

**INHIBITION DE *PLASMODIUM BERGHEI*
CHEZ DES RATS INFESTÉS PAR *STRONGYLOIDES RATTI*
OU PAR *TRICHINELLA SPIRALIS*;
Rôle de l'hypercorticotéronémie réactionnelle
à l'évolution des Helminthes**

J. BAILENGER, F. LUCCHESI, A. PEYCHAUD, G. HAUMONT et A. CABANNES

RÉSUMÉ. L'hypercorticotéronémie provoquée chez le Rat par l'évolution de *Strongyloides ratti* ou de *Trichinella spiralis* atteint une intensité suffisante pour déterminer une réticulocytopenie. Celle-ci est chronologiquement liée à l'inhibition de la parasitémie à *Plasmodium berghei* qui se produit lorsque cet hématozoaire évolue en même temps que les Nématodes et semble en être la cause. Cette hypothèse se vérifie en substituant aux helminthes l'action corticotrope et réticulocytopeniante de l'A.C.T.H.

Inhibition of *Plasmodium berghei* in rats infested with *Strongyloides ratti* or *Trichinella spiralis* ; the role of corticosterone in reaction to the development of helminths.

SUMMARY. The plasma corticosterone induced in the rat by the development of *Strongyloides ratti* or *Trichinella spiralis* reaches a sufficient level of intensity to determine reticulocytopenia. The latter is linked chronologically to the inhibition of parasitemia in *Plasmodium berghei*, which occurs when this protozoa develops at the same time as the Nematodes, and seems to be the causal factor. This hypothesis may be verified by replacing the helminths with the corticotropic action of A.C.T.H. which causes a decrease in the number of reticulocytes.

Introduction

L'évolution de *Plasmodium berghei* (*P.b.*) peut être inhibée, dans certaines conditions, chez des rats également infestés par *Strongyloides ratti* (*S.r.*) (Bailenger et Guy, 1982 ; Bailenger *et al.*, 1983), ou chez des souris contaminées par *Trichinella spiralis* (*T.s.*) (Ngwenya, 1982). Les auteurs expliquent ce phénomène par le tropisme de *P.b.* pour les réticulocytes et par la notion d'une réticulocytopenie. Celle-ci a été

Laboratoire d'Organisation animale, Parasitologie et Mycologie humaines, Université Bordeaux II, Place de la Victoire, F 33076 Bordeaux Cedex.

Accepté le 24 octobre 1984.

mise en évidence par Ngwenya (*loc. cit.*) pour la trichinose de la Souris. Il nous appartient d'en apporter la preuve pour la strongyloïdose et la trichinose du Rat puis d'en établir la cause dans les deux cas.

En raison des relations existant entre la réticulocytopenie et une hypersécrétion des gluco-corticoïdes d'une part, ayant établi la notion d'une hypercorticostéronémie dans la strongyloïdose (Bailenger et Carcenac, 1974) et la trichinose (Bailenger *et al.*, 1985) d'autre part, il nous reste à démontrer que la réaction corticosurrénale à ces agressions helminthiques est suffisante pour déclencher une réticulocytopenie capable d'inhiber l'évolution de *P.b.* Nous aurons alors apporté la preuve que l'inhibition du paludisme tire son origine dans la réaction du cortex surrénal au parasitisme par les Nématodes et nous pourrions apporter un argument supplémentaire en substituant, à l'atteinte parasitaire, un traitement par l'A.C.T.H.

Matériel et méthodes

— *Animaux* : Rats blancs mâles de souche wistar, de 110 ± 10 g, répartis en cages individuelles et soumis aux mêmes conditions d'élevage et de manipulation pour que tous aient à réagir aux mêmes agressions.

— *L'infestation par T.s.* a été précédemment décrite (Bailenger *et al.*, 1985) de même que *l'infestation par S. r.* et par *P.b.*, *l'évaluation des parasitismes* correspondants et le *dosage de la corticostéronémie* (Bailenger et Guy, 1982).

— *Numération des réticulocytes* : sur un frottis sanguin récemment étalé et sec, on applique une lamelle 20×20 à la face inférieure de laquelle est appendue une goutte d'une solution à 1 % de bleu de crésyl dans un soluté à 8 ‰ de chlorure de sodium. Le pourcentage est établi en utilisant un microscope à tête de projection.

— *Analyses statistiques* : les comparaisons entre les moyennes sont effectuées, après analyse de variance, par le test de Fisher-Student.

N.B. : les temps sont établis en faisant débiter les expériences au jour 0.

Résultats

1 — *Strongyloïdes ratti*, hypercorticostéronémie et réticulocytopenie (tableau I).

L'hypercorticostéronémie déclenchée par *S.r.* est de $15,7 \mu\text{g}$, après 48 heures d'évolution. Nous avons précédemment montré (Bailenger et Carcenac, 1974) qu'il s'agit d'une réaction brève, limitée à 48 h et 72 h après l'infestation, et dont le maximum est atteint à 48 h. Cette réaction est suivie d'une réticulocytopenie très prononcée pendant une période allant du 4^e au 16^e jour du parasitisme ; elle est surtout marquée du 4^e au 8^e jour et peut alors s'abaisser à 2 ou 3 % alors que le pourcentage normal s'établit aux environs de 9,5.

TABLEAU I. — *Strongyloïdes ratti* et réticulocytes.

Temps (jours)	Expérience 1		Expérience 2*	
	Parasitisme × 10 ³	Réticulocytes %	Parasitisme × 10 ³	Réticulocytes %
2	—	—	—	9,2
3	—	8,8	—	8,8
4	—	1,8	—	—
5	35	2,2	65	3
6	74	2,3	130	3,3
7	63	6,2	149	4,7
8	—	—	126	5,6
9	—	—	93	6,2
10	24	7,1	—	—
11	20	7,1	—	—
12	12	7,3	50	7,5
13	5	7,8	—	—
14	—	—	32	8,2
16	—	—	12	8,3
19	—	—	1	8,9

* Corticostéronémie 48 h après infestation : 15,7 µg (témoins 1,1 µg).

— Moyenne des réticulocytes pour les rats non infestés — expérience 1 : 9,5 ; expérience 2 : 9,6.

— Nombre de rats : 10 par lot.

— Les valeurs en italique correspondent aux moyennes pour lesquelles les différences par rapport aux moyennes des témoins sont significatives au seuil de signification de 0,001.

2 — *Trichinella spiralis*, hypercorticostéronémie et réticulocytopenie (tableau II)

La réticulocytopenie comporte deux périodes : une phase primaire, du 6^e au 14^e jour environ, qui correspond à l'hypercorticostéronémie primaire, en commençant avec un retard de 4 jours et qui atteint sa valeur minimale du 7^e au 10^e jour ; une phase secondaire, à partir du 22^e jour, qui est en rapport avec l'hypercorticostéronémie secondaire et la période de mortalité. Ces deux phases sont séparées, du 15^e au 21^e jour, par un retour à la normale.

La relation chronologique entre l'hypercorticostéronémie et la réticulocytopenie est évidente mais il n'y a pas de rapport entre les intensités des deux réactions.

3 — *Trichinella spiralis* et *Plasmodium berghei*

Pour établir la relation Nématode - hypercorticostéronémie - réticulocytopenie - inhibition du paludisme, nous nous limiterons à l'association *T.s.-P.b.* car nous avons précédemment démontré l'influence inhibitrice de *S.r.* sur *P.b.* (Bailenger *et al.*, 1983) ; ce mémoire nous en explique le mécanisme.

D'après les variations de la corticostéronémie et de la réticulocytopenie dans la trichinose du Rat, telles que nous les avons établies (*tableau II*), et en tenant compte du développement de notre souche de *Plasmodium berghei berghei*, on peut estimer que l'inhibition optimale du paludisme devrait être atteinte en inoculant les hématozoaires 2 à 4 jours après le Nématode puisque la réticulocytopenie primaire, que celui-ci provoque, se place dans une période de 5 à 13 jours, environ, après sa pénétration dans l'organisme.

Nous réalisons une expérience préliminaire (*tableau III*) caractérisée par un retard de 4 jours du paludisme par rapport à la trichine. Les résultats confirment notre point de vue avec une différence significative dès la manifestation de la parasitémie, au 4^e jour, et jusqu'au 9^e jour inclus.

TABLEAU III. — Évolution de *P.b.* chez des rats trichinés.

Temps (jours)	Parasitémie		Signification (test de Fisher-Student)
	TP	P	
4	5,1	6,6	+
5	5,1	7	++
7	8,8	13,6	+++
8	8,6	14,1	+++
9	10,4	14,5	+++
10	12,7	13,1	N.S.
11	14,2	17,7	N.S.
14	17,5	20,2	N.S.
15	18,3	8,8	N.S.
16	16	2,5	N.S.
17	6	0,2	N.S.
18	0,3	0	N.S.

P.b. est inoculé à des rats trichinés, 4 jours plus tôt, par 2 100 larves.

Chaque lot est composé de 10 rats : TP (Trichine — *Plasmodium*) ; P. (*Plasmodium*).

Test de signification — N.S. : non significatif ; + : $0,05 > p > 0,02$;

++ : $0,02 > p > 0,01$; +++ : $0,001 > p$.

Dans une nouvelle expérience (*tableau IV*), où l'infestation par *T.s.* précède de 3 jours l'inoculation de *P.b.*, nous complétons l'étude de la relation entre les deux parasites en suivant parallèlement les variations de la corticostéronémie et des pourcentages des réticulocytes. La parasitémie est significativement abaissée chez les rats trichinés, dès sa manifestation, c'est-à-dire au 4^e jour de l'évolution des *Plasmodium* ; cette inhibition persiste jusqu'au 8^e jour ; cette période se situe pendant la phase de réticulocytopenie due à *T.s.* Les pourcentages de réticulocytes sont établis chez les rats trichinés non impaludés en raison des difficultés à les établir lors d'une parasitémie qui affecte préférentiellement cette catégorie de cellules et des risques d'erreurs qui en découlent. Cette numération a seulement pour but de s'assurer que la trichinose a effectivement déterminé une réticulocytopenie au début du paludisme sans préjuger de son devenir sous l'influence de l'hématozoaire.

TABLEAU IV. — Évolution de *Plasmodium berghei* chez des rats trichinés.

Temps (jours)	Corticostérone ($\mu\text{g}/100\text{ ml}$)		Réticulocytes % T	Parasitémie %	
	T	O		T.P.	P.
3	5	1,8	9,9	—	—
4	—	—	9,7	—	—
6	12,1	0,9	5,6	—	—
7	—	—	3,8	2,3	4,7
8	—	—	3,2	1,8	7,0
9	4,5	1,5	3,5	2,6	9,7
10	—	—	4,1	2,4	7,1
11	—	—	6,2	2,3	6,1
13	—	—	—	6,7	10,8
14	—	—	—	6,9	11,3
15	—	—	—	6,5	7,9
16	—	—	—	7,8	3,6
17	—	—	—	4,1	2,5
18	—	—	—	3,2	1,5

P.b. est inoculé à des rats trichinés 3 jours plus tôt par 2 500 larves.

Nombre de rats — Réticulocytes : trichinés, 10 ; non parasités, 10 (réticulocytémie moyenne, 10,2) — Parasitémie : TP (*Trichine - Plasmodium*) 17 ; P (*Plasmodium*) 12.

Les valeurs significatives sont en italique pour $p < 0,001$ et en caractères gras pour $0,01 > p > 0,001$.

TABLEAU V. — Tetracosactide — Zinc (0,3 mg/kg) réticulocytopenie et paludisme.

Temps (jours)	Expérience 1		Expérience 2		
	Parasitémie (%)		Réticulocytes %	Parasitémie (%)	
	traités	témoins		traités	témoins
2	—	—	9,0	—	—
3	—	—	8,9	—	—
4	9,9	11,2	9,1	—	—
5	—	—	8,8	4,8	4,2
6	13,1	11,1	—	5,7	6,5
7	16	13,9	8,2	7,6	9,5
8	14,8	17,9	8	7,2	9,5
9	14,4	19,9	8,8	5,3	6,9
10	15,3	18,8	9,1	3,6	4,8
11	—	—	9,2	—	—
12	—	—	—	0,7	0,5
13	12,8	4,3	—	0,6	0,3
14	7,7	2,4	—	—	—
15	8,1	2,1	9,2	0,3	0,3
16	6,7	1,4	—	0,2	0,2
17	5,7	1,5	—	—	—
20	0,3	0,3	—	—	—
22	0	0	—	—	—

Traitement par tetracosactide — zinc pendant les 4 premiers jours.

Nombre de rats — Réticulocytes : traités, 10 ; témoins, 10 (réticulocytémie moyenne, 9,2 %). Parasitémie : traités 11, témoins 14 (exp. 1) ; traités 14, témoins 12 (exp. 2).

Corticostéronémie après 72 heures de traitement : 2 μg (témoins 1 μg).

Les valeurs significatives sont en italique pour $p < 0,001$ et en caractères gras pour $0,05 > p > 0,02$.

4 — *A.C.T.H. et Plasmodium berghei*

Nous substituons, à l'agression parasitaire, un traitement par l'A.C.T.H. pour apporter la preuve que l'inhibition de la parasitémie a pour origine une hypercorticotestéronémie quelle qu'en soit la cause ou, en d'autres termes, que les Nématodes (trichine, strongle) contrôlent le paludisme par l'intermédiaire de l'hypercorticotestéronémie qu'ils provoquent.

L'A.C.T.H. est injectée sous forme de tétracosactide-zinc à raison de 0,3, 0,6 ou 1,5 mg/kg par jour ; le traitement est limité aux quatre premiers jours de l'évolution du sporozoaire. La corticotestéronémie, dosée après 72 heures de traitement, est respectivement de 2, 9,5 et 17,3 $\mu\text{g}/100$ ml (témoins 1 μg). La réticulocytopénie a une durée en relation avec la posologie du traitement : elle est limitée aux 7^e et 8^e jours (0,3 mg/kg — *tableau V*) ; elle s'étend du 6^e au 11^e jour (0,6 mg/kg — *tableau VI*) et persiste du 2^e au 10^e jour (1,5 mg/kg — *tableau VII*). Parallèlement, la parasitémie est légèrement amoindrie les 7^e et 8^e jours (0,3 mg/kg — *tableau V*), nettement diminuée du 7^e au 10^e jour (0,6 mg/kg — *tableau VI*) et du 7^e au 11^e jour (1,5 mg/kg — *tableau VII*).

Discussion

La réticulocytopénie de la strongyloïdose s'étale sur une seule semaine en commençant 48 heures après la réaction corticosurrénale, elle-même limitée à 48 heures. Dans la trichinose, elle comporte deux phases superposables à celles de l'hypercorticotestéronémie et séparées, comme elle, par un retour à la normale.

Les seuls résultats publiés, à notre connaissance, sur ce sujet concernent la trichinose de la Souris (Ngwenya, 1982). Cet auteur observe, chez les souris infestées par 400 larves de trichine, une réticulocytopénie qui débute au 4^e jour, s'abaisse à un minimum au 8^e jour puis revient à sa valeur normale aux environs du 16^e jour. Comparativement à ce que nous avons noté chez le Rat, elle est plus précoce chez la souris, dure plus longtemps, mais atteint son minimum à la même période (8^e jour) dans les deux espèces. Ngwenya note ensuite une réticulocytose maximale au 21^e jour avec un retour à la normale au 30^e jour. Il ne signale pas de réticulocytopénie secondaire.

Ngwenya (1982) attribue à l'action de la trichine sur les réticulocytes l'inhibition du paludisme inoculé à des souris infestées 10 ou 30 jours plus tôt par le Nématode.

Les effets inhibiteurs des gluco-corticoïdes sur le paludisme du Rat à *P. b.* ont été constatés par Jackson (1955) en étudiant l'action d'injections de cortisone chez le Rat. Cet auteur avait aussi noté une intensification de la parasitémie succédant à la période d'inhibition, accompagnée d'une plus grande mortalité. Nous faisons la même observation avec les traitements au tétracosactide-zinc au cours desquels les différences sont significatives pour $p < 0,05$ du 13^e au 17^e jour (0,3 mg/kg) ou au 13^e jour (0,6 mg/kg) ; lorsque celles-ci ne sont pas statistiquement significatives (1,5 mg/kg) les moyennes sont établies, pour le lot traité, avec 5 rats fortement

TABLEAU VI. — Tétracosactide — zinc (0,6 mg/kg) réticulocytopenie et paludisme.

Temps (jours)	Réticulocytes %	Parasitémie (%)	
		traités	témoins
1	9,2	—	—
2	8,7	—	—
3	8,4	—	—
4	8,6	—	—
5	8,9	—	—
6	8,4	11,2	13,7
7	—	<i>10,2</i>	16,6
8	8,1	<i>11,3</i>	18,2
9	6,9	8,9	15,8
10	7,6	6,2	10,1
11	7,9	—	—
12	8,5	—	—
13	9,2	2,5	0,1

Traitement par tétracosactide-zinc pendant les 4 premiers jours. L'infestation par *P.b.* est effectuée 24 h après le début du traitement ; les temps indiqués correspondant à celui-ci, l'évolution du paludisme doit être établie en leur enlevant un jour.

Nombre de rats — Réticulocytes : traités, 10 ; témoins 10 (réticulocytémie moyenne 9,2) — Parasitémie : traités, 14 ; témoins, 13.

Corticostéronémie après 72 h de traitement : 9,5 μ g (témoins 1 μ g).

Les valeurs significatives sont en italique pour $p < 0,001$ et en caractères gras pour $0,05 > p > 0,02$.

TABLEAU VII. — Tétracosactide — zinc (1,5 mg/kg) réticulocytopenie et paludisme.

Temps (jours)	Réticulocytes %	Parasitémie (%)	
		traités	témoins
1	8,9	—	—
2	8,1	—	—
3	7,9	—	—
4	8,3	17,5	17,7
5	7,3	—	—
6	—	14,4	20,3
7	6,9	13,7	23,7
8	6	16,3	29,7
9	7,2	13,7	24
10	7,8	11,7	22,7
11	8,6	—	—
13	—	15,8	10,6
14	—	13,4	7,7
15	—	11,9	5,6

Traitement par tétracosactide-zinc pendant les 4 premiers jours.

Nombre de rats : — Réticulocytes : traités, 10 ; témoins, 10 ; (réticulocytémie moyenne, 9,2) — Parasitémie : traités, 9 ; témoins, 9.

Corticostéronémie après 72 h de traitement : 17,3 (témoins, 1 μ g).

Les valeurs significatives sont en italique pour $p < 0,001$ et en caractères gras pour $0,05 > p > 0,02$.

parasités (16 à 23 %) sur 9, le 14^e jour et 3 sur 9, le 15^e ainsi que le 17^e jour (14 à 37 %), tandis que dans le lot non traité un seul rat, sur 9, présente une parasitémie élevée aux environs de 45 %. Parallèlement la mortalité est plus grande chez les animaux traités : 2 morts (20^e et 22^e jours) contre 0 chez les témoins lors du traitement par 0,3 mg/kg ; 4 morts (13^e, 15^e et 2 le 20^e) contre 2 (13^e et 17^e jours) pour les témoins.

Ces inversions de moyennes des parasitémies méritent d'être soulignées car elles se produisent aussi lors de l'association trichine-paludisme et ceci à la même période de l'évolution palustre : 15^e jour (*tableau III*) ou 13^e jour (*tableau IV*). Dans les expériences rapportées les différences ne sont pas statistiquement significatives mais comme précédemment, lors du traitement par 1,5 mg/kg de tétracosactide-zinc, la parasitémie de certains rats trichinés (3 sur 10, *tableau III* ; 4 sur 12, *tableau IV*) reste très élevée avec des valeurs comprises entre 16 et 58 % tandis que celle des rats non trichinés est uniformément basse.

Cette inversion des intensités de la parasitémie à partir du 14^e jour semblerait pouvoir être interprété par un amoindrissement des défenses de l'organisme dû, en majeure partie, à l'augmentation des glucocorticoïdes induite par le tétracosactide-zinc ou la trichinose et, peut-être aussi, au fait qu'une parasitémie contrôlée sollicite une réponse immunitaire moindre.

En conclusion, nous pensons avoir démontré l'enchaînement qui, chez le Rat, relie l'infestation par *Strongyloides ratti* ou *Trichinella spiralis* à l'inhibition de *Plasmodium berghei* : le point de départ en est l'hypercorticotéronémie réactionnelle à l'évolution de ces deux Nématodes qui atteint une intensité suffisante pour provoquer une réticulocytopenie à laquelle *Plasmodium berghei* est sensible. En substituant des injections corticotropes de tétracosactide-zinc à l'évolution des Helminthes, il se confirme que le contrôle du paludisme par les Nématodes a pour origine l'hypercorticotéronémie qu'ils provoquent.

BIBLIOGRAPHIE

- BAILLENGER J., GUY M. : Interactions de deux parasitoses associées chez le Rat : *Plasmodium berghei* et *Strongyloides ratti*. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1982, 57, 513-526.
- BAILLENGER J., GUY M., GAULTIER M. : Interactions *Plasmodium berghei* *Strongyloides ratti* : modifications expérimentales et mécanisme. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1983, 63, 193-203.
- BAILLENGER J., CARCENAC F. : Répercussions du parasitisme par *Strongyloides ratti* sur la sécrétion des gluco-cortico-stéroïdes chez le Rat. *Int. J. Parasitol.*, 1974, 4, 307-310.
- BAILLENGER J., PEYCHAUD A., CABANNES A., HAUMONT G. : Évolution de la corticotéronémie au cours de la trichinose du rat ; ses relations avec l'immunodépression. (En cours de publication.) *Ann. Parasitol. Hum. Comp.*, 1985, 60, 000-000.
- JACKSON G. J. : The effect of cortisone on *Plasmodium berghei* infections in the white rat. *J. Infect. Dis.*, 1955, 97, 152-159.
- NGWENYA B. Z. : Enhanced resistance to *Plasmodium berghei* in mice previously infected with *Trichinella spiralis*. *Parasit. Immunol.*, 1982, 4, 197-207.