Trichinose expérimentale

(4^e note)

Étude de l'action du cyclophosphamide sur la transplantation de *Trichinella spiralis* adultes âgées de 18 jours

par J.-L. POIROT, F. LANCASTRE, Geneviève MOUGEOT
et Danny DEPERNET

Faculté de Médecine Paris-Saint-Antoine,
Laboratoire de Pathologie et Epidémiologie parasitaires (Directeur : P^r Y.-J. GOLVAN)
27, rue de Chaligny, F 75571 Paris Cedex 12

Résumé.

Nous avons étudié la survie et la transplantation de trichines adultes issues de souris traitées ou non par le cyclophosphamide :

1) Les souris traitées hébergent au 18^e jour 4 à 5 fois plus de vers que les témoins et la *sex ratio* de ces trichines adultes est proche de l'unité, ce qui n'est pas le cas dans une infestation normale.

2) Les vers provenant de souris traitées continuent à pondre des larves. Cette émission semble encore plus importante lorsque ces vers sont transplantés chez des souris également traitées.

Summary.

Experimental trichinosis (IV), study of the action of cyclophosphamide on the transplantation of 18 days old adults of *T. spiralis*.

The survival and the transplantation of adult trichinae collected in cyclophosphamide treated and untreated mice were studied.

1) The worms'burden harbored by treated mice on the 18th day after the infestation is from 4 to 5 times higher than in untreated ones. The *sex ratio* is here around one instead of 1/2 in the control lot of mice.

2) The female worms parasitic in treated mice continue to lay larvae. When these adult are transplanted in the gut of treated mice they seem give a greater number of larvae than if they are put in the gut of normal mice.

En 1971 (Lancastre, Mougeot, Bazin et Depernet), nous avons constaté chez des souris infestées par *Trichinella spiralis* et traitées par des injections de cyclophosphamide (Endoxan*) une nette prolongation de la survie des vers adultes, évidente dès le 21^e jour et se prolongeant jusqu'au 45^e jour (13,2 % de trichines vivantes), alors qu'à cette date, les souris normales étaient complètement débarrassées de leurs parasites.

Nous avons également constaté qu'il existait au 21^e jour, chez les animaux non traités, une inversion du rapport vers femelles/vers mâles. Cette inversion de la *sex ratio* étant plus tardive — 28^e jour — chez les animaux traités par le cyclophosphamide, il était permis de conclure que l'immunotolérance induite par cette drogue prolongeait l'infestation intestinale en supprimant ou en diminuant la réponse inflammatoire de l'infestation de l'hôte à l'installation du nématode (Cf. Larsh, 1963 et 1968).

En 1973, (Mougeot et Lancastre), par la technique des transplantations de trichines adultes âgées de 10 jours dans l'intestin grêle de souris saines, nous avons observé la survie des vers jusqu'au 33^e jour après l'opération, et la présence de larves musculaires dans les carcasses. Mais les vers femelles âgés de 18 jours étaient rapidement éliminés et se révélaient d'autre part incapables d'émettre des larves, sans doute par suite de l'effet de la réaction immunitaire du premier animal-hôte.

Dans l'espoir de préciser les effets de ce phénomène de rejet sur les trichines adultes, nous nous sommes proposés, dans le présent travail, d'étudier les effets du cyclophosphamide sur des transplantations de *T. spiralis* adultes, âgées de 18 jours.

Protocole expérimental

I. — Nous avons utilisé des souris blanches femelles, adultes (25-30 g).

Le protocole de traitement par le cyclophosphamide est le suivant : 5 injections de 1 mg la semaine précédant l'infestation, même posologie la semaine suivante et ensuite deux injections hebdomadaires.

Un lot de 33 souris saines témoins et un lot de 33 souris traitées sont infestés *per os* par 200 ± 50 larves de *T. spiralis*. Celles-ci proviennent de la digestion artificielle de muscles de rats trichinés dans une solution isotonique de chlorure de sodium à 37 °C, additionnée de pepsine à 0,5 % et d'acide chlorhydrique à 1 %. Après lavage des larves, on les dilue de telle façon que la quantité voulue de trichines soit contenue dans un volume de 0,1 ml. Ce liquide est ensuite administré aux souris à l'aide d'une canule de gavage rigide.

II. — Les trichines adultes sont récupérées 18 jours après l'infestation. L'intestin grêle de chaque souris est ouvert sur toute sa longueur et râclé à l'aide d'une lame de verre. Les vers sont recueillis par la méthode d'extraction de Bäermann en sérum physiologique à 37 °C. Ils sont alors dénombrés, groupés par lots de 20 femelles et 25 mâles transplantés, soit chez des souris saines, soit chez des souris traitées. Les quatre lots obtenus sont schématisés dans le *tableau I*.

TABLEAU I. — Protocole des transplantations de *T. spiralis* de 18 jours

Souris réceptrices	Souris donneuses	Traitées (1)	Non traitées
Traitées		Groupe I	Groupe III
Non traitées		Groupe II	Groupe IV

(1) Par injection quotidienne de 1 mg de cyclophosphamide pendant 5 jours avant et 5 jours après la transplantation, puis par 2 injections hebdomadaires.

III. — La technique de transplantation est la suivante : les souris réceptrices sont anesthésiées au chloral à 8 pour 1 000. L'intervention se fait le plus stérilement possible : incision médiane, ouverture des plans cutané et musculaire, mise en évidence des anses intestinales, injection du lot de trichines à l'aide d'une seringue type « intra-dermo » dans l'intestin grêle, remise en place et fermeture des deux plans.

La prévention des accidents septiques est assurée par l'introduction de quelques gouttes d'une solution de pénicilline-streptomycine dans la cavité péritonéale et le lavage de la suture par la même solution d'antibiotiques.

IV. — Des souris réceptrices sont sacrifiées aux 7°, 17° et 40° jours. On recherche les adultes par la méthode d'extraction de Bäermann, les larves enkystées dans le diaphragme par observation directe au microscope, et dans les autres muscles par digestion pepsique.

Résultats

1. Chez les souris infestées *per os* et sacrifiées au 18° jour.

Les trichines adultes ont été comptées et séparées en mâles et femelles. Nous avons calculé le pourcentage de vers recueillis par rapport à l'infestation et la *sex ratio* dans les deux groupes. Les résultats sont résumés dans le *tableau II*.

TABLEAU II. — Dénombrement des trichines âgées de 18 jours récupérées dans l'intestin grêle des souris traitées et normales

	Souris non traitées 33 examinées *	Souris traitées 33 examinées
Nombre de larves administrées	4950 à 8250	4950 à 8250
Nombre de vers recueillis	540 ♂ + 243 ♀	1836 ♂ + 1708 ♀
Nombre moyen de vers recueillis (% extrêmes)	23,73 (9,49 à 15,82 %)	107,39 (42,96 à 71,59 %)
Nombre moyen de vers mâles par souris	16,36	55,63
Nombre moyen de vers femelles par souris	7,36	51,76
rapport $\frac{\text{vers femelles}}{\text{vers mâles}}$	0,45	0,93

* Six de ces souris non traitées (18,18 %) n'hébergeaient pas de trichines dans leur intestin grêle.

2. Chez les souris ayant reçu des trichines adultes transplantées.

La mortalité est très importante au cours de la semaine suivant l'intervention. Ceci peut être dû à plusieurs raisons : choc opératoire, plus grande sensibilité aux diverses agressions (notamment infectieuses) des souris immunodéprimées.

a) Une semaine après la transplantation, 2 souris appartenant aux groupes I et II ont été sacrifiées et des trichines femelles apparemment en bon état récupérées, mais nous n'avons pas retrouvé de larves musculaires enkystées, la transplantation étant trop récente. Le seul fait constaté est donc qu'une partie au moins des trichines transplantées sont encore en place et vivantes après une semaine.

b) Au 17^e jour de l'intervention, 5 souris ont été sacrifiées. Le *tableau III* traduit les observations faites.

c) Les souris restantes ont été examinées au 40^e jour (*tableau IV*).

TABLEAU III. — Résultats de la transplantation au 17^e jour.

Groupes	Souris	Vers adultes	Larves musculaires	
			Diaphr.	après digestion
I	1	—	+	52
	2	—	—	0
II	3	—	+	6
	4	—	—	0
IV	5	—	—	1

TABLEAU IV. — Résultats de la transplantation au 40^e jour

Groupes	Souris	Vers adultes	Larves musculaires	
			Diaphr.	après digestion
I	6	—	+	248
	7	—	—	16
	8	—	—	1
II	9	—	—	0
	10	—	—	0
	11	—	—	0
III	12	—	—	0

Discussion

I. — La première partie du travail concernant les trichines adultes récupérées chez les souris traitées ou non par le cyclophosphamide met en évidence deux faits :

1° Le nombre moyen de vers recueillis par Souris traitée est beaucoup plus important que chez les témoins : 107,30 contre 23,73, soit un rapport de 4,5 à 1. On retrouve donc le même rapport favorable aux animaux traités que dans notre travail de 1971, ainsi que dans ceux de Kozar (1973) et Karmanska et Michalska (1975).

2° La *sex ratio* est proche de l'unité dans le groupe de souris traitées (0,93), tandis qu'elle n'est que de 0,45 dans le groupe-témoin. Là encore, on trouve entre les deux *sex ratio* le même rapport de 2 à 1 que dans notre publication déjà citée, le rapport vers femelles/vers mâles chez les souris préalablement soumises à des injections de cyclophosphamide était de 1,74 au 21^e jour, contre 0,85 chez les témoins.

II. — Quant aux résultats des transplantations, bien que 2 souris seulement sur un total de 14 survivantes appartiennent aux groupes III et IV, nous pouvons signaler que les résultats obtenus dans ces groupes confirment les observations du travail de 1973 dans lequel nous constatons que les vers femelles âgés de 18 jours étaient rapidement éliminés et se révélaient incapables d'émettre des larves.

1) Dans le groupe I, nous avons pu examiner 6 souris ; l'une au bout d'une semaine, avec la preuve que les trichines transplantées étaient restées en place en bon état apparent ; deux au 17^e jour, dont l'une hébergeait des larves musculaires et trois autres au 40^e jour, toutes porteuses de larves enkystées.

2) Dans le groupe II, si nous avons également eu la preuve de la survie des vers adultes transplantés, après une semaine, nous n'avons observé que quelques larves musculaires, chez une seule des 5 souris sacrifiées par la suite.

Au vu des résultats obtenus dans ces deux groupes, il nous est donc possible de confirmer que les trichines femelles adultes, âgées de 18 jours, ne peuvent émettre de larves si elles proviennent de souris normalement infestées. Mais si elles sont récupérées chez des souris traitées par un immunosuppresseur, tel le cyclophosphamide, elles sont encore capables de pondre leurs larves à cette date. Ce fait, constaté pour la première fois à notre connaissance, pourrait expliquer la plus grande abondance de larves musculaires observées chez des animaux traités, par nous-mêmes en 1971 ainsi que par d'autres auteurs déjà cités.

D'autre part, il semble exister une émission de larves plus abondante et plus constante lorsque les trichines non seulement proviennent de souris traitées par l'immunosuppresseur, mais sont transplantées chez des souris également traitées. Cette cons-

tatation illustre bien selon nous le rôle important, favorable ou non, au parasite, qui peut être joué par l'hôte lui-même.

Bibliographie

- KARMANSKA (K.) et MICHALSKA (Z.), 1975. — Influence of immunosuppressors on mast cells in experimental trichinellosis of mice. *Wiadomosci Parasitol.*, 21, 649-662.
- KOZAR (M.), 1973. — Investigations on the introduction and inhibition of immunity mice infected with *Trichinella spiralis*. *Acta Parasitol. Pol.*, 21, 115-171.
- LANCASTRE (F.), MOUGEOT (G.), BAZIN (J.-C.) et DEPERNET (D.), 1971. — Trichinose expérimentale (2^e note) : longévité et distribution des trichines adultes chez les souris normales et immunotolérantes. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 46, 709-718.
- LARSH (J.E.), 1963. — Experimental trichiniasis. *Adv. Parasitol.*, 1, 213-286.
- LARSH (J.E.), 1968. — Experimental trichiniasis. *Adv. Parasitol.*, 6, 361-372.
- MOUGEOT (G.) et LANCASTRE (F.), 1973. — Trichinose expérimentale (3^e note) : transplantations intestinales de *Trichinella spiralis* adultes. *Ann. Parasitol. hum. comp.*, 48, 55-59.
-