

UN NOUVEAU MODÈLE D'ÉTUDE DE LA PHYSIOPATHOLOGIE FILARIENNE : *MOLINEMA DESSETAE* CHEZ SON HÔTE DÉFINITIF NATUREL *PROECHIMYS ORIS*

PREMIÈRE PARTIE

J.-C. GANTIER*, J. MACCARIO**, N.-P. VUONG***,
C. GUEYOUCHE*, Ph. GAYRAL*

RÉSUMÉ. Le modèle *Molinema dessetae/Proechimys oris* récemment adapté en laboratoire devait permettre une étude sur les rapports entre la filaire (dont les phases de développement étaient préalablement élucidées), et son hôte naturel, dans des conditions d'expérimentations et d'observations favorables.

Peu de couples naturels filaires-hôtes sont adaptables et modélisables en laboratoire ; les couples purement expérimentaux perdent certainement de l'information sur les mécanismes adaptatifs et les études sur la pathologie sont souvent fragmentaires et ponctuelles.

Avec *P. oris* nous avons la possibilité d'observer et d'expérimenter sur les animaux sauvages filariens ; en faisant varier le protocole d'infestation nous avons tenté de recréer des pathologies filariennes semblables à celles observées avec les filaires humaines.

L'expression de la pathologie est classiquement révélée par les modifications de l'héogramme et tout particulièrement par les polynucléaires éosinophiles, les perturbations protéiques et les lésions rénales.

Lors d'autopsie, l'étude histologique systématique de tous les organes et tissus n'est pratiquement jamais effectuée dans les filarioses expérimentales et humaines. Les *Proechimys* infectés, et autopsiés, permettent la recherche de lésions microscopiques pouvant être à distance des parasites.

Les analyses statistiques multifactorielles s'avèrent donc nécessaires pour exploiter l'ensemble des résultats, éviter la perte d'informations et confirmer l'incidence du parasite sur son hôte.

Les *Proechimys* infectés par *M. dessetae* ont permis de mettre en évidence toute une série de pathologies modérées ou graves avec peu ou pas de retentissement clinique. Par contre les lésions histologiques liées à la présence des granulomes sont considérables. Les lésions granulomateuses centrées sur les vers morts et quelquefois sur des adultes vivants sont responsables d'une série de troubles dont les conséquences majeures sont la lymphangiectasie péritonéale, les œdèmes et scléroses du tube digestif, les perturbations pulmonaires, hépatiques et spléniques. Les atteintes rénales restent discrètes.

* Laboratoire de Parasitologie, Faculté de Pharmacie, rue J.-B. Clément, F 92290 Châtenay-Malabry.

** Laboratoire de Mathématiques, Faculté de Pharmacie, rue J.-B. Clément, F 92290 Châtenay-Malabry.

*** Département d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Hôpital Saint-Michel, 33, rue Olivier-de-Serre, F 75015 Paris.

Accepté le 17 novembre 1986.

Sommaire

Première partie

- I — INTRODUCTION
- II — LE MODÈLE DE FILARIOSE *MOLINEMA DESSETAE/PROECHIMYS ORIS*
- III — MATÉRIEL ET MÉTHODES
 - A — Codage et nomenclature des animaux
 - B — Pesées et prélèvements
 - C — Hématologie et parasitologie
 - D — Biochimie
 - E — Complexes Immuns circulants
 - F — Techniques anatomopathologiques
 - G — Traitement des données
 - 1 — Analyse en composantes principales (ACP)
 - 2 — Analyse factorielle des correspondances (AFC)
- IV — PARAMÈTRES BIOLOGIQUES
 - A — Résultats
 - B — Analyse statistique
 - C — Interprétation
 - 1 — Évolution des trajectoires moyennes
 - 2 — Évolution des trajectoires individuelles
 - 3 — Analyse des centres de gravité
 - D — Conclusion

Deuxième partie

- V — RÉSULTATS HISTOLOGIQUES
 - A — Étude analytique
 - B — Étude synthétique
 - 1 — Altérations tissulaires liées au protocole d'étude
 - 2 — Lésions dues à des pathologies intercurrentes
 - 3 — Lésions liées à la parasitose
 - C — Interprétation statistique des paramètres histologiques
 - D — Conclusion
- VI — COMPARAISON DES TRAJECTOIRES DE L'ACP ET DES RÉSULTATS DE L'AFC
- VII — DISCUSSION
 - A — Formation des lots physiopathologiques
 - B — Comparaison avec les autres filarioses
 - 1 — Pathologie granulomateuse
 - 2 — Pathologie de la cavité péritonéale
 - 3 — Pathologie du tube digestif
 - 4 — Pathologie hépatique
 - 5 — Pathologie splénique
 - 6 — Pathologie pulmonaire
 - 7 — Pathologie rénale
 - 8 — Pathologie de l'appareil génital
 - 9 — Pathologie oculaire
 - 10 — Pathologie du système nerveux
 - 11 — Pathologie cardiaque
 - 12 — Perturbations hématologiques
 - 13 — Perturbations protéiques

VIII — CONCLUSION

Bibliographie

Ce travail permet de proposer ce modèle parasitaire comme matériel biologique d'études de certaines pathologies de systèmes ou d'organes :

— le granulome, identique dans sa structure à celui des filaires de l'homme pourrait être utilisé dans l'étude de l'influence des thérapeutiques antifilariennes, anti-inflammatoires ou autres, sur son développement ;

— la lymphangiectasie proche de celle des filaires lymphatiques dans son étiologie, d'origine précoce, ne montre pas d'accidents aigus, mais semble jouer le même rôle dans la constitution des œdèmes ;

— la pathologie digestive, originale, n'est pas citée chez l'homme. Il est possible que les filarioses humaines n'aient jamais été étudiées sous cet angle et la recherche systématique que des lésions pourrait être entreprise lors de nécropsies. Le retentissement de cette pathologie sur le métabolisme est évident et l'étude de la pharmacocinétique des antifilariens en pathologie humaine peut conduire à expliquer ou à remettre en cause les protocoles thérapeutiques ;

— les lésions pulmonaires sont elles aussi peu citées en pathologie filarienne expérimentale, mais importantes chez l'homme avec le poumon tropical éosinophile. Les investigations concernant l'appareil pulmonaire de *P. oris* doivent se poursuivre dans ce domaine.

En fait, *Proechimys oris/Molinema dessetae* est un modèle de pathologie filarienne humaine au niveau élevé des relations hôte naturel-parasite et un modèle dans la constitution du granulome filarien.

Mots-clés : Physiopathologie filarienne. *Molinema dessetae*. Filariose expérimentale. Filaire Rongeur.

A new model for studies on the filariasis pathological changes: *Molinema dessetae* in its natural rodent host *Proechimys oris*.

SUMMARY. The filarial rodent model *Molinema dessetae/Proechimys oris*, recently adapted in the laboratory allows studies on the host/parasite relationships. Development of filarial worm was described elsewhere, and the model standardized. Biological, parasitological data and antifilarial drug response were determined.

Natural models can seldom be used in laboratory ; in non natural models many informations on the host-parasite relationships are lost and pathological studies can only be fragmentary and punctual. With inbred *Proechimys oris* we have the possibility to investigate with a natural filarial model.

Three rodent groups have been studied for over a period of one year. The first group comprises eleven parasite free animals ; the second one, eight rodents infected once by L_3 , and the last with eight rodents regularly re-infected during the period of experiment. Several biological parameters were considered: weight, total red and white blood cell counts, haemoglobinemia, mean cell volume, differential leucocyte count, blood urea nitrogen, total serum proteins and electrophoretic pattern, endogenous creatinine clearance, circulating immune complexes.

On the whole, more than 19,700 biological data were obtained and several multivariate statistical analysis were necessary for a valid interpretation. The Principal Component Analysis (ACP) shows in each infected rodent distinct trajectories related either with the age of the host or with the filarial infection itself. Three graphic methods were used: individual graphics of each rodent, graphics of each rodent group and, individual and group statistical center of gravity.

At the end of the experiments, the rodents were autopsied and a detailed histological study of the whole body was made. Different lesions and stages of inflammatory processes found were analysed and classified as follows :

- granulomatous nodule with eosinophilic and neutrophilic polymorphs ;
- foreign-body granulomatous nodule;
- sclerocicatrical nodule;
- mononucleate cell infiltrate.

Secondary pathological alterations, such as irritative lesions and blocage of lymph and blood vessels, were found.

A comprehensive study of all our qualitative histological results was performed by a second multivariate analysis: the Correspondance Analysis (AFC). This analysis confirmed the heterogeneity of each *Proechimys* infected and multi-infected groups.

The cross cheking between the ACP and AFC allows the separation of two physiopathological filarial groups; the first group (A) is characterised by moderate biological variations and the absence of hepatosplenic lesions. The second group (B) with more variable data, is characterised by important biological modifications and hepatosplenic lesions.

In conclusion, we propose here a new filarial rodent model for different pathology purposes:

- the granulomatous lesions have a similar structure to the ones found in human filariasis. Its evolution under treatment by antifilarial and anti-inflammatory drugs can be studied;
- the early lymphatic lesion's ethiology is similar to the human one. They do not determine acute lymphangitis, but play an important part in the œdema constitution;
- the original digestive pathology of the model, has not been reported in human filariasis, perhaps because there is no human anatomopathological studies available. The incidence of gut lesions on metabolism and pharmacokinetics of drugs is obvious. This fact should be taken into account when antifilarial drug schedules are set up;
- the pulmonary lesions are rarely recorded with experimental models, but they are of great importance in the eosinophilic tropical pulmonary lesion syndrom. It is therefore important to continue research on this aspect with our model.

Finally, *Molinema dessetae/Proechimys oris* is a natural rodent model with pathological lesions closely related to those in human filariasis because it has retained in the laboratory a closeness to the natural host parasite type of relationship; furthermore it is a good model for studying the constitution of the filarial granuloma.

Key-words : Filariasis physiopathology. *Molinema dessetae*. Experimental filariasis. Rodent filariae.

I — Introduction

Malgré l'existence d'un certain nombre de filarioses adaptées en laboratoire, les rapports hôte naturel-Filaire sont mal connus car ils sont trop souvent étudiés sur des modèles expérimentaux très éloignés de la parasitose naturelle.

Pour produire des animaux parasités en nombre nécessaire à ces études, on est obligé d'avoir recours à des espèces suffisamment prolifiques et adaptées aux conditions expérimentales d'élevage et d'entretien. Cette sélection artificielle éloigne le couple hôte-parasite des conditions du terrain, lui faisant perdre le bénéfice et la finesse de l'adaptation naturelle et très ancienne du parasite à son hôte. Disposant d'un modèle de Filaire de Rongeur, entretenue au laboratoire chez l'hôte définitif naturel lui-même, nous avons cherché à apprécier le rôle pathogène du parasite en reliant entre eux différents paramètres parasitaires, biologiques et anatomopathologiques étudiés sur le Rongeur au cours du développement du parasite et de la maladie.

Molinema dessetae (Bain, 1973) est une Filaire parasite de *Proechimys oris* Thomas, 1904, transmise par moustique. Elle a été entretenue au laboratoire de Zoologie des vers du Muséum National d'Histoire Naturelle dès 1972 (Bain, 1973, 1974). A première vue, le parasitisme du Rongeur par cette Filaire est bien sup-

porté ; mais des études sur la pharmacocinétique de substances antifilariennes ont montré des différences très nettes et tout à fait inattendues entre Rongeur sain et Rongeur filarien (Gayral *et al.*, 1982b ; Kani *et al.*, 1983), conduisant à s'interroger sur le retentissement du parasitisme sur les fonctions de détoxification et d'excrétion du Rongeur. En effet, chez l'Homme la présence de Filaires influe, entre autres, sur les fonctions hépatiques et rénales. Nous avons donc voulu apprécier cette incidence chez *P. oris* et comparer ces résultats à ceux des autres Filaires parasites de l'Homme ou des animaux, y compris dans les modèles de laboratoire.

Sur des lots de *P. oris* témoins, infectés une fois ou soumis à des réinfections régulières, plusieurs paramètres biochimiques, hématologiques et parasitologiques ont été déterminés pendant un an (poids, urée, créatinine, protéines, électrophorèse, numération globulaire, formule leucocytaire, microfilarémie, complexes immuns circulants). Au terme de l'étude, les Rongeurs ont été soigneusement autopsiés pour rechercher toute lésion même microscopique. Ces résultats qualitatifs et quantitatifs représentent plusieurs milliers de données qui ont été analysées et traitées par des méthodes statistiques multifactorielles permettant d'apprécier le poids des perturbations biologiques et de les associer avec les lésions anatomopathologiques pour décrire ainsi la genèse de la symptomatologie filarienne.

II — Le modèle de filariose *Molinema dessetae/Proechimys oris*

Les éléments du cycle ont déjà été décrits et nous n'en rappellerons que les grandes lignes (Bain, 1974 ; Gayral *et al.*, 1978, 1982a ; Petit, 1978).

Les microfilaires (mf) pondues par les femelles circulent dans le sang périphérique avec une périodicité diurne. Leur longévité est supérieure à 400 jours. Différents moustiques peuvent transmettre cette Filaire. L'espèce retenue pour les infections expérimentales est *Aedes aegypti*, souche Gkep. Le développement larvaire s'effectue en 18 jours à 26° C et 80 % d'humidité relative chez l'hôte vecteur et en 40 jours chez *P. oris*. Quatre-vingt-dix jours après l'injection des larves infectantes, les premières microfilaires apparaissent dans la circulation sanguine du Rongeur.

Proechimys oris est élevé dans une animalerie conventionnelle dont la température est régulée à 25° C par de l'air pulsé (Gantier et Gayral, 1979).

III — Matériel et méthodes

A — CODAGE ET NOMENCLATURE DES ANIMAUX

Les *Proechimys* mâles âgés de 51 à 58 jours sont répartis dans 3 groupes expérimentaux :

— le lot n° 1 de 11 *Proechimys* témoins,

- le lot n° 2 de 8 *Proechimys* infectés une seule fois,
- le lot n° 3 de 8 *Proechimys* réinfectés tous les 14 jours.

La répartition des animaux est faite à l'aide d'une table de nombres au hasard et une numérotation spéciale, nécessaire au traitement informatique des données, a été appliquée à tous ces animaux. Ce numéro se compose de 2 chiffres, le premier correspond au lot expérimental, le second étant le numéro d'ordre :

- Lot 1 : 1-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 1-8, 1-9, 1-10, 1-11.
- Lot 2 : 2-1, 2-2, 2-3, 2-4, 2-5, 2-6, 2-7, 2-8.
- Lot 3 : 3-1, 3-2, 3-3, 3-4, 3-5, 3-6, 3-7, 3-8.

Les animaux du lot 1 reçoivent une injection unique sous-cutanée de 0,3 ml de liquide de survie (Gayral *et al.*, 1982b). Ceux du lot 2 reçoivent une injection unique de 200 larves infectantes. Le lot 3, après une première injection identique de 200 L₃ reçoit à J21 puis tous les 14 jours pendant la durée de l'expérimentation une nouvelle injection de 50 L₃ (*schéma 1*). Dans tous les cas le volume injecté est de 0,3 ml.

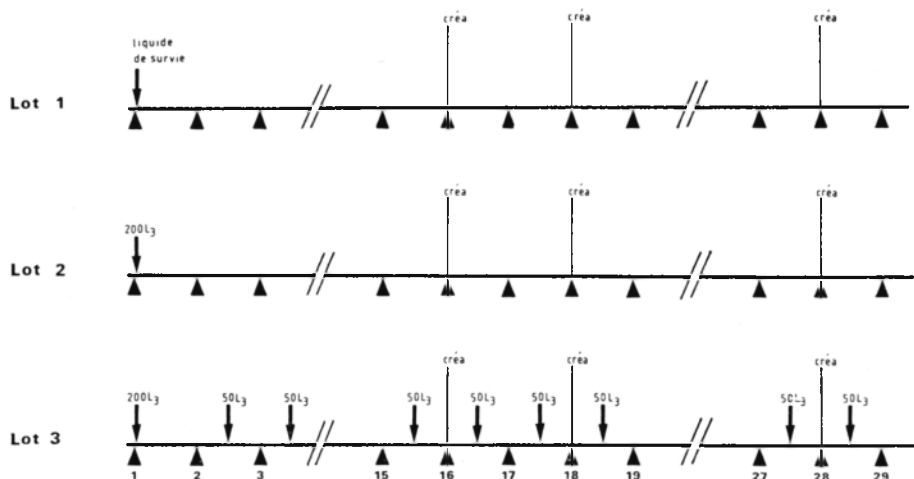


SCHÉMA 1. — *Protocole expérimental.*

- ▲ : Prélèvements sanguins.
- ▼ : Injection des L₃.
- créa. : Clairance de la créatinine.

B — PESÉES ET PRÉLÈVEMENTS

La mise à la diète hydrique d'une durée de 17 heures a pour but d'effectuer des pesées comparables de *Proechimys* à jeun. La pesée et la prise de sang sont pratiquées à jour fixe toutes les 2 semaines. Après une légère anesthésie à l'éther, les *Proechimys* sont donc pesés et une ponction veineuse de 0,5 à 0,8 ml de sang est effectuée au niveau du sinus rétro-orbitaire. A partir du 16^e prélèvement,

la diète hydrique des Rongeurs se déroule une fois sur deux pendant 24 heures dans des cages à métabolisme afin de recueillir les urines. Ces dernières sont collectées sur thiomersal et permettent de tester l'épuration glomérulaire par la clairance de la créatinine.

C — HÉMATOLOGIE ET PARASITOLOGIE

La numération des éléments figurés du sang est effectuée à l'aide d'un compteur de particules (Coulter-Counter modèle-SND) après dilution de 44,7 μ l de sang dans 10 ml de diluant (IsotonND). Une goutte de sang sert à préparer le frottis nécessaire à l'établissement de la formule leucocytaire et 10 μ l permettent de confectionner la goutte épaisse pour la numération des microfilaires. La formule leucocytaire est déterminée au microscope après coloration par la méthode de May-Grünwald-Giemsa. La goutte épaisse est hémolysée à l'eau après séchage de 24 heures, fixée par le méthanol et colorée par le Giemsa.

D — BIOCHIMIE

Après coagulation du sang, les tubes à micro-prélèvement sont centrifugés et le sérum est séparé afin d'effectuer les dosages biochimiques. Les dosages de l'urée, des protéines totales et de la créatinine sont réalisés en microméthodes sur matériel EppendorfND.

L'urée est dosée par la diacétylmonoxime sensibilisée par le thiosemicarbazide en présence de sels ferriques. Après 10 minutes de bain-marie à 100° C, puis refroidissement, la lecture est faite à 546 nm. Chaque série de dosages comporte un blanc réactif, 2 étalons (0,30 et 0,70 g/l) dans l'acide benzoïque saturé, un sérum de contrôle de concentration connue et 8 sérums à doser.

Le dosage des protéines totales est effectué par la réaction du Biuret (Gornall *et al.*, 1949 ; Fleury et Éberhard, 1951). La courbe d'étalonnage est construite à chaque séance de dosage à l'aide d'une solution-étalon d'albumine bovine et contrôlée par 2 sérums de concentrations connues. La lecture photométrique est faite à 546 nm, 30 minutes après l'addition du réactif de Gornall.

La détermination de la créatinine sanguine et urinaire est faite par l'acide picrique en solution alcaline tamponnée. La réaction est exécutée à la température constante de 25° C et la lecture est effectuée en cinétique à 492 nm. Le calcul de la concentration fait référence à un étalon à 10 mg/l tandis que la reproductibilité du dosage est contrôlée par 2 sérums de concentrations connues.

Les électrophorèses des protéines sériques sont réalisées sur acétate de cellulose. Le tampon à pH 9,2 (véronal-tris) est utilisé avec une force ionique de 0,03 (Kaplan et Savory, 1965 ; Paget et Coustenoble, 1965 ; Del Campo, 1968). Le temps de migration est de 90 minutes à 160 V et les bandes d'acétate de cellulose sont fixées et colorées par le rouge ponceau en milieu trichloracétique. Après transparence la lecture est faite par densitométrie sur un enregistreur-intégrateur.

E — COMPLEXES IMMUNS CIRCULANTS

La recherche des I. C. circulants a été réalisée par Mme Digeon (Service du Professeur Bach, hôpital Necker). La technique utilisée a été la précipitation en polyéthylène glycol (Mannik *et al.*, 1974, Hay *et al.*, 1976, Zubler *et al.*, 1977) (tableau II).

F — TECHNIQUES ANATOMOPATHOLOGIQUES

Les *Proechimys* sont sacrifiés sous anesthésie à l'éther entre le 436^e et 444^e jour, soit 7 jours après le 29^e prélèvement sanguin. Une ponction cardiaque limitée de 5 ml de sang est pratiquée immédiatement après l'arrêt du cœur. Ce prélèvement permet de conserver 2 à 3 ml de sérum qui sera congelé pour toute investigation ultérieure. Une nécropsie complète est ensuite effectuée ; après incision mento-thoraco-abdomino-pubienne, la cavité thoracique ainsi que la cavité abdomino-pelvienne sont explorées. Le plastron sterno-costal est ensuite enlevé. L'examen macroscopique consiste à rechercher un éventuel épanchement pleural, péricardique ou péritonéal, les adhérences fibreuses, les Filaires vivantes intracavitaires. Les liquides d'épanchement sont prélevés pour l'étude cytologique. L'étape suivante est l'éviscération monobloc. Le plancher buccal est effondré, les organes thoraciques et abdominaux sont décollés sur la face postérieure et les organes pelviens sont coupés à ras du périnée après décollement de l'espace prévésical. L'examen du système nerveux central est effectué après ouverture de la boîte crânienne le long de la ligne d'affrontement des os pariétaux et frontaux. Les méninges ainsi que l'encéphale et le cervelet sont prélevés en totalité. Les globes oculaires sont réséqués après trépanation des toits des orbites. Les différents organes sont pesés et disséqués. Le cœur et les reins ont fait l'objet de nombreuses coupes étagées dont certaines ont été congelées dans l'azote liquide pour des études immunopathologiques ultérieures, d'autres fixées au Bouin alcoolique. L'ensemble des organes est fixé par le formol à 10 % tamponné à pH 7,2 par le P. B. S. (Phosphate Buffer Saline).

De multiples prélèvements sont effectués. Ils sont inclus en paraffine, coupés à 5 μ m, et colorés par l'hématéine-éosine-safran (H. E. S.). Certaines préparations histologiques ont été soumises à différentes colorations spéciales : trichrome-vert lumière (TVL) pour étudier la sclérose ; giemsa pour rechercher les microfilaires dans les tissus ; l'imprégnation argentique de Marinozzi (Burkholder, 1974) pour visualiser l'état des membranes basales.

G — TRAITEMENT DES DONNÉES

L'ensemble des données, après avoir été rassemblées dans des fichiers informatiques, a été soumis aux traitements statistiques. Ils ont été réalisés à l'aide des ordinateurs et des logiciels du Centre Inter-régional de Calcul Électronique du CNRS à Orsay (CIRCE).

L'analyse des données quantitatives n'a concerné que les *Proechimys* qui présentaient un minimum de 150 jours d'observations ; seuls les Rongeurs parvenus en fin d'expérimentation et autopsiés ont été utilisés dans l'analyse factorielle des correspondances (AFC).

1 — ANALYSE EN COMPOSANTES PRINCIPALES (ACP) ET INTERPRÉTATION GRAPHIQUE

Cette analyse multifactorielle des données (Lebart et Fenelon, 1975, Lebart *et al.*, 1979, Fenelon, 1981) permet de lever l'obstacle de l'interprétation du grand nombre de données quantitatives obtenues dans cette étude. Elle permet le reclassement des individus et met en évidence leurs proximités ou leurs éloignements. La représentation graphique s'effectue dans un système orthonormé où chaque quinzaine d'étude de chaque Rongeur représente un individu et chaque paramètre biologique mesuré représente une variable. L'ensemble des points individus est représenté dans l'espace des variables dont les coordonnées vont être interprétées en terme de corrélation.

Les graphiques obtenus lors de cette analyse seront interprétés selon 3 schémas :

- des graphiques pour chaque *Proechimys* traduisant l'évolution dans le temps des paramètres biologiques individuels,
- des graphiques regroupant les *Proechimys* d'un même lot, permettant de comparer l'évolution des paramètres par lots d'animaux,
- un graphique représentant les points moyens des trajectoires de chaque *Proechimys* et de chaque lot (barycentre ou centre de gravité), permettant d'étudier leur similitude ou leur dissemblance par leur proximité ou leur éloignement et les comparer aux données qualitatives obtenues par l'histologie.

Sur les graphiques individuels des *P. oris* chaque point représente une quinzaine d'études et tient compte de 13 variables. Le déplacement de ces points détermine des trajectoires traduisant l'évolution de certains paramètres dans le temps.

Les coordonnées des individus ont été calculées selon 7 axes différents. Nous n'avons retenu et interprété que les 2 premiers, en raison du peu d'information qu'apportaient les autres. La proximité des points variables avec les axes du plan factoriel étudié, et la contribution à leur construction permet une interprétation synthétique de ces axes.

2 — ANALYSE FACTORIELLE DES CORRESPONDANCES (AFC) ET INTERPRÉTATION GRAPHIQUE

Cette analyse permet de rechercher les liaisons existantes entre des variables qualitatives. L'interprétation se fera par la recherche de l'association des points individus (ici les *Proechimys*) avec les points variables (les lésions) ou *vice versa* ; leurs proximités signifiant une similitude de profils.

IV — Paramètres biologiques

Les résultats des paramètres biochimiques, hématologiques et parasitologiques sont regroupés dans des tableaux 3-1 à 3-16 disponibles sur demande, sous le numéro N15800, au Muséum National d'Histoire Naturelle Paris, Laboratoire de Zoologie des vers. Ils correspondent à 11 767 mesures effectuées sur une période de plus de 400 jours.

A — RÉSULTATS

Sur les 27 Rongeurs participant à cette expérimentation de plus d'un an, la mortalité spontanée n'a été observée que dans le lot 3. En effet quatre Rongeurs sont morts prématurément, l'Individu 3-1 à J315, l'Individu 3-2 à J175, l'Individu 3-5 à J132 et l'Individu 3-7 à J297 (*tableau I*).

Le simple examen des tableaux des données numériques montre qu'il est impossible de les interpréter sans l'aide d'une analyse statistique multifactorielle ; celle-ci en effet permet, par comparaison aux évolutions normales, de distinguer les périodes pendant lesquelles certains paramètres sont perturbés par la présence du parasite. Les courbes individuelles de poids (graph. 3-17 à 3-19, MNHN Paris n° N15800) ont été tracées ; elles n'apportent pas de renseignements intéressants sauf pour l'animal 3-3 dont la courbe se détache nettement ; cet animal a toujours présenté un poids inférieur aux autres Rongeurs.

Tous les *P. oris* infectés ont été microfilarémiques 93 à 109 jours après l'injection des larves (*tableau I*). Quel qu'en soit le niveau les microfilarémies évoluent selon deux cinétiques : l'une avec persistance des mf pendant au moins un an, l'autre avec une disparition brutale des mf avant J150 ; la négativation s'observe en particulier avec les *Proechimys* 2-3 et 2-6 et cette particularité avait déjà été signalée par Gayral *et al.* (1982a).

Le nombre des Filaires adultes récupérées à l'autopsie est indiqué dans le *tableau I*. Plusieurs Rongeurs n'hébergent plus aucun ver vivant et tout particulièrement ceux du lot 3. Le nombre de vers adultes est toujours faible, ce qui est une caractéristique de *Molinema dessetae* chez son hôte. Seul le *Proechimys* 3-5 autopsié précocement à J132 héberge 24 vers, montrant une fois de plus la diminution progressive de la population de vers adultes, dans le temps (Gayral *et al.*, 1982a).

Les résultats du dosage des IC circulants sont exprimés en densité optique (*tableau II*). Certaines valeurs paraissent fortes mais il est nécessaire de les comparer aux résultats histologiques pour les interpréter.

B — ANALYSE STATISTIQUE DES PARAMÈTRES BIOLOGIQUES

Avant d'effectuer les analyses multifactorielles, il a été nécessaire de rechercher si, parmi les paramètres mesurés ou observés, il existait des liaisons naturelles. Lorsque ces liaisons ont été observées les paramètres en cause ont été placés en

TABLEAU I. — Récapitulatif des microfilarémies mesurées,
pour 10 μ l de sang chez les lots 2 et 3. Nombre de filaires adultes retrouvées à l'autopsie.

J. après infection P. oris	Microfilarémies/10 μ l de sang																						Adultes à l'autopsie	
	92	105	119	133	147	161	176	189	204	218	231	246	259	274	288	302	316	330	344	360	373	387	M	F
2 - 1	0	1	3	4	2	5	11	21	14	24	31	27	16	18	27	20	11	22	12	8	16	8	0	1
2 - 2	0	77	121	196	302	335	335	362	356	527	530	640	784	599	880	560	881	679	653	501	489	602	4	4
2 - 3	2	9	20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
2 - 4	4	31	30	24	13	21	40	29	24	27	29	20	18	21	16	15	16	14	7	6	3	2	0	0
2 - 5	18	35	45	41	32	19	7	4	9	3	7	7	27	22	51	51	65	58	49	43	42	62	7	8
2 - 6	1	22	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	10
2 - 7	0	17	39	29	64	80	90	128	165	187	191	155	239	226	239	153	159	208	162	84	131	120	2	2
2 - 8	0	9	28	39	82	82	98	135	163	200	216	234	275	218	275	267	283	238	305				3	7
3 - 1	27	88	142	168	189	262	276	305	222	237	151	236	173	234	194	161							0	0
3 - 2	13	56	78	139	110	142																	-	-
3 - 3	9	56	55	70	88	78	60	62	53	67	39	63	36	40	25	24	23	22	10	8	12	6	0	0
3 - 4	1	12	12	20	50	84	128	131	90	121	63	110	83	84	68	82	76	72	44	51	43	35	0	0
3 - 5	1	29	15																				16	8
3 - 6	14	81	50	40	25	35	38	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 - 7	2	31	11	4	6	4	6	7	7	3	1	5	2	2	2								2	0
3 - 8	1	26	60	111	139	160	251	217	230	307	296	437	337	344	297	184	271	249	185				6	7

TABLEAU II. — Résultats du dosage des complexes immuns, par la méthode de précipitation en polyéthylène glycol, et exprimés en densité optique.

LOT 1	LOT 2	LOT 3
1-1 = 0,053	2-1 = 0,087	3-3 = 0,272
1-4 = 0,057	2-2 = 0,054	3-4 = 0,054
1-5 = 0,060	2-3 = 0,053	3-6 = 0,023
1-6 = 0,025	2-4 = 0,061	
1-9 = 0,025	2-5 = 0,099	
	2-6 = 0,053	
	2-7 = 0,102	

éléments supplémentaires afin que l'analyse ne tienne pas compte du poids excessif que leur conféraient ces corrélations. Il en est de même pour ceux présentant une fréquence trop faible ou lorsque le paramètre est absent d'un des lots expérimentaux (âge réel, âge d'infection, poids, les 5 fractions protéiques, les 5 classes leucocytaires, créatinine sanguine et urinaire, volume des urines de 24 heures, microfilariémie).

Des 23 paramètres mesurés, 13 sont conservés en variables actives et participent dans l'analyse en composantes principales (ACP) à la construction des axes ; les 10 variables restantes sont placées en variables supplémentaires (*tableau III*).

TABLEAU III. — Analyse en composantes principales : paramètres participant à la construction des axes, et paramètres placés en éléments supplémentaires.

ELEMENTS ACTIFS		ELEMENTS SUPPLEMENTAIRES	
MNEMONIQUES		MNEMONIQUES	
AGE	- Age réel	AGI	- Durée d'Infection
UREE	- Urée sanguine	PDS	- Poids
PRTT	- Proteines totales	ALP1	- Alpha-1 globulines
ALB	- Albumine	CRES	- Créatinine sanguine
ALP2	- Alpha-2 globulines	CREU	- Créatinine urinaire
BETA	- Bêta-globulines	VOL	- Volume urinaire
GAM	- Gamma-globulines	GR	- Globules rouges
HB	- Hémoglobine	PB	- Polynucléaires basophiles
VGM	- Volume globulaire moyen	MONO	- Monocytes
GB	- Globules blancs	MF	- Microfilaires
PN	- Polynucléaires neutrophiles		
PE	- Polynucléaires éosinophiles		
LYM	- Lymphocytes		

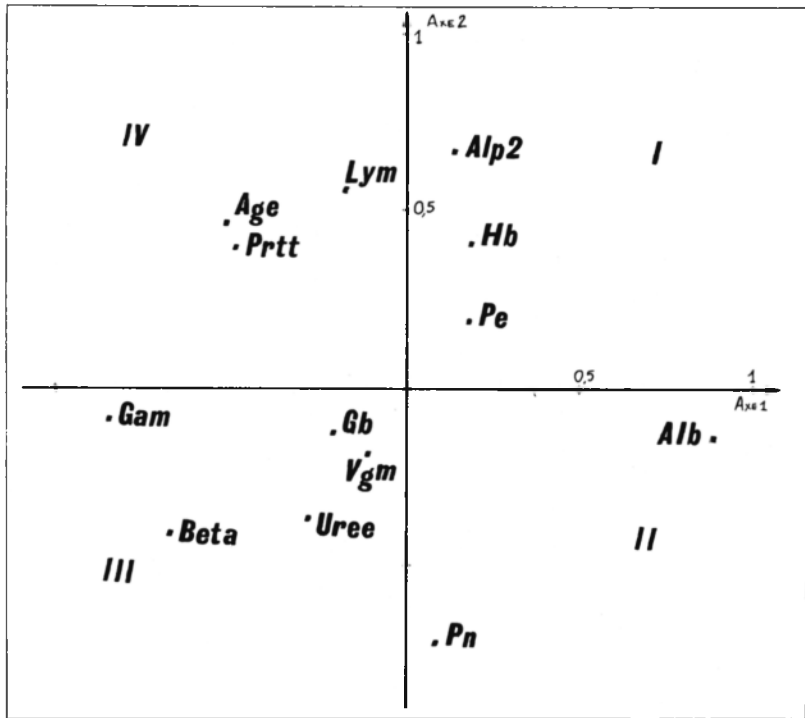
A la suite d'une première analyse les variables globules rouges et monocytes ont aussi été placés en variables supplémentaires en raison de leur trop faible intervention dans la construction graphique.

Pour être associée à un axe, une variable devra avoir une contribution d'au moins 7,7 % (*tableau IV, graph. 1*). La lecture du *tableau IV* montre que cinq paramètres contribuent à la construction de l'axe 1 avec une participation de 90,4 % : âge (AGE), protéines totales (PRTT), albumine (ALB), bêta-globulines (BETA), gamma-globulines (GAM), dont deux sont corrélés entre eux, AGE et PRTT ; tandis que quatre paramètres contribuent à la construction de l'axe 2 pour un total de 66,7 % : AGE, alpha-2 globulines (ALP2), polynucléaires neutrophiles (PN) et lymphocytes (LYM). Dans le plan ainsi défini, la projection du nuage des individus permet de visualiser les rapprochements existant avec les variables. Il est malgré tout nécessaire de vérifier la similitude des coordonnées des points variables et individus sur l'axe 3 afin de s'assurer que la projection dans le plan factoriel étudié n'a pas rapproché artificiellement ces points. En tenant compte de cette remarque, l'interprétation des 20 à 29 points individus consécutifs concernant les *Proechimys* ou un lot expérimental, renseignera sur l'évolution des différents paramètres au cours du temps.

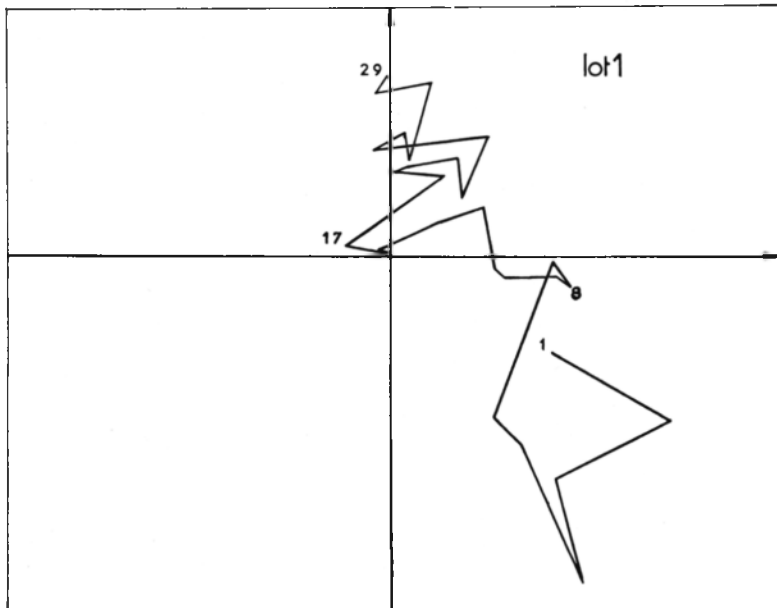
TABLEAU IV. — Analyse en composantes principales : contribution et coordonnées des 13 variables participant à la construction des 3 premiers axes.

	AXE 1	COR.	CTR.	AXE 2	COR.	CTR.	AXE 3	COR.	CTR.
AGE	- 516	267	97	459	211	94	- 399	159	80
UREE	- 282	79	29	- 373	139	62	- 269	72	36
PRTT	- 487	238	87	405	164	73	- 191	36	18
ALB	887	786	287	- 138	19	8	157	25	12
ALP2	147	22	8	673	453	202	- 271	74	37
BETA	- 676	456	167	- 419	175	76	199	40	20
GAM	- 854	729	266	- 85	7	5	- 148	22	11
HB	188	35	13	405	164	73	- 446	199	100
VGM	- 126	16	6	- 186	35	15	402	162	81
GB	- 201	40	15	- 127	16	7	315	99	50
PN	93	9	3	- 722	522	232	- 569	323	163
PE	181	33	12	195	38	17	- 468	219	110
LYM	- 175	31	11	551	304	135	747	557	289
			I000			I000			I000

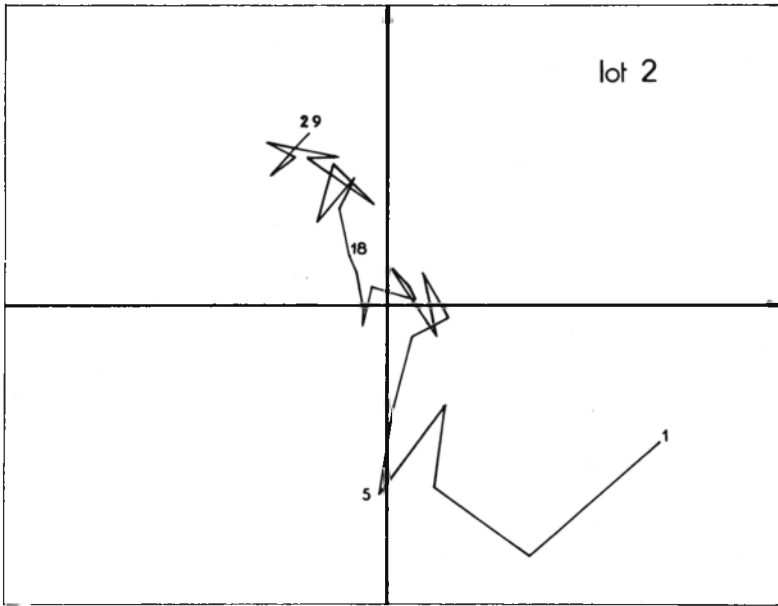
CTR : Contribution.
COR : Corrélation.



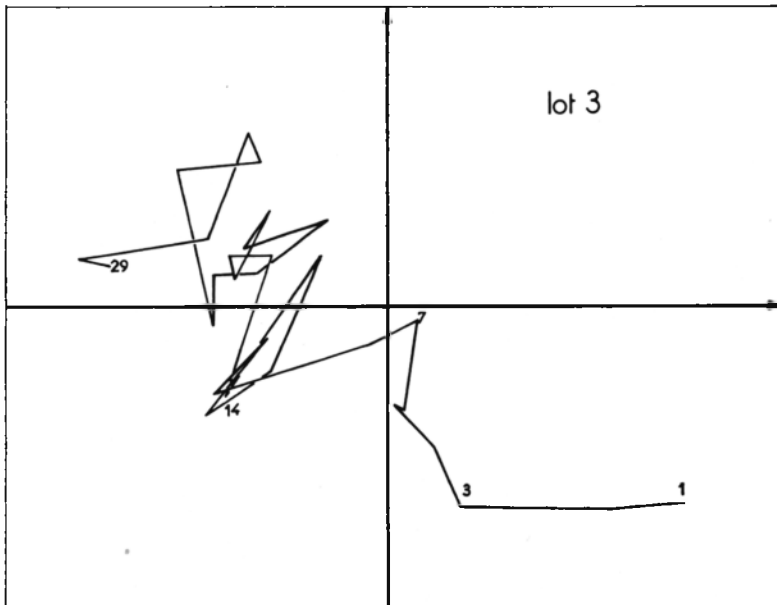
GRAPHIQUE 1. — Représentation dans le premier plan factoriel, des 13 variables retenues.



GRAPHIQUE 2. — Analyse en composantes principales : trajectoire moyenne du lot témoin n° 1.



GRAPHIQUE 3. — Analyse en composantes principales :
trajectoire moyenne du lot 2.



GRAPHIQUE 4. — Analyse en composantes principales :
trajectoire moyenne du lot 3.

Pour décrire les différentes trajectoires, les 4 secteurs délimités par les axes 1 et 2 ont été numérotés (*graph. 1*). Chaque point individu sera interprété dans l'ordre d'apparition permettant ainsi de suivre chronologiquement les paramètres responsables de l'évolution. Cette interprétation sera faite par Rongeur et par lot expérimental.

L'ensemble des 8 variables contribuant à la construction des axes 1 et 2 peut se résumer ainsi :

— sur l'axe 1 (abscisse), une évolution de la trajectoire horizontale des points individus vers la gauche sera liée à l'âge, aux protéines totales, à une augmentation des bêta et gamma-globulines ; tandis qu'une évolution vers la droite signifiera une augmentation de l'albumine ;

— sur l'axe 2 (ordonnée), l'évolution verticale sera liée à l'âge, aux augmentations de la fraction alpha-2 globuline et du pourcentage des lymphocytes ; lorsqu'elle se fera vers le bas du graphique ce seront les polynucléaires neutrophiles qui seront concernés.

C — INTERPRÉTATION

1 — ÉVOLUTION DES TRAJECTOIRES MOYENNES DE CHAQUE LOT

. Lot 1 témoin (*graph. 2*) : cette trajectoire résume l'évolution des paramètres de 7 *Proechimys* non infectés et représentant 190 prélèvements. L'ensemble des 29 points constituent cette trajectoire, peut être analysé selon 3 périodes :

— des points 1 à 8 : l'évolution est sensiblement verticale correspondant à une modification de la répartition leucocytaire basée sur les polynucléaires neutrophiles (1 à 4) et les lymphocytes (4 à 8) ainsi qu'une légère augmentation des alpha-2 globulines ;

— des points 8 à 17 : ils suivent l'axe 1 ; ce sont les paramètres de l'électrophorèse qui sont concernés et l'âge, avec diminution de l'albumine et augmentation des bêta et gamma-globulines ;

— des points 17 à 29 : très faible évolution de la trajectoire liée à l'acquisition des lymphocytes, à l'augmentation des alpha-2 globulines et à l'âge. La direction générale de cette trajectoire est presque verticale et se développe essentiellement à droite de l'axe 2.

. Lot 2 (*graph. 3*) : 8 *Proechimys* infectés ont permis d'effectuer 225 prélèvements ; trois périodes peuvent être individualisées :

— des points 1 à 5 : l'évolution est horizontale correspondant à une augmentation des fractions électrophorétiques bêta et gamma corrélativement à une diminution de l'albumine ;

— des points 5 à 18 : la trajectoire évolue sous l'influence de la répartition de la formule leucocytaire, en faveur des lymphocytes, et de l'électrophorèse avec augmentation des fractions alpha-2, bêta et gamma.

— des points 18 à 29 : ce sont les alpha-2 globulines et les lymphocytes qui augmentent ; l'ensemble est lié à l'âge avec, semble-t-il, une composante bêta ou gamma-globuline.

La direction générale de cette trajectoire est nettement plus oblique et décalée à gauche par rapport au lot 1. Elle passe sensiblement par le centre du graphique.

. Lot 3 (*graph. 4*) : 177 prélèvements et 8 Rongeurs réinfectés tout au long de l'expérimentation, ont permis la construction de cette trajectoire. Elle se déroule en 4 périodes :

— des points 1 à 3 : elle évolue vers la gauche parallèlement à l'axe 1. Cette évolution est influencée par l'augmentation des bêta et gamma-globulines ;

— des points 3 à 7 : l'évolution est verticale, très proche de l'axe 2, et liée à l'augmentation des lymphocytes et des alpha-2 globulines ;

— des points 7 à 14 : une importante augmentation des bêta et des gamma-globulines entraîne la trajectoire dans le troisième quadrant. La formule leucocytaire fluctuante est responsable de son instabilité ;

— des points 14 à 29 : la trajectoire s'éloigne de l'axe 2 et évolue presque exclusivement dans le quatrième quadrant ; les paramètres influençant ces déplacements sont : les alpha-2, bêta, gamma-globulines et une certaine instabilité de la formule leucocytaire.

Cette trajectoire moyenne, très décalée vers la gauche du graphique a une direction générale très oblique : c'est, pour ce groupe, que l'augmentation des bêta et gamma-globulines est, en moyenne, la plus forte.

L'ensemble des observations des trajectoires moyennes des 3 lots regroupés dans le *tableau V* montre une modification très précoce de l'électrophorèse chez les *Proechimys* infectés. Le remaniement de la formule leucocytaire observé dans le lot 1, avec acquisition régulière des lymphocytes tout au long de l'expérimentation ne se manifeste dans le lot 2 qu'à partir de la cinquième quinzaine. Dans le lot 3, entre la huitième et la quatorzième quinzaine, l'acquisition lymphocytaire est perturbée par une poussée de polynucléaires neutrophiles.

2 — ÉVOLUTION DES TRAJECTOIRES INDIVIDUELLES

Les graphiques concernant les trajectoires individuelles des lots 1, 2 et 3 (3-20 à 3-42) sont déposés sous le même numéro au MNHN, Paris.

. Lot 1 : chez la plupart des Rongeurs, les évolutions de trajectoires sont situées à droite de l'axe 2 avec une composante âge, et une acquisition d'une formule leucocytaire à lymphocytes. L'inclinaison très légère vers la gauche des trajectoires traduit une évolution physiologique des paramètres liés à l'âge :

— formule leucocytaire avec inversion stable en faveur des lymphocytes ;

— modification de la répartition électrophorétique des fractions protéiques avec augmentation légère vers J145 des bêta et des gamma-globulines, puis vers J285 des alpha-2 globulines.

TABLEAU V. — Analyse en composantes principales :
évolution comparative des trajectoires moyennes de chaque lot de *P. oris*.

Durée d'infestation	1	9	22	36	50	62	78	92	105	119	133	147	161	176	189	204	218	231	246	259	274	288	302	316	330	344	387	
Quinzaine d'étude	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	29	
LOT 1 témoin																												
LOT 2																												
LOT 3																												

Dans ce groupe de 7 *Proechimys*, les rongeurs 1-5 et 1-11 montrent des trajectoires décalées et perturbées par rapport à l'ensemble du lot. Le *Proechimys* 1-5 se caractérise par un graphique décalé vers la gauche faisant intervenir simultanément les paramètres biologiques corrélés aux axes 1 et 2. L'origine pathologique liée à cette dispersion n'est pas expliquée. La trajectoire du *Proechimys* 1-11 est très mouvementée et évolue essentiellement au-dessous de l'axe 1. Elle correspond à d'importantes modifications concernant les fractions bêta et gamma de l'électrophorèse.

. Lot 2 : l'ensemble des *Proechimys* de ce lot développe un groupe de trajectoires évoluant sur l'ensemble de plan examiné, avec un maximum de points individus dans les quadrants I, II et IV. Trois Rongeurs présentent un déplacement important de leur trajectoire dans le quadrant III, montrant ainsi une intervention des paramètres bêta, gamma-globulines et polynucléaires neutrophiles.

. Lot 3 : ce groupe de *Proechimys* constamment réinfectés montre un ensemble de trajectoires mouvementées. Les points individus sont dispersés sur l'ensemble du plan et la grande instabilité des paramètres biologiques retenus se traduit par de longues distances entre 2 points consécutifs. Parmi les 8 rongeurs concernés, 2 sont morts prématurément à la 10^e et 13^e quinzaine d'étude (*P. oris* : 3-5 à J132 et 3-2 à J175) et 2 plus tardivement à la 22^e et 23^e quinzaine (*P. oris* : 3-7 à J297 et 3-1 à J315).

Les trajectoires des animaux 3-1, 3-2, 3-3, 3-4 et 3-7 évoluent essentiellement dans le quadrant III, montrant ainsi une liaison avec les perturbations électrophorétiques centrées sur les bêta et les gamma-globulines. Le *P. oris* 3-6 présente un graphique superposable à ceux observés dans le lot 2 ainsi qu'à celui du *P. oris* 3-8 malgré une évolution de la 8^e à la 14^e quinzaine dans le quadrant III.

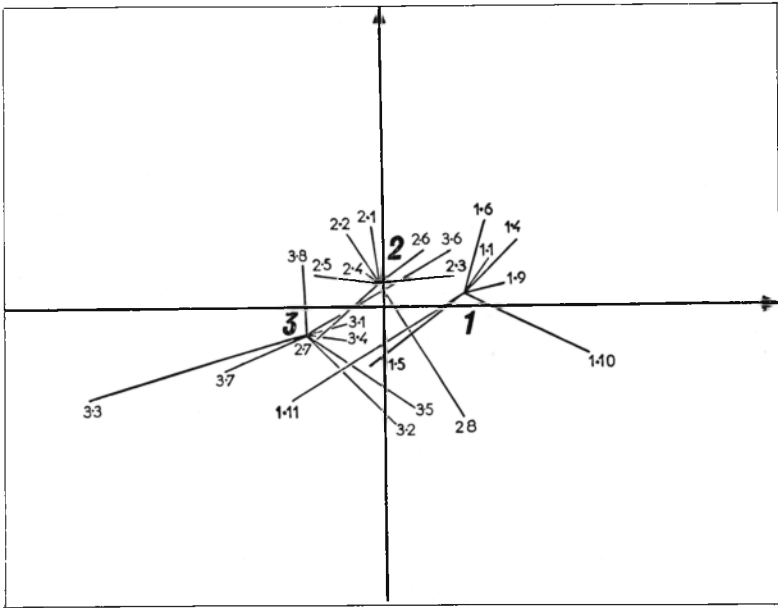
La mortalité de ce groupe est significativement différente par rapport au lot 2 (Chi carré).

3 — CENTRES DE GRAVITÉ DES 3 LOTS

Dans le système orthonormé étudié, chaque *Proechimys* peut être représenté par un point moyen. Ce point est l'équivalent d'un centre de gravité et sa représentation graphique permet de visualiser la position de chaque animal (*graph. 5*).

L'examen des centres de gravité des animaux du lot 1 confirme l'hétérogénéité du groupe due à la présence des *Proechimys* 1-5 et 1-11. L'élimination de ces deux animaux n'apporte que peu de modification dans le déroulement de la trajectoire moyenne et déplace légèrement vers la gauche le centre de gravité du lot.

Des 8 *Proechimys* formant le lot 2, deux ont un centre de gravité dans le quadrant I (2-3 et 2-6), un dans le quadrant II (2-8), un dans le quadrant III (2-7) et quatre dans le quadrant IV (2-1, 2-2, 2-4, 2-5). La présence du point représentant l'animal 2-8 dans le quadrant II traduit la faible variabilité de l'ensemble des 13 paramètres étudiés. Le *graphique 3-34*, montre une légère évolution de la trajectoire sous l'influence des bêta et gamma-globulines à partir de la 17^e quinzaine.



GRAPHIQUE 5. — Analyse en composantes principales : centres de gravité individuels et des 3 lots de *P. oris*.

Autour du centre de gravité du lot 3, les *Proechimys* sont très dispersés. Malgré cette dispersion, quatre Rongeurs présentent leur centre de gravité dans le quadrant III. Le graphique 5 nous montre également les proximités existantes entre les animaux des trois groupes. Après s'être assuré que le voisinage des points ne résultait pas de la projection dans le plan, nous constatons un certain nombre de rapprochement :

- le *P. oris* 3-6 est très proche des *P. oris* 2-3 et 2-6 et possède donc des affinités avec le lot 2,
- les *P. oris* 2-5 et 2-7 sont proches du *P. oris* 3-8 et du centre de gravité du lot 3.

L'observation des trajectoires des 3 lots nous révèle l'existence de manifestations biologiques plus ou moins aiguës. La durée des perturbations enregistrées a certainement eu pour origine des lésions organiques.

Le tableau I regroupant les microfilarémies et le nombre d'adultes retrouvées lors de l'autopsie semblent confirmer le rapprochement des profils biologiques observés sur le graphique 5. En effet les *Proechimys* 2-3 et 2-6 ont une microfilarémie précocement négative et le *P. oris* 3-6 approche ce profil bien que les mf disparaissent plus tardivement. Pour le 2^e groupe de Rongeurs (2-5, 2-7, 3-8) la présence d'adultes vivants des deux sexes, lors de l'autopsie et une microfilarémie

toujours positive sont les éléments constants chez ces 3 animaux. Une valeur de l'ordre de 0,100 est observée lors de la recherche des I. C. circulants chez les *P. oris* 2-5 et 2-7 (tableau II).

D — CONCLUSION

Trois méthodes de représentation graphiques ont été utilisées pour traduire des résultats de l'A. C. P. ; les trajectoires individuelles des Rongeurs permettent de visualiser chaque quinzaine de prélèvement traduisant ainsi l'état de santé de chaque *Proechimys*. Pour le lot témoin cette visualisation permet la recherche des animaux atteints d'affections intercurrentes et déterminer l'évolution physiologique des paramètres biologiques retenus chez *Proechimys oris*. Dans les lots de Rongeurs infectés l'analyse des trajectoires traduit les réactions individuelles au parasitisme avec peut-être une composante sous la dépendance d'affections intercurrentes méconnues. Pour un *P. oris* donné, les grands déplacements des points individus signalent une réaction importante de l'organisme parasité. Le lot 3 se différencie par une très nette instabilité des trajectoires et des évolutions situées dans les quadrants III et IV. Un premier essai de rapprochement de certains animaux infectés a été tenté mais il est nécessaire de rechercher, par l'analyse qualitative si la nature ou l'importance des lésions histologiques observées a une incidence sur l'évolution des trajectoires.

*La deuxième partie de cet article
ainsi que la bibliographie paraîtront dans
un prochain numéro des Annales.*
