

RECHERCHES RÉCENTES ET OPINIONS NOUVELLES SUR LA TOXICITÉ DES HELMINTHES

Par R. MANDOUL

Affirmée par les uns, niée par les autres, la toxicité des helminthes reste un sujet d'étude controversé : ces opinions divergentes sont basées sur des expériences contradictoires. Depuis 1900, un grand nombre d'auteurs se sont livrés, comme en champ clos, une bataille toujours indécise. Citons parmi eux : Messinéo et Calamida, Mingazzini, Cao, Weiland, Boycott, Jammes et H. Mandoul, Allaria, Le Dantec, Leroy, Weinberg et ses élèves, Shimamura et Fujii, Simonin, etc...

Mettant en œuvre des méthodes biochimiques nouvelles, nous avons repris tout dernièrement ces recherches avec M. Machebœuf (1). Nous avons tout d'abord utilisé, comme matériel d'étude, l'ascaride du cheval dont la toxicité du liquide coelomique a été bien établie. Dans une expérience préliminaire, nous avons d'ailleurs vérifié le fait : injecté par la voie endo-veineuse, le liquide péritérique de ce nématode tue un cobaye de 600 grammes en quatre minutes à la dose de 0 cm³, 7. Quelle est la nature de cette substance toxique ? Est-ce un protéide, une substance rappelant, par ses propriétés de précipitation, une toxine telle que les exotoxines microbiennes ou les phytotoxines ? C'est la question que nous avons essayé tout d'abord de résoudre en utilisant l'acide trichloracétique en solution, qui, on le sait, précipite les protéides à poids moléculaire élevé et les exotoxines microbiennes. Une méthode analogue a déjà été utilisée par Boivin et Mesrobeau pour mettre en évidence l'existence d'endotoxines glucido-lipidiques chez les bactéries à Gram négatif.

Les ascaris broyés, traités par un poids égal d'une solution d'acide trichloracétique à 8 pour 100, fournissent, après centrifugation, un liquide qui ne contient plus que les substances hydro-solubles non précipitables par cet acide. L'élimination de l'acide

(1) MACHEBŒUF (M.) et MANDOUL (R.). — *C.R. Soc. de Biol.*, Bordeaux, 8 février et 15 mars 1939.

trichloracétique est réalisée par dialyse dans un sac de collodion ; la dialyse est prolongée pendant 72 heures vis-à-vis d'une solution à 9 pour 1.000 de chlorure de sodium, afin d'obtenir un liquide isotonique par rapport au sang des animaux d'expérience ; à la fin de la dialyse, le *pH* du liquide est 6,5. Nous avons étudié sur le cobaye la toxicité de cet extrait en utilisant la voie endo-veineuse (veine saphène) ou intra-cardiaque. L'injection de 1 cm³ produit un choc assez net, dont l'animal peut cependant faire les frais, car il se rétablit rapidement et définitivement. Par contre, l'injection de 2 cm³ provoque, chez le cobaye adulte de 600 grammes, l'apparition, au bout de deux à trois minutes, de la série des symptômes qui se manifestent habituellement au cours d'un choc anaphylactique mortel : éternuements, grattage du nez, soubresauts, chute sur le côté, convulsions, mouvements inspiratoires violents ; la mort survient entre la troisième et la quatrième minutes (1). La dose mortelle correspond à 1 gramme d'helminthe.

Ce choc n'est pas dû au glycogène que l'extrait contient en grande abondance, ni à des substances colloïdales à gros grains ; en effet, nous avons dépouillé notre extrait du glycogène et des substances colloïdales par addition d'alcool ; le précipité ainsi formé, remis en solution dans l'eau physiologique, peut être injecté impunément, même en quantité correspondante à ce qui a été séparé de trois doses mortelles de l'extrait initial. La substance toxique demeure donc dans le liquide hydro-alcoolique débarrassé du glycogène. Nous l'avons vérifié après avoir éliminé l'alcool par une nouvelle dialyse. En effet, l'injection de ce liquide isotonisé déclenche, chez le cobaye, un choc très violent ; on note cependant une perte partielle de l'activité et ce liquide final s'avère moins nocif que l'extrait initial correspondant. L'explication de ce fait nous a été fournie par l'étude de l'influence du vieillissement sur nos extraits. Nous avons constaté que ces extraits perdent progressivement et rapidement leur activité même lorsqu'on les conserve à la glacière ; au bout de huit jours, leur toxicité est négligeable. La substance toxique est également thermo-labile et un chauffage de dix minutes à 100°, même à *pH* 7, provoque son inactivation totale. Cette fragilité de la substance toxique rend problématique son identification chimique, car sa dénaturation spontanée évolue, même à la glacière, à une vitesse supérieure à celle des opérations d'isolement que nous lui avons fait subir.

(1) Il est important de noter que les animaux n'ont pas reçu d'injection antérieure de produits vermineux ; il ne s'agit donc pas de phénomènes anaphylactiques.

A défaut de cet isolement, les résultats suivants sont cependant acquis. La substance toxique de l'ascaris n'est pas constituée par des protéides tels que albumines ou globulines, et n'est pas non plus comparable à une exotoxine microbienne. Il ne s'agit pas d'une substance semblable aux endotoxines glucido-lipidiques microbiennes de Boivin, car ces endotoxines, lorsqu'elles sont injectées, ne manifestent leur toxicité qu'après un certain nombre d'heures (période d'incubation); de plus, elles produisent, à dose infamortelle, des troubles tardifs graves, ce qui n'est pas le cas pour l'extrait d'ascaris dont l'action se manifeste d'une façon immédiate et ne provoque aucun trouble tardif secondaire si l'injection n'est pas immédiatement mortelle. Il ne s'agit vraisemblablement pas non plus d'une substance de très faible poids moléculaire, comme une amine toxique analogue, par exemple, à l'histamine, puisqu'elle ne dialyse pas. Nous pouvons affirmer toutefois qu'il s'agit d'un corps d'une très haute activité dont la quantité minima mortelle pour le cobaye est bien au-dessous de 2 mmgr. (1). Notre extrait initial contient des polypeptides, ainsi que le démontrent les réactions positives du biuret, de Millon (tyrosine), d'Adamkiewicz et Colle (tryptophane). Ces polypeptides ne précipitent pas avec le glycogène par l'alcool et demeurent en totalité, après dialyse de l'alcool, dans le liquide toxique débarrassé du glycogène (extrait final). C'est peut-être à ces polypeptides que l'on doit rapporter l'activité toxique de nos extraits, mais nous ne pouvons toutefois pas l'affirmer. Notons qu'en 1916, les auteurs japonais, Shimamura et Fujii, ont extrait d'ascarides desséchés des albumoses toxiques qu'ils ont appelées *ascaron*. Ces substances, contenues dans les préparations toxiques étudiées par ces auteurs, sont probablement de simples produits d'autolyse partielle et n'ont aucun rapport avec la substance toxique dont nous faisons mention ici, dont la fragilité exclut toute possibilité de conservation dans des préparations desséchées.

Du point de vue biologique, nous avons constaté que l'extrait trichloracétique ne confère pas au cobaye une sensibilité de type anaphylactique vis-à-vis d'une injection faite trois semaines plus tard. Ce résultat n'est pas en contradiction avec ceux obtenus par Mme Ciculesco-Mavromati qui a démontré qu'une anaphylaxie vraie (transmissible) pouvait exister vis à vis du liquide péri-entérique d'ascaris. En effet, notre extrait a été dépouillé de ses pro-

(1) Nous avons, pour vérifier ce fait, pesé le résidu laissé par l'évaporation d'un volume de notre extrait final correspondant à une dose mortelle.

téides par l'acide trichloracétique, tandis que cet auteur a utilisé le liquide péri-entérique total qui est riche en protéides, et pour lequel il n'est donc pas surprenant que puisse exister un pouvoir anaphylactogène (1). Nous avons noté aussi que l'injection d'une dose infra-mortelle de notre extrait confère au cobaye une certaine résistance à des injections ultérieures ; c'est ainsi que, trois semaines après l'injection d'une dose infra-mortelle, un cobaye ainsi préparé résiste à l'injection d'une dose mortelle pour l'animal témoin. Dix jours après cette deuxième injection, il peut supporter une quantité double de la dose mortelle pour le témoin. On ne peut toutefois pas parler d'immunité véritable, car nous avons enregistré, après chacune de ces injections, chez le cobaye préparé, l'apparition de phénomènes pathologiques très graves dont l'animal ne se remet que lentement. Il ne peut d'ailleurs supporter l'injection d'une quantité d'extrait nettement supérieure au double de la dose mortelle.

Nous avons, en outre, constaté que la répétition des injections ne provoque pas une éosinophilie sanguine notable. Enfin, nous avons vérifié, qu' *in vitro* tout au moins, notre extrait n'exerce aucun pouvoir anticoagulant sur le sang de cobaye ou de lapin.

Si le liquide cœlomique pur, ou l'extrait trichloracétique d'ascaris, se montrent très toxiques, il n'en est pas de même pour l'extrait aqueux total. Nous avons pu injecter au cobaye 3 cm³ de ce dernier, quantité correspondant à 1 gr., 50 d'helminthe, sans provoquer un trouble notable. Ce fait est extrêmement intéressant, car il nous met en mesure d'expliquer les divergences d'opinions des auteurs sur la toxicité des ascarides : ceux qui ont injecté le liquide cœlomique affirment cette toxicité ; ceux qui ont utilisé l'extrait aqueux, comme Jammes et H. Mandoul, l'ont niée. Il nous apparaît maintenant qu'une partie de la substance toxique des ascarides se trouve en liberté dans le liquide péri-entérique, tandis qu'une portion importante demeure fixée aux tissus. Dans l'extrait aqueux total, cette fraction toxique fixée aux cellules n'est libérée, ni par le broyage mécanique, ni par l'eau physiologique et se trouve éliminée avec les particules non dissoutes au moment de la centrifugation. La dilution considérable que subit le liquide péri-entérique, seul élément toxique qui subsiste dans ce cas, lui ôte toute activité. Au contraire, l'emploi d'un réactif approprié, comme l'acide trichloracétique, libère, grâce à son action coagulante

(1) La même remarque est valable au sujet des résultats obtenus par Morenas, qui a constaté le pouvoir anaphylactogène d'extrait aqueux glycérolé de *Tænia*.

des protéides, la fraction toxique tissulaire et confère ainsi à l'extrait, malgré la dilution, une activité considérable.

Après avoir obtenu ces résultats, il était intéressant de savoir si une telle substance toxique était spécifique de l'ascaris ou si l'on pouvait la détecter chez d'autres helminthes, parasites intestinaux, mais fort différents du point de vue zoologique. Nous avons repris ces recherches à l'aide des mêmes techniques, en utilisant le ténia du mouton (*Moniezia expansa*). L'extrait trichloracétique de ce ténia, injecté au cobaye à la dose de 5 cm³, dose correspondant à 2 gr., 50 d'helminthe, s'avère dépourvu de toute toxicité. L'extrait aqueux total de ce même parasite n'est pas davantage toxique ; ce fait confirme les expériences antérieures de Jammes et H. Mandoul qui avaient opéré sur le cobaye dans des conditions identiques avec les mêmes extraits aqueux de strobile entier de cette espèce de ténia. Ces résultats paraissent différents de ceux qu'a obtenus Simonin, mais nous devons souligner que les conditions d'obtention de l'extrait aqueux et le choix de l'animal réactif sont différents. Simonin, en effet, a constaté la forte toxicité pour le lapin des extraits aqueux de cucurbitains de *Tænia saginata*, alors que, dans le cas qui nous occupe, c'est la totalité du strobile de *Moniezia expansa* qui a été utilisée ; d'autre part, l'extrait aqueux ainsi obtenu a été injecté au cobaye et non au lapin. Les conclusions de ces expériences non superposables ne peuvent être opposées. De nouvelles recherches sont nécessaires dans cette voie. Ce qui est certain, c'est que le ténia du mouton ne contient pas, à dose notable, une substance toxique pour le cobaye et soluble dans l'acide trichloracétique analogue à celle de l'ascaride.

Nous nous sommes adressé enfin à un trématode, la grande douve du foie du mouton (*Fasciola hepatica*) et nous avons recherché de même le pouvoir toxique des extraits qu'elle nous a fournis. Les résultats que nous avons obtenus sont comparables à ceux que nous a donnés le ténia du mouton. Les injections d'extrait trichloracétique ou aqueux de grande douve sont parfaitement tolérées par le cobaye qui ne manifeste aucun trouble immédiat ou tardif.

Ainsi, les différences d'ordre zoologique qui séparent les nématodes des cestodes et trématodes semblent se poursuivre sur le terrain biochimique, tout au moins pour les espèces que nous avons étudiées. L'extension de ces recherches à un plus grand nombre d'espèces différentes nous permettra seule de confirmer la légitimité de cette généralisation.

RÉSUMÉ

1° Il existe, chez *Ascaris megalcephala*, une substance toxique pour le cobaye, soluble dans l'acide trichloracétique, soluble dans l'alcool à 50° et non dialysable. Cette substance n'est pas constituée par des protéides tels que albumines ou globulines ; elle n'est pas non plus comparable à une exotoxine microbienne ; il ne s'agit pas davantage d'une substance semblable aux endotoxines glucidolipidiques microbiennes de Boivin, ni d'un corps de très faible poids moléculaire, comme une amine toxique analogue, par exemple, à l'histamine. Peut-être faut-il mettre en cause des polypeptides, mais nous ne pouvons l'affirmer.

2° Il n'existe pas, chez *Moniezia expansa*, une substance analogue.

3° Une telle substance fait aussi défaut chez *Fasciola hepatica*.

*Laboratoire de Zoologie et Parasitologie
de la Faculté de médecine de Bordeaux
(Directeur : Prof. H. Mandoul).*
