

UNIVERSITÉ DE LIMOGES

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1994

Thèse n° 18

**THÈSE**

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement

le 13 Avril 1994

par

**Nathalie TESQUET**

née le 12 Novembre 1970

**ACTIVITE TRYPANOCIDE ET CINETIQUE PLASMATIQUE DU  
TETRAPHENYLBORATE D'IRIDIUM-CYCLOOCTADIENE-PENTAMIDINE  
DANS LA TRYPANOSOMOSE EXPERIMENTALE DU MOUTON A**

*Trypanosoma brucei brucei*

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

|  |           |
|--|-----------|
| Monsieur NICOLAS, Professeur                                   | Président |
| Monsieur PENICAUT, Professeur                                  | Juge      |
| Monsieur LOISEAU, Maître de Conférences                        | Juge      |
| Monsieur LACHATRE, Maître de Conférences-Praticien Hospitalier | Juge      |
| Monsieur DREYFUSS, Maître de Conférences                       | Juge      |

# UNIVERSITÉ DE LIMOGES

-----

## FACULTÉ DE PHARMACIE

- DOYEN DE LA FACULTÉ : Monsieur le Professeur **RABY**
- ASSESSEURS : Monsieur le Professeur **GHESTEM** (1er Assesseur)  
Monsieur **DREYFUSS**, Maître de Conférences (2ème Assesseur)

Personnel enseignant

### \* PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

|                           |  |
|---------------------------|--|
| BENEYTOUT Jean-Louis      | Biochimie                                    |
| BERNARD Michel            | Physique-Biophysique                         |
| BOSGIRAUD Claudine        | Microbiologie                                |
| BROSSARD Claude           | Pharmacotechnie                              |
| BUXERAUD Jacques          | Chimie Organique, Chimie Thérapeutique       |
| CHULIA Albert             | Pharmacognosie                               |
| CHULIA Dominique          | Pharmacotechnie                              |
| DELAGE Christiane         | Chimie Générale et Minérale                  |
| GALEN François Xavier     | Physiologie                                  |
| GHESTEM Axel              | Botanique et Cryptogamie                     |
| GUICHARD Claude           | Toxicologie                                  |
| HABRIOUX Gérard           | Biochimie                                    |
| LEFORT DES YLOUSES Daniel | Pharmacie galénique                          |
| NICOLAS Jean-Albert       | Bactériologie et Virologie,<br>Parasitologie |
| OUDART Nicole             | Pharmacodynamie                              |
| PENICAUT Bernard          | Pharmacie Chimique et Chimie Organique       |
| TIXIER Marie              | Biochimie                                    |

SÉCRÉTAIRE GÉNÉRAL DE LA FACULTÉ-CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

*A notre Président de Thèse*

Monsieur le Professeur A. NICOLAS,  
Service de Bactériologie-Virologie-  
Parasitologie,

*Nous sommes très sensible à l'honneur  
que vous nous avez fait en acceptant  
de présider ce Jury de soutenance.*

*Nous vous remercions de l'aide  
que vous nous avez apportée  
pour la réalisation de nos travaux.*

*Veuillez accepter l'expression  
de notre profonde et respectueuse reconnaissance.*

*A notre Directeur de Thèse*

Monsieur le Docteur G. DREYFUSS,  
Maître de Conférences,  
Service de Bactériologie-Virologie-Parasitologie,

*Vous nous avez fait l'honneur  
de diriger ce travail.*

*Nous vous remercions pour votre disponibilité  
et pour les conseils que vous nous avez prodigués  
tout au long de nos travaux.*

*Veillez trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.*

*A nos Juges*

Monsieur le Professeur Bernard PENICAUT  
Laboratoire de Chimie Analytique  
Faculté de Pharmacie de Limoges

Monsieur le Docteur Philippe LOISEAU  
Maître de Conférences,  
Laboratoire de Biologie et Contrôle des Organismes Parasites,  
Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry,  
Université de Paris-Sud.

Monsieur Gérard LACHATRE  
Maître de Conférences de Toxicologie,  
Faculté de Pharmacie de Limoges.  
Praticien Hospitalier, CHRU de Limoges.

*Nous vous sommes très reconnaissante  
d'avoir accepté de juger ce travail.*

*Nous tenons à vous exprimer  
toute notre gratitude et notre estime.*

*Nous adressons tous nos remerciements :*

- à Monsieur NOUHAUD, Laboratoire de Toxicologie, CHRU de Limoges,  
qui a bien voulu réaliser nos dosages.

-à Madame DREYFUSS, Laboratoire de Chimie Analytique, Faculté de Pharmacie  
de Limoges,  
pour les conseils qu'elle a bien voulu nous prodiguer.

**A mes Parents**

# INTRODUCTION

Depuis plusieurs dizaines d'années, les infections tropicales dominent le tableau sanitaire du tiers monde. Parmi elles, la trypanosomose marque une recrudescence suffisamment inquiétante pour que l'O.M.S. ait inscrit cette affection comme une priorité. Le risque d'endémies en fait un problème public majeur dans plusieurs pays d'Afrique. Les méfaits de cette parasitose dépassent les limites de l'affection humaine par son retentissement sur l'élevage ovin, caprin et bovin décimé, accroissant ainsi la malnutrition protidique.

Le développement du dépistage actif et le contrôle des vecteurs permettraient une maîtrise de la maladie mais impliquent la mise en place d'infrastructures sanitaires mal adaptées à une population africaine en voie de développement et nécessitent un apport financier prohibitif pour les pays endémiques.

Aujourd'hui encore, malgré des travaux de recherche et de synthèse organique très nombreux, le choix des médicaments actifs dans les trypanosomoses africaines humaines et animales reste très restreint, singulièrement parmi les produits actifs sur la phase de polarisation cérébrale.

Il paraît intéressant d'étudier l'intérêt d'un nouveau produit dont les résultats préliminaires sur rongeurs ont été publiés (LOISEAU *et al.* 1992) : Iridium-Cyclooctadiène-



## **Pentamidine.**

Le présent mémoire comporte deux chapitres :

- le premier chapitre comporte deux parties consacrées à des rappels bibliographiques sur la trypanosomose humaine et animale en Afrique ;

- le deuxième chapitre présente l'étude que nous avons réalisée sur l'activité trypanocide du complexe iridié et la cinétique sérique de l'iridium chez le mouton parasité.

*CHAPITRE PREMIER*

# **RAPPELS SUR LES TRYPANOSOMOSES**

Dans ce chapitre, nous aborderons successivement les trypanosomoses humaines africaines et leurs thérapeutiques, puis les trypanosomoses animales africaines. Une dernière partie est consacrée à un rappel sur les méthodes d'étude des médicaments trypanocides.

## **1. LES TRYPANOSOMOSES HUMAINES AFRICAINES (T.H.A.).**

La trypanosomose humaine africaine (THA), plus connue du grand public sous le nom de maladie du sommeil, est une affection parasitaire découverte au début du siècle. Alors que, grâce aux campagnes d'éradication proposées par le médecin français Jamot la trypanosomose était devenue vers 1960 une affection relativement rare, on note aujourd'hui une recrudescence exceptionnelle.

Selon l'organisation mondiale de la santé, la THA atteindrait 36 pays africains qui couvriraient 200 foyers de trypanosomoses. Ceci signifie que 50 millions de personnes sont exposées à un risque direct de contamination. Cependant, la réelle prévalence dans de nombreuses régions est encore inconnue à cause du manque de moyens financiers, de l'inaccessibilité géographique de certains territoires et de la difficulté d'un diagnostic rapide sur le terrain.

## 1.1. Epidémiologie.

### 1.1.1. Répartition géographique :

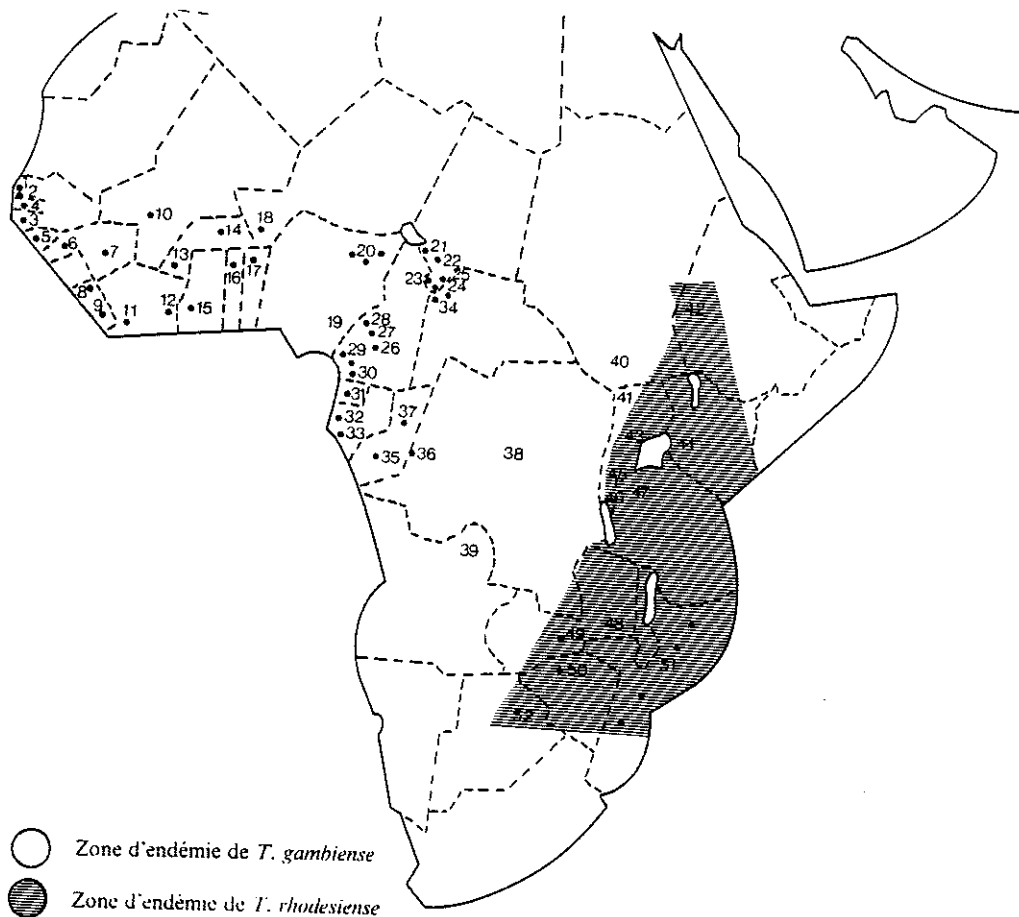
La THA sévit en Afrique noire du 15<sup>ème</sup> degré de latitude nord au 15<sup>ème</sup> de latitude sud. Dans ce périmètre, il est habituel de différencier deux formes de THA pathogènes pour l'homme (figure n°1, page suivante) :

- trypanosomose à *Trypanosoma brucei gambiense*, transmise principalement par *Glossina palpalis*, d'évolution lente et sommeilleuse qui sévit en Afrique intertropicale occidentale et centrale.
- trypanosomose à *Trypanosoma brucei rhodesiense*, transmise essentiellement par *Glossina morsitans*, d'évolution plus rapide et dispersée en Afrique orientale.

### 1.1.2. Espèces de trypanosomes impliquées :

Les trypanosomes sont des protozoaires flagellés extracellulaires. Dans le sang humain ils apparaissent fusiformes et mobiles parmi les globules rouges grâce au mouvement du flagelle et de leur membrane ondulante (figure n°2, page suivante).

Les deux espèces déterminant la trypanosomose humaine : *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense* se différencient par leur aire géographique, leur mode de transmission, la symptomatologie qu'elles déterminent, mais leurs différences morphologiques sont peu

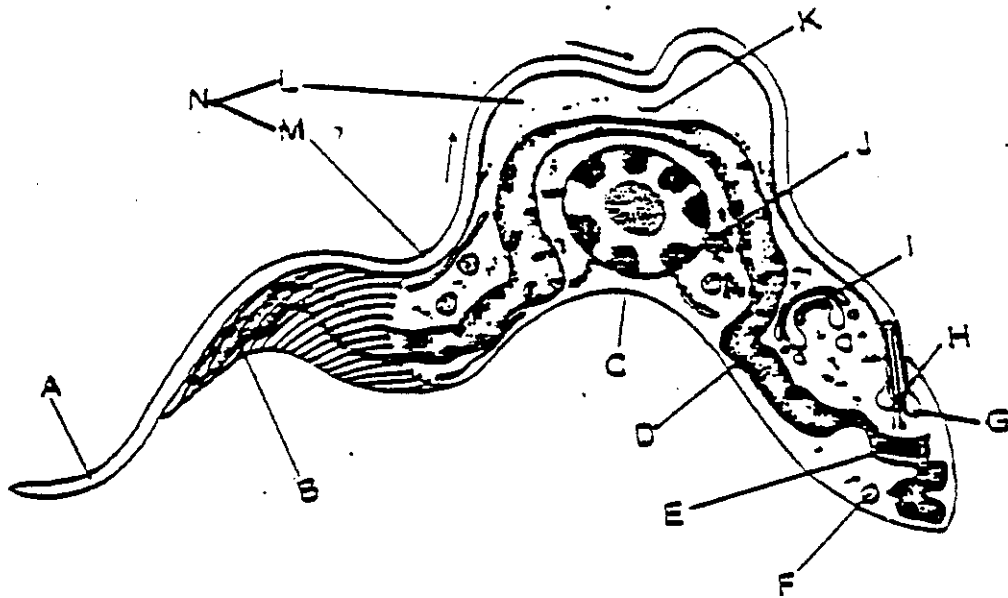


- Répartition géographique des foyers de trypanosomiasis africaines en activité ou éteints. En Afrique occidentale, la situation est relativement contrôlée. Certains foyers, M'Bour, Sangalkam, au Sénégal (foyers de la Somone), sont éteints; de même Say, au Niger. Mais des mesures énergiques doivent être maintenues ou reprises pour endiguer toute recrudescence au niveau de ces foyers qui risquent de s'enflammer à nouveau. On ne dispose d'aucun renseignement pour la Guinée et la Guinée-Bissau. La tendance générale est à la décroissance, mais « l'éradication de la maladie du sommeil dépasse les possibilités actuelles des médecins dits de secteurs, pour des raisons techniques (nécessité d'un matériel sophistiqué, onéreux et fragile), sociales (motivation insuffisante de la population), politico-économiques (déplacements importants de main-d'œuvre), politico-économiques (déplacements importants de main-d'œuvre mal surveillée au plan sanitaire) » (P. Lozac'Hmeur, OCCGE).

- |   |                     |   |   |
|---|---------------------|---|---|
| 1. foyer de M'bour                                      | } Sénégal           | 26. foyer de Bafia  | } Cameroun  |
| 2. foyer de Sangalkam                                   |                     | 27. foyer de Dschang  |   |
| 3. foyer de la Casamance                                |                     | 28. foyer de Fontem (Manfe)                                   |   |
| 4. foyers de Gambie                                     | 29. foyer de Douala |   |   |
| 5. foyers de Guinée Bissau                              | } du Libéria        | 30. foyer de Kribi  | } Gabon   |
| 6-7. foyers de Guinée                                   |                     | 31. foyer de Guinée équatoriale                               |   |
| 8. foyers de Nord-Est                                   |                     | 32. foyer de l'estuaire (Libreville)                          |   |
| 9. foyers de la province centrale                       | } Côte d'Ivoire     | 33. foyer de Port Gentil                                      | } Congo   |
| 10. foyer de Bamako (Mali)                              |                     | 34. foyer de R.C.A.   |   |
| 11. foyer de Daloa-Bouaflé                              | } Burkina-Faso      | 35. foyer de Jacob  | } Congo   |
| 12. foyer d'Abengourou                                  |                     | 36. foyer du Couloir  |   |
| 13. foyer de Tagouara<br>(district d'Orodara)           | } Burkina-Faso      | 37. foyer de Gambona  | } foyers du Zaire nombreux et importants mais mal délimités |
| 14. foyer de Mane-Korsimoro<br>(district de Kaya)       |                     | 38. foyers du Zaire nombreux et importants mais mal délimités |   |
| 15. foyers du Ghana                                     | } Nigeria           | 39. foyer de l'Angola (près de la frontière avec le Zaire)    | } foyers dispersés du Mozambique                            |
| 16. foyers du Nord Togo (Nagbeni, Galangachi, Bidjenba) |                     | 40. foyer du Soudan (Sud)                                     |   |
| 17. foyers du Nord-Bénin (Bénin)                        | } Tchad             | 41. foyer de l'Ouganda (Nord)                                 | } foyers de Ngamiland et de Chobe (Botswana)                |
| 18. foyer de Say (Niger)                                |                     | 42. foyer de Gambela (Ethiopie)                               |   |
| 19. foyer du Biafra                                     | } Tchad             | 43. foyer de l'Ouganda (Sud-Est)                              | } foyers de Ngamiland et de Chobe (Botswana)                |
| 20. foyer de Jos  |                     | 44. foyer du Kenya (Ouest)                                    |   |
| 21. foyer de Dressa                                     | } Tchad             | 45. foyer du Ruanda (Est)                                     | } foyers de Ngamiland et de Chobe (Botswana)                |
| 22. foyer de Bahr-Erguig                                |                     | 46. foyer du Burundi (Est)                                    |   |
| 23. foyer de Deli                                       | } Tchad             | 47. foyers de Tanzanie (Nord-Ouest)                           | } foyers de Ngamiland et de Chobe (Botswana)                |
| 24. foyer de Timberi, Bekan et Goré                     |                     | 48. foyer vallée de la Luapula                                |   |
| 25. foyer de Bekamba et Dobadene                        | } Tchad             | 49. foyer vallée de la Luangwa                                | } foyers de Ngamiland et de Chobe (Botswana)                |
|   |                     | 50. foyer du Lac Kariba (Zimbabwe)                            |   |
|   |                     | 51. foyers dispersés du Mozambique                            |   |
|   |                     | 52. foyers de Ngamiland et de Chobe (Botswana)                |   |

Figure n°1

Distribution des principaux foyers de trypanosomoses humaines africaines  
(Gentilini 1986).



- A - Flagelle libre
- B - Microtubules de la membrane = sous-pelliculaires
- C - Noyau
- D - Mitochondrie
- E - Kinétoplaste
- F - Granule cytoplasmique
- G - Poche du flagelle
- H - Corps basal du flagelle
- I - Appareil de Golgi
- J - Réticulum endoplasmique
- K - Ribosomes
- L - Repli de membrane
- M - Flagelle attaché
- N - Membrane ondulante

Taille réelle : 10 - 30  $\mu\text{m}$ .

Figure n°2

Schéma de l'ultrastructure de *T. brucei*

(Euzéby 1984).

marquées (Gentilini et Duflo 1986).

- *T. b. gambiense* reconnaît l'homme comme réservoir principal de parasites ; cependant, sa présence chez des animaux domestiques et sauvages nous interdit de nier tout caractère zoonotique de cette infection. Elle permet de plus d'expliquer certaines particularités épidémiologiques de la maladie (notamment sa persistance dans des territoires où on est très près de l'éradication).

- *T. b. rhodesiense* entraîne chez l'homme une trypanosomose d'évolution plus rapide et plus sévère, et signe ainsi son manque d'adaptation à l'homme. Il semble qu'il soit primitivement parasite des animaux qui en sont les réservoirs : grands ruminants et suidés sauvages.

Au point de vue physiopathologique, il faut noter une caractéristique essentielle de ces parasites : la variation de leur pouvoir antigénique. Ils possèdent une étonnante capacité à esquiver les défenses immunitaires de leurs hôtes en produisant des générations successives dotées chacune d'antigènes de surface différents (Maurice 1992). Bloquer ce mécanisme de variation antigénique, afin de maîtriser l'infection, est devenu désormais l'objectif principal des chercheurs.

### 1.1.3. Vecteurs :

Les vecteurs de la THA sont les glossines (plus couramment appelées mouches tsé-tsé). On distingue deux principaux groupes d'espèces :

- *Glossina palpalis* (vecteur principal de *T. b. gambiense*) :

C'est une glossine hygrophile, vivant dans les galeries forestières et le long des cours d'eau. Cet insecte essentiellement anthropophile et d'activité diurne prend la plus grande partie de ses repas sur l'homme.

- *Glossina morsitans* (vecteur principal de *T. b. rhodesiense*) :

Ces glossines à activité diurne vivent dans les savanes à végétation basse d'Afrique de l'Est et autour des lacs. Elles sont essentiellement zoophiles : même si elles peuvent parfois se nourrir sur l'homme, leurs hôtes principaux sont des animaux.

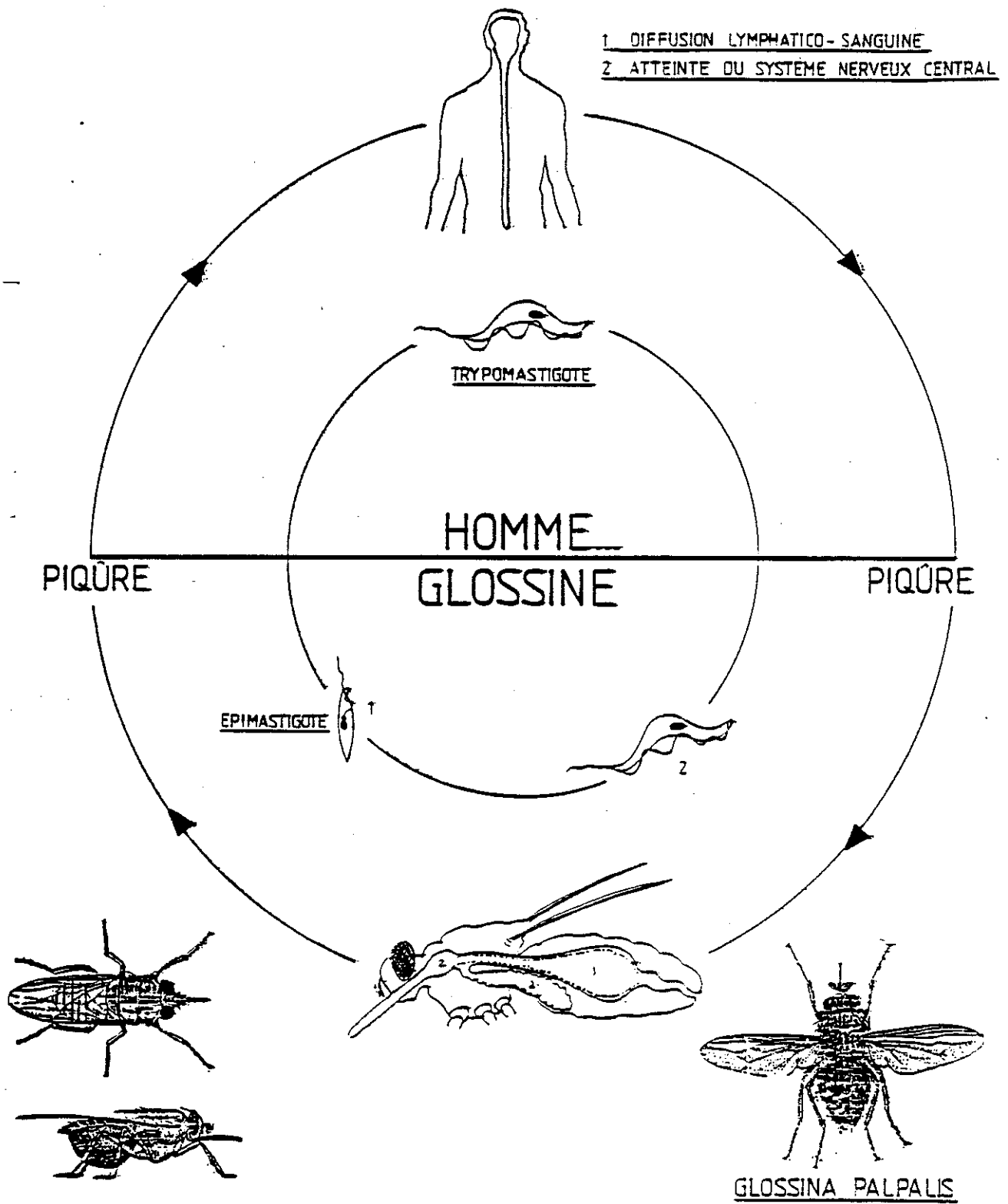


Figure n°3.

Cycle de développement des trypanosomoses

(Enseignement de Parasitologie, Faculté de Pharmacie de Limoges)



Il faut noter que si les glossines sont les vecteurs de base de la THA, il peut y avoir beaucoup plus rarement transmission mécanique par d'autres insectes hématophages.

#### 1.1.4. Cycle :

Les mouches tsé-tsé, vecteurs de la maladie, représentent les hôtes intermédiaires de la trypanosomose. Les hôtes définitifs étant l'homme ou l'animal (Figure n°3).

Les glossines, mâles et femelles sont hématophages. Elles se contaminent seulement lors d'un premier repas sanguin en piquant un dormeur chez qui elles prélèvent les trypanosomes. Alors elles assurent une abondante multiplication des parasites au niveau de leur intestin moyen (estomac) qui apparaîtront trois semaines plus tard sous forme métacyclique infectante au niveau des glandes salivaires (Euzéby 1986). C'est lors d'un nouveau repas sanguin chez un nouvel hôte que ces glossines transmettront les parasites.

Dès leur inoculation les trypanosomes se développent, affectant les vaisseaux lymphatiques avant de se propager dans tout le courant sanguin. Puis, rapidement, ils présentent un tropisme marqué pour le système nerveux central.

## 1.2. Clinique.

Après une phase d'incubation silencieuse matérialisée par le chancre d'inoculation ou trypanome (placé au point d'inoculation), la maladie du sommeil peut être schématisée en deux phases principales plus ou moins intriquées :

- phase lymphaticosanguine,
- phase neuroméningée.

Les THA ont toutes deux une symptomatologie identique (Boa *et al.* 1988, Dumas et Girard 1978, Dumas et Boa 1988), la différence réside dans le fait que la trypanosomose à *T. b. gambiense* évoluent de façon chronique pendant plusieurs mois ou années, alors que celle à *T. b. rhodesiense* provoque une affection aiguë (Marie-Daragon 1993).

### **1.2.1. La phase lymphatico-sanguine :**

Elle correspond à la dissémination des trypanosomes dans tout l'organisme. Les signes apparaissant précocément, peuvent persister plusieurs mois entrecoupés de périodes de latence ou de rémission. L'expression clinique de cet envahissement se traduit par (Bouteille *et al.* 1988) :

- une élévation modérée de la température,
- des adénopathies,
- des signes cutanés,
- un prurit,
- une perte de poids.

A cela viennent se greffer des troubles neurologiques (céphalées, asthénie, fatigabilité, et syndrome douloureux) qui témoignent de la précocité de l'atteinte méningée et encéphalique et une atteinte endocrinienne (frilosité, aménorrhée, troubles de la libido, troubles de la faim et de la soif) (Dumas *et al.* 1986).

### **1.2.2. La phase méningo-encéphalitique :**

C'est la phase de polarisation cérébrale avec envahissement du système nerveux central. Les caractéristiques essentielles sont les signes neurologiques habituellement accompagnés de fièvre :

- troubles sensitifs précoces (hyperesthésie, parestésie, crampes musculaires),
- troubles psychiques (inversion de l'humeur),
- troubles du sommeil : le trypanosomé entre alors dans un état d'hébétude permanent,
- troubles moteurs,
- troubles neuro-endocriniens (perturbation de la régulation thermique et de la soif, perte de la libido, aménorrhée).

En l'absence de traitement, la maladie s'achemine plus ou moins vite vers la cachexie sommeilleuse terminale qui évolue vers la mort.

## 1.3. Diagnostic.

On recherche d'une part à mettre en évidence le parasite par diagnostic direct, d'autre part les réactions de l'organisme face à l'agression du parasite par diagnostic indirect.

### 1.3.1. Diagnostic direct :

Il comprend essentiellement l'isolement du trypanosome qui permet d'affirmer avec certitude le diagnostic.

Les parasites sont recherchés dans des prélèvements de sang ou de suc ganglionnaire à l'état frais, entre lame et lamelle ou après frottis coloré (Léger *et al.* 1992). Leur mise en évidence peut être facilitée par l'utilisation de techniques nouvelles beaucoup plus sensibles et bien adaptées aux enquêtes épidémiologiques (Golvan et Ambroise-Thomas 1984) :

- le frottis : examen après coloration (Giemsa) (cette technique permet de condenser sur une petite surface une grande quantité de sang donc de parasites).
- centrifugation différentielle en tube capillaire : après centrifugation, on recherche dans le culot les trypanosomes à l'état frais entre lame et lamelle.
- séparation sur colonne échangeuse d'ions : séparation des parasites et des hématies sur gel de cellulose (les hématies demeurent au sommet du gel alors que les trypanosomes mobiles passent dans l'éluat) (Lanham et Godfrey 1984).

Au niveau du liquide céphalo-rachidien (LCR), le diagnostic repose sur l'examen du liquide à l'état frais sur cellule de Malassez ou de Nageotte. Les trypanosomes sont recherchés dans le culot de centrifugation d'une quantité suffisante de liquide ou surtout par culture ou inoculation au rat de Gambie.

### 1.3.2. Diagnostic indirect :

Les caractéristiques essentielles en sont l'élévation considérable du taux d'immunoglobulines sériques en particulier les immunoglobulines M, qui apparaissent au

niveau du LCR, ainsi que les cellules de Mott et les lymphocytes.

La mise en évidence des anticorps anti-trypanosomes dans le sang et le LCR repose sur des méthodes immunologiques spécifiques :

- Séroagglutination : "test de trypan CATT"(Croft 1985).
- Immunofluorescence indirecte (Oudart *et al.* 1976).
- Méthode immunoenzymatique : ELISA : selon l'OMS la sensibilité est de 100% dans le diagnostic de dépistage et de 93% dans le cas de sujets traités (Dumas *et al.* 1986).

Le diagnostic biologique de la T.H.A est facilité par le dosage des IgM et des anticorps spécifiques dans le sang et le LCR mais la preuve parasitologique directe doit toujours être recherchée.

## 1.4. Thérapeutique.

Les données essentielles de ce paragraphe sont tirées principalement des travaux de Goodman et Gillman (1991), Laroche (1992) et Marie-Daragon (1993).

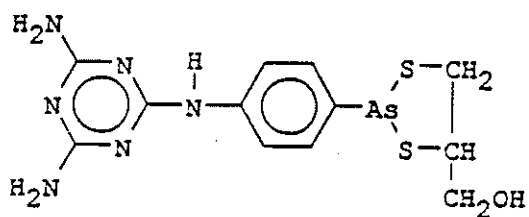
La structure chimique des produits cités est présentée sur la figure n°4.

La thérapeutique, encore insuffisante, repose sur l'emploi de deux catégories de médicaments :

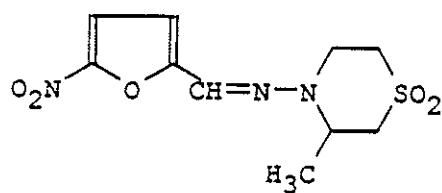
- les médicaments traversant la barrière hémato-méningée et donc actifs en phase méningo-encéphalitique : le mélarsoprol, le DFMO ( $\alpha$ -difluoro méthylornithine) et le nifurtimox.
- les médicaments ne traversant pas la barrière hémato-méningée et uniquement actifs en phase lymphatico-sanguine : la pentamidine, la suramine sodique, l'acéturate de diminazène.

Cette thérapeutique découle des connaissances acquises sur la biologie du parasite et met en jeu des particularités essentielles du trypanosome (Dumas *et al.* 1985) :

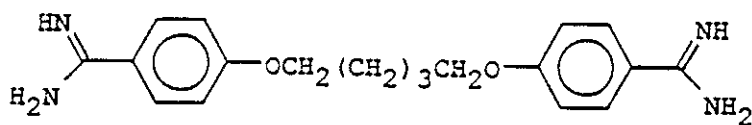
- une grande consommation de glucose : unique source énergétique.
- une grande sensibilité aux oxygènes actifs : le trypanothion représente l'une des seules molécules ayant une activité anti peroxydasique (les parasites étant très sensibles aux peroxydes).



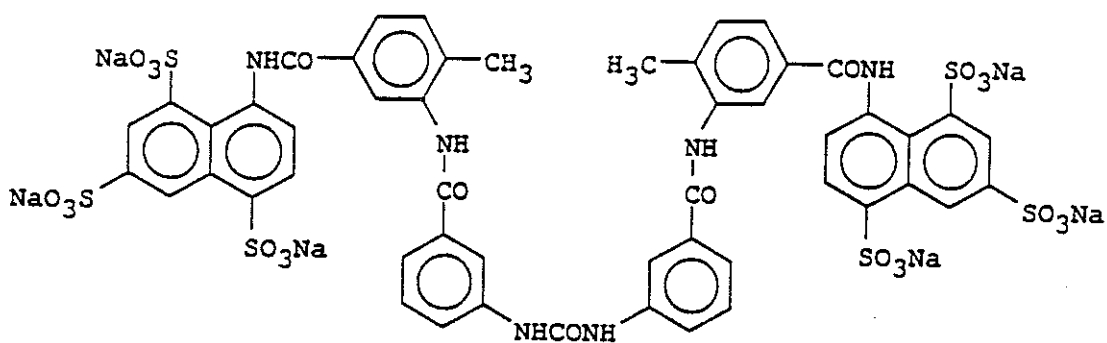
Mélarsoprol



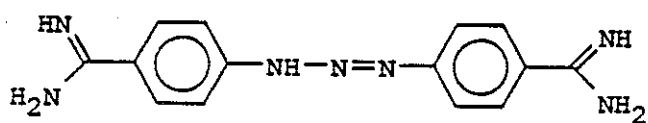
Nifurtimox



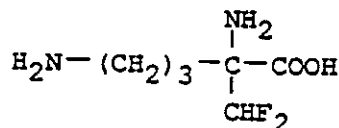
Pentamidine



Suramine



Acéturate de diminazène



Alpha-difluoromethyl ornithine

Figure n°4 :  
Structure développée des principaux médicaments  
de la trypanosomose humaine africaine.

### 1.4.1. Médicaments actifs en phase lymphaticosanguine :

#### 1.4.1.1. Pentamidine : LOMIDINE® (méthylate de penyamidine) PENTACARINAT® (diiséthionate de pentamidine)

Ce médicament, très actif en phase de généralisation sanguine, est le seul pouvant être administré en chimioprophylaxie contre *T. b. gambiense*. Mais, dans ce cas, devant la possibilité de résistances, son utilisation en traitement curatif est alors à proscrire dans ces régions, de plus il s'avère inefficace dans le traitement des trypanosomoses à *T. b. rhodesiense*.

- Mécanisme d'action : Il n'est pas encore bien établi. L'activité trypanocide émanerait :
  - d'une interaction entre la diamidine et l'ADN du trypanosome (Goodman-Gilman *et al.* 1991).
  - d'une perturbation du métabolisme du parasite par blocage de la glycolyse (Euzéby 1986).
- Posologie : La pentamidine est employée à la posologie unitaire de 3 à 4 mg par kilo de poids corporel (maximum 300 mg).
  - à titre curatif en série de 5 à 10 injections intra musculaires séparées de 24 à 48 heures.
  - à titre prophylactique 1 injection tous les quatre à six mois.
- Pharmacocinétique : Elle est bien absorbée par voie parentérale. Sa demi-vie plasmatique est proche de six heures alors que l'élimination urinaire est beaucoup plus lente (elle est excrétée par les urines pendant six à huit semaines après un traitement). Cette persistance est liée à un stockage viscéral important en particulier au niveau rénal (Laroche 1992).
- Effets secondaires : Sa toxicité, quoique relativement faible, ne peut être passée sous silence : après des douleurs locales au point d'injection, on peut noter des malaises voire un collapsus ou un coma cédant à l'administration de vasopresseurs, d'antihistaminiques, ou de soluté glucosé hypertonique.

#### 1.4.1.2. Suramine sodique : MORANYL®

La suramine est efficace aux stades précoces des infections à *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense*.

- Mécanisme d'action : Il est lié à l'inhibition de la glycérol phosphate oxydase (blocage de la glycolyse), et à l'inhibition du métabolisme protéique (Goodman-Gilman *et al.* 1991).
- Posologie : 20 mg par kilo et par jour en injection intraveineuse pendant 5 à 10 semaines consécutives.
- Pharmacocinétique : Administrée par voie parentérale, la suramine, très largement fixée aux protéines, possède une demi-vie très longue. Elle est non métabolisée et éliminée par voie urinaire.
- Effets secondaires : Des réactions d'hypersensibilité, bien que très rares, peuvent être évitées par l'administration d'une dose d'essai de 4 mg/kg. Compte tenu de la néphrotoxicité, un dosage de protéinurie doit être effectué avant chaque injection.

#### 1.4.1.3. Acéturate de diminazène : BERENIL®

C'est un produit vétérinaire utilisé pour traiter les affections à *T. congolense* et *T. vivax*. Parfois utilisé chez l'homme dans certaines régions d'Afrique, il ne présente en fait aucun avantage sur la pentamidine.

- Mécanisme d'action : Son activité est due à une inhibition de la synthèse de l'ADN et à un blocage du catabolisme glucidique.
- Posologie : Le Bérénil® est administré à raison d' une injection intramusculaire de 2 mg/kg/jour pendant 7 à 10 jours (Bouteille 1990).

### 1.4.2. Médicaments actifs en phase méningoencéphalitique :

#### 1.4.2.1. Mélarsoprol :

Découvert par Friedheim en 1948 (Bouteille 1990), ce produit résulte de la combinaison d'un composé arsénical trivalent : le mélarsen oxyde et du british anti léwisite (BAL). Pendant longtemps ce trypanocide a été le seul à être actif sur les deux phases de la

maladie à *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense*.

- Mécanisme d'action : Il agit par blocage du métabolisme glucidique en inhibant la pyruvate kinase et la glycérol phosphate déshydrogénase.

- Posologie : Habituellement, le mélarsoprol s'administre par voie veineuse à la dose de 3,6 mg/kg/jour en cures de trois jours séparées par 10 à 21 jours en respectant un plafond de 200 mg par injection. En phase lymphaticosanguine une seule série de trois injections suffit ; en phase de généralisation trois ou quatre séries sont nécessaires.

Cependant, les travaux de Bouteille *et al.* (1988), ont montrés qu'une cure de trois jours de mélarsoprol aux doses de 1,8 et 0,9 mg/kg/jr guérit sans rechute le mouton infesté par *T. b. brucei* à la phase de polarisation cérébrale dès l'apparition des signes de méningoencéphalite. Cette expérimentation permettrait d'envisager chez l'homme un allègement des doses habituellement utilisées.

- Pharmacocinétique : Longtemps sa prescription a reposé sur des considérations empiriques car on ne connaissait pas le radical actif de la molécule (Dumas *et al.* 1985). De ce fait, les posologies et les durées de traitement diffèrent considérablement d'un établissement à un autre (Van Nieuwenhove 1992). On sait maintenant que le mélarsoprol et ses métabolites sont éliminés en cinq jours essentiellement par voie biliaire et urinaire ; de faibles quantités sont retrouvées dans le LCR.

- Effets secondaires : Le principal handicap de l'utilisation du mélarsoprol est l'apparition d'encéphalopathie arsénicale, malheureusement presque toujours fatale : la fréquence de cet accident varie selon les auteurs entre 1 et 18,6 % des traitements. Les adjonctions de corticoïdes ou d'adrénaline sont souvent proposées sans que leurs avantages soient manifestes, si ce n'est dans le traitement du coma dû à l'arsobal (Sina *et al.* 1982). A ce risque prédominant, peuvent venir se greffer des accidents d'intolérance plus secondaires :

- malaise général fébrile,
- nécroses cutanées,
- douleurs diffuses,



- troubles digestifs.

A l'heure actuelle, malgré ses difficultés d'emploi et sa toxicité très élevée, le mélarsoprol reste le trypanocide le plus employé et le plus efficace à tous les stades de la maladie.

#### 1.4.2.2. Eflornithine (DFMO) : ORNIDYL®

D'usage récent, ce médicament constitue l'un des plus grands progrès en thérapeutique trypanocide. Il apparaît comme un nouveau produit bien toléré et remarquablement efficace dans le traitement de la trypanosomose à *T. b. gambiense* au stade tardif et même réfractaire au mélarsoprol (Moens *et al.* 1984).

- Mécanisme d'action : En inhibant de façon irréversible l'ornithine décarboxylase, enzyme essentielle à la synthèse des polyamines, l'éflornithine entraîne une diminution de la biosynthèse de putrescine et de spermidine, facteurs de la multiplication cellulaire et composants essentiels du trypanothion (Taelman *et al.* 1988, Breton *et al.* 1988).

- Posologie : Deux voies d'administration peuvent être utilisées :

- Son hydrosolubilité permet une utilisation par voie orale : après une prise de 10mg/kg, la concentration plasmatique maximum est obtenue au bout de quatre heures (Breton et Dumas 1990), la demi-vie d'élimination se rapprochant de 199 minutes.

- Administration du produit par voie intra-veineuse.

Le protocole d'administration comprend une perfusion de six heures avec 400mg/kg/jour pendant deux semaines, suivie d'une prise orale de 300mg/kg/jour pendant trois semaines. Ce protocole, relativement lourd, nécessite l'hospitalisation et limite son usage sur le terrain africain.

- Pharmacocinétique : L'étude pharmacocinétique du produit révèle une bonne absorption digestive, une faible métabolisation et une élimination essentiellement urinaire. La demi-vie relativement courte (3 à 3,5 heures) entraîne la nécessité de plusieurs prises quotidiennes (Furet *et al.* 1987). Le produit diffuse dans le LCR jusqu'à des valeurs atteignant 51% de la concentration sérique.

- Effets secondaires (Kazumbia *et al.* 1988) : Bien toléré chez l'homme, ce produit

présente des effets indésirables réversibles à l'arrêt du traitement, en particulier :

- diarrhées,
- altération de la formule sanguine,
- vomissements, perte de l'appétit...

#### **1.4.2.3. Nifurtimox : LAMPIT®**

Le nifurtimox, rare médicament actif dans les phases précoces de la trypanosomose à *T. cruzi*, est très utilisé pour traiter des THA à *T. b. gambiense* résistantes au mélarsoprol (Pepin *et al.* 1987, Moens *et al.* 1984).

- Mécanisme d'action : Il agirait par action inhibitrice directe sur la trypanothion réductase et augmenterait ainsi la quantité intracellulaire de peroxides (Goodman-Gilman *et al.* 1991).

- Posologie : L'administration se fait par voie orale à la dose de 15 à 20 mg/kg/jour en trois prises, pendant 21 à 30 jours.

- Pharmacocinétique : Après une administration par voie orale, seules de faibles concentrations sont retrouvées dans le sang et dans l'urine.

- Effets secondaires (Van Nieuwenhove 1992) :

- toxicité au niveau du système nerveux central (vertiges, convulsions),
- neuropathies périphériques,
- anorexie et perte de poids,
- troubles digestifs,
- troubles cutanés,
- céphalées, arthralgies.

#### **1.4.3. Autres molécules : Les spiroarsoranes :**

Ces médicaments encore en expérimentation, se situent parmi les produits prometteurs dans le traitement de la trypanosomose. Ils se présentent comme étant des dérivés arsénicaux cyclisés ce qui diminuerait considérablement les effets secondaires constatés lors de l'utilisation des dérivés arsénicaux.

- Posologie : Au début de la maladie, lorsque l'infection n'est pas généralisée, ils sont actifs à dose unique chez le mouton sur les deux phases de la maladie. Après généralisation ils ne sont trypanocides qu'à doses répétées.
- Effets secondaires et pharmacocinétique : Ce sont des médicaments peu toxiques qui, du fait de leur grande lipophilie, diffusent vers le système nerveux central et s'accumulent dans les organes profonds (Dreyfuss *et al.* 1990).

A l'heure actuelle, la thérapeutique de la trypanosomose repose sur l'association de trypanocides actifs en phases méningoencéphalitique et lymphaticosanguine, permettant une diminution des doses et donc des effets secondaires.

De plus, on note des cas de plus en plus nombreux de résistance à la thérapeutique arsénicale : le nifurtimox et l'éflornithine sont aujourd'hui les seules alternatives.

Pour pallier les inconvénients de cette thérapeutique, il était tentant d'envisager la mise au point d'un vaccin, mais celle-ci s'est avérée impossible en raison de la capacité que possède le trypanosome à se dissimuler par le processus de variation antigénique.

## **1.5. Méthodes de lutte non médicamenteuses :**

La prophylaxie repose sur deux techniques essentielles :

- le dépistage actif par équipes mobiles au niveau de la population africaine.
- la lutte contre les vecteurs : les glossines.

La méthode proposée par Jamot (1926-1932) pour combattre la maladie du sommeil reste encore le modèle de lutte contre une grande endémie en zone tropicale (Gentilini et Duflo 1986). Les enquêtes purement parasitologiques au départ, sont actuellement facilitées par des techniques immunologiques vues précédemment :

- immunofluorescence indirecte (technique de référence),
- test trypan CATT,
- hémagglutination passive en tube capillaire,
- test Elisa.

Ce dépistage actif, permettant la mise en évidence des malades le plus précocément

possible, a de ce fait un impact important sur la transmission de la maladie (Stangellini 1988) et reste à l'heure actuelle le moyen de contrôle le plus fiable.

Pour la lutte anti-vectorielle, plusieurs alternatives furent proposées :

- l'épandage massif d'insecticides autrefois considéré comme une arme principale est aujourd'hui délaissé.

- le "lâché de mâles stériles" exige de coûteux dispositifs et il est très difficile de protéger les zones nettoyées d'une réinfestation ultérieure (Wéry 1990).

- Le piégeage constitue un moyen plus efficace, moins coûteux et plus accessible écologiquement que le largage d'insecticide. Il peut de plus être confié aux habitants. Deux pièges sont aujourd'hui pris en considération : le piège biconique de Challier-Laveyssière (1977) et le pyramidal bleu-noir de Gouteux et Lancien (1986) (Gentilini et Duflo 1986).

- Le débroussaillage des gîtes à glossines est aujourd'hui proscrit pour des raisons écologiques.

En conclusion, la lutte anti-vectorielle qui pourrait être très efficace pour la prévention de la THA reste une méthode coûteuse souvent délaissée par la population africaine.

## 2. LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES AFRICAINES.

La trypanosomose animale peut se scinder en deux groupes bien distincts :

- les infections à *T. b. gambiense* et *T. b. rhodesiense* aussi bien présentes chez l'homme que chez l'animal. Leurs caractères zoonotiques (caractéristique de *T. b. rhodesiense*) révèle le problème des réservoirs animaux qui freinent le contrôle de la maladie.
- les affections purement animales causées par un ensemble de trypanosomes déterminés et n'évoluant jamais chez l'homme.

Ici seules les trypanosomoses strictement animales seront abordées.

### 2.1. Classification.

Elle repose sur l'étude de trois critères principaux : la morphologie, la biologie et la pathogénicité du trypanosome (Euzéby 1986).

La taxonomie des trypanosomes ne retient qu'un seul genre : *Trypanosoma* avec plusieurs sous genres groupés en deux groupes :

- le groupe *stercoraria* où se situe l'agent de la maladie de Chagas : *T. cruzi*,
- le groupe *salivaria* qui englobe tous les parasites de trypanosomoses africaines en

quatre sous-genres :

- sous genre *Dutonella* : auquel se rattache *T. vivax*,
- sous genre *Nannomonas* : auquel se rattache *T. congolense* et *T. simiae*,
- sous genre *Trypanozoon* : est représenté par le groupe *brucei* qui englobe :
  - \* *T. b. gambiense*
  - \* *T. b. rhodesiense*,
  - \* *T. b. brucei*,
  - \* *T. b. evansi*,
  - \* *T. b. equiperdum*,
- sous genre *Pycnomonas* : se résume à une seule espèce : *T. suis*.

## 2.2. Epidémiologie :

L'infection se réalise essentiellement par les piqûres de glossines dont la répartition géographique correspond globalement à celle des trypanosomoses humaines. Exceptionnellement, d'autres vecteurs agissant de façon mécanique peuvent intervenir : ainsi *T. vivax* et *T. evansi* sont transmis par les tabanidés et les stomoxes (Euzéby 1986) ; *T. equiperdum*, agent spécifique des équidés, se transmet par contact vénérien.

La répartition géographique découle du mode de transmission :

- *T. brucei* n'est présent que dans les aires à glossines : Afrique occidentale, centrale et orientale.
- *T. suis* est présent en Afrique orientale.
- *T. congolense* et *T. simiae* se retrouvent dans toute la zone tropicale d'ouest en est.
- *T. vivax* est essentiellement présent en Afrique occidentale et centrale.

## 2.3. Clinique :

Les caractéristiques cliniques de la trypanosomose animale sont comparables à celles de la T.H.A. : des symptômes généraux qui retracent l'évolution de la T.H.A. font généralement suite à des phénomènes locaux souvent peu perceptibles. Cependant, l'évolution

de la maladie varie selon l'espèce animale et le parasite en cause : l'infection peut revêtir une forme aiguë à évolution rapide ou adopter un mode chronique. Cette chronicité chez l'animal permet d'expliquer l'importance de ce dernier dans la transmission de la maladie : les animaux domestiques et surtout sauvages constituent un réservoir de parasites essentiel difficile à maîtriser.

Le tableau n°1 tiré des travaux d'Euzéby (1986) résume les différentes formes d'affections animales.

| Espèces de Trypanosomes          | Principaux réservoirs animaux                      | Pathogénicité   |
|----------------------------------|--|---|
| <i>Trypanosoma vivax</i>         | - Bovins<br>- Equidés                              | - Evolution lente et rémissions fréquentes<br>- Chronique                 |
| <i>Trypanosoma simiae</i>        | -Dromadaires<br>-Porcs                             | -Aiguë et rapidement mortelle<br>-Suraiguë (mort en quelques jours)       |
| <i>Trypanosoma congolense</i>    | -Bovins<br>-Equidés<br>-Dromadaires<br>-Carnivores | -Très pathogène<br>-Chronique<br>-Aiguë (rapidement mortelle)             |
| <i>Trypanosoma brucei brucei</i> | -Bovins<br>-Equidés<br>-Carnivores                 | -Chronique (évolution lente)<br>-Aiguë ou subaiguë (évolution rapide)     |
| <i>Trypanosoma equiperdum</i>    | -Equidés domestiques                               | -mort en 2 à 3 mois   |
| <i>Trypanosoma suis</i>          | -Porcs   | -Chronique chez adultes<br>Subaiguë chez le porcelet (mort en 2 à 3 mois) |

**Tableau n°1 .**  
**Caractères physiopathologiques et réservoirs animaux des différentes espèces de trypanosomes (Euzéby 1986).**

| Médicaments             | Animaux parasités                     | Trypanosomes  | Activité thérapeutique  |
|-------------------------|---------------------------------------|---|---|
| Acéturate de diminazène | -Chien<br>-Porc<br>-Bétail            | <i>T. brucei</i> , <i>T. evansi</i> ,<br><i>T. congolense</i><br><i>T. simiae</i><br><i>T. brucei</i> , <i>T. congolense</i> ,<br><i>T. vivax</i>   | -Curatif : 7 mg/kg (sc)<br>-Prévention : 5 mg/kg (sc)<br>-Curatif (excepté pour <i>T. brucei</i> )      |
| Qninapyramine           | -Bétail<br>-Cheval<br>-Chien<br>-Porc | <i>T. brucei</i> , <i>T. evansi</i> ,<br><i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i><br><i>id.</i> + <i>T. equiperdum</i><br><i>T. brucei</i> , <i>T. congolense</i><br><i>T. brucei</i> ,<br><i>T. simiae</i> | -Curatif<br>-Prévention<br>-Curatif : 5 mg/kg<br>-Associé au diminazène, en prévention : 7,5 mg/kg (sc) |
| Homidium                | -Bétail<br>-Equidés                   | <i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i> ,<br><i>T. brucei</i><br><i>T. vivax</i>   | -Curatif  |
| Prothidium              | -Bétail                               | <i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i>  | -Curatif et préventif   |
| Isoméamidium            | -Bétail                               | <i>T. vivax</i> , <i>T. congolense</i> ,<br><i>T. simiae</i>  | -Curatif et préventif<br>-Préventif à la dose de 12,5 à 35 mg/kg (associé au diminazène)                |
| Suramine                | -Chien<br>-Cheval<br>-Chameau         | <i>T. brucei</i> , <i>T. evansi</i><br><i>T. brucei</i> , <i>T. evansi</i><br><i>T. evansi</i>  | -Curatif à la dose de 7 à 10 mg/kg en intra-veineuse  |

Tableau n°2.

Principaux médicaments utilisés dans le traitement des trypanosomoses animales  
(Fraser et Mays 1986) (sc = sous-cutané).



## **2.4. Conséquences économiques et sociales :**

La trypanosomose animale représente un véritable fléau pour l'économie des pays concernés. Le choix thérapeutique résumé dans le tableau n°2 est relativement restreint. Outre le coût élevé et non négligeable des opérations thérapeutiques (Kuzoe 1991), on estime que les pertes annuelles infligées à l'élevage africain s'élèvent à plusieurs milliards de dollars : elles atteignaient cinq milliards en 1984 ( Euzéby 1984).

A cela viennent s'ajouter des conséquences sociales dramatiques se traduisant par une réduction considérable des réserves protéiques et une diminution du rendement des animaux. L'impact de cette affection sur l'équilibre économique du pays constitue l'une des principales motivations de la recherche de nouvelles thérapeutiques.

### **3. METHODES D'ETUDE DES MEDICAMENTS TRYPANOCIDES.**

Le choix de médicaments trypanocides est, comme nous l'avons vu précédemment, très réduit. A l'heure actuelle, la thérapeutique repose sur l'utilisation de dérivés arsénicaux très actifs en particulier sur la phase méningoencéphalitique mais aussi très toxiques ; or, ils sont souvent utilisés devant la difficulté de détermination de l'extension de la maladie.

Aujourd'hui, la principale motivation des chercheurs est de trouver un produit peu ou non toxique capable de traverser la barrière hémato-méningée.

#### **3.1. Modèles expérimentaux.**

Les études expérimentales de ces différents produits reposent sur deux méthodes de cultures différentes :

- *in vitro*,
- *in vivo* sur des modèles animaux.

| Modèles                     | Parasites                                   | Expérimentation   | Références   |
|-----------------------------|---|---|--|
| Souris Swiss IRC/HA         | <i>T.b.rhodesiense</i><br>Wellcome CT       | Criblage de 5500<br>molécules   | -Rane <i>et al.</i> (1976)<br>-Kinnamon <i>et al.</i> (1980)                         |
| Souris Swiss Webster<br>IRC | <i>T.b.brucei</i><br>Eatro 110              |   | -Nathan <i>et al.</i> (1979,<br>1981, 1984)<br>-Bacchi <i>et al.</i> (1980,<br>1981) |
| Souris Rat                  | <i>T.b.brucei</i><br><i>T.b.rhodesiense</i> | Test du Sham (ac.<br>salicylhydroxamique)<br>et du glycérol   |  |
| Souris CF-1                 | <i>T.b.brucei</i>                           | -Mélarsoprol actif à<br>doses élevées mais suivi<br>de rechutes.<br>- mise en évidence<br>d'évolutions subaiguës<br>chez la souris  | -Poltera <i>et al.</i><br>(1980, 1981)   |
| Souris CF-1                 | <i>T.b.brucei</i>                           | Acéturate de<br>diminazène  | -Jennings <i>et al.</i> (1977)   |
| Souris CF-1                 | <i>T.b.brucei</i><br>TREU 667               | action synergique de<br>DFMO + suramine et<br>DFMO+ bléomycine  | -Clarckson <i>et al.</i> (1983)<br>-Clarckson <i>et al.</i> (1984)                   |
| Souris                      | <i>T.b.brucei</i> GVR 36                    | DFMO et Mélarsoprol<br>(diminution des doses)   | -Jennings (1988)   |
| <i>Microtus montanus</i>    | <i>T.b.gambiense</i>                        | Mélarsoprol : actif si<br>adminis. tôt et inactif si<br>affection chronique<br>Suramine : efficace<br>après 21 jours<br>(contradiction avec effet<br>thérap. chez homme :<br>limitation de ce modèle) |  |

Tableau n° 3.

Rongeurs utilisés en tant que modèles expérimentaux d'étude du traitement de la trypanosomose humaine africaine (Bouteille 1990).

### 3.1.1. Etude *in vitro* (Bouteille 1990) :

L'étude *in vitro* consiste à maintenir en culture des formes sanguines de trypanosomes et constitue la première étape de criblage des molécules trypanocides étudiées.

Depuis le début du siècle des tapis cellulaires nourriciers permettaient la multiplication des parasites. Ce n'est qu'en 1985 que les milieux acellulaires furent décrits. Cette étude *in vitro* permet de mettre en évidence une activité directe sur les formes sanguicoles.

### 3.1.2. Etude *in vivo* :

Trois principaux modèles animaux sont utilisés : le modèle murin, le modèle ovin et le modèle simien.

- Le modèle murin : Divers composés ont été expérimentés chez les rongeurs qui permettent un tri primaire (les principaux médicaments sont présentés dans le tableau n°3 ainsi que les souches parasitaires étudiées).

Cependant, il faut savoir que la capacité des trypanosomes à produire une infection chez les rongeurs dépend essentiellement :

- de la souche de trypanosome,
- de l'espèce hôte,
- du sexe de l'espèce hôte (Bouteille 1990).

De plus, le modèle murin diffère trop de l'homme pour être représentatif de l'efficacité du produit dans les infections humaines.

- le modèle ovin (Bouteille 1990) : Ce n'est que depuis une vingtaine d'années que l'on connaît l'existence de la trypanosomose naturelle chez le mouton :

- en 1969 un rapport de FAO/WHO pose le problème de cette parasitose chez le bovin.
- en 1973 Mc Kenzie *et al.* décrivent pour la première fois les différentes formes d'infections à *T. congolense* et *T. vivax* chez le mouton.

Les trypanosomoses expérimentales décrites dans les travaux de

Ikede et Ikede (1972) et Losos (1975) montrent bien la réceptivité du mouton à *T. b. brucei* : l'animal présente du point de vue clinique, parasitologique et biochimique une maladie presque semblable à la maladie humaine (Bouteille *et al.* 1988 a) :

- hyperthermie,
- anémie,
- perte de poids,
- parasitémie transitoire.

De plus, il représente une abondante source de sang et de liquide céphalorachidien qui permet d'étudier la pharmacocinétique des médicaments.

- le modèle simien : Un troisième modèle expérimental réceptif à la maladie pourrait être pris en considération : le singe. Mais dans nos pays tempérés, son prix reste très élevé et son élevage difficile. Les différents modèles simiens utilisés sont répertoriés dans le tableau n°4.

| Modèles                              | Parasites  | Expérimentation                      | Références                        |
|--------------------------------------|--|--------------------------------------|-----------------------------------|
| Singe :<br><i>Cercopithecus sp</i>   | <i>T. b. rhodesiense</i>                           | Etude du LCR                         | Corson (1938)                     |
| Macaque :<br><i>Macaca arctoides</i> | <i>T. b. rhodesiense</i>                           | Inefficacité du<br><b>Diminazène</b> | Raether et<br>Seidenath (1976)    |
| Singes<br>cercopithèques             | <i>T. b. rhodesiense</i><br>souche EATRO<br>(1989) | Rechute avec<br><b>Diminazène</b>    | Schmidt et Sayer<br>(1982 a et b) |

**Tableau n°4.**

**Primates utilisés en tant que modèles expérimentaux d'étude de la trypanosomose humaine africaine (Bouteille 1990).**

Pour notre expérimentation, les molécules synthétisées par le Professeur Craciunescu ont dans un premier temps été sélectionnées chez la souris CD1 infectée par *T. b. brucei*

(parasite de rongeur) par l'équipe du Docteur Loiseau à Chatenay-Malabry ; puis le produit a été évalué dans la trypanosomose expérimentale du mouton à Limoges.

### **3.2. Nouvelles voies thérapeutiques :**

Les principaux progrès acquis au cours des dernières décennies en thérapeutique trypanocide sont représentés par trois classes médicamenteuses :

#### **- Les inhibiteurs de la synthèse des polyamines : éflornithine**

Ce médicament, qui semblait au départ très prometteur, reste malgré son efficacité difficile à employer. La lourdeur du protocole et son coût limitent considérablement son utilisation.

#### **- Les dérivés arsénicaux :**

Ils constituent l'essentiel des trypanocides utilisables dans la phase méningoencéphalique de l'infection, mais leur toxicité limite leur utilisation. De plus on note depuis ces dix dernières années un taux d'échecs de la thérapeutique au mélarsoprol de plus en plus important (10%) (Kazumba *et al.* 1988).

La cyclisation de la structure de ces acides arséniques a débouché sur une série de produits peu toxiques et actifs sur les deux phases de la maladie : les spiroarsoranes (Dreyfuss *et al.* 1988).

#### **- Les dérivés organo-métalliques :**

Ils étaient au départ utilisés comme anti-tumoraux, mais le manque de médicaments efficaces dans le traitement de la trypanosomose pousse les chercheurs à utiliser des molécules destinées à une thérapeutique différente, mais présentant un mode d'action comparable aux trypanocides actuels (Dreyfuss *et al.* 1988).

Les sels de métaux lourds connus pour leurs propriétés anti-tumorales en tant qu'intercalants de l'ADN ont donc été expérimentés : leur utilisation s'avère efficace mais présente une forte toxicité aux doses curatives.

Leur complexation avec des molécules à activité trypanocide permet une diminution de cette toxicité associée à une potentialisation de l'activité (Zinstag *et al.* 1991).

Les travaux de Loiseau *et al.* (1992) sont consacrés à l'étude de l'action trypanocide

de 27 complexes organométalliques synthétisés par le Professeur Craciunescu et dérivant de différents métaux tels que le platine, rhodium, iridium, palladium et osmium.

L'activité trypanocide contre *T. b. brucei* est étudiée *in vitro* et *in vivo* chez la souris : ainsi les résultats prouvent que les composés les plus actifs sont les dérivés de la pentamidine.

Parmi eux, l'Ir COD pentamidine s'avère être 16 fois plus efficace que la pentamidine seule et son index thérapeutique 7,5 fois plus élevé. Il semble donc intéressant de poursuivre l'étude de l'activité et de la pharmacocinétique de ce produit chez le modèle mouton.

*CHAPITRE DEUXIEME*

**ACTIVITE TRYPANOCIDE ET  
CINETIQUE PLASMATIQUE DE  
L'IRIDIUM COD PENTAMIDINE DANS  
LA TRYPANOSOMOSE  
EXPERIMENTALE DU MOUTON.**



Ce chapitre présente l'étude de l'activité trypanocide et la cinétique d'un complexe organométallique : l'Ir COD Pentamidine chez le modèle ovin après infestation par *T. b. brucei*.

Pour cette expérimentation, le produit utilisé, synthétisé par le Professeur Craciunescu, a été étudié, dans un premier temps, chez la souris CD1 (infectée par le même parasite) par l'équipe du Dr Loiseau à Chatenay-Malabry.

La première partie de ce chapitre est consacrée à la description du matériel et aux méthodes expérimentales mises en oeuvre. Puis, après présentation des résultats obtenus dans une deuxième partie, nous abordons l'exploitation de ces résultats que nous comparons avec les données de la littérature.

## **1. MATERIELS ET METHODES.**

### **1.1. Matériels.**

#### **1.1.1. Matériel biologique :**

##### **1.1.1.1. Le modèle animal : le mouton (*Ovis aries*) :**

Le modèle expérimental de la trypanosomose choisi pour nos travaux est le modèle ovin. Le mouton est en effet un des rares animaux qui répond aux différents critères

nécessaires pour mener à bien des essais pharmacocinétiques :

- la trypanosomose est une maladie naturelle chez le mouton (bonne réceptivité de l'animal à l'infection),
- l'élevage en est relativement aisé,
- les prélèvements biologiques facilement réalisables.

L'étude a été effectuée sur cinq moutons mâles âgés de 2 à 3 mois, d'un poids corporel de 21 à 31,5 kg avant l'expérimentation (Tableau n°5). Pour permettre de différencier les animaux, chacun est marqué à l'oreille à l'aide d'une bague numérotée.

| N°<br>MOUTONS | POIDS<br>CORPOREL (kg) |
|---------------|------------------------|
| 1             | 30,8                   |
| 2             | 31,2                   |
| 3             | 29,2                   |
| 4             | 31,4                   |
| 5             | 21                     |

**Tableau n°5.**

**Poids corporel des animaux utilisés avant l'expérimentation.**

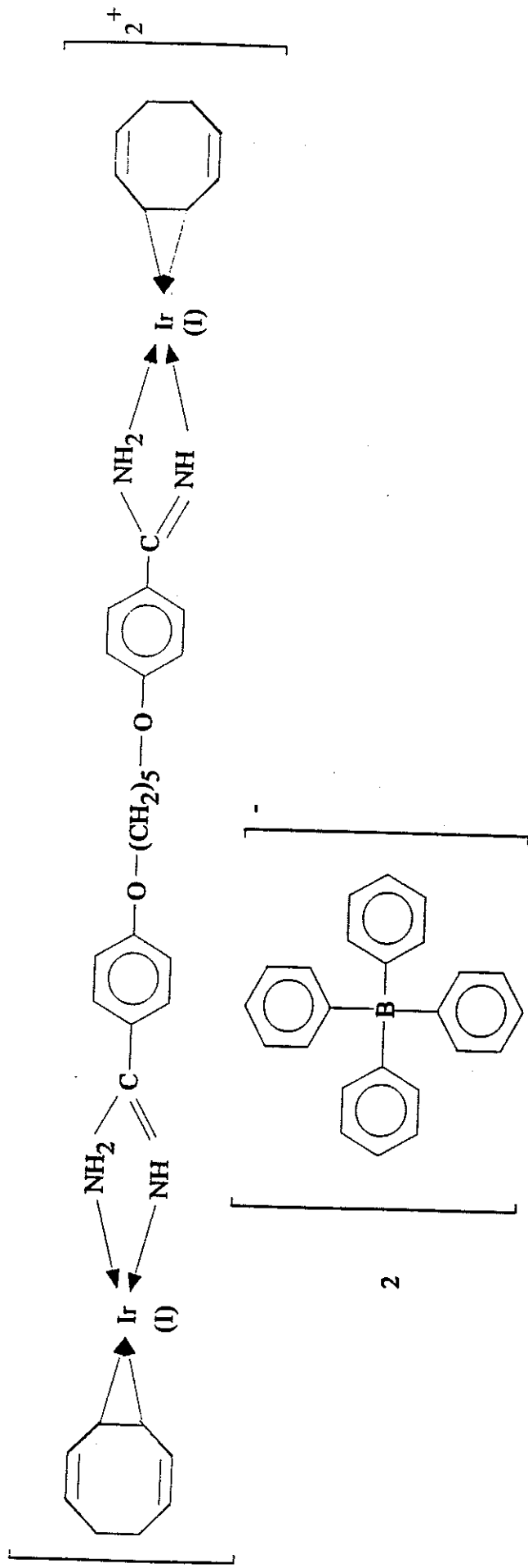
Pendant toute l'expérimentation les moutons sont élevés en stabulation. Avant toute étude, ils subissent un examen clinique et un contrôle sanitaire (anthelminthiques par voie orale).

L'étude est réalisée sur des moutons mâles, car l'orchite volumineuse, qui apparaît dès les premières semaines de la maladie, représente un des symptômes caractéristiques de la trypanosomose à *T. b. brucei*.

**1.1.1.2. La souche de trypanosomes :**

La souche utilisée est *Trypanosoma brucei brucei* ANTAT 1.9 et provient de l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers (Belgique). Elle nous a été aimablement fournie par le laboratoire de parasitologie de la Faculté de Médecine de Limoges.

Figure n° 5



Tétraphénylborate d'Iridium cyclooctadiène pentamidine

MM = 1575

Les trypanosomes sont conservés dans l'azote liquide à  $-180^{\circ}\text{C}$  puis entretenus par passages répétés chez la souris Swiss : une première injection est effectuée en intrapéritonéale à la souris : l'observation s'effectue deux fois par jour. Au bout de 48 heures, on recherche les trypanosomes à l'état frais et on détermine la parasitémie après dilution d'une goutte de sang murin infecté dans un millilitre de soluté physiologique.

En pratique, l'entretien de la souche sur souris s'effectue en inoculant par injection intrapéritonéale 200 microlitres de suspension de sang dilué contenant 5 à 10 parasites par champ microscopique à l'objectif 40. Cependant, il est préférable de pratiquer un comptage sur cellule de Malassez pour donner le nombres de parasite par millilitres.

La survie des souris dans ces conditions étant de 3 à 4 jours, on réalise le repiquage régulièrement tous les 2 à 3 jours.

Les trypanosomes sanguicoles apparaissent très mobiles au microscope optique ; la mort rapide des souris confirme la pathogénicité et la virulence de la souche.

### 1.1.2. Matériel chimique et analytique :

#### 1.1.2.1. Produit étudié : Iridium (I) Cyclooctadiène Pentamidine :

Ce dérivé de la pentamidine nous a été fourni par la Professeur Craciunescu (laboratoire de chimie minérale et analytique, Faculté de Pharmacie de Madrid, Espagne).

- Formule développée : (d'après le professeur Craciunescu) : Figure n°5
- Masse moléculaire : 1575 gr
- Caractères organoleptiques : "poudre" granuleuse de couleur brune.
- Caractères physiques :
  - stable à la lumière et à l'air
  - peu soluble dans l'eau
  - modérément soluble dans le diméthylsulfoxyde (DMSO), le diméthyl formamide, chlorure d'éthylène et un peu moins dans la pyridine et le tétrahydrofurane (Craciunescu *et al.* 1991). A très faibles concentration, il est soluble dans un mélange : eau (95 %) et DMSO (5 %).

En ce qui concerne l'activité trypanocide contre *T. b. brucei*, ce produit est efficace chez la souris à la dose de 0,5 à 2 mg/kg en sous-cutanée à dose unique (Loiseau *et al.* 1992).

La dose maximale tolérée est de 200mg/kg par la même voie en dose unique chez la souris et l'index thérapeutique de 400.

#### **1.1.2.2. Matériel analytique :**

Le matériel de spectrométrie par absorption atomique (SAA) utilisé pour le dosage sérique du produit comporte les éléments suivants :

- spectrophomètre VARIAN ZEEMAN 300/400
- Four graphite ZEEMAN
- Lampe à vapeur d'iridium à cathode creuse (PHOTRON)
- Passeur automatique d'échantillons ZEEMAN
- Lecture spectrophométrique à 264 nm.

## **1.2. Protocole opératoire.**

Le protocole opératoire permettant l'étude de l'activité trypanocide du complexe organométallique et la cinétique sérique de l'iridium comprend dans un premier temps la surveillance biologique des animaux : infestation, traitement et prélèvements sanguins ; et dans un deuxième temps les méthodes de dosage mises en oeuvre pour l'étude pharmacocinétique.

### **1.2.1. Surveillance biologique :**

#### **1.2.1.1. Infection des animaux :**

La souche est entretenue chez la souris Swiss. On détermine d'abord la parasitémie par comptage sur cellule de Malassez à partir d'une suspension de deux gouttes de sang prélevé à la queue de la souris et dilué dans deux millilitres d'eau physiologique.

L'inoculum doit être ajusté à  $10^5$  trypanosomes dans une solution de tampon phosphate (PBS), pH 7,2, sous un volume de 0,2 ml.

Chez la souris utilisée, la parasitémie s'élève à environ 3000 trypanosomes par

millimètres cube. La solution à injecter est donc préparée par dilution d'une goutte de sang parasité dans 4 ml de PBS.

Chaque mouton reçoit 0,2 ml de cette solution en injection sous-cutanée dans l'ars :

- les animaux 1, 2, 3 et 4 sont inoculés à  $J_0$  : ils seront utilisés pour l'étude de la pharmacocinétique.
- l'animal n°5 est inoculé à  $J_0$  mais ne sera traité qu'à  $J_{30}$  et nous servira de témoin d'infection.

#### 1.2.1.2. Traitement trypanocide :

##### - préparation du produit :

Le traitement se fera par injection d'une suspension du produit dans une solution de CMC à 1%. Afin d'obtenir une granulométrie homogène, le sel est mélangé dans un mortier avec la CMC (700 mg de médicament dans 700 ml de CMC). La suspension obtenue a une concentration de 100mg/ml du produit total.

##### - injection aux animaux :

Chaque animal traité reçoit une injection sous cutanée du produit dans l'ars (zone nue chez le mouton).

Le traitement est effectué à  $J_8$  : période où le parasite est en phase lymphaticosanguine.

Les doses injectées sont résumées dans le tableau n°6 :

|                            | Mouton n°1<br>(31 kg) | Mouton n°2<br>(31 kg) | Mouton n°3<br>(29 kg) | Mouton n°4<br>(31 kg) | Mouton n°5<br>(21 kg)              |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------------------|
| Posologie<br>(mg/kg)       | 1                     | 1                     | 10                    | 10                    | 10                                 |
| Doses<br>injectées<br>(ml) | 0,30                  | 0,31                  | 2,9                   | 3,1                   | 2,1<br>(traitement à<br>$J_{30}$ ) |

Tableau n°6.

Posologies et doses injectées aux animaux lors du traitement trypanocide.

### **1.2.2.3. Surveillance des animaux :**

Elle repose sur deux critères essentiels :

- l'examen clinique,
- la surveillance biologique.

#### **- l'examen clinique :**

Les principaux signes retenus sont empruntés au protocole de Bouteille (1988 a), qui considère les points suivants :

- \* l'apparition et durée d'un trypanome,
- \* l'évolution de la température rectale, du poids corporel, de l'anémie,
- \* l'apparition d'adénopathies,
- \* l'apparition et la durée des oedèmes et leurs localisations,
- \* l'apparition d'une orchite,
- \* l'apparition de troubles nerveux,
- \* les lésions oculaires,
- \* les modifications des phanères,
- \* un prurit,
- \* le comportement général.

Lors de notre expérience, l'observation clinique a porté sur l'apparition :

- des lésions oculaires (larmolement),
- d'une orchite,
- d'un trypanomé (Bouteille 1990).

#### **- la surveillance biologique :**

Elle a lieu une première fois à J<sub>8</sub> après prélèvements de sang au niveau de la jugulaire, et recueilli sur anticoagulant. Deux méthodes sont utilisées :

- recherche de la parasitémie entre lame et lamelle à l'état frais,
- après concentration sur DEAE cellulose selon la technique de Lanham et Godfrey (1970).

### **1.2.2.4. Pharmacocinétique :**

#### **- Prélèvement de sang :**

Les prélèvements sont effectués chez le mouton au niveau de la jugulaire selon les horaires indiqués dans le tableau n°7. Le recueil s'effectue dans des tubes secs.

Le mouton n°4 n'a pu être immobilisé pour le prélèvement bien que l'inoculation et le traitement aient été réalisés : l'étude ne portera donc que sur quatre moutons.

Le mouton n°5 traité à J<sub>30</sub> ne fait pas l'objet de l'étude pharmacocinétique.

| Numéro des prélèvements | Horaires des prélèvements en heures |            |            |
|-------------------------|-------------------------------------|------------|------------|
|                         | Mouton n°1                          | Mouton n°2 | Mouton n°3 |
| T <sub>0</sub>          | 0                                   | 0          | 0          |
| T <sub>1</sub>          | 1,08                                | 1,03       | 0,83       |
| T <sub>2</sub>          |                                     | 3          | 2,75       |
| T <sub>3</sub>          | 8,7                                 | 8,6        | 8,36       |
| T <sub>4</sub>          | 30,16                               | 30,35      | 29,83      |
| T <sub>5</sub>          | 49,58                               | 49,83      | 49,93      |
| T <sub>6</sub>          | 121,7                               | 121,63     | 121,35     |

**Tableau n°7.**

**Chronologie des prélèvements sériques chez les moutons traités par l'Ir COD Pentamidine.**

**- Préparation des échantillons :**

Les tubes secs sont laissés au repos pendant quelques heures pour que s'effectue la rétraction du caillot. Le sérum est récupéré à l'aide d'une pipette Pasteur et réparti dans des tubes à hémolyse.

Après centrifugation, on prélève de nouveau le sérum que l'on place dans des tubes à hémolyse et que l'on conserve jusqu'au dosage au congélateur à la température de -18°C, pendant plusieurs semaines.

**1.2.2. Protocole analytique : Dosage de l'Ir COD Pentamidine :**

Le dosage plasmatique de l'iridium se fait par spectrophotométrie d'absorption atomique.



La technique utilisée, obtenue par communication personnelle (Perkin Elmer), ne nécessite pas d'extraction contrairement au protocole du dosage du platine (Hull *et al.* 1981) modifié (Laroche 1992). Le protocole analytique met en oeuvre la méthode des ajouts dosés qui consiste à surcharger la prise d'essai à analyser de quantités croissantes et connues de la substance à doser : ces solutions forment alors une série d'étalons de concentrations différentes (Pradeau 1992).

Cette technique d'étalonnage permet de maîtriser les interférences possibles lorsqu'on opère en milieu complexe (liquide biologique, sérum et excipient : carboxyméthylcellulose), et d'améliorer la sensibilité du dosage quand l'échantillon est très faiblement dosé tout en contrôlant la sélectivité.

La programmation du four graphite est précisée dans le tableau n°8.

| Phase | Température (°C) | Temps de maintien (secondes) | Gas flow (l/mn) |
|-------|------------------|------------------------------|-----------------|
| 1     | 85               | 5,0                          | 3,0             |
| 2     | 95               | 40,0                         | 3,0             |
| 3     | 130              | 10,0                         | 3,0             |
| 4     | 130              | 10,0                         | 3,0             |
| 5     | 1000             | 10,0                         | 3,0             |
| 6     | 1000             | 20,0                         | 3,0             |
| 7     | 1000             | 1,5                          | 0,0             |
| 8     | 2900             | 1,0                          | 0,0             |
| 9     | 2900             | 1,5                          | 0,0             |
| 10    | 2900             | 1,0                          | 3,0             |

**Tableau n°8.**

**Programmation du four graphite en spectrométrie d'absorption atomique pour le dosage sérique de l'Ir COD Pentamidine.**

L'étalon d'Iridium sous forme de métal est utilisé à une concentration de 1000 µg/ml dans HCl à 20%. Les mesures se font à 264 nm par lecture de la hauteur des pics. Le gaz utilisé est l'argon.

## **2. RESULTATS.**

Le premier paragraphe présente les différents paramètres permettant la mise en évidence de l'activité antiparasitaire.

Les données expérimentales concernant la pharmacocinétique sont présentées à la fin de ce chapitre.

### **2.1. Activité antiparasitaire.**

L'étude de l'activité anti-parasitaire repose sur la mise en évidence des parasites dans le sang et l'observation des signes cliniques de la trypanosomose chez le mouton.

Huit jours après l'infection, la recherche des parasites après injection de l'inoculum ( $10^5$  trypanosomes pour 0,2 ml) s'avère négative après deux méthodes de diagnostic :

- recherche entre lame et lamelle à l'état frais,
- technique de la goutte épaisse après coloration au Giemsa.

Cependant, les signes cliniques notables de trypanosomose sont observés pendant quinze jours.

A la fin de l'expérience, les cinq moutons sont vivants.

## 2.2. Pharmacocinétique sérique.

Le mouton n° 4 n'a pas pu être prélevé : il nous a été impossible de l'immobiliser. L'étude portera donc sur 3 moutons au lieu de 4.

### 2.2.1. Valeurs expérimentales :

Les valeurs expérimentales sont présentées dans les tableaux n°9 à 11.

|  |     |      |     |       |       |       |     |
|--|-----|------|-----|-------|-------|-------|-----|
| Horaire des prélèvements (h)                 | 0   | 1,08 | 8,7 | 30,16 | 49,58 | 121,7 | 720 |
| Concentration en Iridium ( $\mu\text{g/l}$ ) | <10 | 14   | <10 | <10   | <10   | 26    | <10 |

Tableau n° 9.

Résultats du dosage de l'Iridium sérique chez le mouton n°1  
(traité à la dose de 1 mg/kg).

|  |     |      |     |     |       |       |        |
|--|-----|------|-----|-----|-------|-------|--------|
| Horaire des prélèvements (h)                 | 0   | 1,03 | 3   | 8,6 | 30,35 | 49,83 | 121,63 |
| Concentration en Iridium ( $\mu\text{g/l}$ ) | <10 | <10  | <10 | <10 | <10   | <10   | 25     |

Tableau n° 10.

Résultats du dosage de l'Iridium sérique chez le mouton n°2  
(traité à la dose de 1 mg/kg).

|  |     |      |      |      |       |       |        |     |
|--|-----|------|------|------|-------|-------|--------|-----|
| Horaire des prélèvements (h)                 | 0   | 0,83 | 2,75 | 8,36 | 29,83 | 49,83 | 121,35 | 720 |
| Concentration en Iridium ( $\mu\text{g/l}$ ) | <10 | 44   | 56   | 51   | 198   | 198   | 154    | <10 |

**Tableau n° 11.**

**Résultats du dosage de l'Iridium sérique chez le mouton n°3  
(traité à la dose de 10 mg/kg).**

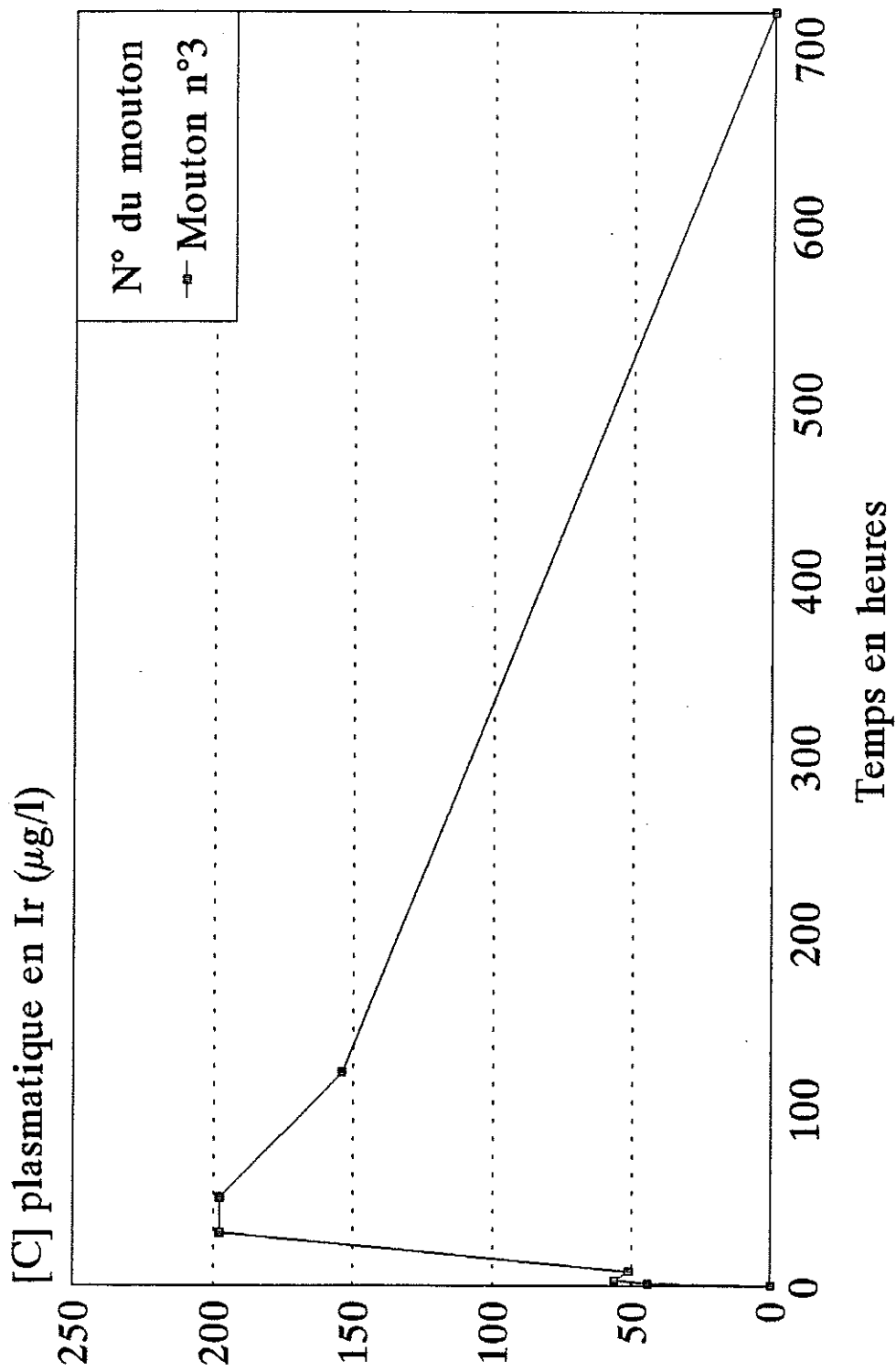
### **2.2.2. Aspect des courbes expérimentales :**

La cinétique de l'iridium chez les moutons n°1 et 2 ne peut être étudiée : le métal est à l'état de traces dans le sérum et la sensibilité de la méthode de dosage ne permet pas d'obtenir de valeurs significatives. Aucune courbe ne peut être établie.

Seuls les résultats du mouton n°3 permettent de tracer une courbe (Figures n°6 et 7, pages suivantes).

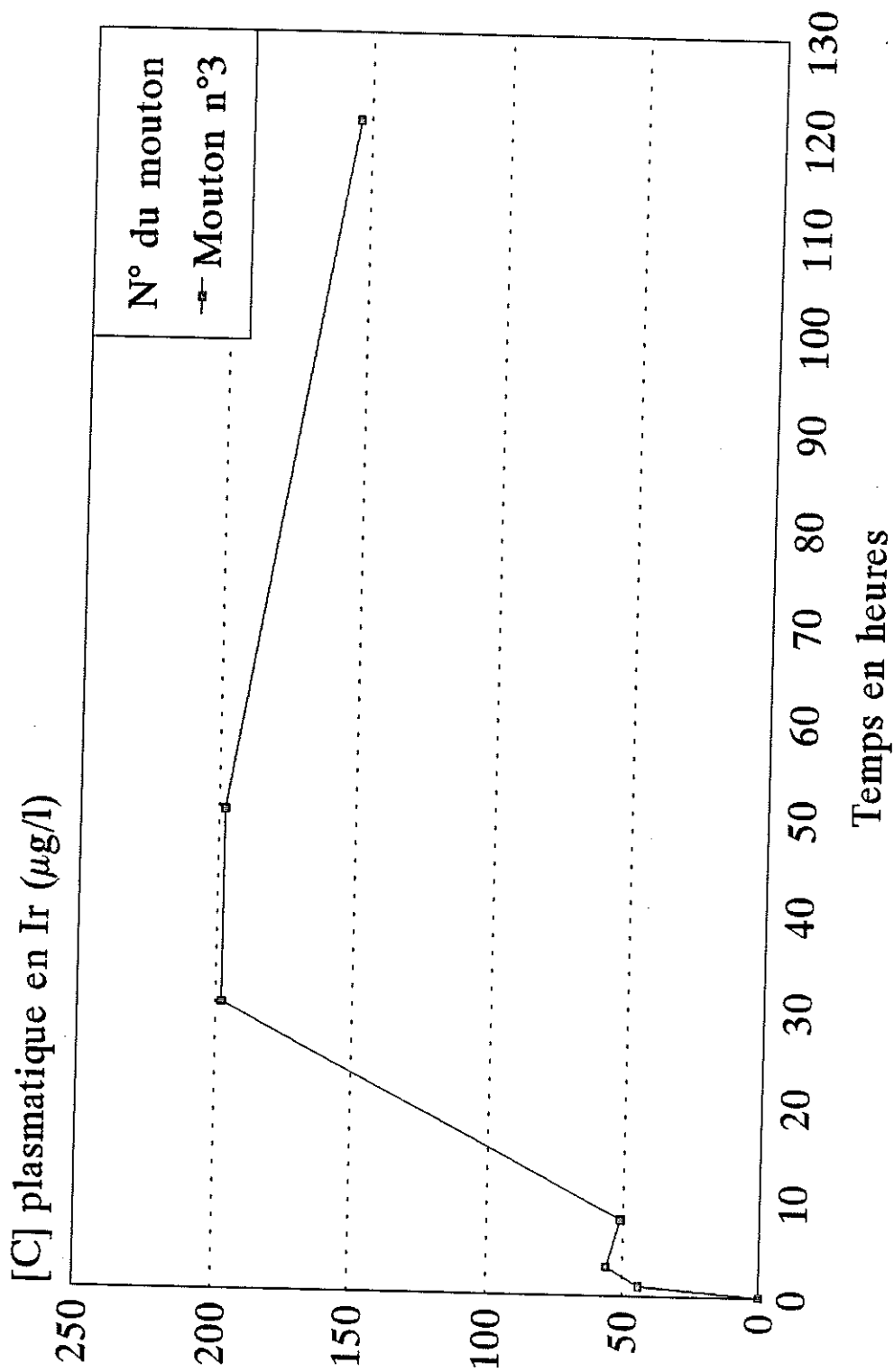
La courbe croît lentement pour atteindre un maximum vers la trentième heure. Puis elle diminue et tend vers zéro à la 700<sup>ème</sup> heure. Trente jours après l'administration du traitement, la concentration sérique en iridium est pratiquement nulle.

Figure n°6 : CINETIQUE PLASMATIQUE DE Ir, APRES TRAITEMENT PAR Ir-COD-PENTAMIDINE  
Moutons parasités par *Trypanosoma brucei brucei*



De T<sub>0</sub> à T<sub>720</sub>

Figure n°7 : CINETIQUE PLASMATIQUE DE Ir, APRES TRAITEMENT PAR Ir-COD-PENTAMIDINE  
Moutons parasités par *Trypanosoma brucei brucei*



De  $T_0$  à  $T_{130}$

## 3. DISCUSSION.

### 3.1. Précisions sur l'expérimentation :

#### - Infection des moutons :

Le larvoiement a été le seul signe notable caractéristique de la trypanosomose puisque la mise en évidence des parasites à l'état frais s'est avérée négative.

Cependant, on ne peut remettre en cause l'infestation des moutons, car les conditions d'inoculation sont exactement celles du protocole de Bouteille (1990).

- le prélèvement de sang chez la souris parasitée a été effectué sur le terrain et l'inoculum a été rapidement injecté.
- le milieu de survie utilisé, le PBS (tampon phosphate), limite le risque de lyse des parasites et semble être le mieux adapté. L'utilisation de l'eau physiologique a été mise en cause dans les travaux de Laroche en 1992.
- la recherche de la parasitémie a eu lieu huit jours après l'infection ( $J_8$ ). Six à huit heures se sont écoulées entre le prélèvement sanguin et la mise en évidence des trypanosomes. Les conditions opératoires ne nous ont pas permis de rechercher les parasites sur le terrain. Il est possible que ce délai ait été préjudiciable à la survie des trypanosomes dans le sang. De plus, l'expérimentation a été réalisée en hiver (température ambiante proche de  $0^{\circ}\text{C}$ ) ; or, le développement et la survie des trypanosomes dans le sang nécessite une température proche de la température

corporelle.

On peut donc penser que les moutons parasités ont développé une maladie chronique comme c'est le plus fréquemment le cas : la chronicité est caractérisée par la succession de crises de courte durée séparées par de longues périodes de rémission (Euzéby 1986 ; Acha et Szyfres 1989 ).

#### - Préparation du médicament trypanocide :

Selon les travaux de Craciunescu *et al.* (1991), les complexes neutres de l'iridium sont peu solubles dans l'eau mais solubles dans un solvant organique : le DMSO.

Une solution du produit dans le DMSO à 5 % (eau : 95 %, DMSO : 5 %) utilisable chez la souris, impose chez le mouton l'emploi d'un volume trop important pour une injection sous-cutanée.

En revanche, le DMSO à 70 % (eau : 30 %, DMSO : 70 %) permet de diminuer ce volume mais provoque chez le mouton une douleur au point d'injection et une impotence temporaire du membre (Laroche 1992).

C'est pourquoi nous avons préféré réaliser une suspension du produit dans la carboxyméthyl-cellulose (CMC) à 1 % déjà utilisée chez le modèle murin dans les travaux de Loiseau *et al.* (1992). Cet excipient, à consistance de gel, joue un rôle dans la diffusion du dérivé iridié à partir du point d'injection.

#### - Posologies :

Deux moutons ont été traités à 1 mg/kg (dose trypanocide chez la souris), mais, pour des raisons de sensibilité de la technique de dosage de l'iridium, les autres animaux ont reçu des doses supérieures aux doses thérapeutiques : 10 mg/kg.

### **3.2. Activité trypanocide.**

Le complexe organométallique est connu pour son activité trypanocide chez la souris à la dose unique de 0,5 à 2 mg/kg. La souche de *T. b. brucei* utilisée au cours de cette expérience est différente de la nôtre et provient de l'Institut Pasteur à Paris.

Au cours de notre étude, tous les moutons ont survécu plus de trois mois : le traitement injecté huit jours après l'infection a donc été efficace et nous permet de confirmer



l'efficacité de l'Ir COD Pentamidine en phase lymphaticosanguine de la trypanosomose à *T. b. brucei*. La CMC, bien que ralentissant la diffusion du produit, n'a pas d'effet sur l'activité trypanocide.

Mais l'iridium injecté à la dose de 1mg/kg ne se retrouve qu'à l'état de traces au niveau sanguin, on ne peut donc pas imputer l'effet trypanocide au métal seul. C'est l'activité globale du complexe iridié qui permet d'obtenir un effet trypanocide à des doses plus faibles que celles utilisées pour la pentamidine seule : 3 à 4 mg/kg. Ici les doses curatives sont 3 à 4 fois plus faibles.

L'étude de l'activité du produit en phase de polarisation neuroméningée a été réalisée sur le mouton n°5 traité à J<sub>30</sub> : il a présenté les mêmes signes cliniques caractéristiques de la trypanosomose et a survécu plus de trois mois. Cependant, on ne peut conclure à une activité du médicament en phase de généralisation.

En effet, selon les travaux de Bouteille *et al.* (1988 a) sur le modèle ovin, l'apparition des trypanosomes au niveau du LCR est observée 47 jours en moyenne après l'infection. Donc pour notre expérimentation, le mouton ayant été traité à J<sub>30</sub>, on ne peut affirmer totalement la présence du parasite dans le LCR (Euzéby 1986).

De plus, le parasite en cause, *T. b. brucei*, reste souvent chez les animaux au niveau sanguin sans développer de phase de polarisation neuroméningée (seuls quelques parasites passent dans le LCR).

Il en est de même pour les trypanosomes de la maladie du sommeil de l'homme, et pour *T. evansi* et *T. equiperdum* des animaux (Euzéby 1986).

- Le passage du produit à travers la barrière hématoméningée pourrait être envisagé mais semble peu probable pour un composé de poids moléculaire aussi élevé (1575).

- La pentamidine, dont la cinétique a été bien étudiée, ne franchit pas la barrière hématoméningée. Mais on peut se demander si la complexation avec l'iridium et les propriétés physicochimiques de la molécule finale ne jouent pas en faveur de son franchissement.

- Le passage de l'iridium seul à travers la barrière reste la dernière hypothèse, dans la mesure où l'iridium aurait une activité trypanocide propre.

Seule une étude du LCR nous permettrait de confirmer l'une ou l'autre des hypothèses. Mais il est peu vraisemblable que le complexe organométallique passe la barrière

hémato-méningée, compte tenu qu'aucun des dérivés de la pentamidine n'a jamais été retrouvé dans le LCR.

Au terme de cette étude, on ne peut conclure à une activité trypanocide de l'Ir COD Pentamidine qu'en phase lymphaticosanguine de la trypanosomose à *T. b. brucei* à la dose unique de 1mg/kg.

### **3.3. Cinétique sérique des complexes organométalliques :**

Ce paragraphe est consacré à la comparaison de la cinétique de l'Ir COD Pentamidine avec celle de différents produits déjà étudiés.

#### **3.3.1. Etude de l'Ir COD Pentamidine :**

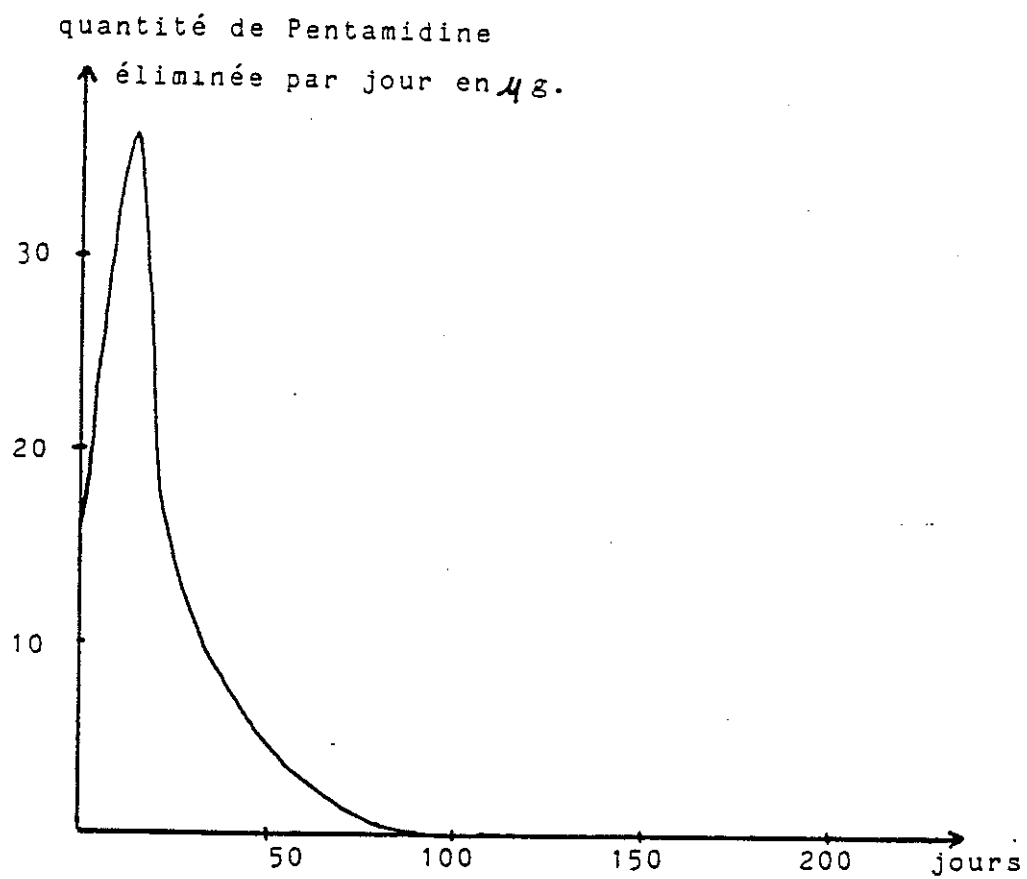
La cinétique plasmatique de l'iridium permet d'émettre différentes hypothèses sur le métabolisme et le devenir du métal dans l'organisme.

La courbe de la figure n°6 présente d'abord une ascension rapide mais brève pendant les trois premières heures, suivie d'une diminution plus faible allant jusqu'à la dixième heure. Ceci correspondrait à la diffusion du produit dans le compartiment sanguin (ascension), accompagnée d'une diffusion dans l'organisme et fixation au niveau des organes profonds. Lors de ces premières heures, la concentration de l'iridium atteint un maximum relativement faible de 55µg/l, ce qui prouve que le produit ne diffuse que très modérément, la majeure partie du médicament restant probablement au point d'injection.

A partir de la dixième heure, on observe une croissance de la courbe qui atteint un plateau vers la trentième heure puis décroît progressivement. Ceci reflète la dissolution et le relargage du médicament à partir des tissus et des organes profonds vers le sang, associé à son élimination (modérant ainsi la pente de la courbe).

La dernière décroissance résulte de l'élimination du produit. Mais sans prélèvement entre la 120<sup>ème</sup> et la 700<sup>ème</sup> heure, on ne peut réellement apprécier la vitesse d'élimination.

A J<sub>30</sub>, il n'y a plus aucune trace décelable du complexe dans le compartiment sanguin : la totalité du médicament a été éliminée.



**Figure n°8**  
**Vitesse d'élimination de la pentamidine chez le rat**  
**(Launoy *et al.* 1960 in Ballout 1987).**

### 3.3.2. Comparaison avec la cinétique de la pentamidine :

Les données de ce paragraphe sont tirés des travaux de Ballout (1987) sur la pentamidine.

La pharmacocinétique de la pentamidine, connue depuis plusieurs dizaines d'années, se caractérise par un passage rapide dans le sang, une fixation très forte sur les tissus hépatiques et rénaux et enfin une élimination très lente sans métabolisation.

Les travaux de Launoy *et al.* (1960) permettent de déterminer la vitesse d'élimination de la pentamidine chez le rat (Figure n°8) : elle est d'abord très rapide pendant les premiers jours qui suivent l'administration, puis diminue rapidement jusqu'à ce que sa concentration devienne indécélable. Cette élimination urinaire et fécale est très lente (demi-vie supérieure à 6 jours).

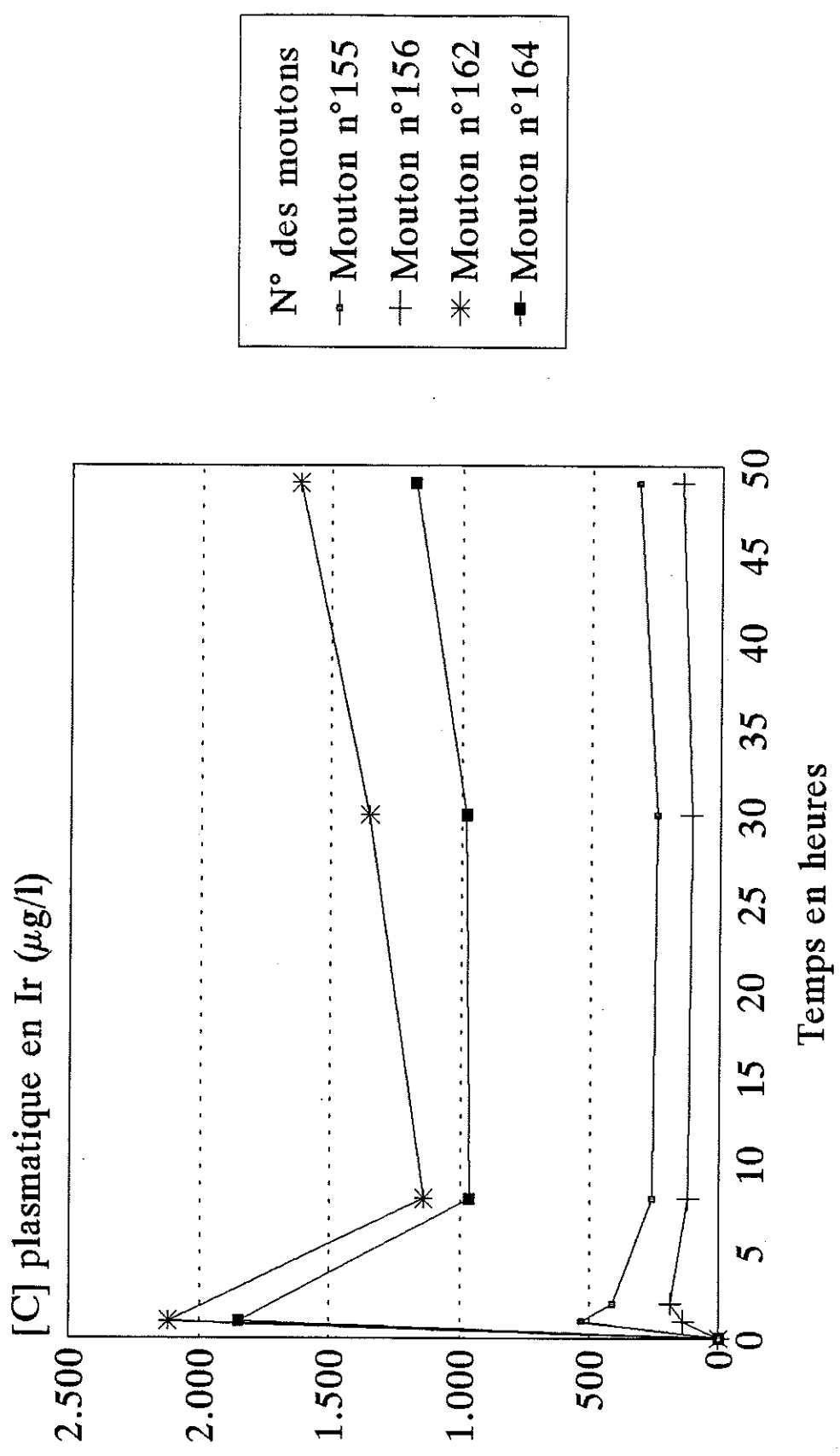
La quantité présente dans le sang est très faible et chute rapidement à cause d'une fixation rapide dans les tissus : la concentration plasmatique est comprise entre 0,3 et 1,4  $\mu\text{g/ml}$  après une dose de 4mg/kg. Le pic de concentration maximum se situe une heure après l'injection.

La fixation de la pentamidine dans les organes profonds est suivie d'un relargage progressif au niveau sanguin (expliquant l'utilisation de ce dérivé en chimioprophylaxie des T.H.A.). Après l'arrêt du traitement, on peut trouver pendant six à huit semaines de la pentamidine dans les urines.

Alors que l'accumulation au niveau des organes profonds est comparable pour le dérivé iridié et la pentamidine, la diffusion au point d'injection semble beaucoup plus faible pour le dérivé iridié et sa disparition sanguine plus rapide.

Seule la détermination de la cinétique sérique de la pentamidine chez le mouton traité par le complexe iridié peut permettre une comparaison avec les résultats de la littérature.

Figure n°9 : CINETIQUE PLASMATIQUE DE Ir, APRES TRAITEMENT PAR  $[\text{IrCl}_6]^{2-}$  STILBAMIDINE  
 Moutons parasités par *Trypanosoma brucei brucei*



De  $T_0$  à  $T_{50}$

### 3.3.3. Comparaison avec la cinétique de l'iridium après l'injection de l'Ir(Cl<sub>6</sub>)stilbamidine :

Parallèlement à nos travaux, une étude cinétique de l'Ir Cl<sub>6</sub> Stilbamidine (Troubat 1994) a été menée selon un protocole expérimental analogue : souche de trypanosomes, lots de moutons et horaires de prélèvements identiques.

La comparaison des deux cinétiques (Figures n°6 et n°9) fait apparaître pour chacun des produits une évolution similaire du taux sérique de l'iridium : libération à partir du point d'injection, métabolisation avec diffusion au niveau des organes profonds puis relargage progressif dans le compartiment sanguin.

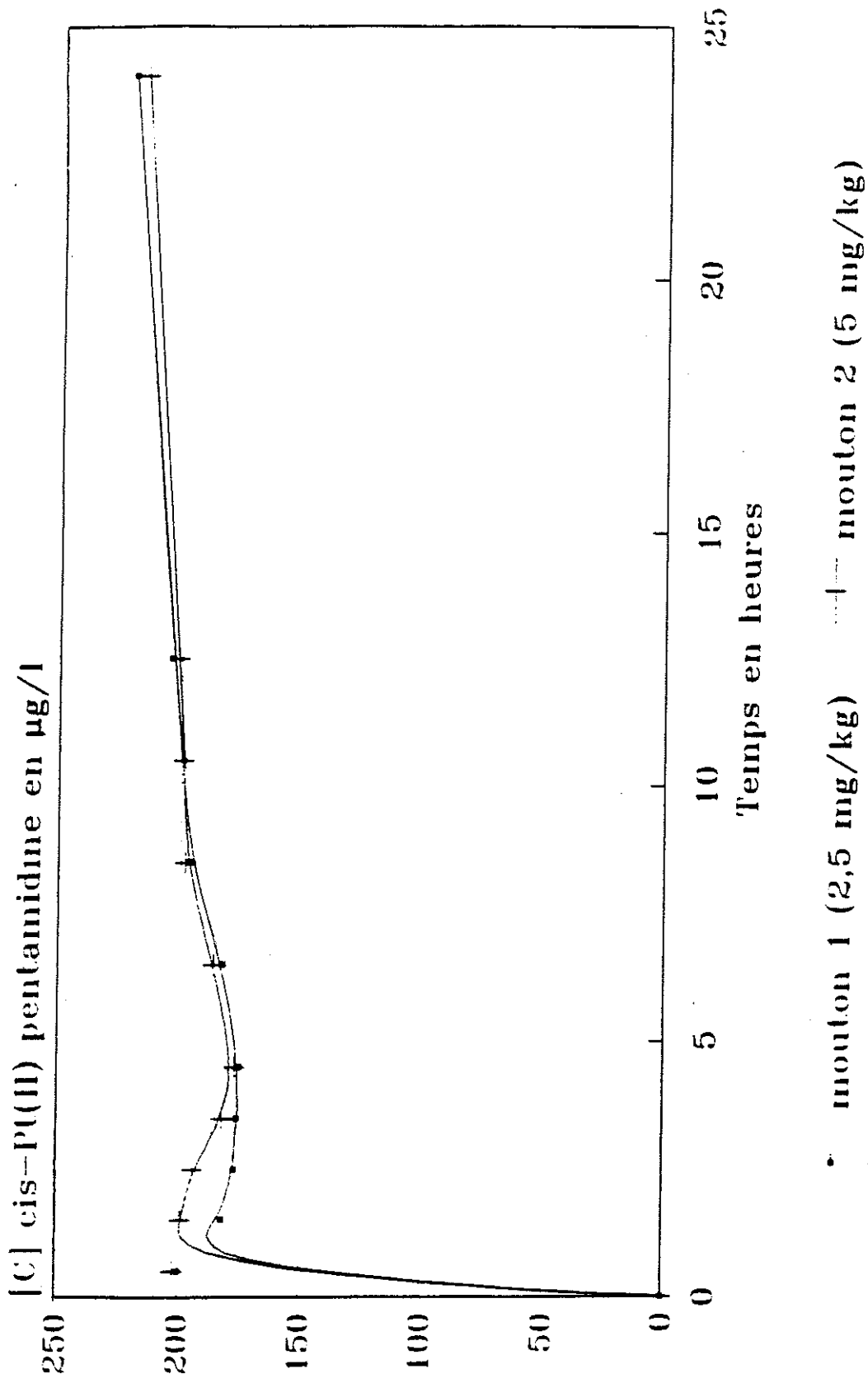
Cependant une différence notable apparaît dans la cinétique de l'iridium selon que l'on injecte l'Ir Cl<sub>6</sub> Stilbamidine ou l'Ir COD Pentamidine : la concentration sérique du métal. Elle est en effet, pour des doses thérapeutiques équivalentes, très élevée pour le dérivé de la stilbamidine (de l'ordre de 1500 à 2000 μg/l) et beaucoup plus faible pour le dérivé de la pentamidine (maximum : 200 μg/l).

Ceci peut s'expliquer par le fait que la résorption à partir du point d'injection reste très lente pour le complexe de la pentamidine, la majeure partie restant au niveau du site d'injection.

Il est probable que la structure physicochimique des molécules étudiées influe fortement sur la pharmacocinétique de l'iridium :

- la masse moléculaire de 671,22 pour l'Ir-Cl<sub>6</sub>-Stilbamidine atteint 1575 pour l'Ir-COD-Pentamidine et doit jouer un rôle dans sa lente résorption.
- la présence de chlore dans le dérivé de la stilbamidine augmente sa lipophilie et favorise ainsi sa diffusion.
- le complexe est caractérisé par une très basse solubilité dans l'eau et les milieux biologiques (Craciunescu, communication personnelle). La présence du cyclooctadiène est motivée par des exigences de synthèse organique. La salification par le tétraphénylborate procède du même principe. De plus, aucun de ces deux composants ne possède d'activité trypanocide propre. Il en résulte une diffusion très lente du complexe à partir du point d'injection. Le pic plasmatique d'iridium est remplacé

Figure n°10



Cinétique sérique expérimentale de la cis-Pt(II) pentamidine chez le mouton trypanosomé, après injection sous-cutanée (courbe lissée selon la méthode de Bézier).

par une courbe de pente faible. Cette structure chimique concourt à une diminution notable de la toxicité, qui s'ajoute à celle recherchée dans la conception même des complexes organométalliques.

### **3.3.4. Comparaison avec la cinétique du platine après injection du chlorure de Cis Platinum Pentamidine :**

Le chlorure de Cis Pt Pentamidine a été synthétisé par Craciunescu selon un principe analogue (complexation d'un intercalant de l'ADN : Cis Platinum, et d'un trypanocide : pentamidine). Il est actif sur la phase lymphatico-sanguine de la trypanosomose expérimentale du mouton à *T. b. brucei* (Dreyfuss *et al.* 1988).

L'étude de la cinétique du platine après injection du complexe (Figure n°10) permet de visualiser un pic entre 45 et 60 minutes suivi d'une décroissance lente sur plusieurs jours. Ce profil révèle un stockage du produit dans les organes profonds et les espaces extravasculaires comparable à celui de l'iridium après injection de l'Ir COD Pentamidine. La différence réside toujours dans le fait que la diffusion à partir du point d'injection se fait de façon rapide pour le dérivé halogéné.

De plus, on observe pour l'Ir COD Pentamidine un relargage à partir des organes profonds et une élimination beaucoup plus rapides.

La différence de poids moléculaire (626,6 pour le chlorure) et la plus forte liposolubilité de ce dérivé halogéné jouent là aussi en faveur de sa vitesse de résorption.

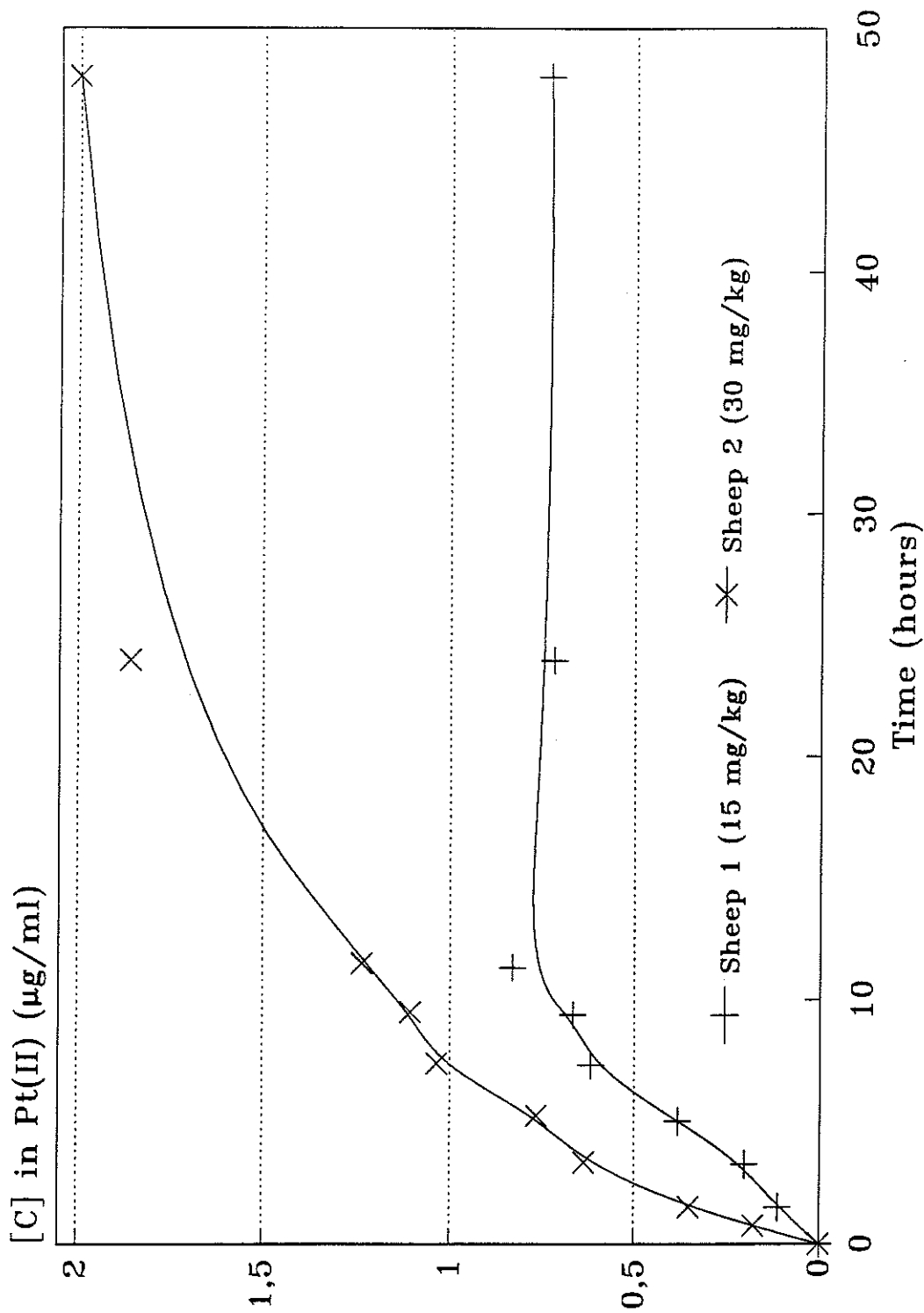
Il convient de plus de ne pas négliger l'excipient utilisé lors de l'injection : le chlorure a été solubilisé dans un solvant organique connu pour ses propriétés irritantes : le DMSO. Son utilisation entraîne au point d'injection une inflammation caractérisée par une hypervascularisation et une hyperémie locale qui augmente considérablement la perméabilité vasculaire.

Par opposition, la suspension du produit dans la CMC entraîne une diffusion retardée et pourrait contribuer à la persistance du dérivé iridié au site d'injection.



Figure n°11

### Cis-Pt(II) pentamidine iodide Experimental plasmatic kinetics



### 3.3.5. Comparaison avec la cinétique du platine après injection de l'iodure de Cis Platinum Pentamidine :

L'étude de la cinétique du platine après injection de l'iodure de Cis Platinum Pentamidine effectuée dans des conditions opératoires analogues (Laroche 1992), montre une ascension d'abord rapide puis plus modérée de la concentration sérique qui s'achemine progressivement vers un plateau (Figure n°11).

La comparaison des deux produits révèle un profil général similaire :

- une résorption à partir du point d'injection qui, bien que très élevée pour l'iodure, reste progressive,
- une fixation importante et lentement réversible au niveau des organes profonds,
- une élimination progressive (Dreyfuss *et al.* 1993).

Il est probable que cette lenteur de résorption et d'élimination soit pour une part imputée à la stabilité et à la masse moléculaire des complexes qui freinent les transferts de molécules.

Cependant, les paramètres évoqués ultérieurement (liposolubilité et excipient) sont toujours en faveur d'une libération plus importante du dérivé halogéné.

**En résumé**, tous les composants des complexes organométalliques interviennent dans la cinétique sérique du métal :

- la nature de la base organique,
- celle de l'anion,
- la masse moléculaire totale du produit injecté,
- la solubilité du complexe dans l'eau et les milieux biologiques,
- la stabilité de l'ensemble du complexe.

En comparaison aux observations faites chez la souris, à priori, la concentration restante au site d'injection observée à l'autopsie permet de conclure à une activité trypanocide beaucoup plus forte que celle de la pentamidine qui est totalement résorbée et malgré tout moins active. En outre, la différence de toxicité est intéressante d'un point de vue fondamental et mériterait d'être approfondie avec des toxicologues.

## CONCLUSION

L'Ir COD Pentamidine a prouvé son efficacité en phase lymphaticosanguine de la trypanosomose expérimentale du mouton à *T. b. brucei*.

Ce complexe présente deux intérêts pharmacologiques essentiels en tant que trypanocide :

- une dose trypanocide faible (1 mg/kg),
- un traitement à dose unique.

Son activité semble être sous la dépendance d'une fixation massive dans les organes profonds suivie d'un relargage progressif.

Cependant, dans notre étude, sa cinétique est dominée par un stockage au niveau du site d'injection expliquant les faibles quantités sériques retrouvées : le poids moléculaire du produit serait l'un des paramètres responsables de sa lente diffusion.

Pour la même raison, il est peu probable qu'il soit actif en phase de polarisation méningée, compte tenu du fait qu'aucun dérivé de la pentamidine n'a jamais été retrouvé au niveau du LCR.

Si en outre on considère son prix de revient relativement élevé, du fait de la présence d'un métal rare, on peut supposer que son utilisation pourrait s'orienter vers le traitement des trypanosomoses animales pour lesquelles la phase de généralisation ne présente pas la même importance. Mais cela reste difficilement envisageable à court terme.

L'étude de la cinétique sérique de l'iridium n'ayant abouti qu'à des résultats incomplets, il serait souhaitable d'établir la cinétique de la pentamidine chez le mouton afin de déterminer l'importance réelle de l'iridium au sein du complexe.

## BIBLIOGRAPHIE

- ACHA P.N., SZYFRES B. (1989).  
Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux,  
éditions O.I.E. 1063 p.
- BACCHI C.J., NATHAN H.C., HUTNER S.H., DUCH D.S., NICHOL C.A. (1981)  
Prévention by polyamines of the curative effect of amicarbalide and imidocarb for  
*Trypanosoma brucei* infections in mice. *Biochem. Pharmacol.* **30** 883-886 in  
BOUTEILLE (1990).
- BACCHI C.J., NATHAN H.C., HUTNER S.H., Mc CANN P.P., SJOERDSMA A.  
(1980).  
Polyamine metabolism : a potential therapeutic target in trypanosomes. *Science*, **210**  
332-334 in BOUTEILLE (1990).
- BALLOUT A. (1987).  
Cis-Platinum Pentamidine : méthodes d'études analytiques et applications  
pharmacologiques actuelles. *Thèse pour le diplôme d'Etat de Docteur en*  
*Pharmacie, Université de Limoges* . 114 p.
- BOA F., TRAORE M.A., DOUA F., KOUASI-TRAORE M.T., KOUASSI B.E.,  
GIORDANO C. (1988).  
Les différents tableaux cliniques actuels de la trypanosomiase humaine africaine à *T.*  
*b. gambiense*. Analyse de 300 dossiers du foyer de Douala, Côte d'Ivoire. *Bull.*  
*Soc. Path. Ex.* **81** 427-444.
- BOUTEILLE B. (1990)  
Le traitement de la trypanosomose humaine africaine. Etude d'un modèle  
expérimental : le mouton (*Ovis aries*). *Thèse de Doctorat d'Etat ès Sciences*  
*pharmaceutiques, Université de Limoges*. 354 p.

BOUTEILLE B., DARDE M.L., DUMAS M., CATANZANO G., PESTRE-ALEXANDRE M., BRETON J.C., NICOLAS J.A., N'DO D.C. (1988a).

The sheep (*Ovis aries*) as an experimental model of african trypanosomiasis. I. Clinical study. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **82** 141-148.

BOUTEILLE B., DARDE M.L., PESTRE-ALEXANDRE M., DUMAS M., BRETON J.C., NICOLAS J.A., CATANZANO G., MUNOZ M. (1988).

Traitement de la trypanosomiase du mouton à *T. b. brucei* : recherche d'une dose minimale active de mélarsozol. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 548-554.

BRETON J.C., BOUTEILLE B., SONAN T. (1988).

Le DFMO : alternative thérapeutique de la trypanosomose humaine africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 571-577.

BRETON J.C., DUMAS M. (1990).

Traitement de la trypanosomose africaine : place de l'éflornithine (DFMO).  
*In* "Chimiothérapie des parasitoses". Ed. Arnette Paris. 69-78.

CLARCKSON A. B.Jr., BACCHI C. J., MELLON G.H., NATHAN H.C., Mc CANN P.P., SJOERDSMA A. (1983).

Efficacy of combinations of difluorométhylornithine and bléomycin in a mouse model of central nervous system African trypanosomiasis. *Proc. Natl. Acad.Sci.US USA*, **80** 5729-5733 *in* BOUTEILLE (1990).

CLARKSON A.B. Jr., BIENEN E.J., BACCHI C.J., Mc CANN P.P., NATHAN H.C., HUTNER S.H., SJOERDSMA A. (1984).

New drug combination for experimental late-stage African trypanosomiasis : DL-alphadifluorométhylornithine (DFMO) with suramine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **33** 1073-1077, *in* BOUTEILLE (1990).

CORSON J.F. (1938).

The cerebrospinal fluid of monkeys (*Cercopithecus* sp.) infected with a strain of *Trypanosoma rhodesiense*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* **32** 197-199, in BOUTEILLE (1990).

CRACIUNESCU D.G., MOLINA C., DOADRIO-VILLAREJO J.C., GUTIERREZ ROS M.T., ALONSO M.P., PARRONDO IGLESIAS E., DE FRUTOS M.I., DOADRIO LOPEZ A. (1991).

Estudio de las actividades farmacológicas duales "in vivo" (antitripanosómicas y antitumorales) y de las toxicidades de algunos nuevos complejos neutros del iridio (III). *An. Real Acad. Farm.* **57** 221-256.

CROFT S.L. (1985).

Serodiagnostic test for West African Trypanosomiasis. *Parasitol. Today* **1** 4 115.

DREYFUSS G., GAYRAL P., DUBOST G., NICOLAS J.A., CRACIUNESCU D.G. (1988).

Activité antiparasitaire du Cis-Pt(II) pentamidine dans la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei brucei*. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 626-631.

DREYFUSS G., LOISEAU P., WOLF J.G., BORIES C., GAYRAL P., NICOLAS J.A. (1988).

Une nouvelle série d'organoarséniés antiparasitaires : les Spiroarsoranes. *Bull. Soc. Path. Ex.*, **81** 561-570.

DREYFUSS G., PENICAULT B., NICOLAS J. A., CRACIUNESCU D., LOISEAU P. (1993).

Trypanocidal activity and platinum plasma kinetics of cis platinum pentamidine iodide in *trypanosoma brucei* sheep model. *Trop. Med. Parasitol.* **44** 95-98.

- DREYFUSS G., PENICAUT B., WOLF J.G., DUBOST G., NICOLAS J.A. (1990).  
Cinétique plasmatique d'un spiroarsorane chez le mouton parasité. *Bull. Soc. Path. Ex.* **83** 360-366.
- DUMAS M., BRETON J.C., PESTRE-ALEXANDRE M., GIRARD P.L., GIORDANO C. (1985).  
Etat actuel de la thérapeutique de la trypanosomiase humaine africaine. *Presse Méd.* **14** 253-256.
- DUMAS M., BOA F.Y. (1988).  
Human african trypanosomiasis. *Handbook of Clinical Neurology*, **8** (52) 339-344.
- DUMAS M., GIRARD P.L. (1978).  
Human African trypanosomiasis (sleeping sickness). In *Handbook of Clinical Neurology*, **35**. VINKEN P.J., BRUYN G.W. ed. North Holland Publishing Company. Amsterdam. 67-83.
- DUMAS M., LEGER J.M., PESTRE-ALEXANDRE M. (1986).  
Trypanosomiase humaine africaine. Rapport de neurologie. Manifestations neurologiques et psychiatriques des parasitoses, Ed. Masson, 152-162.
- EUZEBY Y.J. (1984).  
Les parasitoses humaines d'origine animale. Caractères épidémiologiques. Ed. Flammarion Médecine Science. 58-67.
- EUZEBY Y.J. (1986).  
Protozoologie médicale comparée, Vol. 1. Fondation Marcel Mérieux Ed. Lyon. 465 p.
- FRASER C.M., MAYS A. (1986).  
The Merck Veterinary Manual, 6<sup>th</sup> edition, Merck & Co. Inc., Rahway, N.J., U.S.A., 1677 p.

- FURET Y., DUONG T.H., COMBESCOT C., BRETEAU M. (1987).  
Une molécule nouvelle en thérapeutique antiparasitaire :  
l'alphadifluorométhylornithine. *Path. Biol.* **35** 398-404.
- GENTILINI M., DUFLO B. (1986).  
*Médecine tropicale*, Flammarion ed., Paris, 840 p.
- GOLVAN Y.J., AMBROISE-THOMAS P. (1984).  
Les nouvelles techniques en parasitologie, Ed. Flammarion Médecine Science, 298 p.
- GOODMAN-GILMAN A., RALL T.W., NIES A.S., TAYLOR P. (1991).  
*The pharmacological basis of therapeutics*, 8<sup>th</sup> ed., Pergamon Press ed., New York.,  
1811 p.
- HULL D.A., MUHAMMAD N., LANESE J.J., REICH S.D., FINKELSTEIN T.T.,  
FANDRICH S. (1981).  
Determination of platinum in serum and ultrafiltrate by flameless atomic absorption  
spectrophotometry. *J.Pharm. Sci.* **70** 500-502.
- JENNINGS F.W., WHITELAW D.D., URQUHART G.M. (1977).  
The relationship between duration of infection with *Trypanosoma brucei* in mice and  
the efficacy of chemotherapy. *Parasitology* **75** 143-153, in BOUTEILLE (1990).
- JENNINGS F.W. (1988).  
The potentiation of arsenicals with difluorométhylornithine (DFMO) : experimental  
studies in murine trypanosomiasis. *Bull. Soc. Path. Ex.*, **81** 595-607, in BOUTEILLE  
(1990).
- KAZYUMBA G.L., RUPPOL J.F., TSHEFRI A.K., NKANGA N. (1988).  
Arsénorésistance et difluorométhylornithine dans le traitement de la trypanosomiase  
humaine africaine. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 591-594.



KINNAMON K.E., STECK E.A., RANE D.S. (1980).

Anticancer agents and antitrypanosomiasis activity in mice. *J. Natl. Cancer Inst.*, **64** 391-394, in BOUTEILLE (1990).

KUZOE F.A.S. (1991).

Perspectives in research on and control of African trypanosomiasis. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **85** 33-41.

LANHAM S.M., GODFREY D.G. (1970).

Isolation of salivarian trypanosomes from man and other mammals using DEAE-cellulose. *Exp. Parasitol.* **28** 521-534.

LAROCHE F. (1992).

Activité trypanocide et cinétique plasmatique du Platine chez le mouton traité par l'Iodure de Cis-Pt Pentamidine. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges*. 78 p.

LAUNOY L., GUILLOT M., JONCHERE H. (1960).

Etude du stockage et de l'élimination de la pentamidine chez la souris et le rat blanc. *Ann. Phar. Fr.*, **18** 273-284, in BALLOUT (1987).

LAUNOY L., GUILLOT M., JONCHERE H. (1960).

Etude du stockage et de l'élimination de la pentamidine chez la souris et le rat blanc. *Ann. Phar. Fr.*, **18** 424-439, in BALLOUT (1987).

LEGER N., NOTTEGHEM M.J., PESSON B. (1992).

Parasitologie médicale. Guide pratique. Ed. Biologiste et praticien, 95p.

LOISEAU P.M., CRACIUNESCU D.G., DOADRIO-VILLAREJO J.C., CERTAD-FOMBONA G., GAYRAL P. (1992).

Pharmacomodulations on new organometallic complexes of Ir, Pt, Rh, Pd, Os : *in vitro* and *in vivo* trypanocidal study against *T. b. brucei*. *Trop. Med. Parasitol.* **43** 110-114.

MARIE-DARAGON A. (1993).

Essais d'activité antiparasitaire de 17 composés et du Mégazole dans la trypanosomose expérimentale à *T. b. brucei* de la souris. *Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges*. 195 p.

MAURICE J. (1992).

La France et la recherche sur les maladies tropicales. Ed. Ellipses. 159 p.

MOENS F., DE WILDE M., NGATO K. (1984).

Essai de traitement au nifurtimox de la trypanosomiase humaine africaine. *Ann. Soc. Belg. Méd. Trop.* **64** 37-43.

NATHAN H.C., BACCHI C.J., HUTNER S.H., RESCIGNO D., McCANN P.P., SJORDSMA A. (1981).

Antagonism by polyamins of the curative effect of  $\alpha$ -difluoromethylornithine in *Trypanosoma brucei brucei* infections. *Biochem. Pharmacol.* **30** 3010-3013, in BOUTEILLE (1990).

NATHAN H.C., BACCHI C.J., NICHOL C.A., DUCH D.S., MULLANEY E.A., HUTNER S.H. (1984).

Antitumor phtanilides active in acute and chronic *Trypanosoma brucei brucei* ~~mic~~ infections. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **33** 845-850, in BOUTEILLE (1990).

NATHAN H.C., BACCHI C.J., SAKAI T.T., RESCIGNO D., STUMPF D., HUTNER S.H. (1981).

Bleomycin-induced life prolongation of mice infected with *Trypanosoma brucei brucei* EATRO 110. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **75** 394-398, in BOUTEILLE (1990).

NATHAN H.C., SOTO K.V.M., MOREIRA R., CHUNOSOFF L., HUTNER S.H., BACCHI C.J. (1979).

Curative effects of the antiprotozoals amicarbalide and imidocarb on *Trypanosoma brucei* infection in mice. *J. Protozool.*, **26** 657-660, in BOUTEILLE (1990).

LOUDART L., DIALLO B., ROLEZ S. (1976).

Contribution du laboratoire au diagnostic de la trypanosomiase humaine africaine. *Méd. Afr. Noire* **23** 31-37.

PEPIN J., MILORD F., GUERN C., SCHECHTER P.J. (1987).

Difluoromethylornithine for arsenoresistant *Trypanosoma brucei gambiense* sleeping sickness. *Lancet* **II** 1431-1432.

POLTERA A.A. (1980).

Immunopathological and chemotherapeutic studies in experimental trypanosomiasis with a special reference to the heart and brain. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **74** 706-715, in BOUTEILLE (1990).

POLTERA A.A., HOCHMANN A., LAMBERT P.H. (1981).

*Trypanosoma brucei brucei* : the response to Melarsoprol in mice with cerebral trypanosomiasis. An immunopathological study. *Clin. Exp. Immunol.*, **46** 363-374, in BOUTEILLE (1990).

POLTERA A.A., HOCHMANN A., RUDIN W., LAMBERT P.H. (1980).

*Trypanosoma brucei brucei* : a model for cerebral trypanosomiasis in mice - an immunological, histological and electromicroscopic study. *Clin. Exp. Immunol.*, **40** 496-507, in BOUTEILLE (1990).

PRADEAU D. (1992).

Analyse pratique du médicament. Ed. Médicales Internationales, 1067 p.

RAETHER W., SEIDENATH H. (1976).

Trypanocidal effect of diamine 98/202 in experimental *Trypanosoma rhodesiense* infection of the stump-tailed macaque (*Macaca arctoides*). *Tropenmed. Parasitol.*, 27 238-244, in BOUTEILLE (1990).

RANE L., RANE D.S., KINNAMON K.E. (1976).

Screening large numbers of compounds in a model based on morbidity of *Trypanosoma rhodesiense* infected mice. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 25 395-400, in BOUTEILLE (1990).

SINA G.C., TRIOLO N., CRAMET B., SUH-BANDY M. (1982).

L'adrénaline dans la prévention et le traitement des accidents de l'arsobalthérapie. A propos de 776 cas de T.H.A. dans les formations sanitaires du foyer de Fontem (R.U. du Cameroun). *Méd. Trop.* 42 531-536.

SCHMIDT H., SAYER P. (1982a).

*Trypanosoma brucei rhodesiense* infection in Vervet monkeys. I. Parasitologic, hematologic, immunologic and histologic results. *Tropenmed. Parasitol.*, 33 249-254, in BOUTEILLE (1990).

SCHMIDT H., SAYER P. (1982b).

*Trypanosoma brucei rhodesiense* infection in Vervet monkeys. II. Provocation of the encephalitic late phase by treatment of infected monkeys. *Tropenmed. Parasitol.*, 33 255-259, in BOUTEILLE (1990).

STANGELLINI A. (1988).

La trypanosomiase à *T. b. gambiense* : méthodes de lutte. *Bull. Soc. Path. Ex.* 81 637-644.

TAELMAN H., MARCELIS L., SONNET J., KAZYUMBA G., VAN DEN ENDEN E.,  
WERY M., SCHECHTER P.J. (1988).

Traitement de la trypanosomiase humaine à *Trypanosoma brucei gambiense* par  
l'alpha-difluorométhylornithine. *Bull. Soc. Path. Ex.* **81** 578-588.

TROUBAT (1993).

Activité trypanocide et cinétique plasmatique de l'hexachloroiridiate de stilbamidine  
dans la trypanosomose expérimentale du mouton à *Trypanosoma brucei brucei*. *Thèse  
de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges*, 54 p.

VAN NIEUWENHOVE S. (1992).

Advances in sleeping sickness therapy. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.*, **72**, Suppl. I :  
39-51.

WERY M. (1990).

Les lents progrès du contrôle de la maladie du sommeil. *Ann. Parasitol. Hum.  
Comp.*, **65**, Suppl. I : 89-93.

ZINSTAG J., BRUN R., CRACIUNESCU D.G., PARRONDO IGLESIAS E. (1991).

In vitro activity of organometallic complexes of Ir, Pt and Rh on *Trypanosoma b.  
gambiense*, *T. b. rhodesiense* and *T. b. brucei*. *Trop. Med. Parasitol.* **42**. 41-44.

## TABLE DES MATIERES

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCTION . . . . .   | 1  |
| RAPPELS SUR LES TRYPANOSOMOSES . . . . .                           | 3  |
| 1. LES TRYPANOSOMOSES HUMAINES . . . . .                           | 4  |
| 1.1.1. Répartition géographique . . . . .                          | 5  |
| 1.1.2. Espèces de trypanosomes impliquées . . . . .                | 5  |
| 1.1.3. Vecteurs . . . . .  | 8  |
| 1.1.4. Cycle . . . . .   | 10 |
| 1.2. Clinique . . . . .  | 10 |
| 1.2.1. La phase lymphatico-sanguine . . . . .                      | 11 |
| 1.2.2. La phase méningo-encéphalitique . . . . .                   | 11 |
| 1.3. Diagnostic . . . . .  | 12 |
| 1.3.1. Diagnostic direct . . . . .                                 | 12 |
| 1.3.2. Diagnostic indirect . . . . .                               | 12 |
| 1.4. Thérapeutique . . . . .                                       | 13 |
| 1.4.1. Médicaments actifs en phase lymphaticosanguine . . . . .    | 15 |
| 1.4.1.1. Pentamidine : LOMIDINE® (méthylate de penyamidine)        |    |
| PENTACARINAT ®(diiséthionate de pentamidine) . . . . .             | 15 |
| 1.4.1.2. Suramine sodique : MORANYL® . . . . .                     | 16 |
| 1.4.1.3. Acéturate de diminazène : BERENIL® . . . . .              | 16 |
| 1.4.2. Médicaments actifs en phase méningoencéphalitique . . . . . | 16 |
| 1.4.2.1. Mélarsoprol . . . . .                                     | 16 |
| 1.4.2.2. Eflornithine (DFMO) : ORNIDYL® . . . . .                  | 18 |
| 1.4.2.3. Nifurtimox : LAMPIT® . . . . .                            | 19 |
| 1.4.3. Autres molécules : Les spiroarsoranes . . . . .             | 19 |
| 1.5. Méthodes de lutte non médicamenteuses . . . . .               | 20 |

|  |    |
|--|----|
| 2. LES TRYPANOSOMOSES ANIMALES AFRICAINES . . . . .        | 22 |
| 2.1. Classification . . . . .                              | 22 |
| 2.2. Epidémiologie . . . . .                               | 23 |
| 2.3. Clinique . . . . .                                    | 23 |
| 2.4. Conséquences économiques et sociales . . . . .        | 26 |
| 3. METHODES D'ETUDE DES MEDICAMENTS TRYPANOCIDES . . . . . | 27 |
| 3.1. Modèles expérimentaux . . . . .                       | 27 |
| 3.1.1. Etude <i>in vitro</i> . . . . .                     | 29 |
| 3.1.2. Etude <i>in vivo</i> . . . . .                      | 29 |
| 3.2. Nouvelles voies thérapeutiques . . . . .              | 31 |

ACTIVITE TRYPANOCIDE ET CINETIQUE PLASMATIQUE DE L'IRIDIUM COD  
PENTAMIDINE DANS LA TRYPANOSOMOSE EXPERIMENTALE DU  
MOUTON . . . . . 33

|   |    |
|---|----|
| 1. MATERIELS ET METHODES. . . . .   | 34 |
| 1.1. Matériels . . . . .  | 34 |
| 1.1.1. Matériel biologique . . . . .  | 34 |
| 1.1.1.1. Le modèle animal : le mouton ( <i>Ovis aries</i> ) . . . . .         | 34 |
| 1.1.1.2. La souche de trypanosomes . . . . .                                  | 35 |
| 1.1.2. Matériel chimique et analytique . . . . .                              | 37 |
| 1.1.2.1. Produit étudié : Iridium (I) Cyclooctadiène<br>Pentamidine . . . . . | 37 |
| 1.1.2.2. Matériel analytique . . . . .  | 38 |
| 1.2. Protocole opératoire . . . . .   | 38 |
| 1.2.1. Surveillance biologique . . . . .                                      | 38 |
| 1.2.1.1. Infection des animaux . . . . .                                      | 38 |
| 1.2.1.2. Traitement trypanocide . . . . .                                     | 39 |
| 1.2.2.3. Surveillance des animaux . . . . .                                   | 40 |
| 1.2.2.4. Pharmacocinétique . . . . .  | 40 |
| 1.2.2. Protocole analytique : Dosage de l'Ir COD Pentamidine : . . . . .      | 41 |
| 2. RESULTATS . . . . .  | 43 |
| 2.1. Activité antiparasitaire . . . . .                                       | 43 |

|  |    |
|--|----|
| 2.2. Pharmacocinétique sérique . . . . .   | 44 |
| 2.2.1. Valeurs expérimentales . . . . .  | 44 |
| 2.2.2. Aspect des courbes expérimentales . . . . .   | 45 |
| 3. DISCUSSION . . . . .  | 48 |
| 3.1. . . . .   | 48 |
| 3.2. Activité trypanocide . . . . .  | 49 |
| 3.3. Cinétique sérique des complexes organométalliques . . . . .   | 51 |
| 3.3.1. Etude de l'Ir COD Pentamidine . . . . .   | 51 |
| 3.3.2. Comparaison avec la cinétique de la pentamidine . . . . .   | 53 |
| 3.3.3. Comparaison avec la cinétique de l'iridium après l'injection de<br>l'Ir(Cl <sub>6</sub> )stilbamidine : . . . . . | 55 |
| 3.3.4. Comparaison avec la cinétique du platine après injection du<br>chlorure de Cis Platinum Pentamidine : . . . . .   | 57 |
| 3.3.5. Comparaison avec la cinétique du platine après injection de<br>l'iodure de Cis Platinum Pentamidine : . . . . .   | 59 |
| CONCLUSION . . . . .   | 60 |
| BIBLIOGRAPHIE . . . . .  | 61 |
| TABLE DES MATIERES . . . . .   | 71 |



**TESQUET Nathalie. ACTIVITE TRYPANOCIDE ET CINETIQUE PLASMATIQUE DU TETRAPHENYLBORATE D'IRIDIUM-CYCLOOCTADIENE-PENTAMIDINE DANS LA TRYPANOSOMOSE EXPERIMENTALE DU MOUTON A *Trypanosoma brucei brucei*.**

Université de Limoges. 1994. 73 p.

Le traitement des trypanosomoses africaines humaines et animales reste à l'heure actuelle très difficile.

Malgré quelques progrès récents, la thérapeutique humaine repose sur l'utilisation de dérivés arsénicaux très actifs sur les deux phases de la maladie, mais aussi très toxiques. Les traitements vétérinaires sont toujours aléatoires.

Nous avons étudié un composé organométallique original, réputé trypanocide chez la souris de laboratoire : le tétraphénylborate d'iridium-cyclooctadiène pentamidine. Ce produit résulte de la complexation d'un médicament trypanocide, la pentamidine, avec un sel de métal lourd, l'iridium, connu pour ses propriétés antitumorales.

Ce produit, administré par voie sous-cutanée, présente une activité trypanocide chez la souris infectée par *Trypanosoma brucei brucei*, à la dose unique de 0,5 à 2 mg par kg de poids corporel. Chez le mouton parasité par la même espèce, il est actif en phase lymphatico-sanguine de la maladie à la dose unique de 1 mg/kg.

L'étude de la cinétique sérique de l'iridium révèle un stockage long et important du métal, dont la concentration sérique diminue très lentement pendant plusieurs semaines.

Les résultats obtenus permettent de proposer l'utilisation du produit dans le traitement des trypanosomoses africaines de l'animal domestique.

**MOTS-CLES.** Cinétique sérique - Complexe organométallique - Iridium cyclooctadiène pentamidine - Trypanosomose - Trypanocide.