins de 10 p. cent des immunoglobulines colostrales. Elles proviennent principalement (66 p. cent) du sérum sanguin, le reste étant produit par des plasmocytes mammaires.

Quant aux IgG2, elles diffusent passivement dans la mamelle, mais leur teneur dans le colostrum demeure toujours faible.

Après la mise bas, la concentration des immunoglobulines dans le colostrum chute de manière abrupte. Ce changement est consécutif d'une part à la disparition des récepteurs pour les IgG1 sur les cellules acinaires et, d'autre part, à une dilution des immunoglobulines lors de la montée de la sécrétion lactée. La concentration des Ig dans le colostrum baisse ainsi de 50 p. cent en 9 heures et de 85 p. cent en 48 heures; cette situation n'est pas préjudiciable au nouveau-né, puisque celui-ci ne peut résorber les immunoglobulines que durant les premières heures de sa vie.

### Facteurs de l'immunité non spécifique

Les principaux facteurs antimicrobiens non anticorps du colostrum sont le lysozyme, la lactoferrine et le système lactoperoxydase [6].

### Lysozyme

Le lait des bovidés est très pauvre en lysozyme comparativement à celui de la femme (13 µg/100 ml contre 30 mg/100 ml chez la femme). Le lysozyme coupe la liaison entre l'acide N-acétylmuramique et la N-acétylglucosamine des peptidoglycane de la paroi des bactéries à Gram positif et de la membrane externe des organismes à Gram négatif. Chez ces derniers, le peptidoglycane est recouvert par une lipoprotéine de sorte

que le substrat ne peut être accessible à l'enzyme qu'après l'action conjointe d'anticorps spécifiques et de la cascade du complément. Chez certaines bactéries à Gram positif, le lysozyme peut être efficace à lui seul.

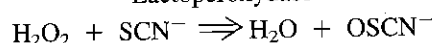
### Lactoferrine

Si le lait des bovins contient très peu de lactoferrine comparativement à celui de la femme, le colostrum bovin par contre en contient des quantités appréciables (2-5 mg/ml). L'activité bactériostatique de la lactoferrine provient de la capacité de cette protéine de complexer le fer, un élément indispensable au métabolisme de la bactérie.

### Complexe lactoperoxydase/thiocyanate/eau oxygénée

Le système n'est efficace que si les trois composantes sont présentes. Il est bactériostatique à pH neutre et bactéricide à pH bas. La concentration en lactoperoxydase du lait est importante chez les bovins (30 mg/ml), les valeurs les plus hautes étant atteintes juste après la parturition. La teneur en ion thiocyanate  $SCN^-$  dans le lait dépend fortement du régime alimentaire, cet ion provenant du métabolisme des acides aminés soufrés. La réaction d'oxydation catalysée par la lactoperoxydase peut se résumer comme suit :

Lactoperoxydase



Le produit de la réaction, l'anion hypothiocyanite ( $OSCN^-$ ) est un agent oxydant à courte durée de vie, qui va réagir, par exemple, avec les groupements  $NH_2$  ou thiols ( $-SH$ ) d'enzymes essentielles du métabolisme bactérien. Le système lactoperoxydase est donc un système enzymatique composé de l'enzyme (lactoperoxydase) et de deux substrats (le peroxyde d'hydrogène et l'anion thiocyanate) dont le produit de réaction, l'anion hypothiocyanite est bactéricide à des concentrations de l'ordre de quelques micromoles/l.

### RÉSORPTION DES ANTICORPS PAR LE VEAU NOUVEAU-NÉ

Les immunoglobulines sont résorbées par pinocytose au niveau des entérocytes du jéjunum. Bien que toutes les classes d'immunoglobulines soient résorbées, les IgG1 semblent l'être dans des proportions plus importantes. La perméabilité de

la muqueuse intestinale aux anticorps est de courte durée. Douze heures après la naissance, l'épithélium intestinal ne résorbe déjà plus que 50 p. cent de ce qu'il pouvait absorber à la naissance. Ce pouvoir de résorption tombe à zéro dès la 36<sup>e</sup> heure [7]. Cette perméabilité dépend des facteurs suivants :

— seuls les jeunes entérocytes sont à même de résorber les immunoglobulines, les cellules de remplacement ne le seront plus. La réduction progressive de la zone d'absorption s'opère donc parallèlement au renouvellement très rapide de l'épithélium intestinal;

— à la naissance, l'acidité gastrique et le taux d'enzymes digestives sont faibles ce qui diminue le niveau de destruction des protéines colostrales;

— le colostrum a un très haut pouvoir tampon ce qui évite aux immunoglobulines les modifications brutales de pH;

— le colostrum contient un facteur antitrypsique capable de limiter la protéolyse des immunoglobulines;

— les IgG1, malgré l'absence de pièce sécrétoire montrent une résistance très particulière à l'action de la trypsine de sorte qu'on peut rapprocher du point de vue fonctionnel les IgG1 bovines des IgA sécrétoires des autres espèces de mammifères.

L'apparition des immunoglobulines dans le sérum sanguin du veau est rapide puisqu'elle survient déjà une heure après le premier repas. Les taux d'immunoglobulines sériques chez le veau peuvent atteindre ceux rencontrés chez l'adulte, voire les dépasser. Lorsque la concentration maximale d'immunoglobulines sériques est atteinte, la récession des anticorps d'origine maternelle va s'effectuer selon une courbe logarithmique. La demi-vie des immunoglobulines sériques transmises passivement par le colostrum

est de courte durée (une quinzaine de jours pour les IgG, un peu moins pour les IgM et les IgA).

La durée de l'immunité colostrale est une fonction directe de la concentration initiale en Ig sériques, cette dernière dépendant de la qualité et du mode de distribution du colostrum. Rappelons que le veau est, à sa naissance, dépourvu d'anticorps même s'il est immunocompétent depuis le 4<sup>e</sup> mois de sa conception. La protection assurée par les anticorps endogènes, activement synthétisés, ne deviendra efficace qu'à partir de la 4<sup>e</sup> à 5<sup>e</sup> semaine de la vie (Fig. 69-1) ce qui indique l'importance de l'immunité passive colostrale pour la survie du veau. L'immunité colostrale apporte donc au nouveau-né une protection immédiate, à un moment où il ne dispose pas encore de ses propres immunoglobulines. Si l'apport d'immunoglobulines colostrales est insuffisant ou si la résorption de ces anticorps s'effectue mal, le taux sérique d'Ig chez le veau n'atteindra pas un niveau suffisant, c'est l'hypogammaglobulinémie (concentration en Ig inférieure à 10 g/l).

Certains agents pathogènes pouvant frapper le veau dès sa naissance (colibacillose), il est difficile de créer une immunoprotection par administration périnatale de vaccin, la protection conférée par un tel vaccin étant souvent trop tardive [8]. L'immunisation passive par transmission d'un colostrum maternel immun permet de mettre en œuvre une prophylaxie efficace des infections néonatales du veau. Elle repose sur la vaccination des femelles gestantes et sur l'administration au veau dans des conditions optimales du colostrum et du lait produits [9]. L'objectif de cette vaccination est de pallier les déficiences qualitatives et quantitatives du colostrum et du lait en anticorps spécifiques. Cette vaccination n'est à conseiller que vis-à-vis d'affections survenant dans les quinze premiers jours de la vie du veau

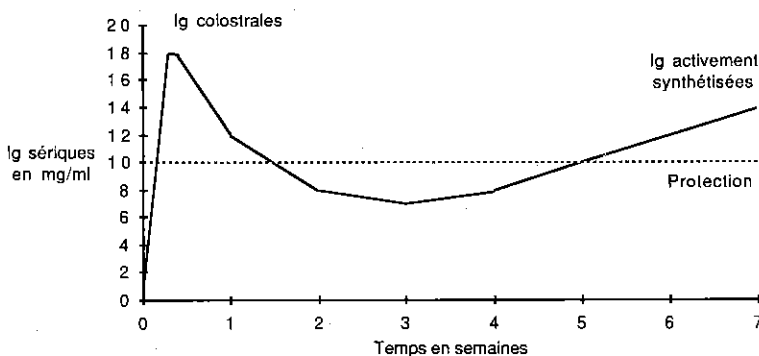


Figure 69-10 Cinétique des immunoglobulines sériques du veau. D'après JL Pellerin. L'immunité néo-natale des bovins, *Revue Med Vet*, 1982, 133, 8-9, 521-537.

(colibacillo  
s'agit d'inf  
du jeune e  
transmissio  
constitue s  
active du je  
l'importanc  
on conçoit  
attendre d'  
vation. Que  
(conservati  
niveau d'u  
banque de  
moment de  
lorsque la n  
veau (marr  
santes, etc.  
toutes les  
propager pa  
affections c  
la leucose.

EFFETS S  
DU TRA  
D'IMMU

EFFETS S  
IMMUNES

Les gam  
recevoir vo  
capacités de  
temps que d  
dans son org  
formation de  
de cette inf  
des anticorps  
des complex  
formés et fi  
présentatrice  
dendritiques  
Fc des IgG  
de ce fait  
amplificatio  
sa mémoire.  
exercer un  
l'antigène. C  
les complexe  
vent rendre

(colibacillose, rotavirose et coronavirose). S'il s'agit d'infections tardives, l'immunisation active du jeune est à préférer. On sait en effet que la transmission passive d'anticorps via le colostrum constitue souvent une entrave à l'immunisation active du jeune (voir partie suivante). Etant donné l'importance du colostrum pour la santé du veau, on conçoit aisément tout le bénéfice que l'on peut attendre d'une structure en assurant la conservation. Que ce soit au sein même de l'exploitation (conservation des excédents au congélateur) ou au niveau d'une structure centralisée, une telle banque de colostrum permet de disposer à tout moment de ce produit et plus particulièrement lorsque la mère ne peut couvrir les besoins de son veau (mammites de vélage, quantités insuffisantes, etc.). Il importe cependant de prendre toutes les mesures nécessaires afin de ne pas propager par ces échanges de colostrum certaines affections contagieuses telles que la brucellose ou la leucose.

## **EFFETS SECONDAIRES DU TRANSFERT D'IMMUNOGLOBULINES**

### *EFFETS SUR LES RÉPONSES IMMUNES DU RECEVEUR*

Les gammaglobulines IgG transférées à un receveur vont exercer une influence sur ses capacités de répondre à un antigène aussi longtemps que des anticorps spécifiques persisteront dans son organisme. Cette influence résulte de la formation de complexes antigène-IgG. La nature de cette influence dépendra de la concentration des anticorps concernés : à faible concentration, des complexes Ag-IgG en excès d'antigène sont formés et focalisent l'antigène sur les cellules présentatrices de l'antigène et sur les cellules dendritiques, via les récepteurs pour le fragment Fc des IgG que portent ces cellules; leur rôle est de ce fait favorisé et il s'ensuit plutôt une amplification de la réponse et un renforcement de sa mémoire. A forte concentration, les anticorps exercent un effet rétro-inhibiteur sur la réponse à l'antigène. Cet effet est multiforme : d'une part, les complexes Ag-IgG en excès d'anticorps peuvent rendre les lymphocytes B tolérants de

manière directe, par interconnexion de leurs récepteurs spécifiques, et de leurs R.Fc et R.C3b, et de manière indirecte, par le truchement de facteurs IBF (IgG Binding Factors = formes solubles des R.Fc) libérés par des lymphocytes T; d'autre part, ces complexes induisent la maturation de lymphocytes T suppresseurs.

Chez toutes les espèces, deux circonstances peuvent créer une immunosuppression de cette nature :

### **En cas de sérovaccination**

Etant donné que l'immunité passive est immédiate mais de courte durée, tandis que l'immunité active est retardée dans son installation mais de longue durée, on peut allier les deux formes d'immunité afin d'obtenir une protection immédiate et durable : c'est la sérovaccination. Une indication fréquente en est la protection contre le tétanos d'un blessé non vacciné.

En cas de sérovaccination, la quantité de gammaglobulines spécifiques administrée devra être suffisante pour demeurer protectrice pendant une durée minimale, sans être excessive au point d'engager une immunosuppression de la réponse au vaccin. De toute manière, il faut supposer que la dose de vaccin administrée conjointement aux gammaglobulines n'aura souvent comme conséquence que l'induction de la mémoire; il convient dès lors de modifier le protocole de vaccination recommandé par l'administration d'une dose de rappel supplémentaire.

### **Lors d'une immunité congénitale**

Quel que soit son mode d'installation (voie placentaire ou colostrale), une immunité congénitale correspond toujours à la présence de quantités importantes d'IgG maternelles chez le nouveau-né. Cette situation ne va pas sans créer les conditions d'une immunosuppression des réponses contre les pathogènes viraux et bactériens auxquels le nouveau-né est confronté. C'est pourquoi son immunisation naturelle contre ces agents pathogènes ne s'installe-t-elle qu'avec un retard dont l'importance est fonction du taux d'IgG maternelles initialement reçu contre chaque agent pathogène considéré; chaque triplet mère-jeune-pathogène est différent sous ce rapport, et peut créer des immunosuppressions de quelques semaines à quelques mois. D'ordinaire, une recrudescence de la sensibilité du jeune aux

infections apparaît vers l'âge de deux mois; elle correspond à l'extinction progressive de la protection congénitale sans compensation par une défense active.

C'est aussi la raison pour laquelle tout programme de vaccination n'est appliqué qu'à partir du 3<sup>e</sup> mois de la vie. Si pour des raisons particulières, il est souhaitable de le débiter plus tôt (par exemple, vaccination de chiots contre le virus de Carré dès le 2<sup>e</sup> mois en milieu contaminé), il convient d'adopter le même comportement qu'en cas de sérovaccination et d'appliquer un programme de rappels renforcé. En outre les vaccins associés sont déconseillés pendant cette période du fait de la variabilité du taux de protection à l'égard des différents agents pathogènes.

### MALADIE HÉMOLYTIQUE DU NOUVEAU-NÉ

Chez les équidés, des accidents comparables à ceux de l'incompatibilité fœtomaternelle dans l'espèce humaine (antigène D érythrocytaire) sont connus chez le poulain nouveau-né; ils proviennent de l'immunisation de la jument contre des agglutinogènes globulaires de type paternel portés par les globules rouges du poulain. Cette immunisation est acquise à la suite de gestations répétées avec des poulains portant les mêmes agglutinogènes. Le premier poulain d'une jument n'est jamais atteint, la majorité des cas survenant après un minimum de 4 gestations. Les anticorps anti-érythrocytaires de la jument se concentrent dans son colostrum et sont résorbés par le poulain après sa première tétée. Les symptômes de maladie hémolytique apparaissent ainsi chez le poulain entre le 1<sup>er</sup> et le 2<sup>e</sup> jour de la vie. Son traitement consiste en une exsanguinotransfusion, le sang utilisé devant provenir de chevaux donneurs dont les globules rouges ont été testés pour s'assurer de leur compatibilité avec le poulain receveur (cross-matching à l'antiglobuline). Il est possible de prévenir l'installation de cette érythrolyse néonatale du poulain en détectant avant le poulinage la présence d'hémagglutinines dans le sang ou le colostrum de la jument par un test de Coombs indirect sur des globules rouges de l'étalon: en cas de test positif, le poulain sera séparé de sa mère dès sa naissance et nourri au moyen de colostrum et de lait d'une autre jument.

Ce genre d'accident hémolytique se présente

assez fréquemment chez le produit issu du croisement d'étalon et d'ânesse: c'est la maladie du muletton. Etant donné que le pouvoir immunogène des antigènes paternels est plus important pour l'ânesse que pour la jument, cette maladie du muletton peut se présenter dès les premières gestations hybrides et est souvent plus grave que chez le poulain.

Une maladie hémolytique du nouveau-né peut aussi se présenter dans les espèces canine et porcine, mais aucun cas n'est signalé dans l'espèce bovine; on attribue ce fait à la présence d'antigènes globulaires sur les entérocytes, entraînant une absorption des isohémagglutinines éventuelles du colostrum par ces antigènes tissulaires.

### CONSÉQUENCES DU TRANSFERT D'IMMUNOGLOBULINES HÉTÉROLOGUES

Après administration de gammaglobulines hétérologues, des anticorps contre les sites isotypiques de ces protéines apparaissent après un délai variable, dépendant de leur pouvoir immunogène chez le receveur. Ces anticorps entraînent l'immunoélimination des gammaglobulines; cette phase s'installe selon les individus entre le 6<sup>e</sup> et le 9<sup>e</sup> jour après une première administration de gammaglobulines, mais elle sera beaucoup plus précoce (vers le 3<sup>e</sup> jour déjà) chez les sujets possédant une mémoire immunologique consécutive à l'administration antérieure de gammaglobulines de même origine.

Cet inconvénient, inhérent à l'administration de gammaglobulines hétérologues, ne peut être qu'atténué par le recours à des gammaglobulines protéolysées F(ab')<sub>2</sub> [10]. C'est pourquoi la durée de protection d'une séroprophylaxie hétérologue est très limitée dans le temps, particulièrement en cas de répétition. En cas d'administration de quantités importantes de gammaglobulines hétérologues (doses curatives), l'apparition d'anticorps vers le 8<sup>e</sup> ou 9<sup>e</sup> jour entraîne la formation de complexes immuns solubles responsables des symptômes de la maladie sérique.

### BIBLIOGRAPHIE

1. DEPELCHIN A. Prophylaxie du tétanos au moyen des hyperimmunsérums purifiés. *Ann Immunol (Inst Pasteur)*, 1974, 125 C: 655-673.
2. ANDERSON DV, TUCKER EM, POWELL JR, PORTER P.

- Bovine antigenomas. 223-237.
3. WATSON gland and Sci, 1980
4. HAMMER brane rec plasma to 229-234.
5. BOHL EH infections Topics V

- Bovine monoclonal antibodies to the F5 (K99) pilus antigen of *E. Coli*, produced by murine/bovine hybridomas. *Vet Immunol Immunopathol*, 1987, 15 (3) : 223-237.
3. WATSON DL. Immunological functions of the mammary gland and its secretion : comparative review. *Aust J Biol Sci*, 1980, 33 : 403-422.
  4. HAMMER DK, MOSSMANN H. The importance of membrane receptors in the transfer of immunoglobulins from plasma to the colostrum. *Ann Rech Vet*, 1978, 9 (2) : 229-234.
  5. BOHL EH, SAIF LJ. Passive immunity against enteric viral infections of piglets. The mucosal immune system. *Curr Topics Vet Med Sci*, 1981, 12 : 259.
  6. REITER B. Review of nonspecific antimicrobial factors in colostrum. *Ann Rech Vet*, 1978, 9 (2) : 205-224.
  7. PELLERIN JL. L'immunité néo-natale des bovins. *Revue Med Vet*, 1982, 133 (8-9) : 521-537.
  8. OUDAR J, LARVOR P, DARDILLAT J, RICHARD Y. L'immunité d'origine colostrale chez le veau. *Revue Med Vet*, 1976, 127 (10) : 1309-1346.
  9. FREMONT Y. Vaccinations antirotavirus et anticoronavirus chez les bovins. Eléments pratiques du choix entre les vaccinations de la vache ou du veau. *Rec Med Vet*, 1983, 159 (3) : 345-349.
  10. DEPELCHIN A. Prophylaxie du tétanos au moyen des hyperimmunsérums purifiés. *Ann Inst Pasteur*, 1972, 123 : 681-694.

RT

lignes hétérotypiques un délai immunogène et l'immunité phase 6° et le traitement de beaucoup plus les sujets que consé-

stration de peut être globulines moi la durée hétérologue erement en tration de nes hétéro- l'anticorps mation de sables des

au moyen des (Inst Pasteur),

, PORTER P.

J.-C. Ruwet

## ÉTHIQUE EN EXPÉRIMENTATION ANIMALE

La recherche médicale et vétérinaire est une grande consommatrice d'animaux produits et sacrifiés pour l'expérimentation au bénéfice de l'Homme. C'est là une des nombreuses formes d'exploitation que celui-ci, en toute bonne foi, exerce sur les animaux. Il y trouve des justifications philosophiques et religieuses, rationnelles ou émotionnelles. Il dispose en fait d'une position de force et exerce sa domination en toute impunité. La sensibilité différente puis l'activisme de quelques-uns se sont manifestés au travers de diverses ligues et associations de protection animale, antivivisectionnistes d'abord, prônant ensuite la reconnaissance de droits aux animaux. Cette sensibilité a gagné de vastes pans de l'opinion publique et ce mouvement gêne et agace les milieux scientifiques. Ce type d'opposition a été spécialement vivace dans les pays anglo-saxons, plus prompts à écouter l'opinion publique et à créer des commissions d'éthique. On considère que si la physiologie a connu au siècle passé ses premiers développements importants en France et en Allemagne, et non en Grande-

Bretagne, c'est parce que dans ce pays la vivisection était interdite et les scientifiques placés sous contrôle. C'est seulement vers 1870, après la découverte des anesthésiques, que la physiologie y prit son véritable essor [6].

René Descartes (1596-1650) est sans conteste le père du doute scientifique et de la démarche expérimentale; il est assurément à l'origine de la primauté accordée à l'étude des causes. La pensée scientifique moderne est encore imprégnée des conceptions cartésiennes. Celle de l'animal-machine tout d'abord, selon laquelle les comportements les plus complexes des animaux sont réductibles à des réactions purement automatiques à des stimulations du milieu. La notion de dualité du corps et de l'âme ensuite, qui explique qu'à côté de la machine corporelle, l'homme et lui seul soit doté de spiritualité, d'intelligence, de conscience et en corollaire soit accessible à la souffrance. Du fait de la similitude des structures, l'étude des rouages du corps des animaux est précieuse pour la compréhension du corps humain, mais du fait de la dualité du corps et de

l'âme, l'étude du comportement des animaux serait impropre à éclairer le psychisme humain... et notamment le concept de souffrance. La cassure entre animalité et humanité ne peut être plus astucieusement cristallisée. La Mettrie (1709-1751), d'abord partisan de ces conceptions, s'en éloigna dans son *Histoire naturelle de l'âme* (1745), ouvrage révolutionnaire où il expose, par son expérience vécue, que la pensée, le psychisme, le raisonnement ont une base organique et où il souligne que la continuité entre l'animal et l'homme est non seulement corporelle mais aussi mentale [1]. Il développe ces notions, qui contiennent en germe celles de l'évolution, dans ses *Réflexions philosophiques sur l'origine des animaux* (1750). L'utilisation des animaux pour l'étude des mécanismes et des fonctions anatomiques et physiologiques ne cessera de s'amplifier, y compris dans le domaine du système nerveux, sans pour autant que les chercheurs considèrent valablement la souffrance animale et s'y arrêtent. Quelle différence en effet y a-t-il aujourd'hui, quels progrès avons-nous accomplis depuis qu'à ses détracteurs qui lui reprochaient d'infliger des souffrances à un chien dans ses expériences de vivisection, Malebranche (1638-1715) répondait « De quoi vous étonnez-vous ? Et pourquoi le plaignez-vous ? Ce ne sont que poulies et rouages qui grincent... ». De plus en plus nombreux en effet sont les physiologistes contemporains qui ne parlent même plus d'animaux : pour eux, une souris, un lapin, une caille élevés et produits en laboratoire ne sont pas des animaux, mais des *systèmes* ou des *modèles biologiques*, des *préparations expérimentales*. Façon commode de nier, en regard des séries anonymes de ces « préparations », qu'ils ont affaire à des êtres vivants.

Les principes déontologiques les plus évidents avaient pourtant été énoncés dès 1831 par un pionnier de la physiologie, le neurologue britannique Marshall Hall, qui a détaillé les règles à respecter avant d'entreprendre une expérience sur l'animal [6]. Elles conservent toute leur actualité. Essentiellement, il s'agissait de s'assurer que l'expérience projetée est indispensable à l'acquisition d'une connaissance précise utile au progrès scientifique et médical et seule susceptible de la fournir, de soumettre le projet au jugement des pairs, de faire circuler l'information pour éviter les duplications et répétitions. Peut-on être assuré que de telles prescriptions ont toujours été appliquées ? Elles ne visent toutefois qu'à éviter l'infliction de douleurs « inutiles » et surtout, à bannir le gaspillage. La légitimité de l'utilisation

de l'animal à des fins expérimentales n'est pas mise en doute.

Qu'on nous entende bien. Il ne s'agit pas ici de dresser un cadre déontologique nouveau de l'expérimentation sur l'animal et de révéler des méthodes alternatives, mais d'essayer de comprendre et de rapprocher des contraires : l'indifférence et l'insensibilité, parfois voulues et peut-être nécessaires, des chercheurs, et la sensibilité, la sensiblerie diront certains, des protectionnistes.

C'est une évidence qu'en regard de l'histoire humaine, de l'Antiquité à nos jours, notre cercle de compassion n'a cessé de s'élargir, s'étendant progressivement à toutes les classes sociales, à tous les peuples, aux animaux eux-mêmes. Cette tendance n'a été possible qu'en raison de l'élévation des niveaux de vie et du recul du spectre de la maladie et de la mort qui, jusqu'il y a peu, faisait partie des perspectives et du vécu quotidien de chaque homme et de chaque femme. Ces progrès sont le fait de la recherche, en particulier de l'expérimentation sur l'animal. William Paton, pharmacologiste oxfordien, se demande dès lors s'il n'est pas justifié de tolérer quelque souffrance aujourd'hui, puisque c'est pour garantir moins de souffrance demain, tant pour l'animal que pour l'homme [6].

C'est un fait que le cercle de compassion des hommes subit des gonflements et des contractions au gré des circonstances. La mise au point et la production du vaccin Salt contre la poliomyélite, un fléau de l'immédiat après-guerre, a nécessité le sacrifice de 1 500 000 macaques rhésus; quand on sait que pour un singe en laboratoire, cinq autres au moins ont péri dans les captures et le transport, l'holocauste s'élève à plus de 7 000 000 de spécimens [4]. Après cette alerte, la défense des droits de l'animal a pris de l'extension dans les années soixante-dix. Aujourd'hui que l'humanité est confrontée au spectre de l'immunodéficience acquise, à quels compromis la population n'est-elle pas disposée ?

C'est un fait aussi que la recherche médicale et vétérinaire sur l'animal profite aux animaux. Je ne pense pas à ceux qui sont produits pour notre consommation, mais aux animaux de compagnie comme aux animaux sauvages. Aujourd'hui, on ne massacre plus les renards, considérés comme le réservoir naturel du virus de la rage sylvatique : on les vaccine [2]. On ne massacre plus non plus les animaux sauvages africains (élangs, gnous, antilopes) suspectés d'apporter des maladies aux élevages de bovins domestiques; les situations démographiques s'étant inversées, les animaux

sauvages ra-  
menacés pa-  
des élevage  
doivent dés-  
de vaccina-  
mentale sur-  
Si on rail-  
chacun y tro-  
Or ce n'est  
d'éveiller la  
d'animaux  
produits da-  
propre et or-  
7].

Les zoolo-  
à accéder à  
l'animal. A  
animaux qu-  
par référenc-  
étiquetés da-  
les recherch-  
conduisent  
série de cap-  
propre de  
divers chez  
eux-ci en  
représentant  
mais en leu-  
sonnalité pr-  
évoluant lib-  
leur groupe-  
avec ce que  
exhibé dans  
a pu mesure  
et normal et  
réaliser ce  
d'indices  
d'angoisse d-  
des compor-  
des automu-  
mort. On s'  
complexité  
cation, de l-  
l'étroitesse e-  
l'étendue de  
expression,



sauvages raréfiés confinés dans des réserves sont menacés par les maladies frappant les animaux des élevages qui entourent leur domaine, et ils ne doivent désormais leur salut qu'à des campagnes de vaccination, fruits de la recherche expérimentale sur l'animal.

Si on raisonne en ces termes, il est clair que chacun y trouvera matière à apaiser sa conscience. Or ce n'est pas suffisant; ce dont il s'agit, c'est d'éveiller la conscience des chercheurs utilisateurs d'animaux au fait que ces derniers, fussent-ils produits dans les laboratoires, ont une existence propre et ont droit au respect de leur intégrité [5, 7].

Les zoologistes eux-mêmes ont mis longtemps à accéder à cette notion de la personnalité de l'animal. A l'origine, ils ne s'intéressaient aux animaux qu'en tant que spécimens à cataloguer par référence à des types formalisés, épinglés et étiquetés dans les nécropoles des muséums. Mais les recherches les plus récentes des éthologistes conduisent d'une part, à admettre que toute une série de capacités que nous considérons comme le propre de l'homme existent déjà à des degrés divers chez les animaux et, d'autre part, à prendre ceux-ci en considération non pas en tant que représentants anonymes d'une espèce donnée, mais en leur qualité d'individus ayant une personnalité propre. Par l'observation des animaux évoluant librement dans leur milieu et au sein de leur groupe familial et social, par comparaison avec ce que nous savions de leur comportement exhibé dans des cages et dans nos animaleries, on a pu mesurer l'écart existant entre un animal sain et normal et un animal aliéné et torturé. On a pu réaliser ce que signifiait en captivité une série d'indices d'ennui, d'inconfort, de stress, d'angoisse dont des degrés croissants conduisent à des comportements maniaques, des stéréotypies, des automutilations, de l'anorexie, voire à la mort. On s'est rendu compte dans la nature de la complexité des systèmes sociaux et de communication, de la subtilité des liens d'affiliation, de l'étroitesse et de la durabilité des liens filiaux, de l'étendue de la gamme des émotions et de leur expression, des aptitudes cognitives, des capacités

d'apprentissage, des ébauches de véritables langages, de la diversité des types d'association tels que les alliances, les coopérations, l'altruisme, tous faits qui révolutionnent les conceptions sur la continuité entre l'animal et l'homme [3, 5, 7]. Par la masse croissante de leurs travaux en ces domaines, dans la ligne et le prolongement de ceux des pionniers de leur discipline — Konrad Lorenz, Karl von Frisch et Niko Tinbergen — honorés d'un Prix Nobel de Médecine en 1973, les éthologistes se penchent aujourd'hui sur les animaux les considérant chacun comme un individu, c'est-à-dire un être doté de sa propre personnalité. Il est important que les chercheurs utilisateurs d'animaux prennent conscience de cette percée.

Qu'un ouvrage d'immunologie présente un chapitre consacré à l'éthique de l'expérimentation animale est en soi encourageant. Que cette innovation soit le fait des immunologistes n'est toutefois pas fait pour étonner. Qui mieux qu'eux en effet, spécialisés qu'ils sont dans l'étude des bases biologiques de l'identité, de la reconnaissance et de la défense du soi, est apte à saisir la notion de personnalité et de conscience du soi dont les plus avancés des éthologistes commencent à multiplier les exemples chez l'animal.

## BIBLIOGRAPHIE

1. BOAKES R. From Darwin to Behaviorism : psychology and the minds of animals. Cambridge University Press, Cambridge, 1984, 280 pages.
2. BROCHIER B et al. La vaccination antirabique du renard en Belgique : résultats obtenus à l'issue de trois campagnes. Cah Ethol Appl, 1987, 7 : 397-406.
3. FOX MW, MICKLEY LD (Ed). Advances in Animal Welfare Science 1985-86. The Humane Society of the United States, Washington, 1985, 304 pages.
4. HARRISSON B, ROTH WT. Les problèmes de conservation des primates en laboratoire. Bull UICN, 2 : 120-121.
5. MILLER HB, WILLIAMS WH (Ed). Ethics and Animals. Humana Press, Clifton, 1983, 400 pages.
6. PATON W. Man and Mouse : Animals in Medical Research. Oxford University Press, Oxford, 1984, 180 pages.
7. RUWET JCL. Une nouvelle éthique pour nos rapports avec les animaux : le combat de Peter Singer pour l'extirpation de l'espécisme. Cah Ethol Appl, 1981, 1 : 105-117.

H. Bazin

## EN GUISE DE CONCLUSION

Dans le domaine de l'immunologie, les premiers contacts réels entre l'homme et le monde animal remontent à Jenner, qui développa le premier vaccin d'origine animale à usage humain, en 1796. Il est évident que les animaux producteurs de vaccine étaient sacrifiés à la survie de l'homme. Ainsi, une épidémie de variole régnant en Amérique centrale provoqua douze décès sur un paquebot en provenance de cette contrée. Pour protéger équipage et passagers d'un autre paquebot en partance pour la même région, on décida, par manque d'ampoules de « vaccin », d'inoculer une génisse et de l'embarquer. Tout le monde fut vacciné pendant la traversée [2]. Nulle mention n'est faite du sort qui fut réservé à la génisse !

La deuxième grande époque a été celle de Pasteur dont le mérite fut, d'une part de faire triompher la théorie des germes et, d'autre part, de préparer les premiers vaccins « artificiels ». Pasteur s'est aussi largement préoccupé des problèmes infectieux du monde animal : choléra des poules, charbon des ovins et des bovins et surtout

rage des chiens. C'est en observant la première de ces maladies, qu'il découvrit qu'une vieille culture du germe pouvait perdre sa virulence tout en conservant son immunogénicité. En fait, ce fut le premier vaccin faisant appel à une modification, naturelle dans ce cas, d'un germe pathogène. Le charbon des ruminants domestiques représentait, quant à lui, un problème économique majeur de l'époque. Pasteur et son équipe s'en préoccupèrent attentivement. Au cours de leurs études, ils découvrirent qu'une modification physiologique d'un animal pouvait le rendre sensible à un germe auquel il était naturellement réfractaire : en l'occurrence, le fait de tremper les pattes d'une poule dans l'eau froide pour diminuer légèrement sa température corporelle pouvait lui faire perdre sa résistance naturelle au bacille du charbon. C'était la première transmission artificielle d'un germe pathogène, d'une espèce sensible à une espèce insensible, au détriment des animaux inoculés dont l'homme apprenait à contourner la résistance naturelle. Plus tard, Pasteur et son équipe mirent au point la vaccina-

tion anticharbonneuse en utilisant de nombreux moutons, dont beaucoup périrent. Ce fut le premier vaccin développé consciemment par l'homme, contre une maladie infectieuse... d'espèces animales à intérêt économique.

Le vaccin contre la rage fut le plus grand succès de Pasteur. Un des premiers problèmes à résoudre était la transmission d'une maladie dont on ignorait l'origine. Galtier [3] avait réussi à transmettre la rage à des lapins, animaux peu coûteux et faciles à manipuler. Cependant, cette transmission était mal maîtrisée, avec des temps d'incubation très variables, rendant les expériences difficiles à interpréter. Pasteur et ses élèves s'attelèrent à résoudre ce problème. Le procédé couronné de succès, fut l'inoculation d'un broyat de cerveau d'un animal enragé à la surface même du cerveau d'un chien ou d'un lapin, trépané. « Pasteur voulant que toute souffrance inutile fut épargnée, exigeait que tout chien, tout lapin soumis à ces expériences fût endormi. Un cornet de papier buvard imbibé de chloroforme était mis sous le nez de l'animal » [4]. Le procédé de vaccination contre la rage fut mis au point sur le chien en songeant dès le début à la possibilité de protéger les chiens eux-mêmes [5] et bien sûr l'homme, bien que « la main me tremblera quand il faudra passer à l'espèce humaine » écrit Pasteur à l'Empereur du Brésil [6]. Dans la même lettre, Pasteur suggérait à son correspondant l'emploi de condamnés à mort pour tester l'innocuité de son vaccin, en leur promettant la vie sauve en échange du risque encouru et dans la mesure où ils en réchapperaient. De telles transactions ont fréquemment été proposées dans des pays européens. Elles montrent à quel point nos conceptions éthiques ont évolué au cours du temps.

En tant que science fondamentale, l'immunologie à ses débuts a essentiellement utilisé des animaux d'expérience, aucune technologie *in vitro* n'étant disponible. Cependant, dès la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, la découverte par Von Behring et Kitasato des propriétés neutralisantes des sérums d'animaux vaccinés contre les toxines tétanique et diphtérique, incita les immunologistes à étudier les sérums, essentiellement *in vitro* contribuant ainsi à leur donner une nouvelle méthode de travail. L'immunité cellulaire, quant à elle, a pu se développer grâce aux souches animales consanguines, congéniques, recombinantes, permettant de disséquer le rôle des gènes dans le développement et la régulation des réponses immunes. Au début de ce travail, la plupart des progrès furent accomplis *in vivo* grâce à des immunisations à

l'aide d'antigènes inertes ou de greffes de peau ou de tumeur. L'amélioration des techniques de culture cellulaire *in vitro* a changé cet état de chose et une grande partie des résultats récents a été obtenue de cette manière.

Il faut signaler que l'espèce humaine, objet de soins individuels attentifs, a très largement contribué au développement de l'immunologie fondamentale, comme par exemple, à la découverte des isotypes IgA, IgE et IgD d'immunoglobuline des déficits immunitaires et des manifestations de l'auto-immunité. Leurs équivalents animaux n'ont été trouvés qu'ultérieurement. L'homme a également fourni lui-même la matière nécessaire à de nombreuses études, ainsi celle de la première séquence d'une molécule d'immunoglobuline. Curieusement, il existe actuellement une certaine compétition entre les immunologistes travaillant d'une part sur l'homme et, d'autre part, sur la souris (parfois d'autres espèces animales). Souvent, la comparaison des résultats obtenus dans ces deux espèces permet de généraliser ces données au monde animal tout entier.

En tant que science appliquée, il faut distinguer en immunologie l'application médicale de celle purement technologique. Dans le premier cas, les vaccins antibactériens ont depuis toujours été produits *in vitro*. Par contre, les vaccins viraux ont nécessité pendant longtemps le sacrifice d'un grand nombre d'animaux : des lapins ou des moutons utilisés pour le vaccin antirabique, à la terrible hécatombe de singes destinés aux premiers vaccins antipoliomyélite qui étaient préparés sur cellules primaires, donc renouvelables à chaque culture. La technologie des cultures de cellules s'étant développée, la majorité des vaccins antiviraux sont actuellement produits par culture de cellules, en lignée continue.

La sérothérapie a rendu de grands services à l'homme dans la lutte contre certaines maladies, comme la diphtérie. C'est l'espèce chevaline, généralement les chevaux de réforme des armées, qui servit à cet usage. Ce mode de production a pratiquement disparu, remplacé par des préparations humaines à base de sérums de donneurs ou de placentas. Les anticorps monoclonaux humains remplaceront probablement ces « gammaglobulines humaines » dans le futur. Les anticorps ont également été très utilisés comme moyen de détection de molécules d'origines diverses. Certaines n'étant reconnaissables que par des anticorps humains, comme dans les typages HLA, ce sont des sérums de donneurs humains qui ont toujours été employés. Mais dans la majorité des

cas, ce sont ceux qui ont été introduits dans le domaine de leur fabrication des améliorations de leur prix.

Essayer d'entre l'immunité est difficile. La des immunologistes espèce une s' Les animaux trouvent, év contre, le br logie a eu des médecine des ment aussi s' parfois même rage, par exer logie s'appuie la rigueur, s faire progressi ques qui sont espèce. Ce r rapidement. A cellulaires (C l'homme, pu le mouton, les traîne, chez l

Quel avenir l'immunologie de cultures i champs d'inv technologique lités sont parf le plus souven peu probable remplacer, au les études in impossibles à vivant est qu des réactions pris isolément interactions ce reproduites p biologiques ou les nouveaux génie génétiqu très intéressan infectieuses et que des anim

cas, ce sont des lapins, des chèvres, des chevaux qui ont été immunisés et prélevés. La technologie des anticorps monoclonaux a bouleversé ce domaine. Encore très souvent produits in vivo, leur fabrication in vitro va croissante avec l'amélioration des techniques de culture et la diminution de leur prix de revient.

Essayer d'établir un bilan réaliste des rapports entre l'immunologie et le monde animal semble difficile. La souris reste toujours l'animal favori des immunologistes, car on possède sur cette espèce une somme de données sans équivalent. Les animaux utilisés par les chercheurs n'y trouvent, évidemment, aucun bénéfice. Par contre, le brillant développement de l'immunologie a eu des répercussions principalement sur la médecine des animaux de compagnie, certainement aussi sur celle des animaux de rapport et parfois même des animaux sauvages (renard et rage, par exemple). Mais actuellement, l'immunologie s'appuie de plus en plus sur l'homme (ou, à la rigueur, sur les animaux domestiques) pour faire progresser les connaissances immunologiques qui sont directement applicables à la même espèce. Ce mouvement est nouveau et évolue rapidement. Ainsi, les antigènes de membranes cellulaires (CD) sont les mieux connus chez l'homme, puis chez la souris et le rat, enfin chez le mouton, les bovins ou le porc et, bien loin à la traîne, chez le cobaye, le hamster ou le lapin.

Quel avenir envisager ? Le développement de l'immunologie se fera de plus en plus au moyen de cultures in vitro qui ouvrent de nouveaux champs d'investigation grâce à des améliorations technologiques et méthodologiques. Ces possibilités sont parfois alternatives aux anciennes, mais le plus souvent, elles sont complémentaires. Il est peu probable que les cultures in vitro pourront remplacer, au moins dans un avenir proche, toutes les études in vivo qui fournissent des données impossibles à acquérir autrement : « un animal vivant est quelque chose de plus que la somme des réactions de ces cellules, tissus ou organes, pris isolément; il s'exerce chez l'animal intact des interactions complexes qui ne peuvent pas être reproduites par des méthodes de substitutions biologiques ou non biologiques » [1]. Par contre, les nouveaux vaccins produits actuellement par génie génétique laissent entrevoir des perspectives très intéressantes dans la lutte contre les maladies infectieuses et parasitaires, aussi bien de l'homme que des animaux.

A très long terme, il est impossible d'établir des prévisions sur ce que seront les rapports du monde animal et de l'homme dans le cadre de l'immunologie. Le passé est assez chargé ! Il serait trop facile d'oublier qu'on a accusé Jenner de transformer les humains qui avaient été vaccinés en... bovidés, que Pasteur a vu se dresser contre lui des pétitions pour refuser l'établissement de chenils destinés à héberger ses chiens immunisés contre la rage, que des sociétés « antivaccination » ont lutté jusqu'à ces dernières années dans nos pays contre toute forme de vaccination. Bien sûr, il y a eu des abus dans l'emploi des animaux pour le développement des sciences, et en particulier de l'immunologie : expériences mal préparées, mal effectuées, répétées inutilement, etc. Il faut certainement réagir contre ces faits et empêcher qu'ils se reproduisent.

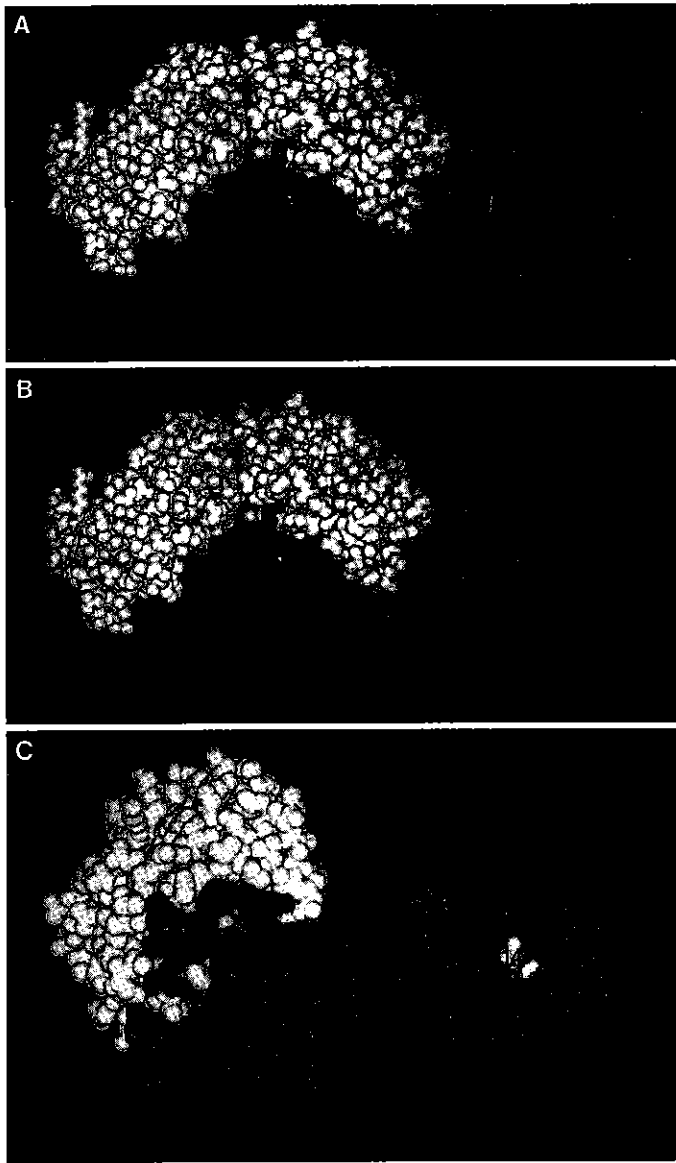
Cependant, il subsiste des interrogations. Faut-il ou non acquérir des données nouvelles en immunologie ? A-t-on le droit d'employer des animaux de laboratoire à cette fin ? La réponse doit être donnée par la société, ce n'est pas un problème scientifique. Le Conseil de l'Europe a édicté des directives qui doivent être mises en application par les pays membres. Enfin, des organisations comme FRAME (UK) ou la Société de Pharmaco-Toxicologie Cellulaire (France) s'emploient à établir le dialogue entre des groupes ayant des positions difficilement conciliables. Elles s'efforcent aussi de promouvoir l'étude des technologies in vitro qui, certainement, seront de plus en plus fiables et performantes, sans méconnaître pour autant l'utilité des expériences in vivo, entreprises consciemment et dans le respect d'une éthique réfléchie.

## BIBLIOGRAPHIE

1. CIOMS. Principes Directeurs Internationaux pour la Recherche Biomédicale impliquant des Animaux. Council for International Organizations of Medical Sciences, 1985, 28 pages.
2. MARCHAL (DE CALVI). Vaccine animale. Génisses vaccinifères à bord des paquebots de la compagnie transatlantique. Recueil de Médecine Vétérinaire, 1869, 46 : 869-870.
3. NICOL L. L'épopée pastorienne et la médecine vétérinaire. Chez l'auteur, Garches, 1974, 623 pages.
4. VALLERY-RADOT R. La Vie de Pasteur. Flammarion, Paris, 1941 : 513 pages (texte identique à celui paru en 1900).
5. Idem réf. 2, p. 528.
6. Idem réf. 2, p. 529.

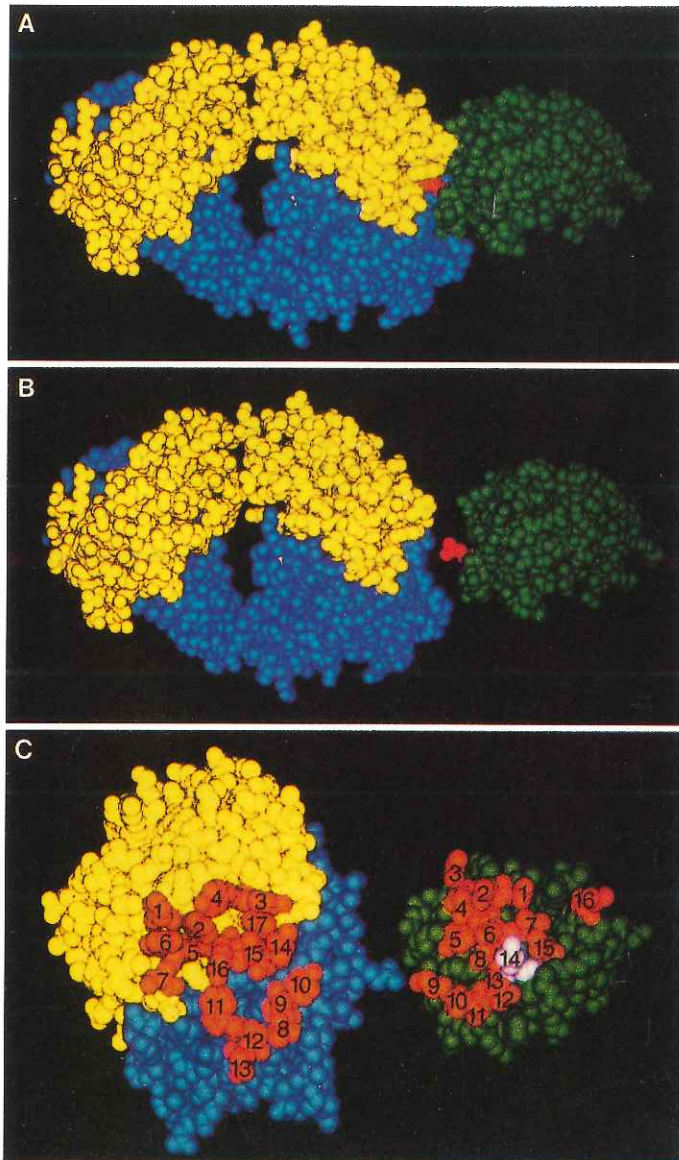
**PLANCHES COULEURS  
HORS-TEXTE**

Figure 1. Complexe anticorps-antigène



Modèle moléculaire du complexe Fab de l'anticorps monoclonal anti-lysozyme et du lysozyme. A) Structure du complexe. La chaîne lourde de l'anticorps est présentée en bleu, la chaîne légère en jaune, le lysozyme en vert et le résidu glutamine 121 du lysozyme en rouge. B) Les composantes du complexe ont été éloignées afin d'indiquer les protubérances et les dépressions correspondant aux surfaces complémentaires. C) Les faces de contact des deux molécules sont tournées vers le lecteur par une rotation de 90° et les résidus en contact dans le complexe sont colorés en rouge avec le résidu glutamine du lysozyme indiqué en blanc. La poche dans laquelle ce résidu s'introduit dans le site de combinaison est délimitée par les résidus 2, 5, 6 et 16 de l'anticorps (Amit AG, Mariuzza RA, Philips SEV et al. Three dimensional structure of an antigen-antibody complex at 2.8 Å resolution. Science, 1986, 233 : 747-753. Reproduit avec autorisation).

Figure 1. Complexe anticorps-antigène

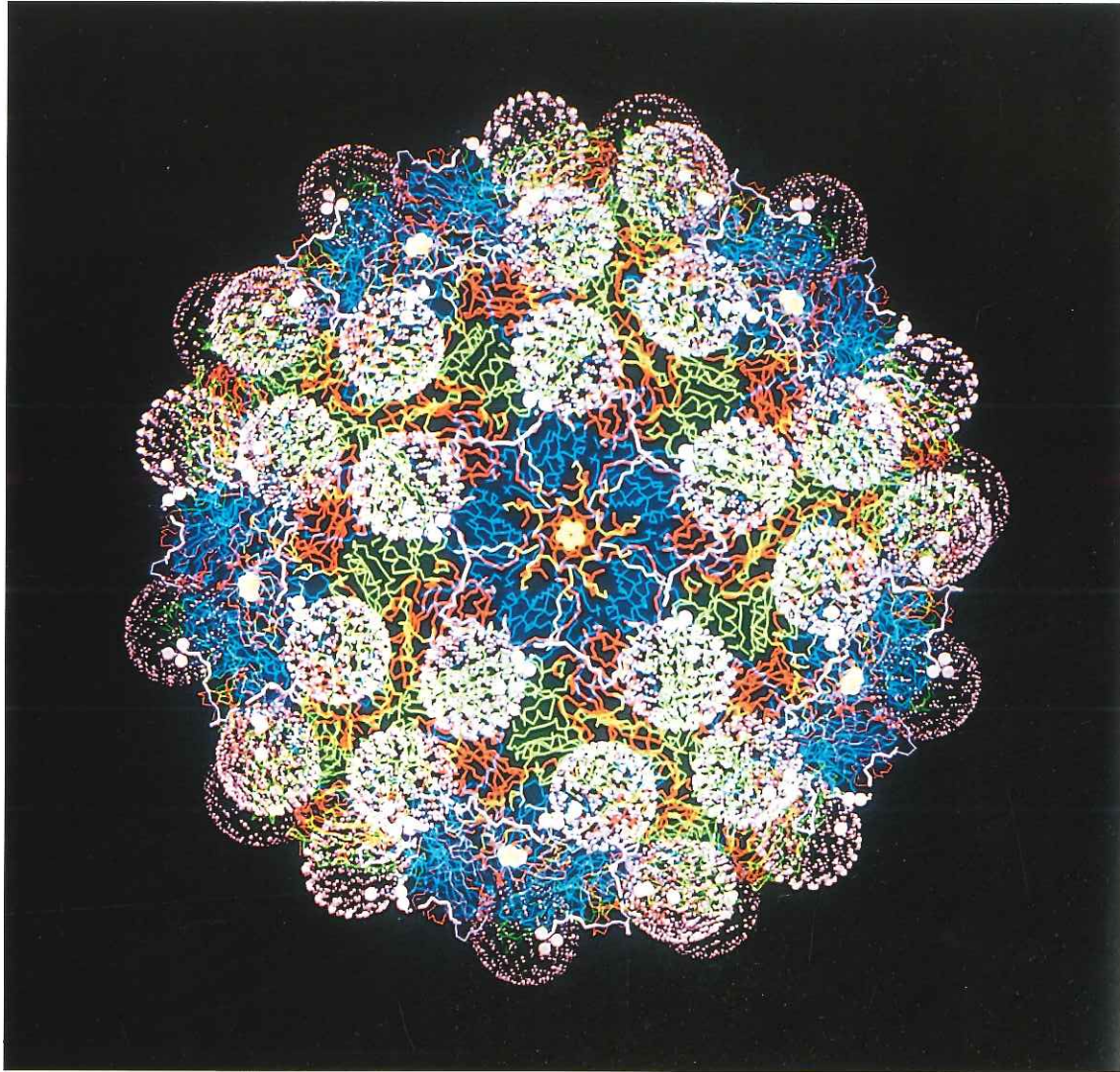


Modèle moléculaire du complexe Fab de l'anticorps monoclonal anti-lysozyme et du lysozyme. **A)** Structure du complexe. La chaîne lourde de l'anticorps est présentée en bleu, la chaîne légère en jaune, le lysozyme en vert et le résidu glutamine 121 du lysozyme en rouge. **B)** Les composantes du complexe ont été éloignées afin d'indiquer les protubérances et les dépressions correspondant aux surfaces complémentaires. **C)** Les faces de contact des deux molécules sont tournées vers le lecteur par une rotation de 90° et les résidus en contact dans le complexe sont colorés en rouge avec le résidu glutamine du lysozyme indiqué en blanc. La poche dans laquelle ce résidu s'introduit dans le site de combinaison est délimitée par les résidus 2, 5, 6 et 16 de l'anticorps (Amit AG, Mariuzza RA, Philips SEV et al. Three dimensional structure of an antigen-antibody complex at 2.8 Å resolution. *Science*, 1986, 233 : 747-753. Reproduit avec autorisation).



## Figure 2. Structure du virus de la fièvre aphteuse

La protéine VP1 est représentée par les points bleus, la VP2 par les points verts, la VP3 par les points rouges, la VP4 par les points jaunes. L'anneau jaune au centre représente des ponts disulfures. Document reproduit grâce à la courtoisie de David Rowlands et Fred Brown, Wellcome Biotech. Ces images ont été obtenues par l'équipe de David Stuart à Oxford.



A) HE : col  
anti-cellules  
MARM-7. I  
anticorps a  
peroxydase.  
follicules (sa  
et délimite a  
PB : pulpe  
CG : centre

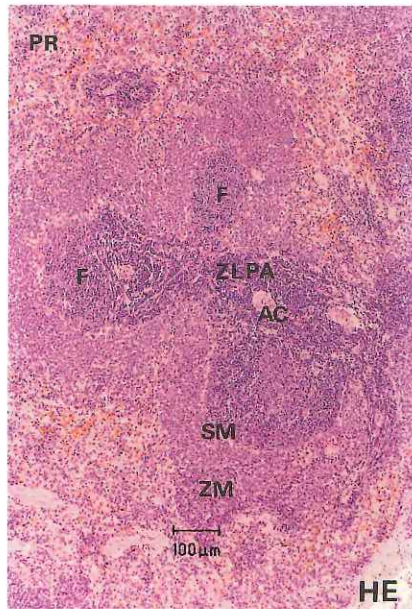
A

C

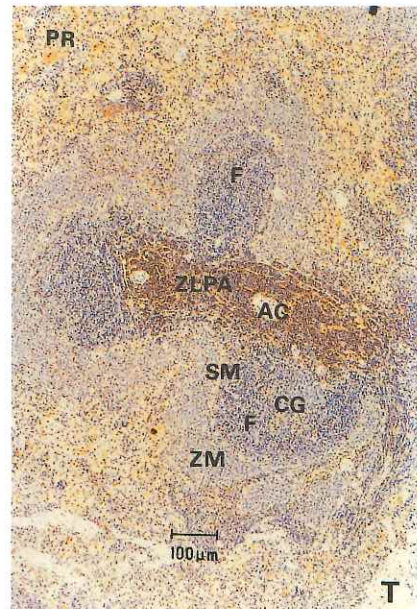


**Figure 3. Coupes sériées de rate de rat**

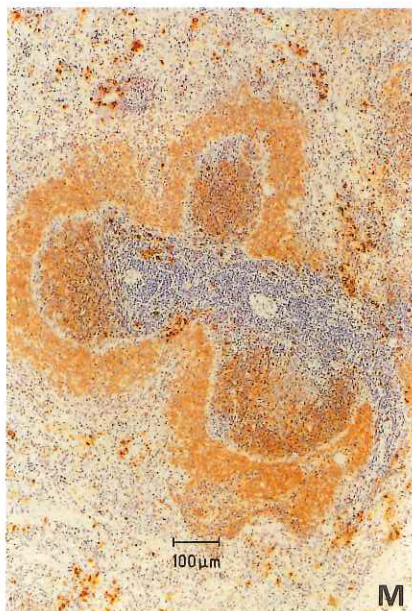
A) HE : coloration à l'hématoxyline-éosine. B) Coloration indirecte à la peroxydase à l'aide de l'anticorps monoclonal de souris anti-cellules T de rat : W3/13. C) Coloration indirecte à la peroxydase avec l'anticorps monoclonal de souris anti-IgM de rat : MARM-7. D) Coloration indirecte à la peroxydase avec l'anticorps monoclonal de souris anti-IgD de rat : MARM-3. Le second anticorps a été, dans les trois cas, un anticorps monoclonal de rat anti-chaîne légère Kappa de souris (LO-MK-1) marqué à la peroxydase. Notez la présence de lymphocytes T dans la zone lymphocytaire périartériolaire, de lymphocytes B  $\mu^+ \delta^+$  dans les follicules (sauf dans les centres germinatifs) et de lymphocytes B  $\mu^+ \delta^-$  dans la zone marginale. Le sinus marginal est bien visible et délimite aisément les lymphocytes B folliculaires et marginaux.  
 PB : pulpe blanche; PR : pulpe rouge; AC : artériole centrale; ZLPA : zone lymphocytaire périartériolaire; F : follicule; CG : centre germinatif; SM : sinus marginal; ZM : zone marginale.



A



B



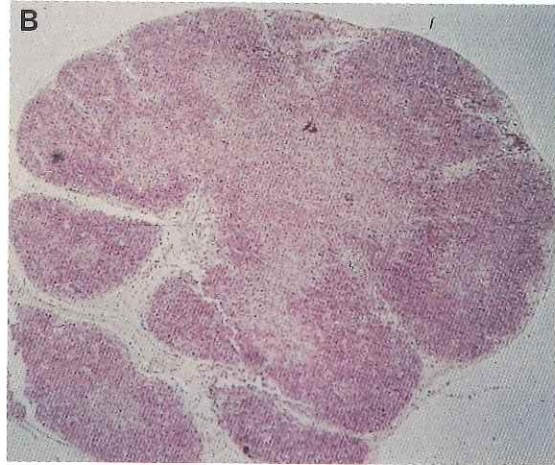
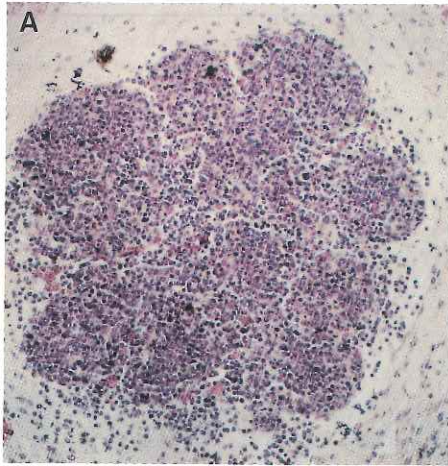
C



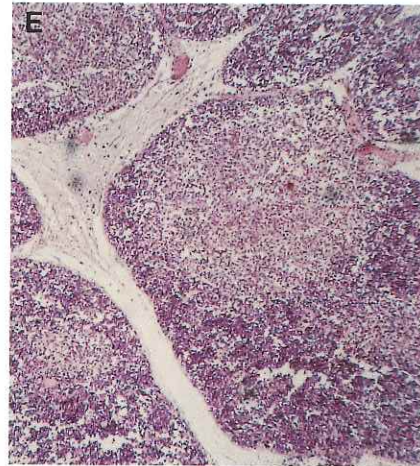
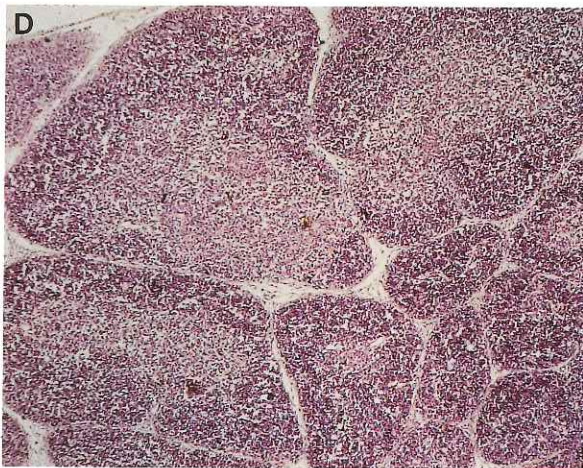
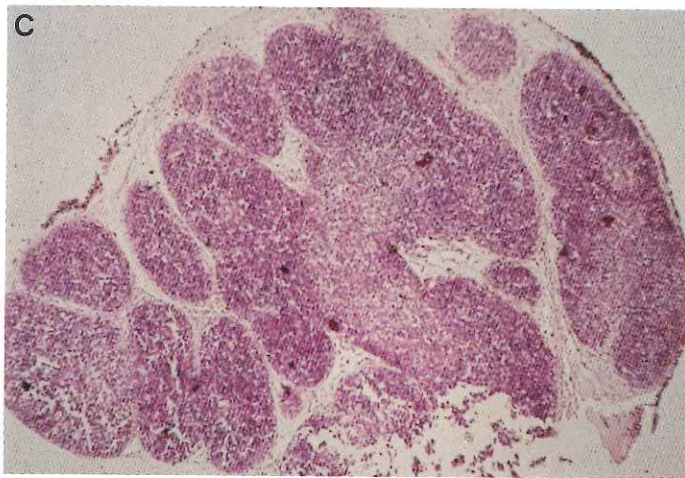
D



Figure 4. Cortex et medulla dans le thymus de fœtus de porc



Etat de développement du cortex et de la medulla dans le thymus de fœtus de porc à différentes périodes de la vie fœtale : coupes histologiques colorées à l'hémalum-éosine-safran. **A**) J-45 : noter la présence de cortex et medulla (Gr  $\times$  17,5). **B**) J-50 : noter l'apparition d'une zone corticale dense (Gr  $\times$  10,5). **C**) J-60 : noter l'augmentation de la surface corticale par le jeu de la lobulation (Gr  $\times$  10,5). **D**) J-80 et **E**) J-105 : noter l'augmentation de la taille et de la densité cellulaire des lobules simultanément au niveau du cortex et de la medulla (Gr  $\times$  10,5).



Nous n'avons  
Immunologie, tenant  
omis ceux qui, faisant  
l'importance ne per  
glossaire. Nous avon  
que le glossaire s'en

**Accessoires** (cellu  
mononucléées inter  
première phase de  
tant l'antigène aux  
tent les macrophage  
tiques, cellules de

**Activateur poly**  
certaines fonctions  
d'antigène. Plusie  
hémagglutinine (P  
(con A) sont des  
lymphocytes T; le l  
*cherichia coli* est  
cytes B.

**Activation des ma**  
l'activité des macr  
lymphokines (macr  
MAF, interféron, ...  
sont de grande t  
adhésifs, et leurs f  
ricides sont accrues

**Adhésine** Molécul  
reconnue par un  
cellules sensibles.

**Adjuvant** Substan  
immune à un antigè

## GLOSSAIRE

Nous n'avons retenu, dans ce glossaire, que des mots exclusivement ou principalement utilisés en Immunologie, tenant pour connus tous ceux qui relèvent d'une autre discipline. Parmi eux, nous avons délibérément omis ceux qui, faisant l'objet d'un chapitre de l'ouvrage, se retrouvent aisément dans la table des matières et dont l'importance ne permet pas d'en réduire la définition à la formulation nécessairement lapidaire qu'impose un glossaire. Nous avons également écarté la définition ou la brève description de techniques, dont le nombre est tel que le glossaire s'en trouverait surchargé.

**Accessoires (cellules)** Cellules phagocytaires mononucléées intervenant principalement dans la première phase de la réponse immune en présentant l'antigène aux lymphocytes T. Elles comportent les macrophages, monocytes, cellules dendritiques, cellules de Langerhans et lymphocytes B.

**Activateur polyclonal** Substance activant certaines fonctions lymphocytaires en l'absence d'antigène. Plusieurs lectines telles que la phyto-hémagglutinine (PHA) et la concanavaleine A (con A) sont des activateurs polyclonaux des lymphocytes T; le lipopolysaccharide (LPS) d'*Escherichia coli* est un activateur des lymphocytes B.

**Activation des macrophages** Augmentation de l'activité des macrophages provoquée par des lymphokines (macrophage activating factor ou MAF, interféron,...). Les macrophages activés sont de grande taille, riches en lysosomes, adhésifs, et leurs fonctions bactéricides et tumoricides sont accrues.

**Adhésine** Molécule de la surface bactérienne reconnue par un récepteur membranaire des cellules sensibles.

**Adjuvant** Substance augmentant la réponse immune à un antigène administré simultanément.

**Affinité** Constante d'association d'un anticorps pour l'antigène correspondant, mesurée à l'équilibre. Dans le cas d'anticorps polyclonaux et d'antigènes à épitopes multiples, l'affinité est la résultante des nombreuses interactions entre ces réactifs hétérogènes; sa valeur n'est parfaitement définie que pour un haptène et l'anticorps monoclonal correspondant.

**Agglutinine** Anticorps dont la fixation sur l'antigène particulaire correspondant (bactérie, hématie...) se traduit in vitro par une agglutination.

– Froide : anticorps agglutinant dont l'optimum thermique est inférieur à 20 °C.

**Agglutinogène** Antigène particulaire agglutinable par l'anticorps correspondant.

**Alexine** Synonyme de complément.

**Allèle** Se dit de chacun des gènes d'un même locus.

**Allélique (exclusion)** Expression, à un locus, d'un seul gène, contrôlé par l'un des chromosomes de la paire, l'autre étant réprimé.

**Allergène** Substance capable de provoquer une réaction allergique.

**Allergie** Sens premier : réactivité anormale ou inattendue d'un sujet à l'égard de certains antigènes. Actuellement : synonyme d'hypersensi-



bilité et, plus particulièrement, d'hypersensibilité immédiate.

**Allogénique** Qui concerne des individus génétiquement différents d'une même espèce animale.

**Allogreffe et allotransplantation** Autrefois « homogreffe » et transplantation « homologue ». Greffe ou transplantation effectuée entre sujets génétiquement différents d'une même espèce animale.

**Allotype** Variante antigénique, génétiquement contrôlée, d'une protéine et plus particulièrement d'une immunoglobuline, entre individus différents d'une même espèce animale.

**Alterne ou alternative (voie)** Voie d'activation du complément ne nécessitant pas la fixation de l'anticorps à l'antigène, et activant directement le facteur C3 sans activation préalable de C1, C4 et C2.

**Anamnestic (réponse)** Réponse immune secondaire provoquée par l'administration d'un antigène, dont la spécificité peut correspondre à un antigène légèrement différent de celui administré précédemment.

**Anaphylatoxines** Substances (C4a, C3a et C5a) résultant de l'activation du complément par des immunoglobulines agrégées, des immunocomplexes, des polysaccharides... et qui provoquent des symptômes analogues à ceux du choc anaphylactique par dégranulation des basophiles et des mastocytes et libération d'histamine.

**Anaphylaxie** Hypersensibilité immédiate due aux IgE et parfois à certaines IgG, induite par l'injection d'un antigène et se manifestant par un état de choc et des symptômes graves dans les minutes qui suivent une nouvelle injection du même antigène.

**Anatoxine** Toxine qui, dénaturée par la chaleur et le formol, a perdu sa toxicité mais a conservé son pouvoir antigénique.

**Anergie** Disparition, dans certains états pathologiques, des réactions habituelles d'hypersensibilité retardée (ex. : anergie tuberculique dans la maladie de Hodgkin...).

**Anticorps** Immunoglobuline induite par la pénétration dans l'organisme d'une substance reconnue par lui comme étrangère et appelée antigène, à laquelle l'anticorps se lie spécifiquement.

– Bloquants : anticorps dont la liaison aux épitopes de l'antigène rend ceux-ci inaccessibles à

des anticorps ou des cellules susceptibles de les neutraliser.

– Cytophiles : qui se lient à des récepteurs cellulaires Fc, par exemple sur les macrophages (pour les anticorps IgG), les mastocytes et les basophiles (pour les IgE).

– Froid : voir Agglutinine froide.

– Monoclonaux : anticorps dérivés d'un même clone de lymphocytes B; ils sont donc strictement identiques et constituent une population homogène d'anticorps dont les propriétés peuvent être définies avec précision.

– Naturel : anticorps présent dans le sérum sans contact antérieur connu avec l'antigène correspondant.

**Antigène** Substance capable d'induire une réponse immune, humorale ou cellulaire.

– Privé : antigène qui n'est présent que chez de rares individus d'une même espèce.

– Public : antigène présent chez la presque totalité des sujets d'une même espèce.

**Arthus (réaction d')** Réaction inflammatoire d'hypersensibilité semi-retardée associant œdème, hémorragies et nécrose tissulaire, survenant environ 4 heures après l'introduction intradermique d'un antigène chez un individu possédant des anticorps IgG précipitants pour cet antigène. Les immunocomplexes formés activent le complément qui libère des peptides chimiotactiques (C3a, C5a...) attirant des polynucléaires neutrophiles, puis des phagocytes mononucléés.

**Atopie** Predisposition héréditaire à développer des réactions d'hypersensibilité immédiate (asthme, urticaire, rhume des foins...) à des allergènes qui sont sans effet sur les sujets normaux.

**Attacine** Protéine bactériostatique produite par les insectes.

**Autoanticorps** Anticorps spécifique d'un antigène appartenant au même sujet (autoantigène).

**Auto-immunité** Situation dans laquelle l'organisme élabore des anticorps (autoanticorps) contre ses propres antigènes (autoantigènes).

**Auxiliaire (lymphocyte T)** Variété de lymphocytes T (encore appelés T<sub>a</sub>, T<sub>h</sub> ou CD4) recevant des cellules présentatrices de l'antigène (CPA, cellules « accessoires »), l'information antigénique leur permettant de déclencher, à l'intermédiaire de diverses lymphokines (interleukine-2, interféron...), la réponse humorale T-dépendante

des lymphocytes  
d'anticorps

**Avidité**  
antisérums  
nombre de  
dépendant  
IgG), de  
l'épitope  
physico-  
milieu, l

**Axénique**  
organismes

**Bactéricide**  
possèdent  
spécifiquement  
libérés n

**Bactériolysine**  
de leur r  
par des  
complément

**BCG** E  
atténuée  
mais imm  
utilisée p  
humaine.

**Basophile**  
plasme c  
histamine  
libérées  
immédiate

**Beige** (s)  
récessive  
immunodé  
phocytes  
maladie

**Bence-Jones**  
chaînes  
sériques  
De 46 k  
sont pré  
redissolv

**β2-microglobuline**  
de classe  
bilité; ell  
daltons e  
chromosome  
chromosome

**Bourse de lymphocytes**  
lial du

des lymphocytes B se traduisant par la synthèse d'anticorps spécifiques.

**Avidité** Mesure de la force de liaison d'un antisérum vis-à-vis d'un antigène comportant de nombreux épitopes; c'est une évaluation globale dépendant du nombre de sites de liaison (IgM/IgG), de l'affinité de chacun des anticorps pour l'épitope correspondant, et des conditions physico-chimiques ambiantes (force ionique du milieu, liaison hydrophobe,...).

**Axénique** Se dit d'un animal n'hébergeant aucun organisme étranger (parasites, bactéries,...).

**Bactéricidie** Capacité de tuer des bactéries, que possèdent les cellules phagocytaires, des anticorps spécifiques et certains facteurs (bactéricidines) libérés notamment par les plaquettes.

**Bactériolyse** Destruction de bactéries par rupture de leur membrane, provoquée par le lysosyme et par des anticorps spécifiques en présence de complément.

**BCG** Bacille de Calmette et Guérin : souche atténuée de *Mycobacterium bovis* non virulente mais immunogène pour l'homme, très largement utilisée pour la vaccination contre la tuberculose humaine.

**Basophile** Leucocyte polynucléaire dont le cytoplasme contient des granules basophiles riches en histamine et en amines vasoactives qui sont libérées dans les réactions d'hypersensibilité immédiate de type I.

**Beige (souris)** Souche mutante (autosomale récessive) caractérisée par un pelage beige et une immunodéficiência due à une carence des lymphocytes NK. Son équivalent humain est la maladie de Chediak-Higashi.

**Bence-Jones (protéine de)** Mono- ou dimères de chaînes légères, kappa ou lambda, de globulines sériques de sujets atteints de myélome multiple. De 46 kd environ, elles passent dans l'urine et sont précipitables entre 45 et 60 °C mais se redissolvent à température plus élevée.

**$\beta$ 2-microglobuline** Chaîne légère des molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité; elle comporte 99 acides aminés pour 11 500 daltons et sa synthèse est contrôlée par le segment chromosomal 15q 21-22 chez l'homme et le chromosome n° 2 chez la souris.

**Bourse de Fabricius** Diverticule lympho-épithélial du cloaque des oiseaux. C'est, chez eux,

l'organe lymphoïde primaire dans lequel des lymphocytes immatures (appelés B pour bourse) acquièrent leur compétence en immunité humorale et leur capacité à synthétiser des anticorps.

**Capping (redistribution polaire)** Rassemblement de protéines membranaires à un pôle de la cellule sous l'effet d'anticorps spécifiques ou de ligands polyvalents.

**Cécropine** Protéine bactériolytique produite par des insectes.

**Centimorgan (cM)** Unité de recombinaison chromosomale, correspondant à 1 p. cent de chances de recombinaison entre deux loci distants de 1 cM.

**Chimère** Individu possédant une double population cellulaire : la sienne propre et une seconde, plus ou moins minoritaire, issue d'un sujet différent (jumeau, donneur de greffe,...).

**Chimiotactisme** Attraction exercée sur les cellules phagocytaires par des facteurs du complément et divers produits de la lyse bactérienne.

**Classe (antigènes de classes I, II et III du CMH)** Antigènes d'histocompatibilité (HLA chez l'homme, H2 chez la souris...) appartenant au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) et répartis en 3 classes. Ils jouent un rôle fondamental dans la reconnaissance du « soi » par les lymphocytes, dans le rejet et la tolérance des allo-transplants et dans la sensibilité à de nombreuses maladies (voir ces chapitres).

**Classes d'Ig** Variantes structurales et fonctionnelles dans la famille des Ig; on connaît 5 classes d'Ig : IgA, IgD, IgE, IgG, IgM.

**Clathrine** Principale protéine de membrane des vésicules cytoplasmiques intervenant notamment dans l'endocytose.

**Clone** Ensemble des cellules issues de la multiplication d'une même cellule initiale et qui possèdent donc toutes le même patrimoine génétique.

**Coagulocyte** Hémocyte granuleux intervenant, chez les insectes, dans l'induction de la coagulation et de la phagocytose.

**Coelomocyte** Cellule circulante des annélides et des échinodermes.

**Co-isogéniques (lignées)** Lignées consanguines différant à un seul locus. Elles sont la conséquence d'une mutation ponctuelle survenant dans une lignée consanguine : les descendants d'un

mutant, porteurs du nouveau caractère sont croisés entre eux et constituent une lignée co-isogénique à la lignée d'origine.

**Colostrum** Produit des premières lactations après la naissance chez les mammifères. Le colostrum est, dans la plupart des espèces, sensiblement plus riche que le lait en immunoglobulines et est le principal vecteur de l'immunité passive du nouveau-né.

**Commutation isotypique** Changement de classe d'immunoglobuline survenant au cours de la synthèse qui a lieu pendant la différenciation des lymphocytes B.

**Complexe immun** Voir Immunocomplexe.

**Complotype** Association, sur le même segment chromosomal, de gènes voisins contrôlant plusieurs facteurs du complément (C2A, C2B, C4A, C4B, Bf...).

**Congéniques (lignées)** Lignées consanguines qui diffèrent par un court segment de chromosome contenant le gène à étudier. Les lignées congéniques ne sont qu'incomplètement co-isogéniques. Elles sont créées artificiellement par des croisements successifs appropriés.

**Conglutination** Agglutination, par des congutines, de bactéries ou d'hématies sensibilisées par des anticorps spécifiques et une quantité sublytique de complément.

**Conglutinine** Protéine sérique des ruminants se liant à des complexes antigène-anticorps-complément en présence de  $Ca^{2+}$ ; cette liaison facilite la phagocytose des complexes.

**Consanguines (lignées)** Lignées établies en accouplant systématiquement, pendant au moins 20 générations, des frères avec leurs sœurs. Ces animaux deviennent ainsi progressivement homozygotes à tous les loci de leur génome pour l'un des allèles présents dans la population fondatrice.

**Consanguines recombinantes (lignées)** Lignées résultant de croisements répétés d'hybrides F1 de première génération issus de 2 lignées consanguines différentes AA et BB. On réalise ainsi une collection de lignées dans lesquelles on retrouve, pour chaque locus, une fois sur deux l'allèle provenant de AA et l'autre fois celui provenant de BB. Ces lignées sont très utiles pour localiser de nouveaux gènes sur la carte génétique et pour la dissection de caractères à déterminisme génétique complexe.

**Conversion génique** Transfert d'un segment d'ADN d'un gène donneur à un gène receveur homologue.

**C-reactive protein (CRP)** Voir Protéine C-réactive.

**Cryoglobuline** Globuline sérique anormale précipitant « à froid », c'est-à-dire en dessous de 37 °C. Certaines sont monoclonales, d'autres sont des complexes IgG-IgM.

**Culture lymphocytaire mixte (CLM)** Culture mixte in vitro de deux populations lymphocytaires allogéniques. On y observe une transformation blastique et des mitoses, et on y mesure une incorporation accrue de précurseurs radioactifs des acides nucléiques (3H-thymidine). On distingue les CLM uni- et bi-directionnelles selon que l'une des 2 populations a — ou non — été inactivée par irradiation ou traitement par la mitomycine.

**Cytotoxicité** Destruction spécifique de cellules cibles par des anticorps, des lymphocytes Tc, des lymphocytes K ou NK, ou des macrophages activés.

**Désensibilisation** Méthode consistant à administrer à un sujet atopique des doses progressivement croissantes de l'allergène responsable de son hypersensibilité de type I, en vue d'atténuer ou de supprimer ses manifestations allergiques. Les anticorps IgG produits se lient à l'allergène, empêchant ainsi la réaction de celui-ci avec les IgE spécifiques.

**Déterminant antigénique** Voir Epitope.

**Déviation immune** Voir Immunodéviation.

**Dizygote** Se dit de jumeaux issus de deux œufs fécondés différents, par opposition à « monozygote ».

**Domaine** Structure tri-dimensionnelle, stabilisée par un pont disulfure, d'une région d'homologie des chaînes lourdes et légères des immunoglobulines. On distingue les domaines VL et CL des chaînes légères, VH, CH1, CH2, CH3 (et éventuellement CH4) des chaînes lourdes.

**Dominant (gène)** Allèle qui, chez un hétérozygote, détermine le phénotype observé (l'autre allèle est dit récessif).

**Endocytose** Ingestion, par une cellule, de matériel extracellulaire selon 2 mécanismes :

- Liaison à des récepteurs membranaires et internalisation dans des vésicules recouvertes de clathrine (endosomes) qui fusionnent avec des lysosomes (ex. : lipoprotéines de faible densité).
- Capture de liquide extracellulaire dans une invagination de la membrane cellulaire : pinoctose, réalisée notamment par les macrophages.

**Endotoxine** de la paroi libérés lors

**Éosinophil** par des grains colorables ment dans nombreuses

**Épitope** (ou la molécule antigénique corps (don appelé « peptide T.

**Équivalence** d'antigène précipitation l'antigène

**Exocytose** contenu dans membrane IgG sont é tamine l'é dégranulation

**Facteur de poids moléculaire** et capable de à un antigène l'est pas.

**Forssman** (d'érythrocytes animales (du poulet,...) bovins,...), bactéries et système AB donc un ant

**Freemartin** dizygotes de entre leurs chimères h greffons is différent, la exposition

**Freund** (ad) huile minérale l'immunogène mélange avec outre des *Mycobacter* encore le p

éine C-

le préci-  
sous de  
tres sontCulture  
ocytaires  
ormation  
sure une  
actifs des  
distingue  
que l'une  
ctivée par  
cine.cellules  
s Tc, des  
rophagesadminis-  
sivement  
de son  
uer ou de  
ues. Les  
allergène,  
avec les

e.

tion.

deux œufs  
« mono-stabilisée  
omologie  
munoglo-  
et CL des  
(et éven-un hétéro-  
é (l'autre

de maté-

es et inter-  
vertes de  
avec des  
e densité).  
dans une  
tre : pino-  
crophages.

**Endotoxine** Lipopolysaccharides thermostables de la paroi de certaines bactéries à Gram négatif, libérés lors de la lyse bactérienne.

**Éosinophile** Leucocyte polynucléaire caractérisé par des granules riches en protéines cationiques et colorables par l'éosine. Il intervient principalement dans l'hypersensibilité immédiate et de nombreuses parasitoses.

**Épitope (ou déterminant antigénique)** Partie de la molécule d'antigène responsable de son pouvoir antigénique; elle se lie spécifiquement à l'anticorps (dont le site de liaison correspondant est appelé « paratope ») ou au récepteur lymphocytaire T.

**Équivalence** Rapport optimal des concentrations d'antigène et d'anticorps assurant un maximum de précipitation et consommant la totalité de l'antigène et de l'anticorps disponibles.

**Exocytose** Élimination par la cellule du matériel contenu dans des vésicules cytoplasmiques dont la membrane fusionne avec celle de la cellule. Les IgG sont exocytées par les plasmocytes et l'histamine l'est par les mastocytes lors de leur dégranulation.

**Facteur de transfert** Substance soluble, de faible poids moléculaire, extraite de leucocytes humains et capable de transférer l'hypersensibilité retardée à un antigène d'un individu sensible à un qui ne l'est pas.

**Forssman (antigène de)** Antigène glycolipidique érythrocytaire commun à de nombreuses espèces animales (chien, chat, souris, mouton, cheval, poulet,...) mais absent chez d'autres (lapin, rat, bovins,...), présent également dans certaines bactéries et très semblable à la substance A du système ABO de groupes sanguins humains. C'est donc un antigène « hétérophile ».

**Freemartinisme** Chez les bovins, les jumeaux dizygotes développent souvent des anastomoses entre leurs deux placentas. Ils deviennent ainsi des chimères hématologiques et chacun tolère les greffons issus de l'autre. S'ils sont de sexe différent, la femelle sera stérile du fait de son exposition intra-utérine aux hormones mâles.

**Freund (adjuvant de)** Émulsion d'eau dans une huile minérale (Bayol 55 ou F) servant à stimuler l'immunogénicité d'un antigène injecté en mélange avec elle. L'adjuvant complet contient en outre des mycobactéries tuées (habituellement *Mycobacterium tuberculosis*) qui en renforcent encore le pouvoir stimulant.

**Génotype** Ensemble des gènes d'un individu, représentant son patrimoine génétique.

**Greffon contre l'hôte (réaction du)** Réaction observée après l'injection de lymphocytes T allogéniques à un individu tolérant (immunodéprimé, immunologiquement immature ou génétiquement incapable de rejeter ces cellules immunocompétentes étrangères).

**Haplotype** Ensemble des gènes portés par un segment chromosomique comportant plusieurs loci associés dans une même fonction (ex. : haplotype HLA ou H-2,...).

**Haptène** Molécule capable de se lier spécifiquement à un anticorps, mais non d'en susciter la formation. Ne devient immunogène que par coupure à une « protéine porteuse ».

**Hémagglutination** Agglutination des hématies par des anticorps spécifiques, des agglutinines bactériennes ou virales, des lectines (ex. : phyto-hémagglutinine) ou encore certaines conditions physico-chimiques.

**Hémocyanine** Pigment sanguin transporteur d'oxygène chez les invertébrés. La KLH (keyhole limpet haemocyanin) est une hémocyanine de mollusque souvent utilisée comme « porteuse » d'haptènes.

**Hémocyte** Cellule circulante des arthropodes et des mollusques, ayant une activité phagocytaire.

**Hémolymphe** Liquide du système circulatoire, ouvert chez les invertébrés, et dans lequel baignent les hémocytes et les organes de l'animal.

**Hémolyse** Destruction des hématies par des anticorps spécifiques fixant le complément.

**Hétérocaryon** Cellule issue de la fusion de deux cellules dont les noyaux demeurent distincts.

**Hétérodimère** Protéine composée d'une chaîne lourde  $\alpha$  et d'une chaîne légère  $\beta$ . Les antigènes d'histocompatibilité sont des hétérodimères.

**Hétéroduplex** Structure hybride faite de 2 chaînes d'ADN (ou d'une chaîne d'ADN et une d'ARN) présentant une complémentarité de séquence très étendue mais incomplète.

**Hétérozygotie** Expression de 2 allèles différents au même locus d'une paire de chromosomes.

**Homopolymère** Protéine composée de plusieurs chaînes identiques.

**Homozygotie** Expression du même allèle par un locus d'une paire chromosomiale.

**Hybridomes** Cellules hybrides obtenues par la fusion de cellules myéломateuses déficientes en certaines enzymes et de lymphocytes B qui synthétisent l'anticorps désiré. Dans les conditions choisies pour la culture, seules les cellules hybrides se développent et peuvent être clonées. La lignée sélectionnée sera donc monoclonale, permanente et sécrétrice de l'anticorps recherché.

**Idiotope** Épitope d'un idiotype. Il est constitué par des séquences immunogènes de régions hypervariables des immunoglobulines anticorps ou des récepteurs T.

**Idiotype** Ensemble des déterminants antigéniques portés par les parties variables des immunoglobulines et dépendant partiellement de la spécificité de celles-ci. Un idiotype est caractéristique d'un clone d'Ig.

**Immunocomplexe (complexe immun)** Macromolécule constituée d'antigène et d'anticorps liés spécifiquement.

**Immunité** Ensemble des mécanismes humoraux et cellulaires qui protègent l'organisme contre la pénétration de substances reconnues pour étrangères.

– Active : immunité développée activement par un organisme immunocompétent au contact d'un antigène.

– Adoptive : immunité transférée par des lymphocytes d'un sujet immun, injectés à un sujet neuf.

– Passive : immunité conférée à un sujet neuf par l'injection passive d'anticorps.

– De prémunition : immunité acquise empêchant la réinfection au-delà d'un certain degré d'infection permanente; c'est la situation la plus fréquemment observée dans les parasitoses.

**Immunoadhérence** Adhérence (et éventuellement agglutination) d'immunocomplexes, ou de particules recouvertes d'anticorps, ayant fixé le complément à des cellules portant des récepteurs (CR1, CR3) pour les facteurs C1, C4b et C3b du complément. Ces récepteurs sont présents sur les phagocytes, les lymphocytes B, certains lymphocytes T, les plaquettes et les hématies (de primates seulement).

**Immunocompétence** État de réactivité des lymphocytes ayant acquis leur maturité immunologique lors de leur passage dans les organes lymphoïdes primaires (thymus pour les lymphocytes T, bourse de Fabricius ou ses équivalents pour les lymphocytes B).

**Immunodéviat** (ou déviation immune) Terminologie peu recommandable évoquant une paralysie sélective de la réponse immune portant sur une classe d'immunoglobulines à la suite d'une administration antérieure de l'antigène. Ainsi, l'injection à un cobaye d'un antigène dans l'adjuvant complet de Freund confère un état d'hypersensibilité retardée et stimule la production d'IgG2. Cette réponse est inhibée si l'animal a reçu, au préalable, une injection du même antigène en adjuvant incomplet de Freund, provoquant une réaction d'Arthus.

**Immunofluorescence** Technique consistant à coupler l'anticorps (ou parfois l'antigène) à un fluorochrome (isothiocyanate de fluorescéine ou de rhodamine B) et à observer, en lumière ultraviolette, la cellule ou la structure à laquelle il est spécifiquement lié.

**Immunosurveillance** Hypothèse selon laquelle les cellules immunocompétentes exercent un contrôle permanent visant à détruire toute cellule suspecte de cancérisation.

**Interféron** Groupe de cytokines contribuant à la résistance des cellules aux infections virales : elles ne détruisent pas les virus mais stimulent la production d'enzymes cellulaires empêchant la transcription et la traduction de gènes viraux. Elles diffèrent d'une espèce animale à l'autre mais, dans chacune d'elles, induisent la résistance à de nombreux virus. On distingue les interférons  $\alpha$ ,  $\beta$  et  $\gamma$ ; ce dernier est une lymphokine.

**Interleukine** Cytokine sécrétée par des cellules mononucléées et contrôlant la croissance et la différenciation des lymphocytes et des cellules hématopoïétiques pluripotentiels.

**Isogénique** De génotype identique (ex. : les jumeaux vrais).

**Isotype** Variante structurale des régions constantes des chaînes d'Ig assurant la diversification en classes, sous-classes et types. Tous les isotypes sont présents chez tous les sujets normaux d'une même espèce.

**Jonction (pièce de, ou chaîne de)** Chaîne polypeptidique de 137 acides aminés (P.M.17 600) assurant la cohésion des IgA dimériques et des IgM pentamériques.

**Jones-Mote (réaction de)** Réaction cutanée d'hypersensibilité retardée de faible intensité caractérisée par une infiltration de leucocytes polynucléaires basophiles quelques jours après l'injection d'un antigène protéique en solution

aqueuse ou  
plet de Fr

**Kinines**  
d'estérases  
plasmatic  
augmenter  
tent les m  
kinine, int

**Koch (phé)**  
que des ba  
d'un cobay  
tissulaire  
l'animal in  
lité retardé

**Langerhan**  
la peau  
cytoplasm  
tabilité de  
C3 et Fe  
l'antigène

**Lectine E**  
à des glyc  
brane cellu  
tique des  
globules r  
concanava

**Leucotrien**  
nique sou  
libérés par  
polynucléa  
avec l'alle  
reacting su  
de leucotr

**Lymphoki**  
phocytes a  
cellules. L  
(migration  
phokines.

**Lysozyme**  
le peptidog  
nant ains  
Largement

**Macrolob**  
moléculair  
constante  
l' $\alpha$ 2M, di  
monoclonal  
des macro

**Macrophag**  
fonctions



aqueuse ou en association avec l'adjuvant incomplet de Freund.

**Kinines** Peptides produits par l'action d'estérasés, les kallikréines, sur des kininogènes plasmatiques. Les kinines dilatent les vaisseaux, augmentent la perméabilité vasculaire et contractent les muscles lisses; l'une d'elles, la bradykinine, intervient dans le choc anaphylactique.

**Koch (phénomène de)** Koch montra, en 1891, que des bacilles tuberculeux injectés dans la peau d'un cobaye déjà infecté provoquaient une nécrose tissulaire importante qui ne survenait pas chez l'animal indemne. Cette réaction d'hypersensibilité retardée est à l'origine du test à la tuberculine.

**Langerhans (cellule de)** Cellule « accessoire » de la peau caractérisée par de fines digitations cytoplasmiques, riche en antigènes d'histocompatibilité de classes I et II, et en récepteurs pour C1, C3 et Fc $\gamma$ . Elle participe à la présentation de l'antigène au lymphocyte T $\alpha$ .

**Lectine** Extrait protéique végétal qui, en se liant à des glycoprotéines ou glycolipides de la membrane cellulaire, provoque la transformation blastique des lymphocytes ou l'agglutination des globules rouges. La phytohémagglutinine et la concanavaleine A sont des lectines.

**Leucotriènes** Triènes dérivés de l'acide arachidonique sous l'action de lipoxygénases. Ils sont libérés par les mastocytes, plusieurs variétés de polynucléaires et les plaquettes, après réaction avec l'allergène correspondant. La SRS-A (slow reacting substance of anaphylaxis) est un mélange de leucotriènes.

**Lymphokine** Cytokine libérée par les lymphocytes activés et qui module l'activité d'autres cellules. Les interleukines, l'interféron et le MIF (migration inhibitory factor) sont des lymphokines.

**Lysozyme ou muramidase** Enzyme hydrolysant le peptidoglycan de la paroi bactérienne et entraînant ainsi la lyse osmotique de la bactérie. Largement répandu dans le règne animal.

**Macroglobulines** Globulines sériques de poids moléculaire supérieur à 400 000 et dont la constante de sédimentation est de 19S. Les IgM, l' $\alpha$ 2M, diverses lipoprotéines ainsi que l'IgM monoclonale de la maladie de Waldenström sont des macroglobulines.

**Macrophage** Cellule fixe ou mobile douée de fonctions phagocytaires et jouant un rôle impor-

tant dans l'initiation de la réponse immune, la production de cytokines et l'immunosurveillance.

**Marqueurs génétiques** Déterminants antigéniques ou récepteurs cellulaires exprimés par une sous-population d'immunoglobulines ou de cellules, sans l'être par les autres molécules ou cellules de la population entière.

**Mastocyte** Cellule du tissu conjonctif dont le cytoplasme contient de nombreux granules basophiles riches en médiateurs de l'hypersensibilité de type I (histamine, sérotonine, héparine, leucotriènes...), et qui possède des récepteurs membranaires Fc pour les IgE. La liaison d'un allergène à l'IgE correspondante provoque la dégranulation du mastocyte et les symptômes caractéristiques de l'hypersensibilité immédiate.

**Mithridatisation (ou mithridatisme)** Procédé qui consiste à rendre l'organisme insensible aux effets de substances toxiques en l'accoutumant à celles-ci par l'absorption de doses croissantes.

**Monoclonal** Issu d'un même clone cellulaire, c'est-à-dire dérivé d'une seule cellule initiale sans différenciation intercurrente.

**Monocyte** Cellule sanguine mononucléée et phagocytaire, évoluant en macrophage dans les tissus.

**Monozygote** Se dit de sujets issus d'un même œuf fécondé. Les jumeaux monozygotes (par opposition aux dizygotes) sont génétiquement identiques.

**Nulles (cellules)** Lymphocytes ne possédant aucun des marqueurs des lymphocytes B et T.

**Oncogène** Gène, d'origine cellulaire (*c-onc*) ou virale (*v-onc*), capable de provoquer la transformation cancéreuse de la cellule qui le porte.

**Opsonisation** Fixation d'anticorps ou de facteurs du complément à la surface de micro-organismes dont la phagocytose est ainsi facilitée.

**Paralysie immunitaire** État de tolérance spécifique à un antigène, provoqué par l'administration de doses massives de cet antigène et qui disparaît avec l'élimination de celui-ci.

**Paratope** Site de l'anticorps réagissant avec l'épitope de l'antigène.

**Perforine** Protéine (de P.M. 75 000 environ) présente dans les granules cytoplasmiques des lymphocytes Tc et NK, et qui est responsable de la lyse de la cellule cible.

- Phagocytose** Endocytose, généralement suivie de dégradation enzymatique, de particules inertes ou vivantes (bactéries, levures...), par des cellules spécialisées (granulocytes mononucléés...), appelés phagocytes.
- Phénotype** Ensemble des caractères perceptibles d'un individu, correspondant aux gènes exprimés mais dépendant aussi des méthodes d'analyse.
- Phytohémagglutinine** Lectine extraite des fèves de *Phaseolus vulgaris* ou *Phaseolus communis*. Elle est hémagglutinante et mitogène pour les lymphocytes T dont elle est aussi un activateur polyclonal.
- Plasmide** Élément génétique extra-chromosomal présent chez de nombreuses espèces de bactéries. C'est un ADN à double brin, circulaire et de taille comprise entre 1 et 200 kb.
- Plasmocyte** Lymphocyte B parvenu à un stade ultime de différenciation et qui synthétise et sécrète une immunoglobuline.
- Polynucléaire (parfois appelé polymorphonucléaires ou granulocytes)** Leucocyte sanguin à fonction phagocytaire, caractérisé par un noyau plurilobé.
- Porteur (molécule porteuse)** Protéine ou polysaccharide qui, couplé à un haptène, lui confère un pouvoir immunogène.
- Properdine** Protéine de 220 kd appartenant à la voie alterne du complément; elle stabilise la C3-convertase.
- Prostaglandines** Lipides dérivés de l'acide arachidonique sous l'action de cycloxygénases (alors que les leucotriènes sont dus aux lipoxygénases). Nombreuses, elles interviennent dans l'inflammation et l'hypersensibilité, provoquent vaso- et broncho-constriction, interfèrent avec les fonctions lymphocytaires...
- Pyocyte** Cadavre de cellule phagocytaire dans un foyer inflammatoire, conduisant à la formation de pus.
- RAST (Radio Allergo Sorbent Test)** Dosage radio-immunologique d'un anticorps IgE.
- Réaction lymphocytaire mixte** Voir Culture lymphocytaire mixte.
- Récessif** Allèle qui, à l'état hétérozygote, ne s'exprime pas ou dont le produit n'est pas perceptible à l'examen du phénotype.
- Restriction** Allogénique : consiste en ce qu'un lymphocyte T ne reconnaît un antigène que lorsque celui-ci est présenté par/sur une cellule portant les mêmes antigènes d'histocompatibilité que ce lymphocyte T (antigènes de classe I pour les Tc, de classe II pour les Ta).
- Enzymes de :** enzymes d'origine bactérienne qui reconnaissent de courtes séquences de 4 ou 5 nucléotides d'ADN et coupent la chaîne à cet endroit particulier. Les segments ainsi obtenus, de longueur inégale, sont les « fragments de restriction » et l'analyse de leurs longueurs est caractéristique du génome des cellules dont ils sont issus. Ce « polymorphisme de longueur des fragments de restriction » (RFLP) est d'une très grande sélectivité.
- Rosette** Aspect résultant de l'adhérence de plusieurs globules rouges autour d'un lymphocyte.
- Sécrétoire (composant ou pièce)** Polypeptide d'environ 550 acides aminés synthétisé dans les cellules épithéliales des glandes sécrétoires et lié à l'IgA dimérique de sécrétion.
- Syngénique** Appartenant à la même lignée consanguine.
- Synténique** Se dit de gènes localisés sur le même chromosome.
- Ta ou Th (lymphocyte T helper)** Lymphocyte T auxiliaire.
- Tolérance** Suppression de la réponse immune à un antigène, consécutive à un contact avec cet antigène en période d'immaturité immunologique.
- Transcription** Traduction de l'ADN en ARN.
- Transduction** Transfert d'un gène d'une bactérie à une autre par l'intermédiaire d'un bactériophage, ou d'une cellule à une autre par un rétrovirus.
- Transfection** Introduction, dans une cellule eucaryote, d'un gène étranger par incorporation de son ADN dans un chromosome.
- Transfert (facteur de)** Voir Facteur de transfert.
- Transformation** La transformation de cellules eucaryotes consiste en leur multiplication anarchique, le plus souvent accompagnée d'altérations morphologiques. On parle cependant aussi de la transformation de lymphocytes en lymphoblastes normaux, sous l'effet de lectines notamment.
- Transgénèse** Injection d'un gène cloné dans l'un des 2 pronuclei d'un œuf récemment fécondé. Ceci permet l'incorporation d'un caractère étranger dans le patrimoine génétique (éventuellement héréditaire) de l'hôte.

**Translocat**  
consistant  
chromosom  
translocati

**Tuberculin**  
tuberculeux  
(purified) s  
protéique s  
ou intrader  
tuberculose

e cellule  
patibilité  
se I pour

enne qui  
4 ou 5  
ne à cet  
tenus, de  
ents de  
eurs est  
dont ils  
ueur des  
'une très

ence de  
phocyte.

lypeptide  
dans les  
es et lié à

e lignée

le même

hocyte T

mmune à  
avec cet  
bologique.

n ARN.

e bactérie  
riophage,  
etrovirus.

ule euca-  
on de son

transfert.

e cellules  
ion anar-  
altérations  
assi de la  
hoblastes  
nment.

dans l'un  
fécondé.  
caractère  
ventuelle-

**Translocation** Réarrangement chromosomal consistant en le transfert d'un fragment d'un chromosome à un autre. Lorsqu'il y a échange, la translocation est dite réciproque.

**Tuberculine** Produit de la lyse des bacilles tuberculeux dans leur milieu de culture. Le PPD (purified protein derivative) en est un extrait protéique soluble. Tous deux sont utilisés en cuti- ou intradermo-réaction pour le diagnostic de la tuberculose.

**Variolisation** Méthode ancienne visant à protéger contre la variole par inoculation de pus ou par inhalation de croûtes des pustules provenant d'un malade. La variolisation a été remplacée par la vaccination anti-variolique, elle-même abandonnée depuis l'éradication de la maladie.

**Xénogénique** Se dit d'individus appartenant à des espèces animales différentes.

**Zygote** Produit de la fusion de deux gamètes, c'est-à-dire : œuf fécondé.

## INDEX

Les numéros renvoient aux pages. Les numéros en gras renvoient aux pages dans lesquelles le sujet est plus particulièrement développé.

### A

ABO (groupes sanguins), 295, **491-494**  
Acantholyse, 239  
Acaréens, 284-288, 318  
ADCC, 252, 278, 302-305, 328  
Adjuvants, 685-692  
Agammaglobulinémie, 386-387  
Agglutination, 641, 667-668  
Agglutinine, 431, 437  
Agranulocytose, 388-389  
Allergènes, 310, 314, 318, 418-420  
Allergie, 417-423  
Allotypes, 499-502, 512  
Alterne, voie, 171-176  
Amygdales, 70, 462  
Anaphylatoxine, 172, 177  
Anaphylaxie, 310, 417-418  
Anémie, 330  
Anergie, 207  
Anticorps,  
  autologues (auto-anticorps), 208, 357-358  
  bloquants, 279  
  cytophiles ou cytotropiques, 310, 314-316  
  cytotoxiques, 437  
  monoclonaux, 9, 112, 475-476, 567, **613-621**, 697  
  naturels, 22-23, 140, 438-439, 456, 494  
Antigènes, **29-34**, 131-132, 135-138  
  bactériens, 261-264  
  de différenciation, 36-38  
  d'histocompatibilité, voir Complexe majeur d'histocompatibilité  
  tumoraux, 299-301  
  viraux, 245-249  
Antigénicité, 8, **29-34**  
Appendice, 71  
Asthme, 233, 324  
Atopie, 310, 314, 417  
Auto-immunité, voir Maladies auto-immunes  
Axénique, 72-73

### B

Bactéricidie, 231, 265  
Bactéricidines, 23

Bactéries, 228, **261-268**  
Basophiles, **46-48**, 285-286, 317-323  
BCG, 340  
Bêta-lysines, 24  
Blaireau, 541  
Bovins, **583-607**, 679-680  
Bourse de Fabricius, 39, **53-56**, 184, 459-460  
  ontogénèse, **54-55**, 188, 190, 459-460  
  phylogénèse, 184  
Burkitt, lymphome de, 380-381

### C

Canal thoracique, 75-76  
Camélidés, 579-581  
Caprins, 583-607  
Carcinogènes, 300  
Carnivores, 527-545  
Cellules présentatrices de l'antigène (CPA), 132-136  
Cellules souches, 15, **53-56**, 133, 182, 208-209  
Cétacés, 525-526  
Chaînes des antigènes du CMH, 107-109  
Chaînes des Ig  
  légères, **85-87**, 90-92, 103  
  —  $\kappa$ , 85, 91, 103  
  —  $\lambda$ , 85, 90, 103  
  lourdes, **85-87**, 92-93, 102-103, 440-441  
Chat, 527-536  
Chediak-Higashi, maladie de, 389  
Cheval, 549-562  
Chien, 527-536  
Chimère, 167  
Chimiotactisme, 16, 42, 46, 177  
Chorioméningite lymphocytaire, 294  
Circulation des lymphocytes, voir aussi Lymphocytes, 218-219  
Classes  
  des antigènes du CMH, **106-114**, 605  
  de différenciation des cellules immuno-compétentes, **36-38**, 584  
  des Ig, **88-90**, 100-103  
Cobaye, 515-518  
Colostrum, 198-203, 712-715  
Commutation isotypique, **88-93**, 95

Complément, 23, 103, 106, **169-179**, 251-252, 327-328, 334-335, 389, 444-445, 466, 502, 516, 561-562, 573-574, 599-601  
 activation du, 174-176  
 fixation du, 103, 169, 641, 653  
 Complexes immuns *voir* Immunocomplexes  
 Complexe majeur d'histocompatibilité (CMH), 31, 36-39, 82, 98, **105-116**, 120-121, 302-306, 441-442, 453-454, 464-465  
 BoLA, 605-607  
 ChLA, 474  
 CyLA, 474  
 DLA, 532-533  
 ELA, 552-553  
 GPLA, 515-516  
 H-2, 108  
 HLA, **105-113**, 178, 294-296  
 Hm-1, 520-521  
 RhLA, 473  
 RLA, 498  
 Rtl, 511  
 SLA, 574-576  
 XLA, 453  
 Concanavalline A, 530  
 Contact, hypersensibilité de, 340  
 CSF (facteurs stimulateurs de colonies), 156  
 Culture lymphocytaire mixte, 107, 112, 144, 296  
 Cytokines, 127, **149-161**, 302-306, 344-345, 358, 443-444, 647-649  
 Cytolyse, 144-145  
 Cytopénie, 330  
 Cytotoxicité, 20, 144-145, 252, 278, 296, **644-646**

## D

Déficits  
 immunitaires, 215, **385-391**, 515  
 en facteurs du complément, 178, 389  
 en IgA, 387  
 en IgG, 387  
 en IgM, 387  
 primaires, 386-389  
 secondaires, 389-391  
 Dégranulation, 320-323  
 Dendritiques, cellules, 132, 135, 189  
 Désensibilisation, *voir* Hyposensibilisation  
 Diapédèse, 16  
 Dinirochlorobenzène, 340, 346, 646  
 Diversité des anticorps, 90-94  
 Domaines,  
 des antigènes du CMH, 107-109  
 des Ig, 86-87

## E

ECF-A (facteur chimiotactique des éosinophiles de l'anaphylaxie), 46-49  
 Efficacité, 662-664  
 Electrophorèse, **623-627**, 633-634  
 ELISA, 639-640, 666-667  
 Eosinophiles, **44-46**, 183, 278-279  
 Epitope, 30-32  
 Ethique, 719-721  
 Exclusion  
 allélique, 95, 118-119  
 immune, 264

## F

Fab, fragment, 84  
 Fabricius, *voir* Bourse de Fabricius  
 Facteur  
 nécrosant des tumeurs (FNT), *voir* TNF  
 de transfert, 344  
 Fc, fragment, 84, 145  
 Fer, 413-414  
 Fiabilité, 660-661  
 Fibronectine, 19  
 Fièvre, 25-26  
 Flagelline, 32  
 Fœtus, 193-195, **197-204**  
 Freemartinisme, 167  
 Freund, adjuvant (in)complet de, 687-688

## G

Ganglions lymphatiques, **61-66**, 76-78, 184, 511, 568, **586-592**  
 Gammopathies monoclonales, 370-372  
 Gènes  
 du CMH, 106-107  
 des Ig, 90-93  
 Ir, 120-121  
 Glande mammaire, 234-237  
 Granulocytes, **41-49**, 430, 436, 464  
 Granulomatose chronique, 43  
 Greffes, 115, 442, 476  
 Groupes sanguins, **491-496**, 498-499, 533-534, 553-555, 601-605

## H

H-2, système, *voir* Complexe majeur d'histocompatibilité  
 Hamster, 519-521  
 Haptène, 9, 30, 133  
 Harder, glande de, 462  
 Helminthes, 275-280  
 Helper (lymphocytes T<sub>H</sub> ou T<sub>H</sub>), *voir* Lymphocytes  
 Hémocytes, 430  
 Hémolyse, 329  
 Histiocytes, 15, 41  
 Histocompatibilité, *voir* Complexe majeur d'histocompatibilité  
 Historique, 1-12  
 HLA, *voir* Complexe majeur d'histocompatibilité  
 Homologies, 86, 440  
 Hybridation, 614-615  
 Hybridomes, 616-618  
 Hypersensibilité, 309-311  
 de contact, 340  
 immédiate (type I), 313-325  
 de Jones et Mote, 340  
 retardée (type IV), 207, 255, **339-346**, 646-647, 655-656  
 de type II, 327-332  
 de type III, 333-337  
 Hyposensibilisation, 422-423

## I

Idiotypes, 82-83, 122  
 IgA, 89, 99, 103, 198-203, 219-226, 232-234, 236, 264, 465-466, 512, 569-571, 596-598

IgD, 90, 100  
 IgE, 90, 100  
 IgG, 84-88, 568-571  
 IgM, 88-89, 236, 240  
 Immunocomplexes  
 Immunité  
 acquise, 2  
 anti-bactérienne  
 anti-parasitaire  
 anti-virale  
 cellulaire, 390-399, 643-644  
 congénitale  
 humorale, 483-488  
 locale, 217  
 naturelle, 1  
 passive, 1  
 de préimmunisation  
 non spécifique  
 stérilisante  
 Immunocomplexes  
 Immunodépression  
 Immunodiagnostic  
 Immunodiffusion  
 Immunoélectrophorèse  
 Immunoempreinte  
 Immunoenzymologie  
 Immunogénicité  
 Immunogénicité  
 Immunoglobulines  
 440, 441  
 534-537  
 Immunomodulation  
 Immunoprécipitation  
 Immunostimulation  
 Immunosuppression  
 Immunotolérance  
 Immunotransfert  
 Inflammation, 2  
 Interférons, 2  
 Interleukines,  
 IL-1, 19, 2  
 IL-2, **152**,  
 IL-3, **152**,  
 IL-4, 153  
 IL-5, 153  
 IL-6, 154  
 IL-7, 154  
 neuroleukin  
 Invertébrés, 4  
 Isoélectrofocales  
 Isotypes, 88-90  
 J, chaîne, 88  
 Jumeaux, 167

K, cellules, v  
 Kappa, chaîne  
 Küpffer, cellu

IgD, 90, 102, 134-135  
 IgE, 90, 102-103, 229, 278, **315-320**, 418, 598  
 IgG, 84-88, 102, 198-202, 222-226, 232-233, 236, 418, 568-571, 596-598  
 IgM, 88-89, 99, 102, 134-135, 198-202, 222-226, 232-233, 236, 264-265, 436, 454, 465, 569-570, 598  
 Immunocomplexes, 333-337  
 Immunité  
 acquise, 269-270, 277  
 anti-bactérienne, 264-268  
 anti-parasitaire, 269-280, 284-291  
 anti-virale, 250-260  
 cellulaire, 7, 10, **143-147**, 206-208, 214-215, 230-232, 390-391, 431-432, 441-442, 453, 481-483, 498, 537, 643-649, 654-655  
 congénitale, 712-716  
 humorale, 7, **131-141**, 198, 208, 213, 390, 431, 436-441, 483-484, 633-642, 652-653  
 locale, **217-241**, 439-440  
 naturelle, 277, 306  
 passive, 198-203, 557-561, 569-571, 595-599, 709-712  
 de prémission, 270-271  
 non spécifique, 13-27, 212-215, 256-260, 443-445  
 stérilisante, 271-272  
 Immunocompétence, 571-573, 595-596, 651-656  
 Immunodépression, 695-697  
 Immunodiagnostic, 657-664  
 Immunodiffusion, 634-635  
 Immunoelectrophorèse, 635-639  
 Immunoempreinte, 628  
 Immunoenzymologie, 639-641, 666-667  
 Immunogénèse, 61, 73-74  
 Immunogénicité, 8, 29-34  
 Immunoglobulines, **81-104**, 198-203, 222-226, 232-233, 436-440, 454, 465-466, 499-502, 506-507, 512, 518, 534-537, 555-560, 568-570, 596-598, 633-640  
 Immunomodulation, 279, **693-697**  
 Immunoprécipitation, 634  
 Immunostimulation, 693-695  
 Immunosuppression, voir Immunodépression  
 Immunotolérance, voir Tolérance immunc  
 Immunotransfert, 628-630  
 Inflammation, 177, 233-234, **347-348**  
 Interférons, 24-25, 110, **156-157**, 159-160, **256-260**, 302-306  
 Interleukines, voir aussi Cytokines, 38, 303-306  
 IL-1, 19, 26, **151**, 158  
 IL-2, **152**, 158-159, 194, 207  
 IL-3, **152-153**, 209  
 IL-4, 153  
 IL-5, 153  
 IL-6, 154  
 IL-7, 154  
 neuroleukine, 154-155  
 Invertébrés, 429-432  
 Isoélectrofocalisation, 627  
 Isotypes, 88-90, 140-141

## J

J, chaîne, 88, 222-225  
 Jumeaux, 167

## K

K, cellules, voir Lymphocytes K  
 Kappa, chaînes, 85, 91  
 Küpffer, cellules de, 41, 110

## L

Lactoferrine, 228, 235  
 Lait, 200-203, 235-237  
 Lambda, chaînes, 85, 90-91  
 Langerhans, cellules de, 41, 110, 132, **239-241**, 341  
 Lapin, 497-502  
 Lectines, 530  
 Leucémies, 364-366, 373-377  
 Leucocytes, **40-49**, 182, 430, 436  
 Leucotriènes, 233, 322  
 Lévamisole, 693-694  
 Lewis, 493-496  
 Lipides, 412-413  
 Lipopolysaccharides (LPS), 530.  
 Lymphé et vaisseaux lymphatiques, 62-63, **74-78**, 218, 436, 586-590  
 Lymphoblastique, transformation, voir Transformation lymphoblastique  
 Lymphocytes, 182-184, 231-232, 236, 438-442, 451, 463, 507-509, 517-518, 530-532, 565-571, 583-585, 654  
 B, 33, **36-40**, 110, 133-135, 164-165, 208, 221, 253, 463, 566, 585  
 circulation des, 218-219  
 différenciation et maturation des, 39-40, **51-61**, 571  
 K, 145-146, 303-306, 464  
 mémoires, 137-138  
 NK, 20-22, 146-147, 206-207, 256, 303-306, 443, 464, 482-483, 517  
 nuls, 207, 566, 585  
 récepteurs des, voir Récepteurs  
 Ta, 33, 113, 120-121, 133, 135, 165-166, 207, 253, 302-306, 358, 567  
 Tc, **36-40**, 110-113, 144-145, 207, 254, 296, 302-306, 358, 567  
 Ts, **36-40**, 121, 207, 255-256, 302-306  
 Lymphokines, 143-144  
 Lymphomes, **364**, 371-372, 381-382  
 Lysosomes, 17-19, 42  
 Lysozyme, 24, 31-32, 228, 430

## M

Macrophages, 16, 20, 33, **41-44**, 110, 136, 177, 230-231, 236, 431, 436, 443, 517, 585-586  
 Maladie aiéoutienne, 537-538  
 Maladies auto-immunes, 329-332, **355-361**, 556-557  
 Maladie hémolytique du nouveau-né, 331-332, 596  
 Malaria, 270-271  
 Marqueurs des lymphocytes  
 B, **36-38**, 507, 530-531, 566-567  
 T, **36-38**, 165-166, 507-508, 530-532, 567  
 Mastocytes, 48-49, 317-323  
 Microglobuline ( $\beta_2m$ ), 106, 108  
 Mithridatisation, 4  
 Moelle osseuse, 15, 53, 71, 182-184, 297, 480-481, 517  
 Monocytes, 15, 22, 40-41, 110, 182, 256  
 Myélome multiple, 370-371  
 Myéloperoxydase, 43

## N

Neuro-endocrino-immunitaire, système, 123-129  
 Neutrophiles, polynucléaires, 40-44  
 Nutrition, 407-415

511, 568,

4, 553-555,

patibilité

ytes

compatibilité

47, 655-656

, 236, 264,

## O

- Oiseaux, **459-467**, 680-681  
 Oncogènes, 367-369, 372-377  
 Ontogénèse, **187-191**, 593-596  
 de la bourse de Fabricius, **54-55**, 188, 190, 459-460  
 des immunoglobulines, 98-99, 528  
 des lymphocytes B, 133-134, 188, 549-551, 571  
 du thymus, 187-189, 460, 571  
 Organes lymphoïdes  
 primaires, **51-61**, 350-352, 587  
 secondaires, **61-72**, 350-353, 528-529, 542-543, 567-568  
 Opsonisation, 177, 213, 265  
 Ovins, 583-607

## P

- P, substance, 125  
 PAF (platelet activating factor), 19, 47  
 Parasites, 283-291  
 Peau, 239-241  
 Perforine, 173  
 Peyer, plaques de, **70-71**, 77-78, 221, 226, 462, 587  
 PHA, voir Phytohématagglutinine  
 Phagocytes, 16, 19, **40-46**, 585-586  
 Phagocytose, 14-20, **40-46**, 388-389, 431  
 Phagolysosomes, 18  
 Phagosomes, 17, 42  
 Phoques, 542-544  
 Phylogénie du système immunitaire, **181-185**, 451-452  
 Phytohématagglutinine, 530  
 Phytolaque, 530  
 Pinnipèdes, 542-545  
 Placenta, 194, 198-199  
 Plaquettes, 110, 278-279  
 Plasmocytes, 71, 135, 182-184, 224-225, 436  
 Poïkilothermes, 447-457  
 Poissons, 433-445  
 Pokeweed mitogen, voir Phytolaque  
 Polyacrylamide, 624-626  
 Polymorphisme, 110-113  
 Polynucléaires (ou polymorphonucléaires), 15, 22, **40-48**, 236  
 Polypeptides, 30, 32, 623-627  
 Porc, **565-577**, 680  
 Porteuse, molécule ou protéine, 133  
 Précurseurs des lymphocytes B et T, **53-61**, 119  
 Primates, 471-487  
 Prostaglandines, 207, 322  
 PGE<sub>2</sub>, 19, 207, 322  
 Protéine A, 569, 597  
 Protéine C-réactive (CRP), 25, 174  
 Protozoaires, 269-273

## R

- Rat, 510-514  
 Rate, **67-70**, 182-184, 436, 451, 461, 509, 567, 591-592  
 Réaction  
 du greffon contre l'hôte (GVHR), 296-297  
 lymphocytaire mixte, voir Culture lymphocytaire mixte  
 de rejet, 115, 182, 294-296, 442, 453, 528  
 Réarrangement génique, 54-56, **92-96**, 440-441, 455  
 Récepteurs  
 pour le complément, 38, **170-175**, 531, 566  
 pour le fragment Fc, 38, 103-104, 200-201, 316-317, 518, 531

- pour les hématies de mouton, 38, 566  
 des lymphocytes B, **36-38**, 78-79  
 des lymphocytes T, 31, **36-38**, 78-79, 97, 109, 113-115, 189, 508  
 Régions des Ig, voir Domaines des Ig  
 Rejet, voir Réaction de rejet  
 Renard, 539-541  
 Réponse immune, 113-115, 119-122  
 cellulaire humorale, voir Immunité  
 primaire, 88, 139-140, 437  
 secondaire, 88, 139-140, 437  
 Réseau idiotypique, 122-123  
 Résistance génétique, 675-683  
 Restriction allogénique, 11, 113, 120, 145  
 Rhésus, 331-332, 494-496  
 RhLA, voir Complexe majeur d'histocompatibilité  
 Rosettes, 566-567

## S

- Sac vitellin, 133, 197  
 Sécrétoire, pièce ou composant, 89, 222-225, 439, 598  
 Sélection clonale, 9, 118, 359  
 SIDA (syndrome d'immunodépression acquise), 374-375, **390-391**, 485-486  
 Sondes moléculaires, 629-630  
 Souris, 505-510, 676, 678  
 Stress, 397-404

## T

- Théories de l'immunité, 9-10, 95, **117-119**  
 Thymocytes, 58-61, 509-510  
 Thymo-(in)dépendant, 134-137  
 Thymopoïétine, 39, 206  
 Thymosine, 59, 206  
 Thymuline, 39, 59, 206  
 Thymus, 39, **56-61**, 124, 126, 182-184, 206, 388, 436, 451, 460-461, 508, 517-518, 527, 539-540, 567, 587, 591  
 TNF (Tumor Necrosis Factor, facteur nécrosant des tumeurs), 19, 44, 106-107, 110, **155**, 195, 303-305  
 Tolérance immune, 10, 33, **163-168**, 359  
 Toxicité, 393-396, 671-673  
 Tractus  
 digestif, **219-229**, 462, 568  
 respiratoire, 229-234  
 urogénital, 237-239  
 Transfert, facteur de, 344  
 Transformation lymphoblastique, 643-644  
 Transfusion sanguine, 330-331, 475, 494-495, 534, 555  
 Transplantation, **293-298**, 474-476  
 Tuberculine, 339  
 Tumeurs, immunologie des, **299-306**, **363-381**

## V

- Vaccin, 193, 700-703  
 idiotypique, 123, 702-703  
 Vaccination, 5-7, **699-707**  
 Variable, région des Ig, 85-86  
 Variation antigénique, 269-270  
 Variolisation, 4-5  
 Vieillessement, 141, **205-216**  
 Virus, **243-260**, 300-301, 365-367, 372-381  
 Vison, 536-538  
 Vitamines, 410-412

INDEX

9, 113-115,

té

39, 598

), 374-375,

8, 436, 451,  
57, 587, 591  
(des tumeurs),  
5

534, 555

Imprimé en Février 1990.  
Imprimerie Soulis et Cassegrain (Niort) (n° 2770).  
Flammarion et C<sup>e</sup>, éditeurs (n° 9853).  
Dépôt légal : Février 1990.  
Imprimé en France.





9 782257 102218

FM 0221-90-II

750,00 FF