CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT DES STRONGYLIDÉS (SCLÉROSTOMES) DU GROS INTESTIN CHEZ LE CHEVAL⁽¹⁾

Par les Drs L. DE BLIECK et E.-A.-R.-F. BAUDET

Le développement des strongylidés du gros intestin du cheval est mieux connu en dehors de leur hôte que chez cet hôte lui-même.

Les auteurs ne sont pas complètement d'accord sur ce développement en dehors de l'hôte. Nos connaissances sur le développement dans l'organisme du cheval sont principalement basées sur les constatations de quelques formes d'évolution faites lors de l'autopsie d'animaux infectés.

Peu d'infections expérimentales ont été réalisées vu les difficultés qu'on éprouve pour instituer de telles expériences. En premier lieu, un animal est généralement infecté par différentes espèces de strongylidés ; alors même que les œufs accusent peu de différence, il est pour ainsi dire impossible de grouper les œufs d'un seul genre et encore moins d'une même espèce en quantité suffisante pour réaliser une expérience.

On pourrait supposer, par analogie avec ce que nous savons relativement à d'autres genres de vers, que le développement des espèces d'un seul genre ne présente pas de grandes différences ; mais il n'en est pas toujours ainsi et certaines variations de détail constituent parfois des différences importantes.

C'est ce qui se présente par exemple quand nous comparons le *Strongylus vulgaris* au *S. edentatus*. En second lieu, les expériences d'infection sont coûteuses. En effet, il faudrait pouvoir disposer de poulains exempts de vers ; or tout poulain, ne fût-il âgé que de quelques jours, peut déjà être infecté aussi bien à l'écurie qu'au pré, d'où la nécessité d'élever spécialement ces animaux en vue des expériences.

On ne rencontre pas dans la même proportion, aux Pays-Bas, tous les genres de strongylidés du cheval. Ce sont les genres *Strongylus*, *Cylicostomum* et *Triodontophorus* qui, au point de vue pathologique, y jouent le plus grand rôle.

(1) Ce mémoire est daté d'Utrecht, août 1924.

La présente étude comprendra : 1° Le développement, en dehors de l'hôte, des formes larvaires appartenant aux espèces : *Strongylus vulgaris*, *S. edentatus* et au genre *Cylicostomum*. 2° Le mode d'infection.

I. Développement des formes larvaires en dehors de l'hôte

A ce sujet, nous trouvons dans la littérature des communications de Adelmann, Albrecht, Baillet, Martin, Leuckart, Schlegel, Sticker. Leurs recherches portent surtout sur le genre *Strongylus*. Les espèces du genre *Cylicostomum* ont été moins étudiées en raison de la difficulté de pouvoir différencier les œufs de diverses espèces et parce que ce genre était alors un des moins connus. On ne sait rien sur le développement du *Triodontophorus*.

Les travaux de Martin portaient sur le *Strongylus edentatus*. Les œufs sont expulsés avec les fèces ; ils mesurent 69-87 μ de long sur 40-57 μ de large. Après 3 jours, les larves éclosent présentant un œsophage cylindrique et un long appendice caudal. Après 45 à 60 jours, leur enveloppe extérieure se renouvelle et les larves arrivent au stade *Rhabditis* (1 mm., 250-2 mm., 286 de long), ayant aussi une longue queue. D'après l'auteur, c'est sous cette forme larvaire que l'infection se produirait.

D'après Baillet, les larves quittent l'œuf au stade rhabditoïde et la mue ne se produit qu'après 15 à 20 jours ; la larve est alors très résistante. Adelmann admet cette façon de voir. D'après Schlegel, les embryons pourraient déjà éclore dans l'intestin. Adelmann dit aussi avoir rencontré plusieurs fois les embryons du *Strongylus vulgaris* dans le gros intestin du cheval. Nous n'avons jamais vu évacuer des larves avec les fèces. Le fait semble pouvoir se produire, mais très rarement.

Leuckart observa que les larves de *Sclerostomum armatum* sorties de l'œuf après 3 à 4 jours se trouvaient au stade *Rhabditis*.

Albrecht constate que les larves nouvellement écloses présentent déjà la forme rhabditoïde, notamment en ce qui concerne l'ouverture buccale ; puis la trompe chitineuse droite et courte (longue d'environ 0 mm., 015) suit alors l'œsophage avec un renflement qui se rétrécit plus loin et auquel fait suite le bulbe pharyngien, muni de clapets en forme de V. Cet auteur classe les larves, qu'il avait alors trouvées, d'après le nombre de cellules intestinales, d'après la forme du corps et d'après la longueur proportionnelle entre le corps et la queue.

D'après Albrecht, la larve subit une mue. L'ancienne cuticule se détache et enveloppe la nouvelle larve comme une capsule. Il dénomme cette dernière: larve mûre; celle-ci est très résistante. Parfois les larves mûres se libèrent, se débarrassent de leur ancienne cuticule, mais généralement elles la gardent et sont infectantes sous cette forme; elles peuvent rester vivantes durant 8 à 9 mois. C'est par analogie avec les observations de Leuckart sur le développement du *Dochmius trigonocephalus* et de Baillet sur celui du *Sclerostomum equinum*, que Sticker admet que la larve de *Strongylus* subit aussi deux mues.

Dans nos recherches, nous avons procédé de la manière suivante: Nous avons rassemblé les œufs par la solution concentrée de sel de cuisine, comme l'indique Fülleborn et de cette façon nous avons obtenu un grand nombre d'œufs en peu de temps.

Ces œufs peuvent être assortis d'après leur volume et placés dans l'eau, dans de petites boîtes de Petri, à une température de 30° C., afin de favoriser leur développement. La durée de ce développement est très variable, même quand il s'agit d'œufs de même grandeur. On ne peut pas se baser sur la grandeur des œufs pour déterminer avec certitude le genre de larves qu'ils produiront.

Les considérations suivantes s'appliquent à tous les œufs examinés, qu'ils se soient développés dans l'eau ou dans des détritux.

Autant que nous avons pu nous familiariser avec la morphologie des larves, nous pouvons dire qu'il s'agit ici de trois espèces différentes: les larves de *Strongylus vulgaris*, de *S. edentatus* et celles de *Cylicostomum*.

Les larves subissent deux mues. A la sortie de l'œuf on les désigne sous le nom de larves au premier stade; après la première mue, de larves au deuxième stade; après la deuxième mue, de larves au troisième stade. Au bout d'un jour, on observe des œufs au stade morula, des œufs contenant des larves à l'état vivant et des larves libres. Il se peut aussi qu'on ne rencontre des larves libres qu'après 2 ou 4 jours. Ceci dépend du degré d'humidité de la culture ainsi que de la température. Le froid et l'absence d'humidité retardent le développement. Les larves libres revêtent directement la forme rhabditoïde. Chez les larves qui viennent à peine d'éclore, cette forme n'est pas très apparente mais n'en existe pas moins. Ces formes rhabditoïdes présentent le renflement piriforme de l'œsophage dans lequel on peut observer distinctement les clapets du pharynx. L'intestin présente une lumière très ondulée et l'entrée revêt la forme d'une coupe ou d'un entonnoir.

Au bout de 42 ou 45 heures, laps de temps souvent très variable, la larve rhabditoïde se débarrasse de l'ancienne cuticule dont la

queue est plus ou moins longue, suivant l'espèce considérée. Le plus souvent c'est l'extrémité caudale qui s'étale librement la première. Au bout de quelque temps, on voit la nouvelle larve exécuter un mouvement de va-et-vient dans l'ancienne cuticule ; toutes deux possèdent donc une queue longue et mince. Finalement l'ancienne cuticule glisse de plus en plus en arrière et est rejetée complètement par suite des mouvements de la larve. L'ancienne cuticule semble se rompre au niveau de la tête. A ce moment, le caractère rhabditoïde de l'œsophage devient moins apparent ; l'intestin, à la lumière sinueuse, est encore bien visible, mais son état granuleux augmente, de sorte que l'on voit uniquement les contours des cellules intestinales. Aux derniers contours extérieurs de l'intestin sinueux, on observe parfois comme des ponts allant à l'enveloppe extérieure. A ce moment aussi on distingue très bien la tache génitale, qui se forme après un temps variant de 3 à 8 jours.

Les larves à huit cellules intestinales (*Cylicostomum*) présentent cette tache génitale entre la quatrième et la cinquième cellule de l'intestin. Chez les larves à 32 cellules (*Strongylus edentatus* et *S. vulgaris*), cette tache se trouve vers la 18^e cellule. Les cellules intestinales se forment au bout de 4 ou 5 jours et parfois plus tard. Dans un seul cas, on distinguait déjà vaguement les cellules intestinales au bout de 80 heures ; cette larve se trouvait déjà au troisième stade, mais restait entourée par les cuticules à longue queue de la première et de la seconde mues. La larve elle-même ne possédait qu'une petite queue. Généralement, la seconde mue est un peu plus tardive et survient au bout de 5 à 8 jours ; toutefois ce temps varie beaucoup. Après la seconde mue, les larves demeurent toujours dans l'ancienne cuticule et sont très résistantes ; elles sont connues sous le nom de larves enkystées. Quand on cultive des larves dans les fèces, on n'aperçoit pas aussi bien la première mue.

Les larves qui n'ont renouvelé leur enveloppe extérieure qu'une fois ne présentent pas la même résistance. Elles fuient l'eau et se retirent dans les fèces. C'est pourquoi sans doute certains auteurs n'ont guère observé cette mue. Les larves qui sortent de pareilles cultures, consistant en un petit sac de gaze renfermant des fèces et trempant dans l'eau, ont déjà subi, toutes, la première mue et, très souvent même, la seconde mue est commencée. Quand on met des œufs dans l'eau, on constate que les larves sorties sont moins résistantes, une fois qu'elles ont revêtu la forme rhabditoïde, après la première mue ; beaucoup d'entre elles ne se développent pas davantage et meurent. Les larves enkystées seules, c'est-à-dire celles qui ont subi la seconde mue, restent vivantes et peuvent se conserver très longtemps.

Résistance des larves enkystées. — *Vitalité dans l'eau.* — Des larves qui ont subi la seconde mue et qui se trouvent enfermées dans l'ancienne cuticule peuvent demeurer très longtemps vivantes dans l'eau. A la température ordinaire, on est parvenu jusqu'ici à les conserver vivantes pendant 4 mois sans qu'elles aient perdu leur mobilité.

Influence du froid sur les œufs et les larves. — Le froid entrave le développement. Après la conservation durant 12 jours dans la glacière à une température de 6° C., on n'a pas pu observer de larves à l'état libre, mais bien des œufs contenant des larves vivantes. Des larves enkystées, mises dans l'eau à 0° C. pendant 15 jours, restent toutes bien vivantes. Il en est de même des larves cultivées dans les fèces pendant 15 jours et à une température de 0° C.

Des œufs au stade morula, placés dans les fèces durant 12 jours à une température de 0° C., ne poursuivirent pas leur développement. Exposés ensuite à une température de 30° C., ils ont donné naissance à des larves au bout de 3 à 4 jours.

Des larves dans l'eau, placées durant un temps variant d'une demi-heure à 6 heures, dans un mélange réfrigérant à — 15° et à — 20° C., de sorte qu'elles étaient ainsi constamment enveloppées de glace, avaient pour la plupart conservé leur vitalité après le dégel. Des larves, en culture dans les fèces, exposées durant 5 à 6 heures à la même température, furent bien vivantes après le dégel des fèces.

Des larves enkystées, qui avaient séjourné dans les fèces durant 2 heures à une température de — 15° à — 20° C., furent réunies dans l'eau et exposées à nouveau durant 6 heures à cette même température. Après le dégel, presque toutes les larves étaient vivantes.

Des larves, à peine sorties de l'œuf, au stade rhabditoïde, provenant d'une culture de fèces âgée de 24 heures, furent réunies dans l'eau et exposées durant 6 heures à une température de — 15° à — 20° C. ; après dégel, toutes les larves étaient inertes et une température de 30° C., ne parvenait pas à les faire sortir de cet état. Ces larves sont par conséquent moins résistantes à ce stade.

Des œufs exposés durant 6 heures à une température de — 15° à — 20° C., ne poursuivirent plus leur développement après le dégel.

De tout ceci, il résulte que seules, les larves enkystées sont résistantes.

Dessèchement. — Une culture de larves, ayant subi la seconde mue, fut séchée en l'exposant à une température de 30° C. On obtint ainsi une masse pulvérisable, qui, après avoir été aspergée, fut entourée de mousseline et mise dans l'eau ; aussitôt quelques

larves, subissant la seconde mue, flottaient inertes et ratatinées dans le liquide. Au bout de quelques heures, une cinquantaine de larves vivantes étaient sorties. La culture témoin des mêmes fèces montra des centaines de larves. Celles-ci, en même temps que la culture desséchée, avaient été exposées à une température de 30° C. et régulièrement humectées. Une partie de la culture desséchée fut exposée durant 6 heures à une température de — 15° à — 20° C. ; au bout de ce temps, quelques larves étaient encore vivantes.

Il en résulte que les larves, ayant subi la deuxième mue et se trouvant dans les fèces, ne résistent pas à la dessiccation complète de ceux-ci.

Les larves, qui néanmoins sont restées vivantes, peuvent supporter, durant 6 heures, une température de — 15° à — 20° C.

Si l'on retire des larves enkystées des fèces ou de l'eau et qu'on les dépose sur un verre sec, ces larves deviennent aussitôt inertes et meurent au bout de quelques minutes. C'est le desséchement qu'elles redoutent le plus.

Dans du fumier de paille, les larves peuvent se conserver très longtemps. Un tas de fumier de 0 m., 50 de haut sur 1 m., 50 de large, exposé à l'air durant trois mois et demi, supporta, en décembre et en janvier, deux périodes de gelée d'une semaine, avec environ — 6° à — 10° C. Un échantillon de ce fumier prélevé à une profondeur de 1 m., fut examiné. On y trouva des larves vivantes de nématodes à l'état libre ainsi que des larves de *Cylicostomum* en seconde mue. On en rencontra quelques exemplaires dans chaque préparation. Il est plus que probable que dans cet amas de fumier de paille, aucune fermentation n'a eu lieu.

Dans un fumier de qualité moyenne, les larves meurent à défaut d'oxygène et à la suite d'une température élevée due à la fermentation.

Influence de la lumière sur les œufs du *Strongylus*. — Lorsqu'on expose des œufs de *Strongylus*, placés dans l'eau à l'influence de la lumière, à la température ordinaire, on constate que quelques rares œufs donnent naissance à des larves ; ces larves meurent très vite après leur éclosion. La plupart des œufs cependant s'arrêtent dans leur développement à l'état de morula. Exposés à une température de 20° C., ils ne continuent pas à évoluer, la lumière les ayant tués. Les cultures témoins, placées dans l'obscurité, à une température de 30° C. montrèrent au bout de 24 heures, des larves à l'état libre.

Résistance comparative des larves de *Strongylus* enkystées et des larves de *Strongyloides westeri*, non enkystées, à l'action des agents chimiques. — Des nombreuses expériences que nous avons faites

avec divers agents chimiques, il semble résulter que les larves enkystées de *Strongylus* sont, en général, plus résistantes que les larves non enkystées ; il paraît de même que certains médicaments ont plus d'action sur telle espèce de larve que sur telle autre. Ainsi, par exemple, l'émétique et l'atoxyl ont plus d'effet sur les larves de *Strongyloides* que sur les larves de *Strongylus*, alors que le thymol a une action très nette sur les larves de *Strongylus* enkystées et n'en a pas sur les larves de *Strongyloides* (1).

II. Mode d'infestation

Nous avons pu observer chez des poulains, non infectés de vers, que c'est la larve enkystée qui produit l'infestation, comme c'est d'ailleurs le cas pour beaucoup d'autres nématodes parasites. Comme on ne peut se procurer que très difficilement des poulains non parasités, nous avons également expérimenté sur des rats, des souris et des cobayes. Ces animaux offrent encore l'avantage de n'avoir qu'un intestin très court qui peut par conséquent être examiné complètement et avec minutie.

Les auteurs pensent généralement que les larves entrent par la bouche et pénètrent ensuite dans l'organisme par les vaisseaux sanguins et lymphatiques. Schlegel et Adelman admettent le développement direct dans l'intestin. Henry croit que le développement s'effectue dans l'organisme comme cela a lieu pour l'*Ankylostoma*, c'est-à-dire qu'il y a pénétration dans la paroi intestinale, après que la larve s'est libérée de son ancienne cuticule, puis par la voie sanguine dans les poumons, la trachée et l'œsophage, pour arriver finalement dans l'intestin. Toutefois la preuve expérimentale de cette assertion n'a pas été donnée. Henry pense aussi à une infestation possible par la voie cutanée. A ce sujet, nous avons fait plusieurs expériences pour constater cette pénétration des larves enkystées à travers la peau de poulains, de souris, de cobayes, ainsi que de l'homme ; jusqu'à ce jour, cette pénétration n'a pas été observée. Nous avons mis sur la peau des centaines de larves et suivi leur marche au moyen du microscope binoculaire. Nous les avons vues se mouvoir en tous sens, mais jamais l'une d'elles n'a pénétré dans la peau.

Même en enlevant la peau à des intervalles répétés, nous n'avons jamais rencontré de larves dans le tissu cellulaire sous-cutané. La

(1) L'étude de l'action de divers agents chimiques sur les larves de strongylidés a fait l'objet d'un autre mémoire, accompagné de tableaux comparatifs.

sensation de démangeaison à la peau, ordinairement ressentie au contact des larves de *Strongyloides*, ne se fit pas sentir dans l'expérience citée plus haut, faite sur la peau de l'homme.

Il faut disposer d'une grande quantité de larves, pour pouvoir retrouver celles-ci dans les tissus, lors d'une infestation cutanée. Ayant placé dans l'eau un petit sac de mousseline renfermant des cultures de fèces et disposé le microscope binoculaire, nous avons réussi à rassembler des centaines de larves enkystées ; en effet, celles-ci s'amassent en boule à l'endroit où les rayons lumineux se concentrent.

Nous avons ensuite essayé d'infecter des souris et des cobayes, en leur faisant absorber, après une période de jeûne, de grandes quantités de larves de *Strongylus* enkystées. Ces animaux furent sacrifiés à différents intervalles et on ne retrouva des larves que dans l'intestin.

Après un jeûne de 24 heures, deux souris furent nourries avec une assez grande quantité de larves enkystées et tuées respectivement une heure et demi et 4 heures après le repas. Dans l'estomac, on trouva des larves qui subissaient la seconde mue ; dans l'intestin grêle, on en trouva également, ainsi qu'une seule larve dont l'enveloppe extérieure s'était déjà renouvelée deux fois. Jamais nous n'avons trouvé de larves dans le poumon, ni dans le foie.

Deux autres souris, depuis quelque temps nourries journellement avec des larves, furent tuées quatre heures après leur dernier repas. Des larves à leur première mue et des larves enkystées furent trouvées dans l'estomac et dans l'intestin, alors qu'on n'en rencontra pas dans les organes. Les fèces de ces souris renfermaient régulièrement des larves enkystées et des larves ayant subi la mue, à l'état libre. Il semble donc que les larves passent dans l'intestin de la souris sans pénétrer plus avant dans l'organisme.

De même les organes des rats, nourris durant plusieurs jours avec des larves enkystées, ne semblaient avoir subi aucune modification. Aucune larve ne fut trouvée dans la trachée, les poumons ou le foie. Ces animaux avaient été nourris pendant 6 jours consécutifs avec une grande quantité de larves enkystées. Un rat fut tué trois heures après le dernier repas : Dans l'estomac, on trouva des larves enkystées et des larves ayant subi la première mue. De pareilles larves furent également trouvées à l'entrée de l'intestin grêle. Plus loin dans l'intestin grêle, on n'observa que des larves ayant subi la première mue. Les larves du contenu stomacal, qui n'avaient pas encore subi cette mue, se libéraient de leur cuticule, dès qu'elles étaient exposées à une température de 30° C.

Dans les fèces d'un deuxième rat, on trouvait régulièrement des larves enkystées et des larves ayant subi la première mue. Ici également, il semble que les larves passent dans l'intestin, sans pénétrer plus loin dans l'organisme du rat.

Nous avons obtenu de meilleurs résultats chez des poulains. En utilisant des larves enkystées, qui ont subi la seconde mue, on parvient expérimentalement à déterminer la strongylose chez ces animaux.

Chez deux poulains, non infectés de vers et élevés à cet effet, respectivement âgés, de un et de quatre mois, nous avons provoqué l'infestation en donnant, par la voie buccale, des larves pendant 4 jours consécutifs. Six ou sept semaines plus tard, nous avons pu montrer que les fèces de ces poulains contenaient des œufs de *Strongylus*.

Parmi ces larves ingérées, de *Cylicostomum*, de *Strongylus edentatus* et de *S. vulgaris*, on pouvait encore retrouver, lors de l'autopsie, des formes de développement du *S. vulgaris* dans le mésentère, du *S. edentatus* sous le péritoine et de *Cylicostomum* sous la muqueuse du gros intestin. Dans le gros intestin, on rencontra également des exemplaires adultes du *Triodontophorus intermedius*, en très grand nombre, du *Triodontophorus brevicauda* en petit nombre et du *Cylicostomum insigne*, au nombre de quelques exemplaires seulement.

Un troisième poulain, élevé sans être infecté de vers, âgé de quatre mois, est infecté par la voie sous-cutanée avec une grande quantité de larves des mêmes espèces que celles employées dans les expériences précédentes. A l'endroit de l'injection se produisit un léger œdème qui disparut assez vite. Aucune élévation de température ne fut constatée. La nourriture se composa exclusivement de foin et d'avoine. Ce ne fut que cinq mois après cette infestation, l'animal étant resté à l'écurie, que l'on rencontra pour la première fois dans les fèces des œufs de sclérotomes. Lors de l'autopsie, on trouva dans le cæcum des formes adultes de strongylidés, correspondant : aux larves infectantes et en outre différents stades de développement de *Cylicostomum*, du *S. edentatus* et du *S. vulgaris*.

Chez un quatrième poulain, à jeûn depuis 24 heures, une portion de 8 cm. de longueur de l'intestin grêle est ligaturé et on injecte dans ce canal quelques centaines de larves. On introduisit d'abord la canule dans l'intestin, la seringue contenant des larves y fut adaptée et le liquide fut injecté. Ensuite la canule fut rincée avec de l'eau physiologique, afin d'éviter la pénétration des larves dans la paroi intestinale, lors de la sortie de la canule. L'intestin fut

alors replacé dans la cavité abdominale. Durant l'opération, le poulain se trouvait en état de narcose profonde. Une heure après on coupa la partie de l'intestin isolé, ainsi qu'une partie du mésentère.

La partie médiane, d'une longueur de 1 cm., fut coupée et immédiatement fixée. Dans cette partie du mésentère, on ne trouva pas de larves à l'examen microscopique pratiqué aussitôt, à l'état vivant. Le liquide contenu dans la partie de l'intestin, comprenait à peu près 50 larves en état de transformation et qui, par conséquent, possédaient encore leur ancienne cuticule. Dans le produit de grattage de la muqueuse intestinale, on trouva, au milieu des amas de cellules, d'assez nombreuses larves ; celles-ci toutefois ne s'étaient pas encore libérées de leur ancienne cuticule. On observa une larve dont l'extrémité antérieure se trouvait engagée dans un amas cellulaire et qui faisait tous les efforts possibles pour se dégager. Cette larve aussi possédait encore l'ancienne cuticule.

Dans ce fragment fixé de l'intestin, 180 coupes furent pratiquées. Chaque coupe avait une épaisseur de 6 μ , de sorte qu'environ 1 mm., 08 de l'intestin fut examiné. Dans ce petit fragment, on trouva trois larves dans le tissu sous-muqueux de dix coupes différentes. Ceci paraît bien peu, proportionnellement au nombre de larves infectantes. Toutefois, si tout le fragment (8 cm.), de l'intestin avait été examiné, on aurait trouvé 80 fois 3, c'est-à-dire 240 larves.

Si l'on considère que probablement une partie des larves avait déjà traversé la paroi intestinale au bout d'une heure et qu'une petite quantité, 50 environ, fût encore retrouvée dans le contenu de l'intestin, on ne peut pas s'étonner de n'avoir rencontré que 3 larves dans les coupes.

Les larves, qui se trouvaient dans la paroi intestinale, avaient, autant qu'on pouvait en juger, perdu leur ancienne cuticule. Il faut donc admettre que celle-ci s'est détachée, lors de la pénétration dans la paroi intestinale.