

MEMOIRES ET TRAVAUX ORIGINAUX

LES BILHARZIOSES ; DEUXIEME PARTIE

LA SCHISTOSOMIASE EXPERIMENTALE
A *SCHISTOSOMA MANSONI* CHEZ LE SINGE
ERYTHROCEBUS PATAS

par

B. SELLIN (1), E. SIMONKOVICH (2) et L. OVAZZA (2)

SUMMARY

Schistosoma mansoni EXPERIMENTAL SCHISTOSOMIASIS
IN *Erythrocebus patas* MONKEYS

A number of *Erythrocebus patas* monkeys have been experimentally infected only once, with *Schistosoma mansoni* local strain. The various parasitological, biological and immunological observations show that *E. patas* is a very adequate host to *Schistosoma mansoni* and that it develops an intestinal schistosomiasis parasitologically very close to human schistosomiasis. It is noted that in this case of single infection *E. patas* reactions are the same as the other species generally used in the experiments on *S. mansoni*.

I. - INTRODUCTION

Différentes espèces de singes ont été utilisées pour des études sur *Schistosoma mansoni*, mais *Erythrocebus patas* (SCHREBER, 1775) n'a servi à notre connaissance que pour des recherches sur *Schistosoma*

haematobium et *Schistosoma intercalatum* (KUNTZ et coll., 1975, 1978).

Ces auteurs notent :

— dans le cas d'infection à *S. haematobium*, une susceptibilité moyenne de ce singe à l'infection et un potentiel modéré pour les complications pathologiques du système uro-génital ;

— dans le cas d'infection à *S. intercalatum*, l'absence de pathologie extensive contrairement aux autres primates non-humains.

La seule observation sur *S. mansoni* chez ce singe est celle de KUNTZ (1977) sur un *E. patas* naturellement infecté provenant de Kano (Nigeria).

Dans nos recherches, *E. patas* est utilisé essentiellement pour des essais thérapeutiques sur la schistosomiase à *S. mansoni*. Au cours de ces essais, quelques observations parasitologiques, biologiques, immunologiques et cliniques ont pu être effectuées sur des singes n'ayant subi qu'une seule infection.

(1) Parasitologiste, laboratoire des schistosomiasis du Centre MURAZ, O.C.C.G.E., B.P. 153, Bobo-Dioulasso, Haute-Volta, Mission O.R.S.T.O.M. auprès de l'O.C.C.G.E., B.P. 1971, Bobo-Dioulasso, Haute-Volta.
(2) Technicien de l'O.R.S.T.O.M.

23 JUIN 1981

MEDECINE TROPICALE - Volume 40 - N° 3 - Mai-Juin 1980

O. R. S. T. O. M. Fonds Documentaire

N° : 87/80/00441

Cote : B en 1

24 DEC. 1980

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 10.145 Ent. Med.

II. - MATERIEL ET METHODES

Cent trente-six singes capturés dans la région de Bobo-Dioulasso ont été infectés expérimentalement par la souche locale de *S. mansoni*. Cette dernière est entretenue au laboratoire sur *E. patas* et *Biomphalaria pfeifferi*.

Un contrôle parasitologique et immunologique (immunofluorescence) des animaux est effectué avant l'infection expérimentale pour vérifier l'absence d'infection naturelle.

L'infection est réalisée par une application de 45 minutes, sur la peau rasée de l'abdomen, d'un cylindre de 7 cm² de section, rempli d'eau contenant les cercaires (250 à 2.000 suivant les expériences).

Un contrôle de l'émission des œufs dans les selles est effectué tous les deux jours à partir du 30^e jour d'infection. Les selles sont enrichies par la méthode de Hawgood et Ridley (1956).

A l'autopsie, une exsanguino-perfusion est réalisée, provoquant le drainage d'une partie des vers du foie. Les vers restant dans cet organe ainsi que ceux situés dans les veines mésentériques sont ensuite récupérés par dissection.

Les œufs sont recherchés au microscope dans les tissus préalablement écrasés entre deux lames de verre.

Les anticorps dirigés contre *S. mansoni* sont détectés par la méthode d'immunofluorescence indirecte sur broyat de *Schistosoma mansoni*.

Des prises de sang sont effectuées tous les quinze jours par ponction veineuse au niveau de la cuisse. Le sérum recueilli est conservé au congélateur, puis lyophilisé en vue de divers contrôles sérologiques ultérieurs.

Deux examens biologiques sont effectués : recherche du taux des transaminases et hémogramme.

Le contrôle clinique est quotidien.

III. - RESULTATS

Observations parasitologiques

Tous les sujets se sont montrés réceptifs et chaque tentative d'infection a été suivie du développement de vers adultes qui ont ensuite émis des œufs. Il apparaît que le rapport entre le nombre d'œufs émis par gramme de selles est plus élevé chez les jeunes singes d'un poids inférieur à 3.500 g que chez les singes adultes d'un poids moyen de 5.000 g. C'est ainsi que pour 15 singes de poids moyen 2.600 g \pm 270, la moyenne des cercaires appliquées étant de

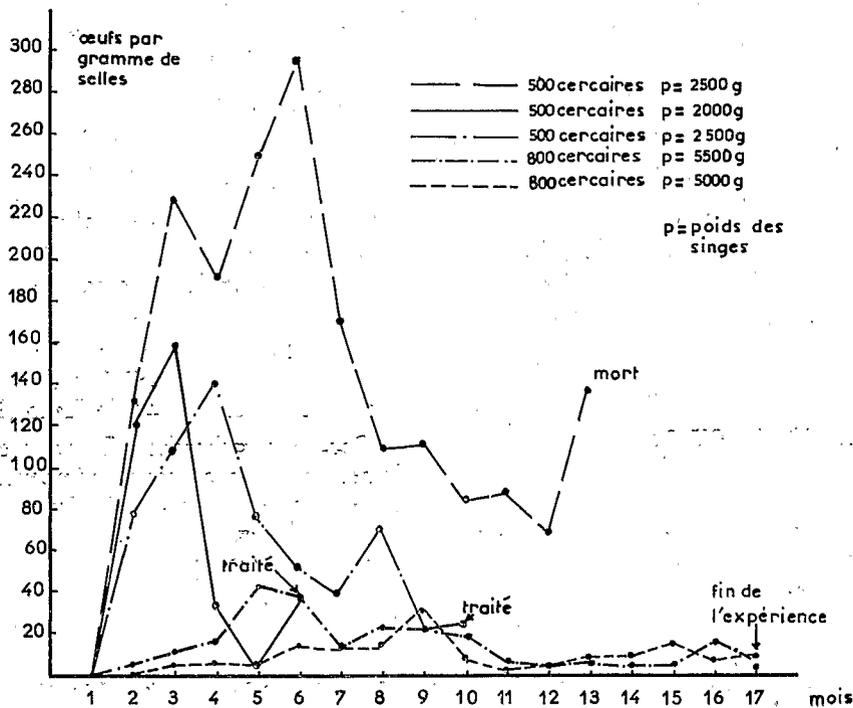


Fig. 1. Emission des œufs de *Schistosoma mansoni* dans les selles de singes *Erythrocebus patas*

447 ± 157, la moyenne des œufs émis par gramme de selles est de 157 ± 79. Par contre, pour 7 singes de poids moyen 5.180 ± 344 g avec une moyenne de cercaires appliquées de 700 ± 90, la moyenne des œufs n'est que de 25,05 ± 19,54.

Le rendement moyen pour 15 singes, exprimé par le pourcentage de cercaires appliquées sur l'hôte et devenant adultes est de 61,4 p. 100.

Le sex-ratio des vers adultes calculé chez 23 singes est égal à : 1,36 (57,71 p. 100 pour les mâles et 42,28 p. 100 pour les femelles) ($X^2 = 224,54,54$, d.d.l. = 1, $\alpha = 0,05$, H.S.).

Un contrôle effectué chez 20 singes a montré que les premiers œufs apparaissent dans les selles entre le 35^e et le 50^e jour d'infection (cette dernière valeur se rencontre chez les singes peu infectés).

Après l'apparition des premiers œufs, l'émission augmente pour atteindre son maximum entre le 3^e et le 6^e mois d'infection, puis elle diminue et reste à un niveau constant (fig. 1). Des singes observés pendant 17 mois n'ont montré aucun arrêt spontané de la ponte.

Les vers adultes recherchés au cours de l'autopsie sont localisés au niveau du foie, de la veine porte et des veines mésentériques (tableau I). Dans le cas d'infection massive, ils sont mis en évidence en faible quantité dans les poumons, les ganglions mésentériques, la rate et au niveau de l'estomac.

Les œufs sont répartis principalement au niveau du tractus intestinal (2.335/g ± 1.103 au niveau de

l'intestin grêle, 3.350 /g ± 2.140 au niveau du gros intestin), et du foie (298/g ± 165). Ces moyennes ont été établies chez 8 singes.

TABLEAU I

Distribution des vers adultes au niveau de la veine porte, du foie et des veines mésentériques (total chez 20 singes)

| | Mâles | Femelles | Total |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|
| Veine porte et foie | 4.886 39,60 % | 4.135 33,53 % | 9.021 73,13 % |
| Veines mésentériques | | | |
| Gros intestin | 1.308 10,60 % | 863 6,99 % | 2.171 17,59 % |
| Intestin grêle | 719 5,83 % | 425 3,45 % | 1.144 9,28 % |

Observations biologiques

Hémogrammes (tableau II).

Les hémogrammes montrent que les valeurs trouvées chez les singes sains sont comparables à celles que l'on rencontre chez l'homme.

Chez les singes infectés on note :

— une baisse significative du nombre des globules rouges à partir du 40^e jour d'infection. Chez 46 singes sains, la moyenne de ces globules par mm³ de

TABLEAU II

Résultats des hémogrammes
(nombre d'éléments figurés par mm³)

| | Globules rouges | Globules blancs | Neutrophiles | Eosinophiles | Basophiles | Lymphocytes | Monocytes |
|--------------------------------------|------------------------|------------------|----------------------------------------|----------------------------------|-------------|-------------------------------------|-------------------------------------|
| Singes sains | 4.695.000 ± 145.000 | 7.154 ± 758 | 2.853 ± 569 39,88 ± 4,82 % | 129 ± 37 1,80 ± 0,55 % | 7 0,09 % | 3.349 ± 563 46,81 ± 6,15 % | 816 ± 285 11,42 ± 4,27 % |
| Singes infectés moins de 40 jours | 4.297.000 ± 312.000 | 5.026 ± 1.614 | 2.399 ± 1.273 47,73 ± 14,85 % | 255 ± 187 5,07 ± 2,91 % | 0 | 1.363 ± 777 27,12 ± 9,88 % | 1.009 ± 351 20,08 ± 7,25 % |
| entre 40 et 90 jours | 3.732.000 ± 486.483 | 9.455 ± 1.212 | 4.985 ± 1.083 52,72 ± 7,57 % | 576 ± 188 6,09 ± 2,48 % | 7 0,08 % | 2.946 ± 631 31,16 ± 7,64 % | 941 ± 386 9,95 ± 4,62 % |
| plus de 90 jours | 3.108.000 ± 409.082 | 7.531 ± 1.268 | 4.145 ± 867 55,04 ± 7,11 % | 603 ± 227 8,01 ± 2,45 % | 4 0,06 % | 2.532 ± 719 33,62 ± 5,41 % | 247 ± 110 3,27 ± 1,80 % |

sang est de $4.695.000 \pm 145.222$. Elle tombe à $3.732.000 \pm 486.483$ au 40^e jour après l'infection ($t = 3,49$, d.d.l. = 56, $\alpha = 0,05$, S.). Au-delà de 90 jours, elle descend à $3.108.000 \pm 409.082$. Le chiffre extrême de 1.160.000 a été relevé ;

— une augmentation significative des éosinophiles entre le 16^e et le 40^e jour de l'infection ($t = 2,10$, d.d.l. = 53, $\alpha = 0,05$). Cette différence s'accroît au-delà de 40 jours (entre 40 et 90 jours, $t = 6,13$, d.d.l. = 67, $\alpha = 0,05$ et au-delà de 90 jours, $t = 6,07$, d.d.l. = 62, $\alpha = 0,05$) ;

— que les nombres absolus des autres polynucléaires, des lymphocytes et des monocytes ne varient pas dans des proportions importantes. Si l'on compare ces nombres à ceux que l'on rencontre chez l'homme, ils s'inscrivent tous dans la normale.

Cependant, par rapport à ce que l'on observe chez le singe sain, des différences significatives apparaissent — au niveau des neutrophiles dans le sens d'une augmentation au-delà des 40 premiers jours d'infection (entre 40 et 90 jours, $t = 3,77$, d.d.l. = 67, $\alpha = 0,05$, au-delà de 90 jours, $t = 2,44$, d.d.l. = 61, $\alpha = 0,05$) — au niveau des monocytes dans le sens d'une baisse chez les singes infectés depuis plus de 90 jours ($t = 2,34$, d.d.l. = 61, $\alpha = 0,05$).

Transaminases

Aucune augmentation des transaminases (S.G.P.T. et S.G.O.T.) n'est constatée. Chez les singes sains, des moyennes de 118 ± 18 unités Frankel-Reitman pour les S.G.O.T. et 52 ± 6 pour les S.G.P.T. sont trouvées contre respectivement 106 ± 19 et 40 ± 10 chez les singes infectés.

Observations immunologiques

L'étude par immunofluorescence indirecte montre l'apparition d'anticorps entre le 45^e et le 60^e jour après l'infection. A partir du 60^e jour, les anticorps peuvent être encore décelés à la dilution du 1/1.260^e.

Observations cliniques

Les symptômes cliniques sont d'autant plus accusés que l'infection est forte. Ils se traduisent par des selles glaireuses et fréquemment sanglantes et une détérioration de l'état général (amaigrissement, perte de l'appétit, somnolence, baisse de l'activité).

IV. - DISCUSSION

De la comparaison des résultats obtenus chez le singe *E. patas* d'une part, et chez les autres singes d'autre part (*Macaca mulatta*, *Cercopithecus aethiops*, *Cercopithecus sabaeus*, *Papio anubis*, *Pan troglodytes* et *Cebus appella*), se dégagent les faits suivants :

Si l'on se réfère à l'étude de la cinétique de l'émission des œufs alors que les singes n'ont été soumis qu'à une seule infection, le singe *E. patas* paraît répondre à l'infection d'une manière analogue à celle du singe rhesus, *M. mulatta* (MEISENHELDER et THOMPSON, 1963). Nos travaux en cours montrent cependant que *E. patas* ne développe pas de résistance à la réinfection comme le fait le singe rhesus. Nous n'avons pas vérifié si le singe *E. patas* rejette une partie des vers lors de grosses infections comme le rhesus (CHEEVER et POWERS, 1972). Ces auteurs considèrent le nombre de 600 furcocercaires comme une grosse infection.

— *E. patas* montre de grandes similitudes avec le cercopithèque, *C. aethiops* et *C. sabaeus* (CHEEVER et DUVALL, 1974 ; OBUYU, 1972 ; RITCHIE, 1967). L'apparition des œufs, l'augmentation de leur émission vers le 5^e mois puis leur stabilisation sont similaires ; de même la répartition des vers et des œufs dans l'organisme, les symptômes cliniques et les lésions au niveau de l'intestin. Par contre, chez le cercopithèque, l'éosinophilie est plus accentuée ; on note en effet chez ce singe la présence d'une forte augmentation des éosinophiles vers la dixième semaine, augmentation qui semble bien moins nette chez *E. patas* ;

— le sex-ratio est plus fortement dévié en faveur des mâles ;

— enfin, les lésions macroscopiques au niveau du foie sont plus importantes. Il faut cependant noter que les observations chez le cercopithèque ont été faites chez un animal infecté depuis 31 mois, durée d'infection jamais atteinte chez *E. patas* ;

— le babouin *P. anubis* réagit à *S. mansoni* de façon voisine de celle de *E. patas* (DAMAIN et coll., 1976). Le moment d'apparition des œufs dans les selles, la cinétique de l'émission des œufs, le rendement de l'infection, les lésions au niveau de l'intestin sont très voisins. Mais la différence entre le nombre d'œufs trouvés dans le gros intestin et l'intestin grêle est plus importante (cette différence étant en faveur des œufs trouvés dans le gros intestin). Les symptômes cliniques sont moins accentués ;

— chez le chimpanzé *P. troglodytes* (SADUN, 1970), des similitudes se rencontrent au niveau du sex-ratio des vers adultes et des taux des transaminases. Par contre, le rendement des infections y est

inférieur. Les vers sont rencontrés avec une plus grande fréquence dans les veines mésentériques et les œufs sont nettement plus abondants dans le gros intestin. Les anticorps décelés par immunofluorescence apparaissent plus tardivement (4 à 5 mois chez le chimpanzé, 60 à 80 jours chez *E. patas*). Les lésions hépatiques y sont plus accentuées. Il faut remarquer comme pour le cercopithèque que les observations ont été faites chez un animal parasité depuis 31 mois.

L'évolution parasitologique de la bilharziose intestinale chez *E. patas* et chez *Cebus apella* sont très voisines. On retrouve des courbes d'émission des œufs tout à fait analogues (BORDA et coll., 1972 ; DA SILVA, 1969).

V. - CONCLUSION

L'étude de la schistosomiase intestinale chez le singe *E. patas* montre que ce dernier réagit à *S. mansoni* de façon analogue aux autres singes. Ces observations montrent que parasitologiquement, la bilharziose qu'il développe est proche de celle de l'homme.

Des recherches complémentaires devraient permettre de confirmer ou d'infirmer cette similitude dans d'autres domaines.

De même, il paraît intéressant d'étudier le modèle *E. patas* - *S. haematobium*. Pour notre part, nous avons commencé cette étude et il semblerait que chez cet animal, la schistosomiase urinaire se manifeste autrement que chez l'homme.

Quoi qu'il en soit, *E. patas* constitue un excellent modèle expérimental pour les recherches sur les schistosomiasés et en particulier pour les essais thérapeutiques.

RÉSUMÉ

Des singes *Erythrocebus patas* ont été infectés par la souche locale de *Schistosoma mansoni*. Les animaux n'ont été soumis qu'à une seule infection. Les diverses observations parasitologiques, biologiques et immunologiques effectuées montrent que *E. patas* est un excellent hôte pour *Schistosoma mansoni*, qu'il développe une schistosomiase intestinale parasitologiquement voisine de celle de l'homme, que dans le cas d'une seule infection il réagit de façon analogue aux autres espèces de singes habituellement employées dans les études expérimentales sur *S. mansoni*.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 — BORDA C.E., PELLEGRINO J. et MESCHESI H.D. — Eliminacion de huevos de *Schistosoma mansoni* por *Cebus apella* macrocephalus infectados experimentalmente — *Revta. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 1972, 14, 2, 91-96.
- 2 — CHEEVER A.W. et DUVALL R.H. — Single and repeated infections of grivet monkeys with *Schistosoma mansoni*: parasitological and pathological observations over a 31 months period — *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1974, 23, 5, 884-894.
- 3 — CHEEVER A.W. et POWERS K.G. — *Schistosoma mansoni* infection in rhesus monkeys: comparison of the course of heavy and light infections — *Bull. Org. mond. Santé*, 1972, 46, 3, 301-309.
- 4 — DAMIAN R.T., GREENE N.D., MEYER K.F., CHEEVER A.W., HUBBARD W.J., HAWES M.E. et CLARK J.D. — *Schistosoma mansoni* in baboons. III. The course and characteristics of infection, and additional observations on immunity — *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1976, 25, 2, 299-306.
- 5 — DA SILVA L.C. — Follow up studies *Cebus apella* exposed to heavy infections with *Schistosoma mansoni* — *Revta. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 1969, 11, 5, 309-310.
- 6 — KUNTZ R.E., HUANG T.C. et MOORE J.A. — Experimental schistosomiasis haematobia in bushbaby (*Galago crassicaudatus*), patas (*Erythrocebus patas*) and grivet (*Cercopithecus aethiops*) — *J. med. Primatol.*, 1975, 4, 154-164.
- 7 — KUNTZ R.E., HUANG T.C. et MOORE J.A. — Patas monkey (*Erythrocebus patas*) naturally infected with *Schistosoma mansoni* — *J. Parasit.*, 1977, 63, 1, 166-167.
- 8 — KUNTZ R.E., McCULLOUGH B., HUANG T.C. et MOORE J.A. — *Schistosoma intercalatum* Fischer, 1934 (Cameroon) infection in the patas monkey (*Erythrocebus patas* Schreber, 1775) — *Int. J. Parasit.*, 1978, 8, 1, 65-68.
- 9 — MEISENHOLDER J.E. et THOMPSON P.E. — Comparative observations on experimental *Schistosoma mansoni* infections in african green and rhesus monkeys — *J. Parasit.*, 1963, 49, 567-570.
- 10 — OBUYU C.K.A. — Experimental *Schistosoma mansoni* infections in vervet monkeys (*Cercopithecus aethiops centralis*) — *Ann. trop. Med. Parasitol.*, 1972, 66, 1, 83-88.
- 11 — RIDLEY D.S. et HAWGOOD B.C. — The value of formal-ether-concentration of foecal cysts and ova — *J. Clin. Path.*, 1956, 9, 1, 74-76.
- 12 — RITCHIE L.S., KNIGHT W.B., OLIVER-GONZALEZ J., FRICK L.P., MORRIS J.M. et CROKER W.L. — *Schistosoma mansoni* infections in *Cercopithecus sabaeus* monkeys — *J. Parasitol.*, 1967, 53, 6, 1217-1224.
- 13 — SADUN E.H., VON LICHTENBERG F., CHEEVER A.W. et ERICKSON D.G. — Schistosomiasis *mansoni* in the chimpanzee. The natural history of chronic infections after single and multiple exposures — *Amer. J. trop. Med. Hyg.*, 1970, 19, 2, 258-277.