

authors have realized in the laboratory the evolutive cycle of the parasite, by means of white rats infestation with larvae obtained through dissection of local slugs, sent to Paris by air mail from Papaete and Noumea. In the lungs of infested rats, adult *A. cantonensis* have been isolated, which have been used in the preparation of antigens for the diagnostic of the disease. In white mice and rabbits, the evolutive cycle of the parasite stops at the cerebral stage. An anatomo-pathological study carried out on the whole cycle (brain, heart, lungs) in rats and on infested slugs has been performed.

BIBLIOGRAPHIE RESTREINTE

- (1) ALICATA (J. E.). — *Angiostrongylus cantonensis* (nematoda : metastrongylidae) as a causative agent of eosinophilic meningo-encephalitis of man in Hawai and Tahiti. *Canadian J. Zool.*, 1962, **40**, 5.
- (2) CHEN (H. T.). — Un nouveau nématode pulmonaire : *Pulmonema cantonensis* n. sp., des rats de Canton. *Ann. Parasitologie Hum. Comp.*, 1935, **13**, 312-317.
- (3) FRANCO (R.), BORIES (S.) et COUZIN (B.). — A propos de 142 cas de méningite à éosinophiles observées à Tahiti et à la Nouvelle-Calédonie. *Méd. Trop.*, 1960, **20**, 1, 41.
- (4) GAILLARD (H.). — Le syndrome tropical de méningo-encéphalite avec éosinophilie rachidienne. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1962, **55**, 4, 731-733.
- (5) HOREN (W. P.). — The trichrome stain : a useful technique for staining helminths. *J. of Parasitology*, 1957, **43**, 669 (Research Notes).
- (6) MACKERRAS (M. J.) et SANDARS (F. D.). — The life-history of the rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis* (Chen) (Nematoda : Metastrongylidae). *Australian J. Parasitology*, 1955, **13**, 1, 621.
- (7) WEINSTEIN (P. P.), ROSEN (L.), LAQUEUR (G. L.) et SAWYER (T. K.). — *Angiostrongylus cantonensis* infections in rats and Rhesus monkeys, and observations on the survival of the parasites *in vitro*. *Am. J. of Trop. Med. and Hyg.*, 1963, **12**, 3, 358-377.

POUVOIR TOXIQUE EXPÉRIMENTAL DES MICROFILAIRES *LOA LOA* CHEZ LA SOURIS

Par J. PETITHORY, HO THI SANG et L. C. BRUMPT (*)

Dans la pathogénie de la filariose à *Loa loa*, on invoque d'une part les phénomènes mécaniques causés par la présence et les déplacements des vers adultes sous la peau, d'autre part les phénomènes allergiques qui seraient responsables des œdèmes de Calabar, du prurit ainsi que de l'éosinophilie sanguine.

(*) Séance du 9 décembre 1964.

L'administration de diéthylcarbazine provoque dès la prise des premiers comprimés, une exacerbation de tous les symptômes : arthralgies, œdème avec poussée fébrile, urticaire, éruptions cutanées diverses, prurit, auxquels s'adjoignent parfois une petite note méningitique faite de nausées, de céphalée plus ou moins intense et plus rarement des troubles encéphalitiques à type de somnolence pouvant aller jusqu'au coma irréversible.

Les filaires adultes ne semblent pas jouer un grand rôle dans ces phénomènes précoces car elles n'ont jamais été découvertes chez l'homme dans l'encéphale et leur destruction thérapeutique est tardive et difficile comme l'un de nous l'a démontré (1). Par contre, les microfilaires sont habituellement incriminées dans ces incidents ou accidents thérapeutiques, mais de manière différente selon les auteurs. En dehors d'une action directe des microfilaires extra-vasées mise en évidence par l'étude anatomo-pathologique dans un cas (13), les uns invoquent l'allergie (5) (6) (7) (9) (11), les autres l'action d'une toxine libérée par la lyse des microfilaires (4) (8) (10) (12) en particulier quand les microfilaires *Loa loa* présentent un corps interne (4) que COUTELEN (2) a remarquablement démontré être une vacuole à contenu sans doute protidique. La suppression ou plus souvent la diminution des réactions thérapeutiques habituelles (prurit, œdème, érythème, arthralgie) par l'addition de prednisone nous a permis de dissocier le rôle de ces deux facteurs, l'un allergique contrôlé par les corticoïdes, l'autre résistant aux hormones ce qui permet d'en supposer l'origine toxique, bien que la démonstration directe d'un tel rôle n'ait pu jusqu'alors être faite.

Des circonstances particulières nous ayant fourni une quantité importante de microfilaires *Loa loa*, nous en avons étudié la toxicité chez la souris.

A. — Matériel et technique.

Purification des microfilaires.

Une exsanguino-transfusion chez un porteur de microfilaires *Loa loa* a retiré 10 litres de sang riche en embryons. Ce sang a été hémolysé et les microfilaires isolées selon la technique que nous avons déjà décrite (3), ce qui nous a permis d'obtenir environ 120 millions de microfilaires sans leucocytes, ni plaquettes. Un certain nombre de ces microfilaires présentent une ébauche de corps interne.

Conservation et préparation des inoculats.

- a) Deux techniques de conservation :
- par congélation dans le freezer d'un réfrigérateur, pendant un mois ;
 - par lyophilisation suivie de conservation en freezer pendant un an et demi.
- b) L'inoculat est en suspension en eau physiologique additionnée de différents antibiotiques afin de pallier au manque de stérilité des microfilaires purifiées. Nous avons utilisé :
- soit des microfilaires non broyées (pour 2 souris) ;
 - soit des microfilaires broyées mécaniquement après congélations et décongélations successives, *juste avant l'inoculation.*

Voie d'inoculation et animaux témoins.

Inoculation par *voie intrapéritonéale*, aux souris blanches de laboratoire.

Des souris témoins reçoivent en même temps le liquide de suspension seul sans microfilaires : tous les témoins n'ont manifesté aucun signe de souffrance.

B. — Résultats.

Nous avons d'abord déterminé la dose létale 100 O/O puis étudié la solubilité et la thermorésistance du facteur toxique.

I. — DÉTERMINATION DE LA DOSE LÉTALE 100 O/O
(tableau I)

Vingt-six souris ont reçu des doses variant de 890.000 à 46.900.000 microfilaires par kilogramme de poids, ce qui correspond, chez un homme adulte normal pesant 70 kg. et ayant une masse sanguine de 5 litres, à une microfilarémie approximative de 250 à 13.000 microfilaires pour 20 mm³ de sang. Pour faciliter l'interprétation clinique des résultats nous utilisons désormais les chiffres correspondant à ces équivalences chez l'homme.

a) 13 souris ayant reçu une *dose inférieure à 6.000 microfilaires pour 20 mm³ de sang* ont survécu au moins 15 jours, après quoi elles furent sacrifiées ;

b) 13 souris ayant reçu une *dose égale ou supérieure à 6.000 microfilaires pour 20 mm³ de sang* sont mortes dans un délai de 6 à 24 heures.

TABLEAU I

Détermination de la dose létale 100 0/0.

Souris n°	Microfilaires par 20 mm ³ de sang	Microfilaires en millions kg.	Évolution	Conservation	Antibiotiques
1	250	0,89	Survie	C	—
2	500	1,79	»	C	—
3	1.000	3,58	»	C	—
4	1.000 NB	3,58	»	C	—
5	2.000	7,16	»	C	—
6	2.800	10	»	L	P
7	3.500	11,50	»	L	P
8	4.000	14,30	»	C	P
9	4.200	15	»	L	P
10	4.200	15	»	L	P
11	4.900	17,5	»	L	S
12	5.000	17,8	»	C	S
13	5.600	20	»	L	S
14	6.000	21,45	Mort en 8 heures	C	—
15	6.000	21,45	» 6 »	C	—
16	6.000	21,45	» 21 »	L	P
17	8.000	28,60	» 8 »	C	S
18	8.000 NB	28,60	» 6 »	C	S
19	8.000	28,60	» 21 »	L	P
20	8.000	28,60	» 24 »	L	P
21	8.000	28,60	» 24 »	L	P
22	10.000	35,70	» 6 »	C	P
23	10.000	35,70	» 21 »	L	P
24	10.000	35,70	» 20 »	L	P
25	11.200	40	» 14 »	L	S
26	13.000	46,9	» 5 »	C	S

C = congelées ; L = lyophilisées ; P = pénicilline ; S = streptomycine ; NB = non broyées.

Les expériences ont été faites soit avec des microfilaires congelées, soit avec des microfilaires lyophilisées, broyées. Les résultats sont comparables, la mort étant légèrement retardée avec les microfilaires lyophilisées. Deux souris ont reçu des microfilaires non broyées, sans que les résultats en soient modifiés.

Nous n'avons observé aucune modification de l'éosinophilie sanguine.

Symptomatologie présentée par les souris inoculées.

Après un quart d'heure environ, les souris se mettent en boule, le poil hérissé. Au bout d'une demi-heure, elles s'immobilisent, ne répondent plus qu'aux fortes excitations en marchant difficilement et

en traînant les pattes postérieures. Elles ne se nourrissent plus, ne boivent plus et présentent une tachycardie et une polypnée marquées.

Si l'évolution se fait vers la mort les symptômes vont s'accroissant, la souris devenant comateuse dans la dernière demi-heure ; dans le cas contraire, tous les signes s'atténuent progressivement et disparaissent complètement au bout d'un temps variant de quelques heures à 24 heures, ce temps étant inversement proportionnel à la dose injectée.

II. — ÉTUDE DE LA SOLUBILITÉ DU FACTEUR TOXIQUE
EN EAU PHYSIOLOGIQUE (tableau II)

Un broyat de microfaires est mis en suspension dans de l'eau physiologique. Après un contact de 1 heure à la température de 37° la suspension a été centrifugée à 5.000 g pendant 30 minutes.

TABLEAU II

Étude de la solubilité du facteur toxique.

Souris n°	Microfaires par 20 mm ³ de sang	Microfaires en millions/kg.	Évolution	Conservation	Antibiotique
<i>Surnageant</i>					
27	4.200	15	Survie	L	P
28	5.600	20	"	L	P
29	5.600	20	"	L	P
30	6.300	22,5	"	C	—
31	10.000	35,70	"	C	S
32	10.000	35,70	"	C	S
33	10.000	35,70	Mort en 18 heures	L	P
34	10.000	35,70	Survie	L	P
35	10.000	35,70	"	L	P
<i>Culat de centrifugation</i>					
36	2.800	10	Survie	L	P
37	4.200	15	"	L	P
38	5.600	20	"	L	P
39	5.600	20	"	L	P
40	10.000	35,70	Mort en 30 heures	L	P
41	10.000	35,70	" 12 "	L	P
42	10.000	35,70	" 12 "	L	P
43	15.500	35,70	" 15 minutes	C	S

- a) 8 souris ont été inoculées avec le culot de centrifugation :
- 4 avec une dose inférieure à 6.000 microfilaires/20 mm³ : 4 survies ;
 - 4 avec une dose supérieure à 6.000 microfilaires/20 mm³ : 4 morts.
- b) 9 souris ont été inoculées avec le liquide surnageant :
- 3 avec une dose correspondant à moins de 6.000 microfilaires/20 mm³ : 3 survies ;
 - 6 avec une dose correspondant à plus de 6.000 microfilaires/20 mm³ : 5 survies, 1 mort.

En conclusion, malgré un résultat discordant, le facteur toxique semble insoluble dans l'eau physiologique.

III. — ÉTUDE DE LA THERMORÉSISTANCE DU FACTEUR TOXIQUE
(tableau III).

Des broyats de microfilaires ont été chauffés à 70° C pendant 30 minutes :

- 5 souris ayant reçu des doses inférieures à 6.000 microfilaires/20 mm³ : survie ;
- 2 souris ayant reçu des doses supérieures à 6.000 microfilaires/20 mm³ : mort.

En conclusion, le facteur toxique semble résistant à un chauffage de 30 minutes à 70° C, mais l'expérience a porté sur un nombre trop limité de souris.

TABLEAU III

Étude de la thermorésistance du facteur toxique
(chauffage : 30 minutes à 70°).

Souris n°	Microfilaires par 20 mm ³ de sang	Microfilaires en millions/kg.	Évolution	Conservation	Antibiotique
44	1.300	4,6	Survie	C	S
45	2.800	10	"	L	P
46	3.500	11,5	"	L	P
47	4.200	15	"	L	P
48	4.900	17,5	"	L	P
49	10.000	35,7 ⁰	Mort en 25 heures	L	P
50	10.000	35,7 ⁰	" 12 "	L	P

C. — Commentaires.

Chez la souris, nous avons trouvé que la dose létale 100 0/0 était de 6.000 microfilaries/20 mm³ de sang. En clinique humaine, cette dose est inférieure, à cause sans doute des phénomènes allergiques surajoutés et de la réactivité propre à chaque espèce. Ainsi, la lyse thérapeutique brutale des microfilaries chez un malade porteur d'une microfilarémie égale ou supérieure à 1.000 microfilaries/20 mm³ (goutte épaisse calibrée) peut déjà entraîner un coma mortel.

CONCLUSIONS ET RÉSUMÉ

Nous avons pu mettre en évidence dans les broyats de microfilaries *Loa loa* l'existence d'un facteur toxique, tuant à chaque fois la souris à des doses égales ou supérieures à 21.450.000 microfilaries par kilogramme de poids corporel, chiffre correspondant à la lyse de toutes les microfilaries chez un homme adulte porteur d'une microfilarémie de 6.000 microfilaries pour 20 mm³ de sang.

Ce facteur toxique semble être insoluble dans l'eau physiologique et résistant au chauffage à 70° C pendant 30 minutes.

SUMMARY

Experimental toxicity of microfilaria « *Loa loa* ».

Loa loa contains a toxic factor possessing a weak but actual efficiency. A dose of 21,450,000 microfilariae per kg. is necessary to kill a mouse. This dose corresponds to lysis of all microfilariae in an adult human being with a microfilaremia of 300 microfilariae per mm³.

*Institut de Parasitologie, professeur L. C. BRUMPT,
15, rue de l'École de Médecine, Paris.*

BIBLIOGRAPHIE

1. BRUMPT (L. C.). — Le mode d'action de la diéthylcarbamazine sur les filaires. *C. R. Soc. Biol.*, 1952, **146**, 209.
2. COUTELEN (F.). — Nature et rôle biologique du corps central interne des microfilaries. *Ann. Paras.*, 1929, **7**, 410.
3. HO THI SANG et PETITHORY (J.). — Technique de concentration des microfilaries sanguicoles. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1963, **56**, 197.

4. JANSSENS (P. G.), LUDO VAN BOGAERT, TVERDY (G.) et WANSON (M.). — Réflexions sur le sort des microfilaires de *Loa loa* dans l'organisme humain parasité. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1958, **51**, 632.
5. MANSON BAHR (P.). — Manson's tropical diseases, Londres, Cassel and Co., 1954.
6. MARKELL (E. K.) et TURNER (J.). — Cortisone and prednisone in the suppression of allergic reactions to diethylcarbamazine treatment of onchocerciasis. *The Am. J. Trop. Med. and Hyg.*, 1957, **6**, 546.
7. MAZZOTTI (L.). — Posibilidad de utilizar como medio diagnostico auxiliar en la oncocercosis las reacciones alergicas a la administracion de « Hetrazan ». *Rev. Inst. Salubr. enferm. trop. Med.*, 1948, **9**, 235.
8. POPOW (W.) et PRJADKO cités dans P. G. JANSSENS. — *Bull. Soc. Path. exot.*, 1958, **51**, 632.
9. RODHAIN (J.). — Considérations sur le rôle des microfilaires dans la pathogénie des filarioses. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1949, **29**, 177.
10. SALAZAR MALLEN (M.), CHEVEZ (A.), CALDERON (S.), ORTIZ (L.), ARIAS (T.) et GONZALEZ (D.). — Mecanismo del choque terapeutico. *Salud. publ. mex.*, 1962, **4**, 1055.
11. SCHNEIDER (J.). — Traitement de la filariose à *F. loa* par la 1-diéthylcarbamyl 4-méthylpipérazine. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1950, **43**, 270.
12. STEFANOPOULO (G. J.). — The symptomatology, diagnosis and treatment of filariasis due to *Loa loa* B. M. A. *Proc. Ann. Meeting*, 1949, 283.
13. VAN BOGAERT (L.), DUBOIS (A.), JANSSENS (P. G.), RADERMECKER (J.), TVERDY (G.) et WANSON (M.). — Encephalitis in *Loa loa* filariasis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.*, 1955, **18**, 103.

**A PROPOS DE DIX-NEUF CAS
D'ÉPITHÉLIOMA CALCIFIÉ DE MALHERBE
OBSERVÉS A MADAGASCAR**

Par A. DODIN et E. R. BRYGOO (*)

L'accord est loin d'être fait sur la signification des tumeurs que A. MALHERBE et J. CHENANTAIS présentèrent en 1880 comme des épithéliomes calcifiés des glandes sébacées. Pour les uns ce sont des kystes épidermoïdes momifiés (P. MASSON), pour d'autres des épithéliomas bénins (W. F. LEVER). Les travaux récents de H. HAUS d'une part, et de B. DUPERRAT et coll. d'autre part, soulignent l'actualité du problème.

Bien que cette lésion ne soit pas des plus fréquentes on ne peut suivre J. MARION et coll. lorsqu'ils écrivent, en 1962, que le nombre

(*) Séance du 9 décembre 1964.