

## Trichinose expérimentale

(1<sup>re</sup> note)

Survie et reproduction des différents stades  
de *Trichinella spiralis* dans la cavité péritonéale de la souris

Par Félix A. LANCASTRE et Jean-Christian BAZIN

Classiquement, le cycle de *Trichinella spiralis* est le suivant : l'hôte, un Mammifère, s'infeste en mangeant de la viande contenant des larves enkystées. Celles-ci sont libérées au cours de la digestion dans l'estomac et la portion antérieure de l'intestin et se transforment rapidement en adultes qui, en 48 heures environ, arrivent à maturité et copulent aussitôt. Une semaine plus tard, les embryons éclosent dans l'utérus des femelles fixées dans la muqueuse intestinale et sont déversés dans les espaces lymphatiques péri-intestinaux et dans la cavité péritonéale. Par l'intermédiaire de la circulation, ou de proche en proche, à travers le tissu conjonctif, ils parviennent aux fibres musculaires à l'intérieur desquelles ils parachèvent leur croissance et forment des « pseudo-kystes ». Les muscles respiratoires, ceux de la face et de la langue sont parasités avec prédilection (Brumpt, 1949, Hyman, 1951).

Dans les conditions naturelles, tous les Mammifères peuvent être infestés, y compris les Mammifères marins. D'autres Vertébrés peuvent être parasités si on amène artificiellement leur température interne à 38° C.

Dans le cycle vital de *Trichinella spiralis*, on distingue quatre stades larvaires et un stade adulte. Tous les stades sont séparés par une mue comme il est normal chez les Nématodes.

Mais entre le dernier stade larvaire (IV) et le stade adulte, intestinal, il y a trois à quatre mues pour certains auteurs (Larsh, 1963). Berntzen (1965) a repris l'étude de ces différents stades aussi bien *in vivo* chez le Rat blanc que *in vitro*. Nous avons voulu observer le comportement des larves à ces différents stades, larves prélevées chez un premier hôte ((Rat blanc jeune) et injectées dans la cavité péritonéale d'un deuxième hôte sain (Souris blanche jeune).

CHRONOLOGIE D'UNE INFESTATION PAR *Trichinella spiralis*

STADES	DATE D'APPARITION	LOCALISATION AU DÉBUT	MUES
larve IV dékystée .....	12 heures	intestin moyen hôte II	1
adultes ♂ et jeunes ♀ .....	24 heures	<i>idem</i>	
adultes ♂ et mûrs ♀ .....	48 heures	<i>idem</i>	1
larve I .....	avant 5 <sup>e</sup> jour	œuf dans l'utérus de ♀ gravide fixée dans la muqueuse de l'intestin de l'hôte II	
larve II .....	après 5 <sup>e</sup> jour	utérus de ♀ gravide fixée dans la muqueuse intestinale de l'hôte II, puis cavité péritonéale et lymphatique.	1
larve III .....	11 <sup>e</sup> jour	fibre musculaire striée de l'hôte II	1
larve IV .....	15 <sup>e</sup> jour	fibre musculaire striée de l'hôte II	1

**Matériel**

1. — Rats blancs trichinés depuis au moins huit semaines (souches fournies par l'Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris et l'Institut de Parasitologie du C.H.U. de Lille).
2. — Rats blancs sains de 60 grammes.
3. — Souris blanches saines de 30 grammes.
4. — Solution de pepsine à 0,010 + HCl à 0,010.
5. — Solution de colimycine dans du sérum physiologique (1.000 unités/ml).

**Protocole**

1) Des Rats trichinés sont sacrifiés à l'éther, éviscérés et dépouillés. Leur chair est coupée en menus morceaux.

2) 50 grammes de chair sont mis à digérer dans un erlenmeyer contenant un litre de la solution de pepsine et placé au bain-marie à 37° C. Un agitateur magnétique permet l'homogénéisation du mélange.

Au bout de deux heures, la solution est tamisée. Après 30 minutes, le surnageant est éliminé jusqu'à 1 cm du fond. Le culot de décantation est remis en suspension

dans la solution de colimycine et le tout est centrifugé à 1.000 tours/minute, pendant trois minutes. Le surnageant est éliminé, le culot est remis en suspension et ainsi de suite dix fois. Puis, on remet une dernière fois en suspension dans 10 ml de sérum physiologique stérile. On fait la numération des larves contenues dans une goutte de suspension. Le résultat, multiplié par vingt donne le nombre approximatif de larves contenues dans 1 ml, soit la *solution A* (larves IV).

3) De jeunes Rats sains sont nourris de chair trichinée. A partir du lendemain et pendant quatorze jours, on les sacrifie à raison de deux par jour. Tout l'intestin est recueilli, du pylore au cœcum. Il est coupé en fragments d'environ trois centimètres qui sont ouverts sur toute leur longueur et mis à incuber pendant une heure dans du sérum physiologique renfermant de la colimycine et maintenu à 47° C au bain-marie. Les morceaux d'intestin et les gros débris alimentaires sont éliminés par tamisage. Les fins débris pierreux ou sclérifiés qui sédimentent les premiers au fond du verre à pied sont rejetés d'abord. On recueille ainsi une suspension riche en vers qui est dit plus haut. Il est possible aussi d'utiliser le procédé de Baermann pour obtenir les vers propres à partir des fragments d'intestin. Une numération est faite également. On obtient ainsi les *solutions B* (numérotées B1, B2, B3..., B14).

4) On injecte à des Souris saines 1 ml de sérum physiologique contenant 1.000 larves de la *solution A*. Les injections sont faites dans la cavité péritonéale au cours d'une seule séance. Les Souris ne sont pas anesthésiées. Pour éviter qu'elles lèchent la plaie d'injection, celle-ci et toute la surface de l'abdomen sont passées à l'alcool à 70°.

5) Chaque jour pendant quatorze jours, les solutions B1, B2..., B 14, sont injectées de la même façon à des lots de Souris saines. On injecte environ 200 vers par animal.

6) Les Souris ayant reçu des larves IV (solution A) sont sacrifiées à l'éther à raison de deux pour jour pendant deux semaines. Celles qui ont reçu les larves intestinales et les adultes sont sacrifiées à raison de deux par jour pendant une semaine, ensuite tous les deux jours pendant deux semaines.

Les autopsies se déroulent de la façon suivante :

a) lavage avec un jet doux de sérum physiologique de la cavité abdominale. Le liquide est recueilli et centrifugé à 1.000 tours/minute pendant deux minutes. Le culot est examiné au microscope ;

b) le diaphragme est prélevé, pressé entre deux lames et examiné au microscope :

c) le sang veineux est recueilli dans un tube à centrifuger contenant de l'eau physiologique et quelques gouttes d'une solution de Tween 80 à 1 %. Après hémolyse et centrifugation, le culot, rincé et centrifugé à nouveau est examiné au microscope ;

d) tout l'intestin est recueilli, tronçonné, ouvert et comprimé entre deux lames pour la recherche d'éventuels stades intestinaux provenant de larves qui auraient pu être ingérées par léchage ou inoculées par piqûre dans une anse intestinale. On sait, en effet, que deux larves de sexe différent suffisent à infester un Rat. Le fait d'asperger

l'abdomen des Souris avec de l'alcool s'est révélé utile, en aseptisant la plaie d'injection et en évitant de plus le léchage. Dans les expériences dont nous faisons état, toutes les larves et tous les adultes inoculés ont vécu ou ont évolué *exclusivement* dans la cavité péritonéale.

## Résultats

### I. — *Injection de larves IV pepsinisées.*

Dans aucun cas, et conformément aux résultats déjà obtenus par McCoy (1934-1935), nous n'avons observé de survie au-delà de deux jours. Le plus souvent, dès la 12<sup>e</sup> heure, les larves étaient entourées d'un important afflux de leucocytes et bientôt immobilisées et détruites.

Nous avons cependant observé une survie de quatre jours lorsque les larves étaient restées auparavant à incuber de deux à quatre jours, à la température du laboratoire, dans du sérum physiologique renfermant de la colimycine. Au bout de ce temps apparaît une gaine qui semble protéger quelque peu la larve.

### II. — *Injection de larves préalablement ingérées par un premier hôte et ayant séjourné entre 6 et 72 heures dans son intestin.*

Il n'y a pas de changement par rapport aux expériences précédentes. L'afflux des leucocytes est rapide et important et leur pouvoir destructeur est inchangé vis-à-vis de ces larves ou de ces jeunes adultes.

### III. — *Injection de vers adultes âgés de plus de 72 heures.*

C'est dans ces conditions que se manifestent les phénomènes les plus intéressants. D'abord en ce qui concerne la durée de la survie qui se situe entre trois et cinq jours. En second lieu, on constate, lors d'autopsies faites successivement sur des Souris ayant reçu des vers du même âge, une poursuite de la maturation des œufs dans l'utérus des femelles. Pour les stades les plus âgés (à partir de 96 heures), il y a, dans les 48 à 120 heures de survie qui suivent l'injection, émission dans la cavité péritonéale de jeunes larves II. Il peut y avoir deux modalités :

a) ponte normale des larves II ;

b) la lyse des femelles survenant, les larves I sont libérées et dès lors séjournent plusieurs jours dans le milieu péritonéal, entourées de très nombreux leucocytes qui, cependant qu'ils achèvent la destruction et l'élimination des débris des adultes, paraissent n'exercer sur les larves II aucune action. Puis les larves passent dans les muscles dans les délais habituels.

IV. — *Injection de larves II.*

Ces larves sont recueillies, après incubation dans du sérum physiologique additionné de colimycine à 37°C, de femelles gravides âgées de 8 à 15 jours (lots B<sub>8</sub> à B<sub>15</sub>). Les adultes sont éliminées, par sédimentation différentielle, et leur absence est facilement vérifiée à la loupe binoculaire. Ces larves injectées survivent librement plusieurs jours, puis passent dans la musculature striée où elles se transforment par la suite en larves III et IV.

Cette expérience rejoint la précédente, mais nous avons constaté dans ce cas un moindre afflux de leucocytes. Nous n'avons pas voulu citer d'expérience faite avec des larves III. En effet, ce stade s'étale sur une période qui chevauche les dates d'apparition des stades II et IV, dans les infections *per os* normales.

STADES	DATE D'APPARITION DANS LES MUSCLES	FRÉQUENCE MAXIMUM	FIN D'APPARITION
larves II . . . . .	7 <sup>e</sup> jour	17 <sup>e</sup> jour	26 <sup>e</sup> jour
larves III . . . . .	11 <sup>e</sup> jour	—	35 <sup>e</sup> jour
larves IV . . . . .	15 <sup>e</sup> jour	26 <sup>e</sup> jour	—

D'après BERTZEN.

### Discussion

Les tentatives antérieures pour obtenir un développement de larves IV de *Trichinella spiralis* dans la cavité péritonéale du Rat n'ont pas abouti (McCoy, 1934 et 1935). Cependant, cet auteur a réussi à obtenir des adultes lorsque les larves étaient injectées dans le sac amniotique d'embryons de Poulet et de Rat et dans l'utérus de Rattes gravides (1936).

Par ailleurs, les seules transplantations d'adultes de *Trichinella spiralis* réalisées à notre connaissance l'ont été dans l'intestin d'un Rat non infesté, par Katz (1960) et auparavant par Nolf (1937). Celui-ci avait obtenu, chez deux Rats, des larves enkystées. Seuls les vers ayant séjourné moins de 6 heures et plus de 48 dans l'intestin sont infestants (Katz).

Les expériences que nous avons effectuées ont confirmé les résultats de McCoy. Les larves IV ne peuvent survivre au-delà de 48 heures. Leur présence provoque un afflux massif de leucocytes (polynucléaires) qui les entourent et les phagocytent rapidement. Nous avons aussi constaté que les stades larvaires I et II sont les seuls à pouvoir survivre et évoluer dans la cavité péritonéale de la Souris. Cela pouvait être suspecté puisque dans la trichinose il y a *passage important des larves II dans la cavité péritonéale.*

Cependant, nous avons constaté un fait nouveau : *la survie pendant une durée appréciable, pouvant atteindre cinq jours des adultes âgés d'au moins trois jours et placés dans ces conditions inhabituelles.*

Cette survie a été appréciée sur la persistance de leur mobilité et surtout sur la maturation constatée *in utero* des œufs et des larves I. Ce développement peut se poursuivre jusqu'à la ponte ou la libération de larves II parfaitement viables et infestantes pour la Souris qui les héberge.

D'autre part, ces larves prélevées, lavées dans du sérum physiologique et injectées à d'autres Souris saines poursuivent leur évolution chez ces dernières et aboutissent à des larves IV dans les pseudo-kystes musculaires.

Les stades intestinaux jeunes (entre 6 et 72 heures), placés dans la cavité péritonéale, sont, eux aussi, détruits par les leucocytes. Il semble que seuls les adultes ayant achevé leur maturation génitale, en particulier les femelles renfermant des œufs avec des larves I ou des larves II *in utero*, puissent survivre plusieurs jours dans un milieu *a priori* non favorable. Nous pensons même que les femelles porteuses d'ovocytes et les mâles chez qui se poursuit normalement la spermatogénèse seraient plus antigéniques que les femelles porteuses d'œufs déjà embryonnés et de larves. De nouvelles expériences doivent permettre de vérifier cette hypothèse.

Mais il est aisé de constater, dans une trichinose habituelle aussi bien que dans une expérience de transplantation péritonéale, que, tant que les larves sont au stade II, c'est-à-dire indifférenciées, elles sont à l'abri des agressions leucocytaires, mais, avant que se différencient les ébauches génitales, elles doivent pénétrer par effraction dans les fibres musculaires où elles peuvent évoluer à l'intérieur d'une capsule fibreuse jusqu'aux stades III et IV.

Il existe sans doute d'autres explications de la modification de la structure antigénique des larves II — remaniements endodermiques, apparition d'une nouvelle cuticule, formation des substances sources d'antigènes variés et importants. Cependant, toutes ces modifications sont corrélatives du développement et des transformations de l'appareil génital. Quoi qu'il en soit, il faut constater des modifications importantes de la structure antigénique lorsqu'on compare les stades II et IV par exemple. Récemment, Denham (1966) a montré que l'immunité produite par la Souris infestée est différente selon qu'il s'agit des premiers jours de la trichinose ou d'un stade avancé avec présence de vers adultes dans l'intestin.

Nous croyons qu'il serait intéressant d'analyser ces phénomènes et de tenter de les préciser en fonction des différents stades larvaires et adultes de *Trichinella spiralis*.

### Conclusion

Il a été possible d'obtenir une survie, et dans certains cas le développement de *Trichinella spiralis* dans la cavité péritonéale de la Souris.

Les stades larvaires mûrs IV et III sont rapidement détruits et phagocytés par les leucocytes, de même que les stades adultes jeunes. Les stades adultes de plus de

72 heures survivent plusieurs jours et les femelles peuvent émettre ou libérer des embryons vivants qui évoluent par la suite comme dans une trichinose habituelle.

### Bibliographie

- BERNTZEN A. K., 1965. — Comparative growth and development of *Trichinella spiralis* *in vitro* and *in vivo*, with a redescription of the life cycle *Exp. Paras.*, XVI, 74-104.
- BRUMPT E., 1949. — *Précis de Parasitologie*, Tome II, 6<sup>e</sup> Edition, Masson et C<sup>ie</sup>, Paris.
- DENHAM D. A., 1966. — Immunity to *Trichinella spiralis*. I. The immunity produced by mice in the first four days of the intestinal phase of the infection. II. Immunity produced by the adult worm in mice. *Parasitology*, LVI, 323-7 et 745-51.
- HYMAN L. H., 1951. — *The Invertebrates*, III. *Acanthocephala*, Aschelminthes and *Entoprocta*. Mc Graw-Hill, Pub. New-York, London, Toronto.
- KATZ F. F., 1960. — The oral transplantation of intestinal stages of *Trichinella spiralis*. *Journ. Paras.*, XLVI, 500-4.
- LARSH J. E., 1963. — Experimental trichiniasis. *Advances in Parasitology*, I, 213-86, Academic Press, London.
- MC COY O. R., 1934. — Artificial immunization of rats against trichiniasis. *Journal Parasitology*, XX, 142-3.
- , 1934. — The development of adult trichinae in chick and rat embryos. *J. Paras.*, XX, 333.
- , 1935. — Artificial immunization of rats against *Trichinella spiralis*. *American Journal of Hygiene*, XXI, 200-13.
- , 1936. — The development of trichinae in abnormal environment. *J. Paras.*, XXII, 54-9.
- MILLS C. K. et KENT N. H., 1965. — Excretions and secretions of *Trichinella spiralis* and their role in immunity. *Exp. Paras.*, XVI, 300-10.
- NOLF L. O., 1937. — The transplantation of gravid *Trichinella spiralis*. *Journ. Paras.*, XXIII, 574.

(Institut de Parasitologie de la Faculté de Médecine de Paris et Laboratoire de Parasitologie du C.H.U. de Saint-Antoine, 27, rue de Chaligny, F. 75 - Paris-12<sup>e</sup>)

---