

## *Dipetalonema viteae* peut-elle être utilisée pour l'étude pharmacodynamique des filaricides ?

par R. CAVIER, N. LEGER, J.-M. HARICHAUX et M.-C. LONNE

*Faculté de Pharmacie, 4, avenue de l'Observatoire, F 75 - Paris-6<sup>e</sup>*

### Résumé

Nous avons voulu utiliser cette filaire de laboratoire pour l'étude de nouveaux composés filaricides.

L'acclimatation au Rat et à la Souris, d'usage plus classique en pharmacodynamie que le Mérion ou le Hamster, a été tentée. L'infestation par les larves obtenues après évolution chez *Ornithodoros tartakovski* a échoué. En revanche, les transplantations de filaires adultes permettent une survie prolongée du parasite et une évolution normale des microfilaires.

Les essais « in vitro » ont donné quelques résultats intéressants, surtout avec les filaires adultes.

Par contre, les essais « in vivo » de médicaments dont l'action filaricide chez l'Homme est bien établie ont été décevants.

Il semble donc bien que cette Filaire ne soit pas un bon matériel pour l'étude pharmacodynamique des filaricides.

### Summary

We tried to use this laboratory filaria for studying new antifilarial drugs.

We tried to infect Rat and Mouse more classical in pharmacology than Jird or Golden Hamster.

Infestation with larvae obtained from *Ornithodoros tartakovski* felt. But transplanted adult filariae can live a long time and give viable microfilariae.

The « in vitro » tests gave some interesting results, specially with adult worms.

But the « in vivo » tests with drugs which are effective against filariae in Man are disappointing.

It seems that this Filaria is not a good material for chemiotherapeutic studies of antifilarial drugs.

Le pharmacodynamiste désirent effectuer l'étude des antifilariens sur l'animal se heurte à deux problèmes :

- trouver une Filaire présentant la même sensibilité que les Filaires de l'Homme aux drogues déjà connues ;
- trouver un hôte facile à se procurer et bon marché, de façon à pouvoir travailler sur un nombre suffisant d'animaux parasités.

Les essais *in vitro*, de réalisation souvent commode, ne peuvent être utilisés que pour un tri préliminaire ; les substances retenues doivent toujours être, dans un second temps, essayées *in vivo*.

Diverses Filaires ont été proposées avec plus ou moins de succès. Parmi celles-ci : *Dirofilaria immitis* du Chien, et surtout *Litomosoides carinii* du Rat du coton, ont été les plus utilisées [2].

C'est cette dernière espèce qui semble avoir donné les résultats les plus intéressants, bien que pas toujours superposables à ceux observés dans les traitements chez l'Homme. D'autre part, l'hôte, le Rat du coton : *Sigmodon hispidus*, est difficile à obtenir en grande quantité ; l'élevage et l'infestation de l'hôte intermédiaire : *Liponyssus bacoti* sont relativement malaisés.

C'est pourquoi nous avons voulu voir s'il ne serait pas possible d'utiliser *Dipetalonema viteae*, Filaire du Mérion, adaptée au Hamster. Dans ce cas, l'entretien du cycle ne pose aucun problème si ce n'est sa longueur : trois semaines chez l'hôte vecteur : *Ornithodoros tartakovski*, et trois mois chez le Hamster [1, 5, 6].

Schneider [3] rapporte des résultats intéressants chez l'hôte naturel, le Mérion : sensibilité des filaires adultes au TWSb (dimercaptosuccinate d'antimoine), à la dose de 25 mg/kg pendant 6 jours, ce qui est en accord avec l'action sur *Onchocerca volvulus*. Mais les microfilaries se montrèrent insensibles à la Diéthylcarbazine, et les filaires adultes au Moranyl\*.

Plus récemment (1966), Thompson et Dickerson [4] décrivent un programme d'essais des filaricides utilisant, à côté de *Litomosoides carinii*, *Dipetalonema viteae* chez le Mérion et le Hamster. Mais ils ne donnent aucun renseignement sur l'action des drogues essayées.

Nos travaux ont porté sur les deux points que nous évoquions au début de cet exposé :

- essais de passage de la Filaire sur Rat et sur Souris, Rongeurs se prêtant particulièrement bien aux tests pharmacodynamiques ;
- étude de la sensibilité du parasite, *in vitro* et *in vivo* envers quelques antifilariens d'activité connue.

## I. — Essais de passage sur Rat et sur Souris.

### A. — A PARTIR DE LARVES INFESTANTES.

Wattiaux a échoué dans ses essais d'infestation de souris et de rats à partir de larves infestantes recueillies chez l'Ornithodore. Pour notre part, nous avons tenté de la même façon l'infestation de 3 lots de souris blanches :

- un lot non traité ;
- deux lots chez lesquels nous avons tenté de bloquer les phénomènes d'immunité naturelle : par des injections répétées d'albumine d'œuf d'une part ; par l'Imuran administré à raison de 3 mg/kg par jour, par voie buccale ou par voie intrapéritonéale, d'autre part.

Ces essais d'infestation ont tous échoué.

#### B. — PAR TRANSPLANTATION DE FILAIRES ADULTES.

Ces transplantations ont été effectuées sur Souris et sur Rat.

##### a) sur *Souris*.

Ici aussi les souris ont été réparties en 3 lots :

- un lot non traité ;
- un lot traité par injections d'albumine ;
- un lot traité par l'Imuran.

Dans les 3 cas, nous avons constaté :

- l'apparition rapide de microfilaires dans le sang ;
- à l'autopsie pratiquée 15 jours à 3 semaines après la transplantation : la présence de filaires adultes vivantes, à côté d'un certain nombre d'individus calcifiés.

Des ornithodores ont été nourris sur une souris présentant des microfilaires sanguines. Celles-ci se sont développées normalement, et se sont montrées infestantes pour la Souris.

##### b) sur *Rat*.

La transplantation de filaires adultes a été pratiquée, d'une part sur des rats n'ayant subi aucune préparation, d'autre part, sur des rats splénectomisés.

Tous les animaux ont présenté des microfilaires sanguines et, à l'autopsie, une dizaine de jours plus tard, des filaires adultes vivantes.

## II. — Essais de diverses drogues *in vitro*.

Ces essais ont porté sur des filaires adultes et sur les microfilaires.

#### A. — ESSAIS SUR LES FILAIRES ADULTES.

Après avoir essayé différents milieux de survie, nous avons retenu celui de Parker (milieu 199 pour culture de tissus).

La température de 37°C a été choisie.

Dans ces conditions, les filaires survivent en moyenne 8 à 14 jours, ce qui est largement suffisant, les essais se faisant en 24 et 48 heures. Les drogues à essayer sont dissoutes ou mises en suspension dans le milieu de survie, et introduites à diverses concentrations dans des tubes contenant 5 ml de milieu et deux filaires.

La lecture est faite au bout de 24 heures, et complétée par une seconde lecture 24 heures plus tard. Le critère d'activité est la mort (immobilité persistante) des filaires.

Dans ces conditions :

- se sont montrés inactifs : Moranyl, Thiabendazole, Ambilhar, Humatine ;
- actifs à la concentration de 1/1.000 : Notézine, thymotate et gallate de pipérazine ;
- actifs à des concentrations allant de 1/10.000 à 1/100.000 : Fouadine, TWSb6, Anthiomaline, Mélarsonyl (Mel W).

Avec la pipérazine, on observe :

- une forte excitation durant quelques secondes ;
- puis une paralysie encore nette une heure plus tard, avec récupération de la mobilité en 1 h 30 à 2 heures.

Si on fait alors agir sur une filaire ayant récupéré, et ceci même au bout de 24 heures, un bain frais de pipérazine, on n'observe aucune action, comme s'il se produisait une accoutumance.

En conclusion : la sensibilité *in vitro* de *Dipetalonema viteae* aux filaricides semble assez satisfaisante, étant bien entendu que de telles méthodes ne peuvent être utilisées que pour un tri préliminaire, et ne doivent en aucun cas remplacer l'essai *in vivo*.

#### B. — ESSAIS SUR LES MICROFILAIRES.

Nous les avons effectués sur milieu de Parker, à raison de 5 ml de milieu pour une goutte de sang provenant d'un Hamster hyperparasité, et à la température du laboratoire. En effet, à 37°C, la pullulation microbienne est intense, et elle entraîne la mort rapide des microfilaries.

La durée des essais est de 24 heures ; la survie des témoins est d'au moins 5 jours.

Le Mel W, l'Ambilhar, le Thiabendazole se sont révélés sans action. La Notézine est active à la concentration de 1/1.000, concentration déjà élevée.

Les essais des microfilaricides *in vitro* ne nous semblent donc pas devoir être retenus, compte tenu de la grande sensibilité *in vivo* des microfilaries de l'Homme à la Notézine.

### III. — Essais de diverses drogues *in vivo*.

Ces essais ont été menés sur des hamsters fortement infestés. Le taux de la microfilarémie a été vérifié avant l'injection du médicament par voie intrapéritonéale ou intramusculaire.

Des doses croissantes ont été administrées jusqu'à concurrence de 100 mg/kg pendant 6 jours pour le Mel W et le TWSb6, et 40 mg/kg pendant 6 jours pour l'Anthiomaline.

Nous n'avons observé aucune variation significative du taux de la microfilarémie vérifiée au bout de 6, 10 et 15 jours après le début du traitement.

Les animaux traités ont été disséqués au bout de 3 semaines : nous avons toujours trouvé de nombreuses filaires vivantes. Nous avons constaté, tout au plus, une augmentation de la proportion des filaires calcifiées par rapport à ce qu'on trouve généralement chez les hamsters non traités.

Nous nous sommes alors posé deux questions :

- s'agissait-il d'une inactivation des drogues chez le Hamster ? ;
- les microfilières étaient-elles touchées en dépit de leur morphologie et de leur mobilité inchangées ?

Deux hamsters parasités par *Trypanosoma brucei* et présentant une forte parasitémie ont été traités par le Mel W, à raison de 10 mg/kg en une fois. La déparasitation a été totale en 24 heures, les témoins restant parasités au moins 4 jours.

Par conséquent, le Mel W n'est pas inactivé dans l'organisme du Hamster.

D'autre part, nous avons nourri des ornithodores sur des hamsters traités au Mel W : les microfilières ont évolué normalement, donnant des larves infestantes en 3 semaines.

Enfin, nous avons effectué des essais chez l'hôte naturel : *Meriones libycus*, ainsi que chez une autre espèce : *Meriones unguiculatus*. Le Mel W et le TWSb6 ont été administrés aux doses de 25 mg/kg, et 100 mg/kg pendant 6 jours.

A l'autopsie, tous les animaux traités étaient parasités, et nous n'avons observé aucune différence avec les témoins. Ces résultats sont en contradiction avec ceux obtenus par Schneider, en 1956 [3].

**En conclusion**, dans les essais *in vivo*, *Dipetalonema viteae* s'est montrée nettement résistante à des médicaments dont l'action sur des filaires d'origine humaine, et en particulier sur *Onchocerca volvulus*, est incontestable.

Ceci réduit singulièrement l'intérêt de ce parasite en tant que matériel d'étude des antifilariens.

### Bibliographie

- [1] BALTAZARD (H.), CHABAUD (A.-G.), MOFIDI (Ch.) et MINOU (A.), 1953. — Une nouvelle filaire de laboratoire. *Ann. de Parasitol.*, 28, 387-391.
- [2] HAWKING (F.), 1963. — Chemotherapy of filariasis in: *Experimental Chemotherapy*, 1963, Academic Press, New York, London, vol. 1, 893-912.
- [3] SCHNEIDER (J.) et HUSSON (R.-A.), 1956. — Chimiothérapie des filarioses expérimentales. Résultats de recherche sur *D. blanci* et sur une filariose spontanée de Cynocéphales d'Afrique équatoriale. Action du TWb. *Bull. Soc. Path. exot.*, 49, 296-300.
- [4] THOMPSON (P. E.) et DICKERSON (C. W.), 1967. — Desenvolvimento de um programa de teste de drogas em filariose. *Rev. brasil. Malariol. Doencas trop.*, 19, 63-72.
- [5] WATTIAUX (M.), 1964. — Contribution à l'étude de la filariose expérimentale du Mériion et du Hamster par *Dipetalonema witei*. Thèse de Doctorat d'Université en Pharmacie, Lille.
- [6] WORMS (M. J.), TERRY (R. J.) et TERRY (A.), 1961. — *Dipetalonema witei*, filarial parasite of the jird, *Meriones libycus*. I. Maintenance in the laboratory. *J. of Parasitol.*, 47, 963-970.