

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA FILARIOSE DES GRENOUILLES.
INFECTION ET SURINFECTION EXPÉRIMENTALES

Par F. COUTELEN

Au cours d'essais de cultures *in vitro* d'embryons de filaires, dont nous donnerons les résultats dans une note ultérieure, nous avons été amené à tenter des infections et des surinfections expérimentales de grenouilles, pour obvier à la rareté et à la pauvreté du parasitisme naturel de nos échantillons.

Nous nous sommes adressé à des grenouilles vertes (*Rana esculenta* L.) et à des grenouilles rousses (*Rana temporaria* L.) provenant de quatre lots d'origines diverses :

Un premier lot comprenait 88 exemplaires de grenouilles vertes provenant de Corse.

Un second lot, 37 exemplaires de grenouilles rousses provenant des environs de Nancy.

Un troisième lot, 184 grenouilles vertes provenant également des environs de Nancy.

Un quatrième lot, enfin, comprenait 35 exemplaires de grenouilles vertes très jeunes, achetées à Paris, dans le commerce, d'origine indéterminée.

Nous avons examiné systématiquement et plusieurs fois de suite le sang périphérique de ces 344 grenouilles ; le prélèvement de ce sang était fait par section des doigts de l'une des pattes postérieures et son examen était pratiqué à l'état frais entre lame et lamelle ou après confection de frottis desséchés et colorés par la méthode panoptique. Seize grenouilles seulement sur 344 présentaient des embryons de filaire dans le sang périphérique et le nombre moyen d'embryons par goutte de sang, examinée sous lamelle 22 × 22, variait de 6 à 10. Le peu d'intensité de ce parasitisme était confirmé d'ailleurs par la recherche systématique du nombre des filaires adultes femelles, par exemplaire parasité. En effet, 13 grenouilles sur 16 n'hébergeaient qu'une filaire femelle adulte ; une seule grenouille hébergeait deux filaires adultes femelles et deux filaires adultes mâles dans le tissu cellulaire sous-cutané de la région tho-

racique ; chez deux autres grenouilles, nous avons trouvé deux filaires femelles adultes pour chacune d'elles : il convient de noter une fois de plus la rareté des mâles adultes.

L'examen morphologique de ces adultes mâles et femelles nous a permis de les rapporter provisoirement à *Icosiella neglecta* (Diesing, 1851).

Pour conserver ce matériel d'étude, filaires adultes et embryons, à la mort de nos grenouilles parasitées et pour enrichir en embryons de filaires le sang que nous voulions essayer d'ensemencer sur divers milieux de cultures, nous avons donc procédé aux trois tentatives expérimentales suivantes :

1° Inoculation à des grenouilles neuves, de sang de grenouilles infectées contenant des embryons de filaires (étude de la migration des embryons à travers les tissus).

2° Inoculation à des grenouilles neuves de filaires adultes mâles et femelles ou de femelles seules provenant de grenouilles infectées naturellement.

3° Inoculation à des grenouilles déjà faiblement parasitées, de filaires femelles adultes ou de sang contenant des embryons de filaires.

Il convient de signaler ici, qu'au mois d'août 1915, au cours d'essais de transmission de la filariose des grenouilles par des sangsues (essais restés négatifs), le professeur Brumpt (1) tenta d'inoculer expérimentalement des têtards avec du sang de *Rana esculenta* L. riche en embryons de filaires : il obtint des inoculations positives avec trois têtards de *Rana esculenta* L., avec quatre têtards d'*Alytes obstetricans* (Laur.) et une inoculation négative sur un têtard d'*Hyla arborea* L.

Notons aussi que cet auteur (2) avait déjà essayé des transplantations de *Filariinæ* en greffant à un singe (*Cercopithecus callitrichus*) des tumeurs entières à *Onchocerca volvulus* Leuckart, 1853 ; le résultat de cette transplantation avait été négatif.

MÉTHODES EMPLOYÉES. — Le sang de toutes les grenouilles neuves en expérience était préalablement examiné plusieurs fois de suite, cet examen étant pratiqué, soit directement entre lame et lamelle, soit sur frottis de sang coloré par la méthode panoptique ; ces

(1) Nous tenons à remercier ici M. le prof. E. Brumpt qui nous a suggéré l'idée de ce travail et qui nous a aimablement communiqué cette expérience inédite pour en faire état.

(2) E. BRUMPT. — *Précis de Parasitologie*, 1^{re} édition, 1910, Masson et C^{ie}, éditeurs.

examens répétés avaient pour but de dépister une infection naturelle possible.

Le sang contenant des embryons de filaire était prélevé aseptiquement à la pipette par ponction du cœur des grenouilles infectées et recueilli dans de la solution physiologique de NaCl citratée à 1 pour cent.

L'inoculation de ce sang à des grenouilles neuves était faite, au moyen d'une seringue stérilisée, soit dans le péritoine, soit dans le sac dorsal lymphatique, soit dans le tissu cellulaire sous-cutané, après antiseptisation de la peau à la teinture d'iode.

La récolte des filaires adultes était faite en plaçant la grenouille parasitée dans un cristalliseur contenant de la solution physiologique de NaCl, après dissection, enlèvement de la peau et dilacération des aponévroses musculaires.

L'inoculation des filaires ainsi récoltées était pratiquée à la pipette dans le sac dorsal lymphatique des grenouilles neuves ou déjà faiblement parasitées.

Le sang périphérique des grenouilles ainsi inoculées a été ensuite examiné systématiquement tous les jours, soit directement à frais, soit après confection et coloration de frottis.

OBSERVATIONS ET RÉSULTATS. — Sauf quelques rares échecs, en ce qui concerne les inoculations de filaires femelles, échecs dus sans doute à une faute de technique (traumatisme de la filaire femelle au moment de l'inoculation), nous avons obtenu des résultats positifs, constants et durables dans ces essais d'infection et de surinfection expérimentales.

On peut donc infecter expérimentalement des grenouilles :

1° Par des embryons de filaires, en leur injectant du sang de grenouilles déjà infectées.

2° Par des adultes et des embryons, en leur inoculant des femelles adultes provenant de grenouilles déjà parasitées.

D'autre part, on peut réaliser des surinfections chez des grenouilles déjà parasitées naturellement ou expérimentalement, en leur inoculant en même temps ou successivement plusieurs filaires femelles adultes : il semble donc qu'il n'y ait pas d'immunité acquise chez les grenouilles des espèces étudiées ; nous n'avons pas non plus observé d'immunité naturelle.

Notons, cependant, que dans les filarioses humaines, on admet qu'une première infection naturelle prémunise le malade, au bout de quelques années, contre d'autres infections ultérieures ; on expliquerait alors la présence de plusieurs adultes femelles chez l'indi-

vidu parasité par l'évolution simultanée de plusieurs embryons de filaires, transmis en une seule fois par le même hôte intermédiaire vecteur ; en ce qui concerne la filariose des grenouilles, il est donc possible que, dans la nature, l'hôte définitif acquière aussi une certaine immunité contre les embryons de filaires évolués chez les hôtes vecteurs et inoculés par eux, immunité insuffisante toutefois (ainsi qu'il résulte de ces surinfections expérimentales) contre l'inoculation ultérieure de filaires arrivées à l'état adulte.

Il nous a paru aussi, que le passage d'une filaire femelle d'une grenouille à une autre pouvait provoquer chez cette filaire une nouvelle décharge d'embryons. Le plus souvent, en effet, si l'on examine plusieurs jours de suite le sang d'une grenouille infectée, on y trouve un nombre à peu près constant d'embryons pour un même volume de sang ; on est en droit d'en conclure qu'au bout d'un certain temps la filaire cesse de pondre. On peut alors provoquer, dans la plupart des cas, une nouvelle mise en liberté d'embryons, en inoculant cette filaire à une grenouille neuve ; chez cette dernière, on constate alors la présence d'embryons dans le sang périphérique, deux ou trois jours après l'inoculation de la filaire femelle adulte.

D'autre part, De Nabias et Sabrazès (1) avaient émis l'hypothèse que la pénétration dans le système circulatoire des embryons pondus s'effectuait à la faveur de la perforation faite par la filaire femelle au niveau des vaisseaux pour y puiser le sang nécessaire à sa nourriture ; ces auteurs faisaient remarquer judicieusement que l'orifice de ponte était placé à proximité de la bouche. L'inoculation expérimentale d'embryons de filaires dans le péritoine ou dans le tissu conjonctif sous-cutané et leur présence ultérieure dans le sang périphérique montrent que ces embryons sont capables de migrations à travers les tissus et qu'ils peuvent pénétrer directement et activement dans le système circulatoire par effraction à travers les vaisseaux.

Notons enfin que la possibilité de ces passages en série de filaires et d'embryons de filaires, de grenouille à grenouille, constitue un moyen commode de conserver ces parasites dans les laboratoires.

Laboratoire de Parasitologie de la Faculté de médecine de Paris.

(1) DE NABIAS et SABRAZÈS. — La filaire du sang des grenouilles. Découverte du mâle. *Association française pour l'avancement des sciences, Congrès de Pau, 1892.*