

EVALUATION D'UN SYSTEME A LIBERATION LENTE DE L'ISOMETAMIDIUM ET DU BROMURE D'HOMIDIUM DANS LA CHIMIOPROPHYLAXIE DE LA TRYPANOSOMOSE A *Trypanosoma N. congolense* CHEZ LE LAPIN

C. Bankole¹ et I. Njikam Nsangou²

Résumé

L'administration sous cutanée d'implants à libération lente contenant l'isométagidium ou le bromure d'homidium à 1mg/kg chez des lapins régulièrement inoculés avec différents stocks de *Trypanosoma congolense* a été comparé à l'injection intramusculaire classique des deux produits. Alors que tous les lapins sont encore protégés au 4ème mois par l'implant de l'isométagidium, ceux traités avec l'isométagidium en intramusculaire étaient devenus positifs à la trypanosomose après deux mois. Seulement deux des six lapins ayant des implants de bromure d'homidium étaient encore protégés.

Mots-clés: implants, isométagidium, lapines, bromure d'homidium.

INTRODUCTION

Le bromure d'homidium (Ethidium) et le chlorure d'isométagidium (Trypamidium) sont deux trypanocides couramment utilisés surtout en traitement prophylactique des animaux d'élevage. L'administration de 10 mg/kg de bromure d'homidium aux bovins leur assure une protection pendant une période oscillant entre 2 et 19 semaines

contre 2 à 22 semaines avec l'isométagidium (PEREGRINE *et al.*, 1991).

Etant donné que l'arsenal chimiothérapeutique est limité et que la chimiorésistance pose des problèmes, il y a lieu d'utiliser avec précaution les produits disponibles sur le marché.

¹C. Bankolé est en service à l'Unité de Recherche Zootechnique et Vétérinaire (URZV/INRAB)

²I. Njikam Nsangou est Docteur Vétérinaire, Professeur à l'Université de Liège

A cet effet pour augmenter la durée de protection des médicaments utilisés actuellement, l'administration sous-cutanée d'implants à libération lente contenant comme principes actifs l'un ou l'autre des deux trypanocides a été comparée à l'injection intramusculaire classique, à des lapins expérimentalement infectés avec *Trypanosoma Nannomonas congolense*.

MATERIEL ET METHODES

Animaux

Trente quatre (34) lapins Néo-zélandais de poids vif moyen 3,7 kg ont été répartis en quatre groupes:

- les groupes EL et AB comportant chacun six sujets ont été traités respectivement au Bromure d'homidium (BrH) et à l'isométa-midium (ISMM) en (IM) à la dose de 1mg/kg de poids vif (PV).
- les groupes OQ et YZ composés chacun de sept sujets, ont reçu respectivement des implants à base de Br.H et d'ISMM en sous cutané dans l'épaule.
- le groupe T avec 8 sujets a servi de témoin et a permis le contrôle de l'infectivité des différents stocks de trypanosomes lors du challenge.

Parasites

Différents stocks de *Trypanosoma congolense* ont été utilisés:

- Clone IL1180, ITMAV 230293 A (TANZANIE);
- stock L 231, ITMAV 231292 B (TANZANIE);
- stock EATRO 1157, ITMAV 110291 (OUGANDA).

Les stabilats cryopréservés dans l'azote liquide (-196°C) ont été réactivés sur rat et l'inoculum récolté 3 à 4 jours plus tard. Pour ce faire, avant la saignée, les rats recevaient en intrapéritonéale (IP) 0,5 ml d'un mélange de trois parties de Nembutal R (anesthésique) et deux parties d'Héparine R (anticoagulant). Les infections d'épreuves ont commencé 30 jours après le traitement prophylactique.

Chaque lapin recevait en IP 0,5 ml d'antilog entre 6,9 et 7,8. Les infections étaient renouvelées mensuellement.

Implants

Ce sont de petits bâtonnets de 1 cm de long sur 1,7mm de diamètre, constitués de polyesters biodégradables, de type poly(caprolactone-co-L-lactide P(CL-LLA) (80/20) à bout non enrobé, contenant 25% d'ISMM ou de Br.H et 1% de dexaméthasone.

L'implantation a été faite en sous cutanée dans l'épaule avec un trocard de 1,8 mm de diamètre intérieur. La longueur de l'implant a été ajustée au poids de chaque lapin à la dose de 1 mg/kg de poids vif.

Paramètres suivis

Une saignée a été faite avant le traitement pour récolter du sérum devant servir de référence pour le dosage du médicament. Après le traitement, la collecte du sérum a eu lieu aux jours J1, J3 et J7; puis une fois par semaine pendant un mois; enfin toutes les deux semaines pendant le reste de l'expérience. Le dosage du Br.H et de l'ISMM a été fait par la méthode Elisa (MASAKE *et al.*, 1995).

Le contrôle parasitémique a été réalisé hebdomadairement par la méthode de buffy-coat (MURRAY *et al.*, 1977).

A chaque prise de sang, un contrôle de la réaction au site d'implantation a été effectué.

Lorsque les lapins devenaient positifs à la trypanosomose, un stabilat de sang parasité a été constitué pour une étude ultérieure de la sensibilité des souches de rechutes aux trypanocides utilisés comparativement aux stocks d'origine. Ensuite, les lapins ont été euthanasiés et autopsiés. Des morceaux de foie, des reins et des poumons ont été prélevés et conservés à -20°C pour rechercher les résidus médicamenteux. Il a

également été recherché le reste des implants de même que le temps de la mise en place de la réaction cellulaire locale. Les réactions cellulaires au niveau des sites d'implants ont été étudiées à partir de biopsies cutanées fixées au formol.

RESULTATS

La durée moyenne de protection des animaux est variable en fonction du type de traitement (tableau 1). Pour les lapins traitées en IM avec le Br.H et l'ISMM, la durée de protection est de 64 jours. Il est intéressant de noter que même à 133 jours après l'implantation, les 7 lapines traitées à l'ISMM étaient encore protégées, alors qu'il ne reste que 2 lapins sur 6 dans le groupe traité au Br.H.

L'analyse statistique des résultats obtenus au bout de 64 jours à l'aide du test de student montre que la différence entre les durées de protection par les 2 implants et les traitements intramusculaires est hautement significative ($p = 0,01$).

Dans le groupe EL, 3 cas de mortalité ont été enregistrés au début de l'expérience. L'autopsie a montré des lésions pulmonaires (abcès, pneumonie). Le diagnostic de la pasteurellose a été confirmé par l'examen bactériologique. Chacun des groupes AB et OQ a enregistré un cas de mortalité accidentelle.

Tableau 1 : Comparaison de l'effet prophylactique du Br.H et de l'ISMM vis à vis de *T. congolense*

Produits	Br . H		I . S . M . M	
Formulation	IM	IMPLANT	IM	IMPLANT
Nombre de jours de protection après traitement	groupe EL (6 lapines)	groupe EQ (7 lapines)	groupe AB (6 lapines)	groupe YZ (7 lapines)
35	100%	100%	100%	100%
64	67%	100%	100%	100%
91	0%	33%	100%	100%
133	0%	33%	100%	100%

En général, dans les deux groupes (AB, EL) le traitement en IM montre un hématoците qui baisse sensiblement en fin d'expérience. Une diminution de l'hématoците d'un lapin ($10,17 \pm 3,8\%$) précède une parasitémie positive. Les écarts extrêmes enregistrés dans le groupe AB sur deux lapins ont été de 18% (37 - 19) et 4,5% (34 - 29,5).

L'analyse statistique des résultats consignés dans le tableau 2 montre une différence

significative entre les moyennes d'hématoците au début et à la fin de l'expérience dans les groupes EL et AB traités en IM ($p = 0,05$) (tableau 2).

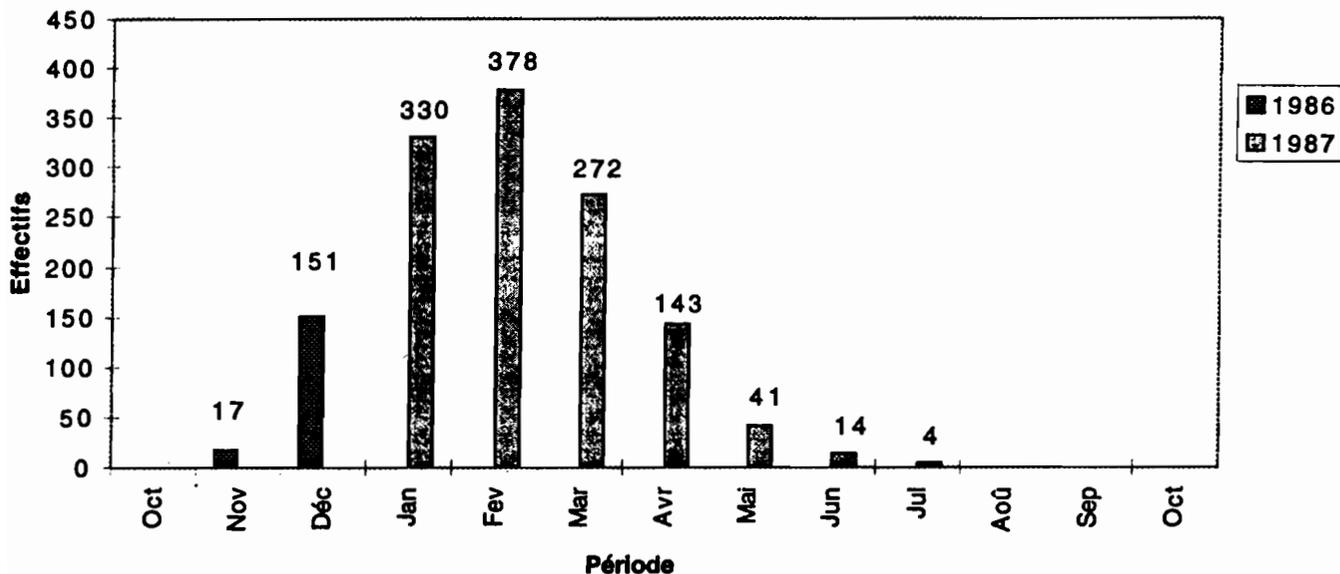
Par ailleurs, comme le montre la figure 1, il existe une corrélation positive entre la parasitémie et la chute de l'hématoците par rapport à la semaine précédente ($r = 0,78$).

Tableau 2 : Hématocrite moyen par groupe au début et à la fin de l'expérience

Groupes	Début	Fin	Delta*
EL	36,6 ± 5,15	24,3 ± 5,3	-12,3
AB	39,5 ± 1,63	29,6 ± 8	- 9,9
OQ	38,5 ± 1,3	31,8 ± 5,5	- 6,7
YZ	37,8 ± 1,33	38,7 ± 2,6	+ 0,9

* = Différence entre les valeurs au début et à la fin

Figure 1: Evolution de l'hématocrite des lapins détectés positifs



Le tableau 3 montre un gain de poids dans chaque groupe de lapins. Les gains de poids moyens des lapins implantés (1,2 kg) étaient supérieurs à ceux des lapins traités en IM (0,87 kg) mais les différences observées n'étaient pas significatives ($p = 0,05$).

Il n'a pas été possible d'établir une différence significative due à l'effet des traitements sur le gain de poids entre groupes. De même, il n'y aurait aucun effet significatif du poids sur la durée de protection (tableau 3).

Tableau 3 : Evolution pondérale dans chaque groupe

Groupes	POIDS MOYEN DEBUT (Kg)	POIDS MOYEN FIN (Kg)	GAIN PONDERAL MOYEN (kg)
EL	3,70 ± 0,23	4,60 ± 0,17	0,90 ± 0,1
AB	3,90 ± 0,46	4,75 ± 0,5	0,85 ± 0,4
OQ	3,60 ± 0,35	4,77 ± 0,44	1,17 ± 0,23
YZ	3,67 ± 0,33	4,97 ± 0,42	1,30 ± 0,33

DISCUSSION

En tenant compte de la formulation IM des produits BrH et ISMM, on n'observe aucune différence entre les groupes de même entre le groupe implanté avec le Br.H et les deux précédents (tableau 1). Toutefois, il a été observé une meilleure protection avec l'implant d'ISMM.

Les résultats obtenus au cours de cette expérience permettent une comparaison avec d'autres expériences réalisées dans des conditions similaires. De DEKEN *et al.* 1989;

GEERTS *et al.* 1993; KABORE, 1994 ont montré que l'administration intramusculaire du BrH aux lapins infectés avec *T. congolense* leur confèrait une protection variant de 1 à 2 mois. De même, sur le modèle lapin la chimioprophylaxie induite par l'injection IM d'ISMM confèrait à ces rongeurs une durée de protection variant de 2 à 3 mois (TANGUY et IBOUESSE, 1993; KABORE, 1994). Les résultats de notre expérience montrent que la protection couvre seulement 2 mois pour les sujets traités tant au Br.H qu'à l'ISMM.

Ainsi donc, l'utilisation du système d'implant de BrH confère une protection de durée variable; dans notre expérience, la majorité des lapins ont acquis une protection de 2 mois. Elle excédait 12 mois à la dose de 11,25 mg/kg de poids vif (PV) avec des implants d'un copolymère de E-caprolactone et L-lactide (De DEKEN *et al.*, 1989) et atteignait une durée de 137 jours à la dose de 1 mg/kg PV lorsqu'on utilisait des implants non enrobés de poly(D-L-lactide) (KABORE, 1994). Les implants de type poly(D-L-lactide) imprégnés d'ISMM non enrobés (TANGUY et IBOUESSE, 1993) ou enrobés (KABORE, 1994) à la dose de 1 mg/kg PV leur ont conféré une protection évaluée respectivement à une durée moyenne de 132 et de 129 jours.

Le suivi de l'hématocrite indique que ce paramètre pourrait être un indicateur de l'infection comparativement aux valeurs enregistrées au cours du contrôle parasitémique précédent. Les valeurs obtenues chez les sujets parasités étaient significativement différentes de celles des sujets non parasités.

Cette observation confirmerait une corrélation positive relevée dans d'autres expériences (TANGUY et IBOUESSE, 1993; KABORE, 1994). L'hématocrite peut être alors recommandé comme un paramètre important dans l'évaluation de l'activité prophylactique d'un trypanocide. En effet, il est facile à réaliser et fiable car il indique une

parasitémie subpatente ou patente marquant la fin de protection dans la durée de protection.

CONCLUSION

L'utilisation des implants à libération lente, bien qu'encore dans un contexte expérimental ouvrirait des perspectives nouvelles dans la chimioprophylaxie contre les trypanosomoses animales. Dans cette étude, un effet prophylactique positif des implants par rapport aux injections IM a été enregistré.

Il apparaît toutefois en ce qui concerne l'effet prophylactique de l'implant du BrH la durée de protection obtenue au cours de cette expérience a été nettement inférieure à celle enregistrée dans des expériences antérieures. On peut ainsi relever que l'implant utilisé dans cette expérience se serait montré moins efficace que le type poly(D-L-lactide) non enrobé et le copolymère de E-caprolactone et L-lactide employés précédemment.

La durée de protection de l'implant au bromure d'homidium a été de 2 mois alors qu'elle excède 4 mois dans les expériences antérieures.

La résorption des implants chez la majorité des animaux a été également un atout à exploiter pour la valorisation des carcasses pour les animaux de boucherie.

REMERCIEMENTS

Les auteurs désirent manifester leurs reconnaissances aux professeurs P. Kageruka, S. Geerts, docteur De Deken pour leur disponibilité et à monsieur F. Ceulemans pour sa franche collaboration.

REFERENCES

1. AUTHIE E. 1994. Trypanosomiasis and Trypanotolerance in Cattle: A role for Congopain? Parasitol. Today, vol. 10, n°9, 360-363.
2. DE DEKEN R., GEERTS S., KAGERUKA P., CEULEMANS F., BRANDT J., SCHACHT E., PASCUCCI C. et LOOTENS C. 1989. Chemoprophylaxis of Trypanosomiasis, due to *Trypanosoma* (*Nannomonas*) congolense, in rabbits using a slow release device containing Homidium bromide. Ann. Soc. belge Méd. trop., 69, 291-296.
3. GEERTS S., DE DEKEN R., KAGERUKA P., LOOTENS K., SCHACHT E. 1993. Evaluation of the efficacy of a slow release device containing homidium bromide in rabbits infected with *Trypanosoma congolense*. Vet. Parasitol. 50, 15-21.
4. KABORE H. 1994. Utilisation d'un système à libération contrôlée de l'Isométymidium et du Bromure d'homidium dans la chimioprophylaxie de la trypanosomiase à *Trypanosoma congolense*. IMTA, Thèse de M.Sc., 24.
5. MASAKE R. A., MOLOO S. K., NANTULYA V. M., MAKAU J. M. ET NJUGUNA J. T. 1995. Comparative sensitivity of antigen-detection enzyme immunosorbent assay and the micro-haematocrit centrifugation technique, in diagnosis of *Trypanosoma brucei* infections in cattle. Vet. Parasitol. 56: 37-46.
6. MURRAY M., MURRAY P. K. and McINTYRE W. 1977. An improved parasitological technique for the diagnosis of african trypanosomiasis. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 71, 325-326.
7. PEREGRINE, A. S. 1994. Chemotherapy and delivery systems; haemoparasites. Vet. Parasitol. 54, 223-248.
8. TANGUY M. et IBOUESSE J. F. 1993. Chimioprophylaxie de l'isométymidium administré par voie intramusculaire et sous forme d'implants sous-cutanés vis à vis de *Trypanosoma* (*Nannomonas*) congolense chez le lapin. IMT, Département de santé et production animale - Mémoire de fin d'étude.