

CONTRIBUTION A L'ETUDE DU TRAITEMENT DE LA MORVE
EXPERIMENTALE DU COBAYE PAR L'ANAMORVE,
LA SULFADIAZINE, LA PENICILLINE
ET LA STREPTOMYCINE

par H. MIR CHANSY et F. NAZARI

En 1947, sur l'invitation du Gouvernement iranien, le regretté Professeur LEGROUX, de l'Institut Pasteur de Paris, se rendit à Téhéran pour établir, de concert avec les autorités scientifiques locales, un plan de recherches sur la traitement de la morve équine, très répandue en Iran, et partant celui de la morve humaine, qui n'y est pas exceptionnelle.

L'Institut Razi, alors dirigé par Monsieur le Docteur DELPY, fut chargé de la partie expérimentale des travaux : c'est ainsi que nous fumes amenés, de novembre 1948 à fin décembre 1949, à entreprendre une double série d'expériences sur le traitement de la morve expérimentale du cobaye.

Dans une première série de recherches, nous avons repris et confirmé les expériences de LEGROUX, KEMAL DJEMIL et JERAMEC sur la vaccination et le traitement de la morve du cobaye par l'anamorve.*

Dans une deuxième série de travaux, nous avons alors recherché l'action curative de la sulfadiazine, puis de la pénicilline et de la streptomycine. Ces produits ayant modifié profondément la thérapeutique de nombre de maladies infectieuses, il était logique de rechercher leur action sur l'évolution de la morve du cobaye, avant de les essayer sur le cheval ou sur l'homme.

* -- Lysat bactérien, traité par le formol, puis par séjour à l'étuve à 37°.

A — EXPERIMENTATION AVEC L'ANAMORVE

Pour toutes nos expériences, nous avons utilisé l'anamorve, préparée suivant la technique de LEGROUX (I), soit simple, soit additionnée de chlorure de calcium ou de gel d'alumine.

Toutes les injections d'épreuve ont été faites en inoculant au cobaye, par voie intrapéritonéale, 1 ml d'une dilution au 1/10 en eau physiologique d'une culture de 48 heures, en bouillon glycérimé, de *Malleomyces mallei* virulent. Dans ces conditions, les animaux témoins sont morts entre le 18^e et le 22^e jour, exceptionnellement le 24^e jour.

1 — Vaccination par voie intrapéritonéale

Protocole expérimental

— Antigène: anamorve simple.

— Nombre d'animaux: 5, plus 2 témoins, tous mâles, d'un poids moyen de 450 g.

— Technique: 2 injections d'anamorve, par voie intrapéritonéale, à 5 jours d'intervalle, respectivement de 1 et 2 ml. L'injection d'épreuve est pratiquée le 15^e jour après la 2^e injection d'anamorve, soit 21 jours après la 1^e.

Résultats

Tous les animaux vaccinés présentent un signe de Straus positif, maigrissent et meurent du 16^e au 20^e jour.

Conclusion

La vaccination, en deux temps, avec l'anamorve injectée par voie intrapéritonéale, ne modifie pas la réceptivité du cobaye à la morve, les animaux vaccinés meurent dans les mêmes délais que les témoins.

2 — Vaccination en deux temps par voie sous-cutanée

Protocole expérimental

— Antigène: anamorve simple et anamorve, additionnée de 5% de chlorure de calcium.

— Nombre d'animaux: 8, plus 2 témoins, tous mâles, d'un poids moyen de 450 g.

— Technique: 2 injections par voie sous-cutanée, à 7 jours d'intervalle, respectivement de 1 et 2 ml d'anamorve simple (4 animaux) et d'anamorve calcique (4 animaux). L'injection d'épreuve est pratiquée le 8^e jour après la 2^e injection d'anamorve, soit le 16^e jour après la 1^e.

Résultats

On observe chez les animaux vaccinés l'abcédation, puis la cicatrisation du sac testiculaire.

Un seul cobaye résistera puis guérira (anamorve calcique).

Les 7 autres maigrissent et meurent du 36^e au 56^e jour alors que les témoins meurent le 18^e et 22^e jour.

Conclusion

La vaccination, en deux temps, par voie sous-cutanée, avec l'anamorve simple ou calcique, confère au cobaye un certain degré de résistance à la morve, les animaux témoins mourant dans des délais notablement plus court que les animaux vaccinés.

*3— Vaccination en trois temps par voie sous-cutanée**Protocole expérimental*

— Antigène : anamorve additionnée de 3% de gel d'alumine.

— Nombre d'animaux : 8, plus 3 témoins, tous mâles, d'un poids moyen de 500 g.

— Technique : 3 injections de 1 ml chacune, par voie sous-cutanée, à 7 jours d'intervalle, d'anamorve aluminée. L'injection d'épreuve est pratiquée le 10^e jour après la 3^e injection d'anamorve, soit 26 jours après la 1^e.

Résultats

Comme dans la série précédente, on observe chez les cobayes vaccinés l'abcédation puis la cicatrisation du sac testiculaire.

Un cobaye meurt le 23^e jour, comme les témoins.

3 cobayes meurent du 35^e au 44^e jour.

Les 4 autres enfin résistent et guérissent. Ils sont encore bien portants 6 mois après.

Conclusion

La vaccination, en trois temps, par voie sous-cutanée, avec l'anamorve, protège une partie des cobayes inoculés qui ne font qu'une morve atténuée qui guérit, tandis que chez les autres la durée de la maladie est notablement allongée, les animaux témoins mourant dans des délais sensiblement plus courts.

*4— Vaccination et traitement associés**Protocole expérimental*

— Antigène : anamorve simple.

— Nombre d'animaux : 18, plus 4 témoins, tous mâles, d'un poids moyen de 500 g.

— Technique: 3 injections de 2 ml chacune d'anamorve, à 7 jours d'intervalle, par voie sous-cutanée. L'injection d'épreuve est pratiquée 8 jours après la 3^e injection préventive d'anamorve. Les cobayes reçoivent encore 3 injections d'anamorve de 1 ml chacune, à 3 jours d'intervalle, du 14^e au 22^e jour après l'inoculation d'épreuve.

Résultats

Tandis que les témoins meurent dans les délais normaux, on observe chez les vaccinés et traités les résultats suivants :

2 cobayes meurent de morve avec vaginalite aiguë,

9 animaux maigrissent en présentant un signe de Straus positif, évoluant vers l'abcédation et la cicatrisation. Les animaux guérissent en reprenant leur poids normal vers le 45^e jour.

Enfin 7 animaux ne présentent aucun signe de morve.

Conclusion

La vaccination et le traitement associés par l'anamorve inoculée par voie sous-cutanée protège le cobaye contre la morve, soit qu'il ne présente aucune maladie cliniquement décelable, soit qu'il ne fasse qu'une forme atténuée guérissant rapidement.

En faisant varier l'intervalle entre les piqûres, le volume et le nombre de celles-ci, l'adjuvant utilisé, nous avons toujours obtenu des résultats comparables aux précédents, c'est-à-dire :

soit survie prolongée chez les animaux vaccinés,

soit maladie subaiguë ou protection totale chez les cobayes vaccinés et traités.

En résumé, l'anamorve administrée à titre préventif confère au cobaye un certain degré de résistance à la morve. Utilisée non seulement préventivement mais aussi curativement, elle le protège contre une inoculation d'épreuve entraînant la mort rapide des témoins.

••

B — EXPERIMENTATION AVEC LA SULFADIAZINE

Nous avons recherché l'action thérapeutique de la sulfadiazine ainsi que son rôle préventif.

1 — Traitement de la maladie déclarée

Protocole expérimental

La seule variable a été la date à laquelle le traitement sulfamidé a été appliqué.

— Nombre d'animaux : 18, plus 7 témoins, tous mâles, d'un poids moyen de 500 g. pour chaque lot.

— Injection virulente : 10 DSM (dose sûrement mortelle) d'une culture de *Malleomyces mallei* chez les cobayes qui seront traités, tandis que les témoins ne reçoivent que 2 DSM. Dans ces conditions les témoins mourront entre 12 et 25 jours.

— Schéma du traitement : les cobayes de chaque lot (18) sont divisés en deux séries :

ceux de la série A reçoivent 0,1 g. de sulfadiazine par voie buccale, tous les jours pendant 12 jours.

ceux de la série B reçoivent en outre, après 3 jours de repos, 0,1 g. de sulfadiazine par voie buccale quotidiennement pendant 15 jours.

Le premier lot est traité au 4^o jour après l'injection virulente, le 2^o au 7^o jour et le 3^o au 10^o jour.

Résultats

a) Cobayes traités au 4^o jour.

Le signe de Straus est déjà nettement apparent chez la plupart des animaux.

A la fin de la première série médicamenteuse, seuls, 2 cobayes présentent de l'œdème du sac testiculaire, tous les autres sont en bonne santé apparente.

A la fin de la 2^o série, 1 seul animal de la série A est mort de morve. Tous les autres animaux ont guéri et ont repris leur poids normal. Ils sont encore bien portants 8 mois après.

b) Cobayes traités au 7^o jour.

Le signe de Straus est alors nettement positif chez tous les animaux.

A la fin de la première série médicamenteuse on note :

6 Animaux ayant encore une réaction scrotale réduite,

12 animaux ne présentant aucune réaction visible.

A la fin de la deuxième série :

1 seul animal de la série A est mort de morve, tous les autres sont bien portants et ont repris leur poids initial. Ils sont encore bien portants après 6 mois.

c) Cobayes traités au 10^o jour.

Le signe de Straus est fortement positif depuis plusieurs jours.

A la fin de la première série de sulfadiazine, on constate que :

4 cobayes sont morts de morve,

9 ont un signe de Straus plus ou moins net,

5 ne présentent plus de signes cliniques.

Après la terminaison de la deuxième série, seuls 2 cobayes présentent un œdème anormal du sac testiculaire qui disparaîtra peu à peu. Tous les animaux ont repris leur poids primitif et seront bien portants après 6 mois.

Conclusion

La sulfadiazine, administrée par voie buccale, à la dose quotidienne de 0,1 g. pendant 12 jours, guérit le cobaye de la morve quand le traitement est commencé au 4^e ou au 7^e jour qui suit l'injection virulente, alors que les témoins meurent entre le 12^e et le 25^e jour, bien qu'ils soient infectés avec une dose cinq fois plus faible. Administrée au 10^e jour, la sulfadiazine guérit encore 77% des animaux.

2 -- Prévention par la sulfadiazine

Protocole expérimental

— Nombre d'animaux : 10, plus 2 témoins, tous mâles, d'un poids moyen de 500 g.

— Technique : les 10 cobayes reçoivent quotidiennement pendant 10 jours, 0,2 g. de sulfadiazine par voie buccale. Le deuxième jour de l'administration de la sulfadiazine, on leur inocule par voie intrapéritonéale 100 DSM d'une culture de *Malleomyces maltei*. Les témoins, eux, ne reçoivent que 2 DSM par la même voie. Après un repos de 3 jours on reprend le traitement pour une durée de 6 jours avec la même posologie journalière.

Résultats

Les témoins meurent le 18^e et le 23^e jour.

Les 10 animaux recevant des sulfamides ne présentent pas de signe de Straus.

5 d'entre eux meurent à la fin de la première série de traitement. Les testicules sont de volume normal bien que légèrement congestionnés. Cette congestion légère s'observe également sur les viscères. L'amaigrissement est important. L'hémoculture négative.

Les 5 autres résistent. La perte de poids est passagère. Après 6 mois, ils sont encore bien portants.

Conclusion

L'injection d'épreuve (100 DSM) ayant été massive, il semble probable que l'on doive attribuer la mort de la moitié des animaux à une intoxication provoquée par la désintégration du bacille morveux sous l'effet de la sulfadiazine.

Ce sulfamide a protégé l'autre moitié des cobayes qui n'ont présenté aucun signe de morve et ce malgré l'énormité de la dose infectante.

En résumé, il faut noter l'effet thérapeutique remarquable de la sulfadiazine, administrée per os ainsi que ses propriétés préventives dans la morve expérimentale du cobaye.

∴

C — EXPERIMENTATION AVEC LA PENICILLINE ET LA STREPTOMYCINE

Les divers essais expérimentaux qui ont été faits ont montré l'action toxique de ces produits chez le cobaye.

1 — Pénicilline et Streptomycine employées seules

Protocole expérimental

Il a été calqué sur celui employé pour le traitement par la sulfadiazine.

On a utilisé 15 cobayes pour la pénicilline et 20 pour la streptomycine.

L'injection infectante a été de 10 DSM pour les cobayes devant être traités et de 2 DSM pour les témoins qui sont morts dans les mêmes délais que précédemment.

Le traitement par les antibiotiques a été commencé le 4^e jour après l'inoculation.

Le premier lot (15 animaux) a reçu pendant 10 jours, si la mort n'était pas survenue entre temps, 7.500 UO quotidienne ment par voie intra-musculaire de pénicilline (Penicillin Schenley, cristalline G et cristalline Penicillin G sodium salt, Lederlé).

Le deuxième lot (20 animaux) a reçu dans les mêmes conditions 0,025 g. de Streptomycine par voie intra-musculaire.

Résultats

Avec ces deux antibiotiques, on constate que la perte de poids et l'évolution de la vaginalite sont accélérées par rapport aux animaux témoins. Les cobayes traités meurent avant que le traitement ne soit fini, c'est-à-dire avant les témoins.

Un seul animal, traité par la streptomycine résiste.

A l'autopsie, outre les lésions morveuses, on observe une congestion intense des viscères qui attire l'attention sur une intoxication médicamenteuse. L'hémoculture est positive : *Malleomyces mallei*.

2— Association sulfadiazine-pénicilline ou Streptomycine

Protocole expérimental

Il est identique à celui de l'expérience précédente, quant au mode d'inoculation, au début du traitement (4^e jour) et aux doses de pénicilline ou de streptomycine administrées.

On donne seulement en plus, en même temps que l'on fait les injections d'antibiotiques, 0,1 g. de sulfadiazine par voie buccale. Les cobayes reçoivent donc quotidiennement :

soit : 7.500 UO de pénicilline et 0,1 g. de sulfadiazine,
soit : 0,025 g. de streptomycine et 0,1 g. de sulfadiazine.
Chaque lot comprend 15 animaux mâles.

Résultats

Là encore le signe de Straus est positif quand on commence le traitement.

Dans les deux séries, on observe la disparition complète de la vaginalite. Mais tous les animaux meurent en 8 à 12 jours, donc avant les témoins, dans un état de cachexie avancée.

A l'autopsie, on remarque une congestion des viscères, avec dégénérescence du foie chez ceux traités à la streptomycine. L'hémoculture est négative.

Conclusion : en comparant les résultats obtenus dans les deux séries d'expérience, on peut conclure que la pénicilline et la streptomycine sont restées sans effet sur l'évolution de la morve ; ces deux antibiotiques, dans les circonstances de nos expériences, ont eu une action toxique sur le cobaye, entraînant une mort rapide. La stérilisation de l'organisme par la sulfadiazine n'a pas empêché la mort par intoxication.

C'est ce que nous avons vérifié par une expérience témoin chez le cobaye sain.

*
**

D— TOXICITE DE LA PENICILLINE ET DE LA STREPTOMYCINE

La toxicité de la pénicilline pour le cobaye avait été observée par FLEMING dès 1929. Par la suite d'autres auteurs se sont attachés à rechercher le nombre d'UO, rapporté au poids en kilogramme, suffisants pour tuer les différents petits animaux de laboratoire. C'est ainsi que, d'après HADLY (5), la dose minima mortelle de pénicilline,

sous forme de sel sodique, pour 1 kg. de cobaye est de 53.000 à 75.000 UO ou 0,59 à 0,83 g. de ce sel. Tout récemment, GERNEZ-RIEUX et collaborateurs (7) ont observé une mortalité de l'ordre de 60% chez les cobayes traités par trois sels de pénicilline-sodium de provenance variée. Les animaux meurent en anorexie et à l'autopsie la congestion des organes abdominaux attire l'attention.

La toxicité de la streptomycine a aussi été signalée et l'administration prolongée de cet antibiotique entraîne l'infiltration graisseuse du foie et plus rarement des reins. ROBINSON et collaborateurs (6) ont établi que suivant le degré de la pureté de la streptomycine, la DMM (dose minima mortelle) varie de 5.000 à 15.000 unités par kilogramme de poids de l'animal.

Ayant observé des faits analogues dans les expériences personnelles que nous avons rapporté plus haut, nous avons voulu voir comment se comportaient nos cobayes sains avec les antibiotiques que nous avons utilisés.

Protocole expérimental

5 séries de 7 cobayes d'un poids moyen de 500 g. reçoivent respectivement :

Série 1: 7.500 UO de pénicilline, par voie intra-musculaire en une seule injection journalière pendant 10 jours.

Série 2: mêmes doses de pénicilline, mais en plus 0,1 g. de sulfadiazine par voie buccale quotidiennement.

Série 3: 0,025 g. de streptomycine, par voie intramusculaire en une seule injection, pendant 10 jours.

Série 4: même protocole. mais en plus 0,1 g. de sulfadiazine *per os*, par jour.

Série 5: 0,1 g. de sulfadiazine, par voie buccale pendant 15 jours.

Résultats

Alors que les cobayes de la série 5 augmentent de poids d'une façon régulière et restent bien portants, malgré l'ingestion de sulfadiazine, tous les autres animaux des autres séries maigrissent et meurent en état de cachexie avancée.

A l'autopsie, la congestion des viscères attire l'attention. La dégénérescence du foie est surtout marquée avec la streptomycine: cet organe prend l'aspect de feuille morte. Les capsules surrénales sont congestionnées.

Conclusion

Aux doses que nous avons utilisées, nous avons confirmé la toxicité de la pénicilline et de la streptomycine pour le cobaye, alors que la sulfadiazine était elle atoxique.

CONCLUSIONS GENERALES

Des expériences précédentes, nous pouvons tirer les conclusions suivantes :

1°) *L'anamorve de Legroux, employée à la fois dans un but préventif mais aussi curatif, protège le cobaye contre la morve. Suivant les doses utilisées, l'animal fait une maladie bénigne, ou ne présente aucun signe apparent d'infection.*

2°) *La sulfadiazine guérit la morve expérimentale du cobaye, même à un stade avancé de la maladie.*

Son emploi, à titre préventif, présente un grand intérêt.

3°) *Par contre pénicilline et streptomycine accélèrent l'évolution fatale chez les animaux morveux, sans stérilisation de l'organisme, par suite d'une action toxique.*

BIBLIOGRAPHIE

- 1) R. LEGROUX, K. DJEMIL et Mme JERAMEC — C.R.Ac.Sc. 1932, 195, 2.088.
- 2) R. LEGROUX — Presse Med. 1933, 118.
- 3) K. DJEMIL — Thèse Paris. 1933.
- 4) A. FLEMING — Brit. J. Exp. Path. 1929, 10, 226.
- 5) G. L. HABLY — Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med. 1944, 50, 285.
- 6) H. ROBINSON — Proc. Soc. Exp. a. Med. 1944, 57, 226.
- 7) CH. GERNEZ-RIEUX, A. SEVIND et H. BEERENS — Bull. Ac. Méd. 1943, 132, 496.