ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

Tome XXXVIII

1963

N° 1

Annales de Parasitologie (Paris) t. **38**, 1963, n° 1, pp. 1 à 9

MÉMOIRES ORIGINAUX

Contribution à l'étude d'une souche pathogène de *Trypanosoma cruzi* (Souche Tulahuen, Chili)

III. Effets des Spirochètes récurrents (*Borrelia duttoni* et *B. persica*) sur l'évolution de l'infection à *Trypanosoma cruzi*

Par **Henri GALLIARD**, **Jacques LAPIERRE** et **Marguerite COSTE**

Comme suite aux recherches effectuées sur l'effet des *Borrelia* sur une souche peu virulente de *T. cruzi* chez la souris (H. Galliard, J. Lapierre et J.-J. Rousset, 1960), nous avons pensé que les caractères de l'infection mixte seraient beaucoup plus démonstratifs en employant la souche Tulahuen, beaucoup plus virulente.

Nous avons utilisé comme précédemment *Borrelia duttoni* qui donne une parasitémie importante et *B. persica* caractérisé par sa bénignité.

Comme dans le précédent travail, nous avons infecté d'une part les souris avec *Borrelia* d'abord, puis avec *T. cruzi*, d'autre part avec *T. cruzi* puis *Borrelia*. Ce dernier procédé était évidemment plus susceptible, en raison de la longueur de la période prépatente de la trypanosomose, de mettre en valeur l'effet protecteur éventuel des *Borrelia*.

Enfin, dans une troisième série d'expériences, nous avons inoculé simultanément les deux ordres de parasites et fait ensuite un certain nombre de passages avec la souche mixte.

1. — Borréliose initiale

Borrelia duttoni détermine chez la souris une parasitémie intense lors de la primo-infection (100 à 200 sp./X) (1) et plus ou moins accentuée selon les cas, mais toujours élevée lors des trois ou quatre récurrences suivantes.

FIG. 1 (N° 227). — Spirochétose initiale (*Borrelia duttoni*). Retard dans l'apparition des trypanosomes par rapport aux témoins.

FIG. 2 (N° 154). — Spirochétose initiale à *B. duttoni*. Même allongement de la période prépatente. Ici la spirochétose semble avoir provoqué une certaine irrégularité dans l'évolution de la parasitémie à Trypanosomes.

Un lot de huit souris a été infecté. Les Trypanosomes ont été inoculés trois et cinq jours après, ce qui correspondait à l'acmé de la borréliose. Dans le premier cas, les Trypanosomes sont apparus le 13^e jour contre 5 et 8 jours chez les témoins. Dans le

(1) Pour tous les examens microscopiques de cette expérience, nous avons utilisé objectif 5 x oculaire 4. Stiasnie.

second cas, la période prépatente a varié de 8 à 14 jours contre 5 jours chez les témoins.

Les délais de survie des souris ont varié de 10 à 28 jours (respectivement 10, 11, 16, 17, 24, 24, 24 et 28 jours) et chez les témoins de 12 à 28 jours. Signalons, cependant, que cette survie de 28 jours de l'un des témoins est exceptionnelle, mais que néanmoins la période prépatente avait été normale (5 jours).

FIG. 3 (N° 155). — Spirochétose initiale à *B. duttoni*. La trypanosomose est demeurée très faible jusqu'à la mort.

L'évolution de la parasitémie a été plus souvent progressive, mais très variée, quant à son intensité. Dans trois cas, elle était importante lors du décès (10 à 20 T./X) (fig. 1, souris 227, et fig. 2, souris 154) ; dans quatre cas, au contraire, elle est toujours restée faible (fig. 3, souris 155). Dans trois cas où l'évolution a été néanmoins mortelle, la parasitémie a présenté une série de régressions et, dans un cas, elle a complètement disparu, mais de façon très transitoire (fig. 2, souris 154).

Ainsi, dans cette expérience, l'influence protectrice de la borréliose n'a pas été nette. Elle ne s'est manifestée que par un allongement de la période prépatente de la trypanosomose et parfois par une légère régression transitoire du parasitisme.

Avec *Borrelia persica*, la même expérience a été faite sur cinq souris. Quatre à cinq récurrences parasitémiques importantes se sont produites alors que cette souche ne détermine habituellement qu'une parasitémie beaucoup plus modérée. La durée de prépatence des Trypanosomes, quand ils ont été inoculés à l'acmé de la borréliose, a été respectivement de 5, 4, 8, 11, 13 jours contre 5 jours chez les témoins. L'évolution de l'infection a été inégale, régulièrement progressive dans trois cas, légèrement régressive dans deux cas avant la mort (fig. 4). La survie a été de 8, 11, 15, 19 et 20 jours respectivement pour les cinq souris et de 24 jours pour le témoin.

Ainsi, dans ce cas comme dans celui de *B. duttoni*, l'effet protecteur s'est surtout manifesté par le retard d'apparition des Trypanosomes.

FIG. 4 (N° 234). — Spirochétose initiale à *B. persica*. La trypanosomose n'a pas suivi l'évolution normale, elle est demeurée très faible.

FIG. 5 (N° 126). — Trypanosomose initiale. La parasitémie apparaît plus précocement comme chez les témoins et évolue normalement. La spirochétémie est faible.

FIG. 6 (N° 125). — Trypanosomose initiale. La spirochétémie est plus intense et semble avoir fait régresser la trypanosomose.

2. — Trypanosomose initiale

Les Trypanosomes d'une souris bien infectée (5 T./X) ont été inoculés à huit souris par voie intra-péritonéale à raison de cinq gouttes de sang diluées dans un demi-centimètre cube de sérum physiologique.

La recherche d'un effet protecteur éventuel des *Borrelia* a été faite avec les mêmes souches, *B. duttoni* et *B. persica*.

B. duttoni a été inoculé à ces huit souris infectées avec *T. cruzi* depuis 8 et 11 jours

afin que les taux de parasitémie soient différents (1 T./3 X à 4 T./X). Il ne semble pas d'ailleurs que le degré de la parasitémie à Trypanosomes ait une influence sur l'évolution ultérieure de l'infection mixte.

Dans tous les cas, les spirochètes sont apparus dès le lendemain, mais l'infection n'a pas revêtu chaque fois la même intensité. Dans deux cas, elle a été faible et la mort est survenue deux jours plus tard sans qu'aucune modification du nombre des Trypanosomes ne se soit produite (fig. 5, souris 126). Dans six cas, la spirochétémie a été intense (100 à 200 sp./X) et l'infection à Trypanosomes (fig. 6 et 7) a régressé et a même disparu dans deux cas (fig. 8). Mais, ce phénomène a été momentané : car deux à trois jours après au plus tard, l'évolution avait repris son cours normal et les souris sont mortes respectivement les 15^e, 17^e, 17^e, 17^e, 17^e et 19^e jours, c'est-à-dire sensible-

FIG. 7 (N° 218). — Trypanosomose initiale. La spirochétémie intense a fait peut-être régresser momentanément la parasitémie qui atteint cependant le 15^e jour un taux élevé.

FIG. 8 (N° 129). — Trypanosomose initiale. La Borréliose est très marquée et récurrente. La courbe des Trypanosomoses est irrégulière et reste faible jusqu'à la mort.

ment dans les mêmes délais que les témoins. Dans un cas cependant, la souris a survécu 23 jours avec un nombre de parasites très faible jusqu'au 21^e jour. Mais nous rappelons qu'avec cette souche de *T. cruzi* (Tulahuen) viscérotrope, la parasitémie ne traduit pas la gravité de l'infection et qu'il est par conséquent difficile de tirer des conclusions.

Avec *B. persica*, le taux de la spirochétémie est resté faible comme d'habitude et nous n'avons observé aucune modification de l'évolution de la trypanosomose.

Ainsi, lorsque les *Borrelia* sont injectés au cours de l'infection à *T. cruzi*, il se produit dans le cas de *B. duttoni*, lorsque la parasitémie est intense, une régression

transitoire et exceptionnellement prolongée de l'infection à Trypanosomes sans que l'on puisse toutefois parler d'un effet nettement protecteur. Par contre, avec *B. persica*, l'effet est nul.

3. — Inoculation simultanée des Trypanosomes et des *Borrelia*

Borrelia duttoni et *T. cruzi* (Tulahuen) ont été inoculés simultanément à un premier lot de cinq souris. Les spirochètes sont apparus le lendemain et l'infection s'est manifestée de façon intense avec au moins trois récurrences dans chaque cas. La période prépatente pour les Trypanosomes a été de 9 jours dans tous les cas (5, 6 et 9 jours chez les témoins).

L'infection à Trypanosome a revêtu un caractère explosif tout à fait remarquable et inhabituel dans trois cas, avec 40, 80 et 100 parasites par champ (fig. 9) contre 3 à 4 chez les témoins. C'est la première fois que nous observions une telle parasitémie avec cette souche et cela s'est d'ailleurs traduit par une infection correspondante dans le foie et la rate.

Il n'y a donc pas eu protection par les spirochètes, mais, au contraire, exaltation remarquable de la trypanosomose.

Devant de tels résultats, nous avons recommencé l'expérience en infectant un deuxième lot de cinq souris.

La spirochétose a été aussi intense que la première fois (100 par champ, trois récurrences en moyenne). Les Trypanosomes sont apparus du 5^e au 10^e jour (4 jours chez le témoin) et l'infection a été progressive, sauf dans un cas. Mais, dans cette série, la parasitémie n'a pas eu le caractère explosif de la série précédente. Elle s'est comportée comme chez les témoins, c'est-à-dire avec un à cinq Trypanosomes par champ.

Pour essayer de trouver les causes de cette variabilité dans les réactions des souris à l'infection mixte, nous avons inoculé neuf autres souris dans des conditions aussi proches que possible de celles de la première expérience, surtout en ce qui concernait le taux de parasitémie des souris donneuses. La spirochétose a été intense comme dans tous les cas précédents. Les Trypanosomes sont apparus du 7^e au 11^e jour (8^e jour chez trois témoins). Dans trois cas, la trypanosomose a été intense (20, 30 et 50 par champ), mais la même parasitémie a été observée chez deux témoins. Les délais de survie ont été de 14 à 22 jours (16 à 17 jours chez les témoins). Dans deux cas, il y a eu légère régression de l'infection et dans un cas seulement prolongation de la survie (22 jours).

Ainsi, en nous replaçant dans des conditions expérimentales identiques à celles de la première expérience, nous n'avons obtenu que trois fois sur neuf au lieu de trois sur cinq lors de la première expérience ce caractère explosif, mais chez les témoins la parasitémie a été dans certains cas aussi importante. Ce phénomène ne peut donc être considéré comme le résultat habituel de l'infection à *B. duttoni* et *T. cruzi* (Tulahuen) inoculés simultanément.

De toute façon, la borréliose n'a exercé, dans le total de 19 cas de ces trois expériences, qu'un léger effet protecteur dans trois cas où une légère régression s'est pro-

duite et dans un cas une durée de survie un peu prolongée. La période prépatente a été généralement plus longue (5 à 12 jours contre 5 à 19 jours chez les témoins).

En ce qui concerne *B. persica*, la spirochètose s'est manifestée suivant les cas de façon légère ou peu intense, mais sans atteindre le degré d'infection dû à *B. duttoni*. Cinq fois la trypanosomose a progressé tout en demeurant peu élevée (2 à 6 Trypanosomes par champ) (fig. 9). Dans un cas, il y a eu légère régression et persistance de la survie jusqu'au 31^e jour.

FIG. 9. — Les Trypanosomoses et les *Borrelia* ont été inoculés simultanément. Chez trois souris d'un lot de 6, la trypanosomose a été extraordinairement exaltée, le taux de parasitémie ayant atteint jusqu'à quatre fois le chiffre habituel.

Ainsi l'effet protecteur de *B. persica* s'est manifesté seulement dans un cas par une prolongation de la survie et, comme précédemment, par un retard dans l'apparition des Trypanosomes.

4. — Passages en série de l'infection mixte

Devant certains des résultats précédents obtenus par l'inoculation simultanée de *T. cruzi* et de *Borrelia*, nous avons recherché si, par passages successifs de l'infection mixte, on pouvait reproduire cette exaltation explosive de l'infection à Trypanosomes.

Nous avons pratiqué onze passages en série échelonnés sur une période de quatre mois et portant sur un total de 37 souris. Nous n'avons constaté ni exaltation, ni régression de la virulence. Les résultats sont d'une extrême variété. Les souris neuves, infectées à partir d'une même souris donneuse, ont présenté des types d'infection très différents. Par exemple, à la suite du troisième passage en série, l'une des souris est morte le 11^e jour avec 20 Trypanosomes par champ, l'autre le 16^e jour avec 1 par 20 champs, sans que la spirochètémie ait varié.

Au cours du neuvième passage du virus mixte un jour où les spirochètes n'étaient pas présents dans le sang, la souris neuve a seulement été infestée de Trypanosomes, comme l'a prouvé l'observation journalière du sang périphérique et aussi le passage avec le sang et les broyats de cerveau.

Lorsque les souris infectées avec le virus mixte ont été traitées par la pénicilline, les spirochètes ont rapidement disparu. Les passages ultérieurs n'ont jamais déterminé de spirochétose chez les souris receveuses.

Le comportement des souris traitées par la pénicilline a été différent en ce qui concerne l'évolution de la trypanosomose : une a guéri, les six autres sont mortes dans des délais de 15 à 30 jours avec un taux de parasitémie varié.

Discussion et résumé

Certains auteurs avaient pensé, par analogie avec l'effet protecteur remarquable exercé chez la souris par certaines *Borrelia*, surtout *B. duttoni* contre les Trypanosomes polymorphes pathogènes, qu'un phénomène similaire pouvait intervenir au cours de l'infection mixte avec *Trypanosoma cruzi*. L'un de nous (H. Galliard, 1930) avait observé que *B. crocidurae* n'avait pas d'effet sur l'infection de la souris avec une souche de *T. cruzi*, d'Uruguay, à localisation péritonéale exclusive, le pourcentage des cas mortels étant le même que dans les infections à Trypanosomes seuls.

H. Galliard, J. Lapierre et J.-J. Rousset, en 1958, utilisèrent une souche de *T. cruzi* (Cura) peu pathogène et deux espèces de *Borrelia*, *B. duttoni* et *B. persica*. Il se produisait, sinon une inhibition complète, tout au moins une régression immédiate de la trypanosomose surtout marquée dans le cas de *B. duttoni*. Mais cette action protectrice était difficile à apprécier du fait de la faible virulence de *T. cruzi* et de l'infection chronique de longue durée.

On pouvait s'attendre, en utilisant une souche pathogène de *T. cruzi*, comme Tulahuen qui est létale pour la souris dans 98 % des cas, à observer un effet inhibiteur des *Borrelia* beaucoup plus marqué.

Les résultats ont été les suivants. Lorsque la borréliose est initiale, l'effet protecteur se manifeste par un retard de l'apparition des Trypanosomes, l'évolution de l'infection étant par la suite régulièrement progressive, mais variable dans son intensité avec, parfois, une ou plusieurs régressions transitoires de la parasitémie. Mais l'infection a toujours été mortelle.

Quand l'inoculation des Trypanosomes précède celle des spirochètes, on observe avec *B. duttoni*, lorsque la spirochétoémie se manifeste intensément, une régression et parfois la disparition complète mais transitoire de la trypanosomose, l'évolution étant cependant toujours mortelle. Par contre, *B. persica* n'a aucune influence sur l'évolution de l'infection mixte.

L'infection simultanée des souris par les deux parasites a donné des résultats aussi inattendus que divers. Dans une première série de cas, la trypanosomose, au lieu de l'inhibition escomptée, a pris un caractère explosif avec des taux d'infection jamais

observés jusqu'alors. Mais, cette exaltation n'a pu être reproduite dans deux autres séries d'expériences et nous n'avons pas la preuve qu'elle était nécessairement liée à la présence des spirochètes.

Enfin, le passage en série de l'infection mixte Trypanosome-spirochète pendant quatre mois sur un lot de 37 souris ne s'est traduit par aucune modification de la virulence, ni exaltation, ni régression. Des souris traitées par la pénicilline ont guéri rapidement de leur spirochètose et la trypanosomose a évolué vers la mort dans des délais normaux sauf dans un cas où la guérison est survenue.

Ainsi, avec la souche pathogène Tulahuen de *T. cruzi*, l'inhibition de l'infection par les spirochètes récurrents n'est pas plus marquée qu'avec une souche avirulente et ne semble jamais être un facteur de survie. Il n'y a donc aucune commune mesure avec la protection de longue durée, parfois totale et aboutissant à la guérison définitive, conférée par certaines espèces de *Borrelia* contre les infections à Trypanosomes du groupe Brucei, toujours léthales à bref délai pour la souris, et qui fut signalée pour la première fois par Trautman en 1907.

Bibliographie

- GALLIARD (H.), 1930. — Localisation péritonéale exclusive au cours de l'infection à *Trypanosoma cruzi*. *Ann. Parasit.*, VIII, 140.
- GALLIARD (H.), LAPIERRE (J.) et ROUSSET (J.-J.), 1957. — Essai de classification des *Borrelia* par leur pouvoir protecteur contre *Trypanosoma brucei* chez la souris. *Bull. Soc. Path. Exot.*, L, n° 5, 663-666.
- GALLIARD (H.), LAPIERRE (J.) et ROUSSET (J.-J.), 1958. — Comportement spécifique de différentes espèces de *Borrelia* au cours de l'infection mixte avec *Trypanosoma brucei*. Son utilisation comme test d'identification des spirochètes récurrents. *Ann. Parasit.*, XXXVIII, n° 3, 177-208.
- GALLIARD (H.), LAPIERRE (J.) et ROUSSET (J.-J.), 1959. — Atténuation de l'infection à *Trypanosoma cruzi* chez la souris blanche par différentes souches de *Borrelia*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, LII, n° 3, 272-276.
- LAPIERRE (J.), LARIVIERE (M.) et ROUSSET (J.-J.), 1958. — Protection de la souris contre une souche virulente de *Trypanosoma gambiense* par certaines espèces de *Borrelia*. *Bull. Soc. Path. Exot.*, LI, n° 2, 173-176.
- TRAUTMAN, 1907. — L'association du spirille de la Tick-fever et de divers trypanosomes. *Ann. Inst. Pasteur*, XXXI, 808.

(Institut de Parasitologie, Faculté de Médecine de Paris)