

RAPPORT D'EXPERIMENTATION

du 11.0761/001 ROCHE

Collette (J.) Sellin (B.)  
1975

Cette expérimentation animale s'est déroulée du 11 Mars au 17 Avril 1975. Elle a porté sur un total de 13 singes.

1 - PROTOCOLE

1. 1/= Espèce choisie : Erythrocebus patas.

1. 2/= Modalités :

1. 2-1 : Répartition :

- Les 3 lots expérimentaux ont été répartis comme suit :
- animaux infestés traités (IT) 2 mâles, 2 femelles
  - animaux infestés non traités (INT) 2 mâles, 2 femelles
  - animaux sains témoins (T) : 5

1.2-2 Infestation : (Io)

Les singes ont été infestés par des furcocercaires (souche africaine-hôte intermédiaire : Biomphalaria Pfeifferi). Le procédé fut classique, transcutané, sur peau non rasée, pendant 45 minutes.

Les animaux infestés traités reçurent environ 500 furcocercaires, et les infestés non traités 250 environ.

1.2-3 Thérapeutique :

le 11.076/001 Roche fut administré à la dose quotidienne de 100 mg de poudre par kilogramme de poids corporel. Incorporée dans une demi-banane, la drogue fut donnée régulièrement pendant 5 jours à heure fixe selon le calendrier suivant :

au 8e jour d'infestation	(I 8)	pour l'animal n° 2
au 15e	" (I 15)	" n° 4
au 30e	" (I 30)	" n° 7
au 45e	" (I 45)	" n° 8

1.2-4 Surveillance

Elle fut clinique, parasitologique et biologique.

1.2-4. 1 = Avant l'infestation

Tous les animaux ont subi

- une pesée
- un examen quotidien pour noter :
  - appétance
  - activité
  - comportement
  - aspects des selles et des urines

31 MARS 1977

O. R. S. I. O. M.

Collection de Référence

n° 8568 *Parasit*  
Ent. Red. 63

- une recherche d'anticorps immunofluorescents utilisant comme antigènes : S. mansoni - F. falciparum et S. labi-  
topapillosa)

- enfin un hémogramme

1.2- 4. 2 Après l'infestation, pendant le traitement jusqu'à l'autop-  
sie.

Les animaux durant cette période ont subi la même série  
d'examens (à l'exclusion des techniques serologiques visant au dia-  
gnostic de l'onchocercose et du paludisme).

A partir du 30e jour d'infestation furent pratiqués des  
examens de selles pour rechercher les oeufs de S. mansoni selon  
3 techniques :

- la méthode directe (3 lames examinées)
- la méthode de KATO (2 lames examinées)
- la méthode de HAWGOOD (4 lames examinées).

Des tests de viabilité ont été pratiqués lorsque l'examen  
parasitologique des selles était positif.

La mesure du Ph. urinaire a été effectuée ainsi que la  
recherche de la protéinurie, glycosurie, hématurie et des pigments  
biliaires. ont été recherchées.

1.2 - 4. 3 Le jour du sacrifice, les singes IT ont subi :

- une pesée
- un hémogramme
- une recherche d'anticorps  
immunofluorescents contre S. mansoni

Des fragments de :

Différents viscères furent prélevés (intestin grêle - gros  
intestin - foie - rate - rein).

Le feuillet péritonéal mésentérique fut distiqué et préle-  
vé en totalité.

Ces prélèvements sont actuellement traités pour études  
histopathologiques classiques (Hemalum - Eosine Safran) et par les  
techniques immunologiques (immunofluorescence).

Les vers adultes ont été décomptés dans le sang <sup>portal</sup> après aspi-  
ration à la seringue, et dans toutes les veines mésentériques par  
transparence.

Les oeufs ont été mis en évidence au niveau du foie, du  
gros intestin et de l'intestin grêle après écrasement de quelques  
fragments de ces organes.

Le même jour, les infestés non traités ont subi une pesée  
un hémogramme ; une réaction sérologique pour mettre en évidence  
les anticorps fluorescents a été pratiquée.

## 2 - RESULTATS :

### 2 - 1 absorption de la drogue :

Il n'y eut jamais de problème lors de l'ingestion de la drogue par les  
animaux . L'observation contrôlée de l'ingestion permet d'assurer que les  
doses prescrites ont bien été absorbées par les animaux infestés traités. Seule  
une certaine méfiance vis à vis du produit est apparue vers les 4e jours de  
traitement.

2. 2 - Poids corporel : (cf tableau suivant)

Catégories	Pesée initiale	Pesée le jour de l'autopsie des IT
Temoin	3,5 kg	4 kg
IT		
2	2	2
4	1,7	1,8
7	2,1	2
8	3,7	4,1
INT		
3	2,7	2
5	1,7	2
6	1,5	DCD Ankylostomiase.
9	2,5	2,5

La moyenne des poids corporels entre la pesée initiale et terminale est comprise entre 2,3 et 2,4 pour IT et 2,2 et 2,1 pour les INT.

2. 3 - Examen clinique quotidien :

L'appétance, l'activité, le comportement sont restés stables et identiques dans les 3 lots d'animaux avant thérapeutiques, pendant le traitement et pendant la période ayant succédé à la prise du produit testé.

Il y a lieu de signaler que 2 animaux parmi les traités ont présenté une pigmentation dorée du pelage. (voir examen d'urine : 2.3.2). Pour l'ensemble des animaux la température rectale fut de  $39^{\circ} 3 \pm 0^{\circ} 7$ .

2. 4 - Examens biologiques

La non-connaissance des normes biologiques d'Erythrocybus patas nous a conduits à multiplier certains examens biologiques en particulier les hémogrammes.

2. 4 -1 = Hémogrammes (sur sang veineux)

Les tableaux 2, 3, 4 expriment les résultats des numérations-formules pratiquées chez les animaux pendant l'expérimentation à intervalles différents chez les 5 témoins (n° 2). Par contre les résultats des tableaux 3 et 4 sont situés par rapport au 1er jour d'infestation.

2. 4 -2 = Examens d'urine :

Ils ont tous été pratiqués après traitement chez les infestés traités. Chez les INT et les témoins l'intervalle entre les examens d'urine fut variable.

- Aspect macroscopique

Il est apparu 2 fois chez les traités des urines "Jaune d'or" vers le 4e jour de traitement expliquant la coloration du pelage en jaune.

- Résultat des analyses par bandelettes-réactives (Ames)

Hemaconbistix  
Urobilistix.

Les recherches d'hématurie, de glycosurie et des pigments biliaires sont restées constamment négatives. Dans les 3 lots d'animaux le ph. urinaire est resté basique (entre 8 et 9).

Une protéinurie (de traces à 2+) est apparue chez les infestés traités, infestés non traités et même chez les témoins.

2. 4- 3 = Examens parasitologiques des selles

Le tableau n° 5 résume ces résultats.

2. 4 -4 = Mises en évidence des anticorps immunofluorescents

Avant le début de l'expérimentation tous les animaux se sont révélés être non porteurs d'anticorps immunofluorescents vis à vis de Schistosoma mansoni, Plasmodium falciparum et S. labiatopapillosa.

Les résultats des réactions d'immunofluorescence indirecte pratiquées au cours de l'expérimentation figurent dans les deux tableaux suivants :

2.4- 4 = 1 Animaux infestés non traités

N°s	Dilution du sérum	I/20	I/40	I/80	I/160	I/320	I/640
3	Avant infestation	-	-	-	-	-	-
	14 <sup>e</sup> J après	-	-	-	-	-	-
	45e J après	+	+	+	+	+	+
	60e J après	+	+	+	+	+	+
5	Avant infestation	+	-	-	-	-	-
	13 J après	-	-	-	-	-	-
	45 J "	-	-	-	-	-	-
	60 J "	+	+	+	-	-	-
9	Avant infestation	-	-	-	-	-	-
	16 <sup>e</sup> J après	-	-	-	-	-	-
	30 <sup>e</sup> J après	-	-	-	-	-	-
	60 <sup>e</sup> J après	+	+	-	-	-	-

2. 4- 4 2 Animaux infestés traités

2	Avant infestation	+	-	-	-	-	-
	10 J après	-	-	-	-	-	-
	30 J après	-	-	-	-	-	-
	60 J après	+	+	+	+	-	-
4	Avant infestation	-	-	-	-	-	-
	10 J après	-	-	-	-	-	-
	21 J après	-	-	-	-	-	-
	60 J après	-	-	-	-	-	-
7	Avant infestation	-	-	-	-	-	-
	10 J après	-	-	-	-	-	-
	45 J après	-	-	-	-	-	-
	60 J après	-	-	-	-	-	-
8	Avant infestation	+	-	-	-	-	-
	10 J après	-	-	-	-	-	-
	30 J après	-	-	-	-	-	-
	35 J après	-	-	-	-	-	-
	60 J après	+	-	-	-	-	-

2. 4- 5 Données recueillies au cours de l'autopsie

Les prélèvements pratiqués pour l'étude histopathologique sont en cours de traitement. Il en est de même pour les prélèvements destinés à l'étude immunologique par immunofluorescence sur coupes d'organes.

2. 4- 5 1 = Poids des organes éviscérés

Singes	n° 2	4	7	8
Poids	2 kg	1,8 kg	2 kg	4,1 kg
Foie	64,25 g	65,0 g	73,3 g	80 g
Rate	4,25 g	4,81 g	4,70 g	4,20 g
Reins	4,05 g	4,10 g	4,20 g	3,7 g

2. 4- 5 2 Données macroscopiques

Singe n°2 = 54 J après le début du traitement granulations hémorragiques sur les anses intestinales - non hémorragiques sur le péritoine.

Singe n° 4 = 45 J après le début du traitement. Petite ascite.

granulations blanchâtres sur les lobes hépatiques sur le péritoine ; volumineuses sur la rate.

Singe n° 7 = 30e jour après le début du traitement

Petite lame d'ascite

Petites granulations sur le péritoine et sur le foie.

Singe n° 8 = kyste hépatique de la taille d'une noisette sinon RAS.

2. - 4. 5 - 3 : Recherches des vers adultes et des oeufs chez les animaux infestés traités sacrifiés.

Ces résultats figurent dans le tableau suivant

singes	Présence d'oeufs			Présence de vers adultes		
	foie	gros intestin	intestin grêle	veines mésentériques		
		intestin	grêle	gros intestin	intestin grêle	veine porte
2	+	+		20 mâles 15 femelles	0	72 mâles 11 femelles
4	+	+		1 mâle 1 femelle	0	18 femelles 9 immatures
7	+	+	+	88 mâles 52 femelles		131 mâles 27 immatures
8	0	0	0	0	0	2 mâles 1 femelle

2. 4 -6 = Dosage des transaminases hépatiques \*

	n°	T G P	T G O
		Témoins	1
	10	80	180
	2	62	180
	4	87	195
I T	7	72	175
	8	47	92
I N T	3	47	92
	9	40	120

\* Nous remercions le Pharmacien de l'Hôpital de BOBO-DIOULASSO (GILLET J.P) qui a bien voulu effectuer ces dosages.

### 3/ = DISCUSSIONS =

L'administration du 11 0761 /001 ROCHE n'a jamais posé de problème. Les doses prescrites ont effectivement été ingérées par les animaux.

De cette expérimentation se dégagent un certain nombre de faits :

#### 3. 1 - Tolérance :

la tolérance cliniquement appréciable est parfaite. Il semble en être de même sur le plan de la biologie. Seules restent à élucider les proteinurie détectées, il est vrai par les bandelettes - réactives. Les ponctions sus-pubiennes pré-nécropsique pour recueil de l'urine n'ont pas permis des prélèvements d'échantillons suffisants pour contrôler les proteinuries par des méthodes plus fidèles.

Si l'on admet que les transaminases représentent un témoin fidèle de lyse hépatocellulaire, traduisant une hépatotoxicité, on constate que le 11. 0761 /001 Roche est bien toléré par le parenchyme hépatique fragilisé à priori par la parasitose.

#### 3. 2 - Résistance à l'infestation :

E. patas paraît être une espèce animale particulièrement résistante à S. mansoni si l'on se réfère à la durée de l'infestation, aux doses d'infestation initiales utilisées dans cette expérimentation et si l'on considère un certain nombre de données biologiques et cliniques.

Le retentissement sur l'état général de la parasitose expérimentale est minime. Biologiquement, les variations de l'hémogramme notées chez les témoins, les infestés traités, et les infestés non traités sont identiques. L'eosinophilie (en particulier) reste modérée quand elle est présente. (maximale à 20 % le jour de la nécropsie chez l'animal n° 8, à 8 % chez un témoin - 14 % chez un animal infesté non traité). Dans une expérimentation antérieure au bout d'un an d'évolution, l'eosinocytose était de 2 % . La traduction sérologique de l'infestation parasitaire révèle des taux d'anticorps immunofluorescents relativement peu élevés (=1/640 pour un seul animal). L'élimination d'oeufs de S. mansoni nécessite pour être mise en évidence des techniques d'enrichissements. Enfin, les lésions anatomopathologiques macroscopiques restent modérées. Il en est de même après un an d'évolution si l'on se réfère aux données histologiques recueillies lors d'une expérimentation antérieure.

Ceci dit, en l'absence des résultats de l'histopathologie un certain nombre de résultats paraissent intéressants.

Nous les considérerons successivement.

#### 3. 3 - Cinétique d'élimination des oeufs de S. mansoni

Les singes n° 5, (INT) n°s 2, 4 (IT) ont commencé à éliminer des oeufs aux 5<sup>1e</sup> 5<sup>0e</sup>, 5<sup>2e</sup> jours et les animaux n° 9 (INT) n°s 7, 8 (IT) aux 4<sup>3e</sup>, 4<sup>1e</sup>, 4<sup>1e</sup> jours.

jours.

On ne remarque donc pas de différence si l'on considère l'apparition d'oeufs dans les selles que ce soit chez les INT et les IT, on peut

en conclure que le 11.076I/001 Roche n'intervient pas dans la maturation intra-organique du parasite. Le fait de retrouver des vers adultes confirme cette observation.

### 3. 4 = Nombre d'oeufs éliminés

Il existe incontestablement une activité. Alors que les animaux INT éliminent en moyenne de 47 à 53 oeufs quotidiennement sur 4 lames (technique de HAWGOOD), les animaux IT n° 4, 7, 8 éliminent un petit nombre d'oeufs (n° 7) ou même n'éliminent pas d'oeufs (n° 8).

### 3. 5 = Décompte des oeufs et des vers adultes au niveau des organes

Deux faits apparaissent évidents.

Le singe n° 8 présente un parasitisme extrêmement réduit

- 2 mâles + 1 femelle dans le système porte

- Absence d'oeufs dans les organes considérés, sites habituels du parasite par rapport aux 3 autres animaux IT (N° 2, 4, 7)

De l'animal 2 à 4, on constate une décroissance importante de leur état d'infestation parasitaire.

A l'opposé, le cas de l'animal n° 7 reste inexplicable. Le parasitisme de ce singe si l'on en juge par le nombre de vers adultes observés, est important, mais il n'élimine cependant qu'un petit nombre d'oeufs de S. mansoni.

### 3. 6 = Les données de l'immunofluorescence

E. patas semble réagir faiblement du point de vue anticorps vis à vis d'une infestation par S. mansoni, mais il faut tenir compte du fait que notre technique utilise des gamma-globulines humaines d'où certainement une perte de sensibilité.

Les dilutions des taux d'anticorps immunofluorescents retenues sont explicites pour les animaux n° 3, 5 (INT) n° 2 (IT). Pour ce dernier la charge parasitaire observée explique la positivité pour une dilution du 1/160.

Le cas de l'animal n° 8 s'explique aussi aisément. Une charge parasitaire infime justifie l'absence d'anticorps à des dilutions élevées (positif au 1/20). A l'opposé, les singes n° 4, 7 posent un problème non interprétable actuellement.

## 4/ - HYPOTHESES

Si l'absence d'activité du 11.076I/001 ROCHE vis à vis des schistosomules est admise au vu des résultats obtenus et si l'on retient que le cycle de S. mansoni demande en moyenne 30 à 35 jours pour évoluer du stade "cercarie" à l'état de vers adulte, on doit admettre une efficacité du produit testé sur le stade adulte du parasite. En effet, entre les animaux n° 2 et n° 8 seul, ce dernier a été traité au moment où de façon certaine son organisme était parasité par des vers adultes.

Ceci paraît d'autant plus plausible que le singe n° 7 traité au 30e jour d'infestation présentait 27 vers adultes immatures le jour de l'autopsie. Nous ne pensons pas que toutes les schistosomules se transforment le même jour en vers adultes d'où probablement une activité retardée sous forme d'immaturité. Si les données sérologiques recueillies demeurent difficilement interprétables, le 11.076I/001 ROCHE ne paraît pas posséder les propriétés de lyse parasitaire constatées lors d'un traitement par le Niridazole en thérapeutique humaine. On n'assiste pas en effet à une élévation du taux des anticorps immunofluorescents



au cours de l'administration du 11.076I/001 Roche chez les animaux parasités traités -

S'agit-il :

- d'une activité immunodépressive due à la drogue testée ?
- au contraire d'une élaboration normale d'anticorps consommés anormalement dans la circulation avec formation d'immunocomplexes ?

#### 5/ - CONCLUSIONS

Le 11.076I/001 ROCHE est extrêmement bien toléré par E. patas infesté expérimentalement par S. mansoni. Il paraît actif sur les formes adultes du parasite . Les résultats de cette expérimentation sont encore incomplets puisque les pièces histologiques sont en cours de traitement.

Ils suggèrent cependant quelques hypothèses à vérifier dans un travail ultérieur formulé par ailleurs.

Tableau n° 2

Témoins	Hématies	4.980.000	4.400.000	4.000.000	4.000.000	4.400.000	4.120.000	3.800.000	4.700.000	4.200.000	3.600.000
	Leucocytes	6.200	4.200	3.000	1.400	3.200	8.600	10.600	5.600	2.400	7.400
	Polynucléaires	40 %	64 %	24 %	17 %	55 %	38 %	65 %	41 %	28 %	71 %
	Eosinophiles	2 %	2 %	2 %	1 %	1 %	0 %	5 %	0 %	8 %	0 %
	Basophiles	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
	Lymphocytes	22 %	9 %	42 %	46 %	14 %	37 %	20 %	33 %	48 %	11 %
	Monocytes	36 %	25 %	31 %	36 %	30 %	25 %	10 %	26 %	16 %	17 %
	Hématocrite	45 %	38 %	32 %	38 %	45 %	55 %	40 %	50 %	43 %	35 %

Tableau n° 3

Animaux infestés traités.	CHRONOLOGIE	SINGE n° deux				n° quatre			n° sept	
		I 0	I 30	I 40	NEGRO	I 0	I 30	NEGRO	I 0	NEGRO
Hématies		4.760.000	5.000.000	4.500.000	4.800.000	4.200.000	4.300.000	3.600.000	5.240.000	5.000.000
Leucocytes		3.800	4.000	6.200	21.000	7.000	2.000	5.200	9.400	11.200
Polynucléaires		51 %	37 %	88 %	53 %	38 %	36 %	39 %	67 %	51 %
Eosinophiles		1 %	7 %	4 %	2 %	1 %	3 %	3 %	1 %	17 %
Basophiles		0 %	0 %	0 %	0 %	13 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Lymphocytes		40 %	36 %	4 %	32 %	48 %	33 %	35 %	17 %	18 %
Monocytes		8 %	20 %	4 %	13 %	0 %	40 %	23 %	15 %	14 %
Hématocrite.		50 %	42 %	52 %	50 %	50 %	38 %	32 %	52 %	52 %

	SINGE n° huit		
CHRONOLOGIE	I 0	I 40	NEGRO
Hématies	5.800.000	4.400.000	4.600.000
Leucocytes	8.400	3.200	14.600
Polynucléaires	21 %	55 %	10 %
Eosinophiles	0 %	13 %	20 %
Basophiles	0 %	0 %	0 %
Lymphocytes	25 %	10 %	50 %
Monocytes	54 %	22 %	11 %
Hématocrite	50 %	40 %	45 %

I 0 = Jour d'infestation

I<sub>30</sub> = 30 jour après l'infestation

Tableau n° 4

CHRONOLOGIE	Singe n° Trois		n° Cinq			n° Neuf	
	I 0	I 78	0	I 30	I 78	I 16	I 78
Hématies	5.120.000	4.500.000	5.520.000	4.200.000	5.120.000	4.000.000	4.480.000
Leucocytes	8.200	11.600	6.200	1.400	10.000	5.200	11.800
Polynucléaires	48 %	76 %	16 %	18 %	72 %	64 %	57 %
Eosinophiles	4 %	8 %	0 %	3 %	3 %	1 %	14 %
Basophiles	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %	0 %
Lymphocytes	18 %	7 %	13 %	40 %	13 %	12 %	17 %
Monocytes	30 %	9 %	53 %	39 %	12 %	23 %	12 %
Hématocrites	50 %	42 %	50 %	?	45 %	40 %	42 %

Arnaux  
Infestés  
non traités

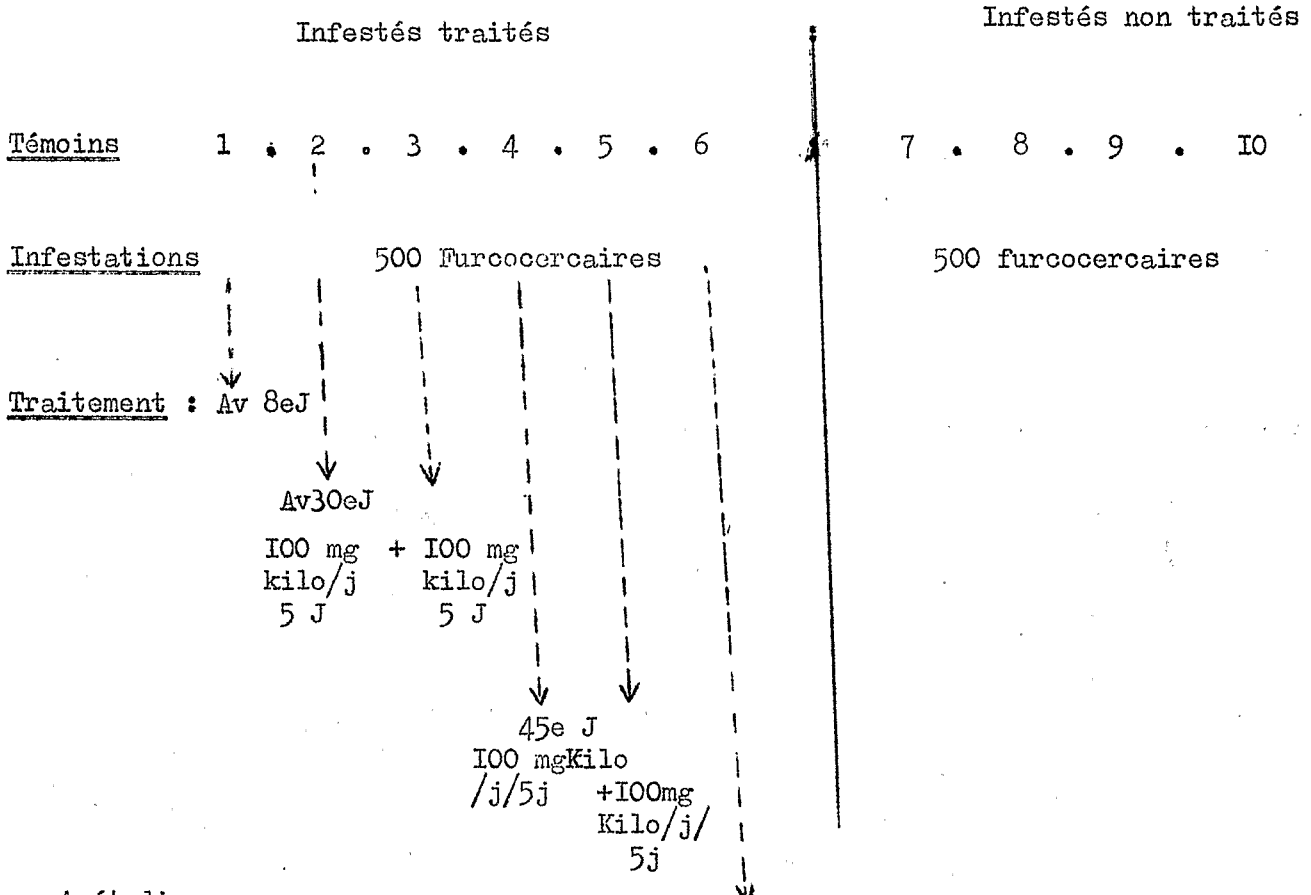
Tableau n° 5

RESULTATS DES EXAMENS PARASITOLOGIQUES DES SELLES

88

Singes	Jours			METHODES UTILISEES KATO = K Direct = D HAWGOOD = H	Jours avant SACRIFICE			
	d'infestation	de début de traitement	de début d'élimination d'oeufs viables		3	2	1	
2	0	8e	50e	K	1, 0, 0	3, 11, 5	7, 2, 1	Singes Infestés traités
				D	3, 0	2, 0	5, 0	
				H	22, 19, 23, 22	16, 17, 19, 1	39, 46, 27, 7	
4	0	15e	52e	K	1, 0, 0	2, 2, 0	3, 1, 0	
				D	1, 0	3, 0	0, 0	
				H	1, 1, 0, 0	2, 0, 0, 0	1, 0, 0, 0	
7	0	30e	41e	K	1, 0, 0	1, 0, 0	1, 3, 0	
				D	2, 0	1, 0	0, 0	
				H	4, 3, 1, 0	0, 0, 0, 0	7, 7, 5, 7	
8	0	45e	41e	K	0, 0, 0	0, 0, 0	0, 0, 0	
				D	0, 0	0, 0	0, 0	
				H	0, 0, 0, 0	6, 0, 0, 0	0, 0, 0, 0	
3	0	néant	37e					
5	0	néant	51e		Les nombres moyens d'oeufs éliminés quotidiennement se situent entre 47 et 53 pour 4 lames. (HAWGOOD)			Singes Infestés non traités
9	0	néant	43e					

Sur une même période de 3 mois



A étudier par :

- Parasito.
- IMF avec  $\gamma$  globuline d'espèce +  $\sigma^7$
- Immunoelectrophorèse ~~in vitro~~ ?
- Immunocomplexes
- Complément.

Attendre la production d'oeufs de S. mansoni appliquer le traitement pour voir si stérilisation des KOP et si disparition des vers adultes

Avec Souche africaine H.I.B. pfeifferi étudiée.