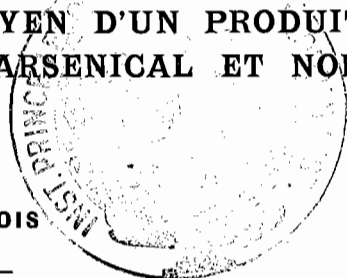


ESSAI D'OBTENTION D'UNE SOUCHE ATOXYL- RÉSISTANTE AU MOYEN D'UN PRODUIT AROMATIQUE NON ARSENICAL ET NON TRYPANOCIDE

PAR

A. DUBOIS



W. Yorke et ses collaborateurs, au cours de leurs remarquables études de chimiothérapie, ont montré que ce qu'on nommait, après l'emploi de l'atoxyl, de l'arsénorésistance était en réalité une résistance à certains radicaux aromatiques. C'est ainsi, par exemple, que des souches préparées avec l'atoxyl, l'arsacétine, la tryparsamide, la tryparsamide réduite, l'halar-sol, le novarsénobenzol, l'acriflavine, présentent tous de la résistance vis-à-vis des dérivés aromatiques de l'arsenic et de l'antimoine (peu nette vis-à-vis de l'arsenophénylglycine) mais sont, par contre, également sensibles à l'arsenic minéral, à l'émétique de potassium et au Bayer 205 (1). Il est vraiment curieux de noter qu'une souche résistante à l'atoxyl et une souche résistante à l'acriflavine (produit tout à fait exempt d'arsenic) possèdent « in vitro » la même résistance vis-à-vis des arsenicaux aromatiques penta ou trivalents (bien plus nette en ce dernier cas), vis-à-vis de l'acriflavine et la même sensibilité vis-à-vis de l'arsenite de sodium ou le tartre émétique (2) (vis-à-vis du seul antimonial aromatique cité il n'y a pas de résistance accrue).

« In vivo » on observe les mêmes faits, avec en plus, qu'ici les antimoñiaux aromatiques sont peu actifs, aussi bien contre la souche atoxyl-fest que contre la souche acridine-fest (3).

Bref, il y a *résistance non vis-à-vis de l'élément As. ou Sb. mais vis-à-vis de certains groupements aromatiques et un produit aromatique non arsenical (acriflavine) peut créer cette résistance.*

On est porté à se représenter les groupements en question comme les groupements haptophores fixant les toxiques sur le parasite. La perméabilité vis-à-vis de ces groupements diminuant chez les parasites — telle paraît être selon les recherches des auteurs cités et celles de von Jancso l'explication de la résistance (4-5-6) — les groupements toxophores ne peuvent plus agir. (Ces recherches ont montré, en effet, l'inaptitude relative des trypanosomes résistants, à fixer des produits actifs, « in vitro » ou « in vivo ». Notons qu'ici aussi les souches atoxyl ou acridine-fest ont des aptitudes communes.)

On a donc pu obtenir des souches résistantes à l'arsenic avec un produit exempt d'arsenic. Allant plus loin, on peut se demander s'il est possible d'obtenir des souches résistantes aux arsenicaux aromatiques avec des produits aromatiques dépourvus d'action trypanocide évidente. Tel est sans doute le sens de la question posée par H. S. Stannus à la réunion de la Royal Society of Tropical Medicine & Hygiene (7). W. Yorke lui a répondu que cela lui paraissait improbable, vu le manque d'action de ces produits sur les parasites. (Il songe donc aussi manifestement à des produits aromatiques dépourvus d'action trypanocide au contraire de l'acriflavine.) Avant de lire cette discussion je m'étais posé la même question et avais décidé de la soumettre à l'expérimentation. J'ai eu recours à l'acide paraminobenzoïque (Merck) : $\text{NH}_2 - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{COOH}$ qui ne diffère de l'atoxyl : $\text{NH}_2 - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{AsO}_3 \cdot \text{NaH}$ que par le chaînon terminal acide : arsinique dans le dernier produit, carboxylique dans le premier.

Propriétés du produit. — L'acide Paraminobenzoïque est une poudre blanche peu soluble dans l'eau, mais bien soluble en présence de bicarbonate de soude. J'ai pu avoir ainsi des solutions de 4 à 10 p. c., de réaction tantôt faiblement acide tantôt faiblement alcaline.

La firme Merck n'ayant pu me renseigner sur la toxicité du produit j'ai fait quelques essais qui montrent qu'il s'agit d'un produit peu toxique et en tout cas beaucoup moins que l'Atoxyl. Voici, par exemple, les doses supportées le 14, 15, 17, 18, 19 juin par 4 souris :

Souris 1. 18 gr. 0,005 (v) 0,005 (s. c) 0,009 (s. c) 0,035 (v) 0,025 (s. c)
Souris 2. 22 gr. 0,005 (v) 0,005 (s. c) 0,009 (s. c) 0,025 (v) 0,025 (s. c)
Souris 3. 15 gr. 0,01 (v) 0,005 (s. c) 0,009 (s. c) 0,025 (v) 0,025 (s. c)
Souris 4. 22 gr. 0,01 (v) 0,005 (s. c) 0,009 (s. c) 0,025 (v) 0,025 (s. c)

Dans d'autres essais :

- A. — 1 souris de 16 gr. a reçu 0,04 dans la veine (survie).
1 souris de 15 gr. a reçu 0,04 dans la veine (+) mais il s'agit sans doute d'un excès de volume, celui-ci étant de 1 cc.).
- B. — 2 souris ont reçu dans la veine, de la solution à 10 p. c. 1 cc. par 20 gr. Mort.
1 souris a reçu dans la veine, de la solution à 6 p. c. 1 cc. pour 20 gr. Survie.
1 souris a reçu dans la veine, de la solution à 5 p. c. 1 cc. pour 20 gr. Survie.
- C. — 1 souris a reçu (voie sous-cutanée) sol. 8 p. c. 1 cc. pour 20 gr. Survie.

La *dose tolérée* par la souris (veine — 20 gr.) est donc d'environ 50-60 mgr.; 100 mgr. paraissent toxiques. La répétition de doses moyennes est parfaitement tolérée; la tolérance locale à 4 p. c. assez bonne avec, de-ci de-là, une petite escharre quand l'injection a été trop superficielle. Je me suis en fait limité à des doses de 0,01-0,02 à jours alternatifs en injections sous-cutanées. (Doses supérieures aux doses tolérées d'atoxyl.) Ces injections ont pu usuellement être répétées 3-4 fois au cours de l'infection de chaque souris.

L'*action sur l'infection* de la souris (souche Madimba, trypanosome de bétail, type Pecauidi) est nulle semble-t-il.

L'*action sur les trypanosomes* « in vitro » n'est au contraire pas absolument nulle, sans être très forte. Cette constatation

nous a fait espérer une réaction possible des parasites. Voici, à titre d'exemple, un des essais « in vitro » selon la méthode de Yorke et coll. (8) :

Titre du produit.	Temps :			T° 37°.
	3 h.	20 h.	24 h.	
2 %	0	—	—	Numération dans 2 rangées horizon- tales de « Burker ».
1 %	85	0	—	
1/200	—	23	1	
1/400	—	51	18	Milieu : Serum mouton) Ringer) aa Glucose 2,5 p. m.
1/800	—	132	100	
Témoin	118	127	131	
N ^{bre} de trypanosomes vivants.				

L'action n'est évidemment pas très forte, mais cependant pas nulle. Nous verrons, en outre, que les trypanosomes ont été en un cas incapables d'infester malgré une certaine mobilité.

Technique utilisée. — Une première question se posait : savoir si avec de l'atoxyl il était possible d'obtenir une souche arsenorésistante avec notre souche Madimba (Tr. Pecaudi.) Des essais entrepris selon la méthode de Ehrlich (traitement répété à doses subcuratives) ont abouti après 3 mois à une souche nettement résistante (12 traitements).

Nous savons par nos essais antérieurs que notre souche était sensible au 914 (9), quelques expériences nous ont montré que tant au départ que à l'époque de la fin de notre expérience, la dose minima active d'atoxyl, c'est-à-dire capable d'amener une

stérilisation passagère chez des souris modérément infectées, est de 2 mgr. pour 20 gr. de souris, les doses nettement actives sont de 3 mgr., 4 pouvant déjà stériliser définitivement à l'occasion.

Notre souche atoxyl-fest supporte de hautes doses d'atoxyl, voisines de la dose maxima, soit par exemple 6 ou 8 mgr. sans stérilisation, avec cependant prolongation de l'infection.

Bien qu'il ne soit pas très facile d'obtenir avec l'atoxyl une souche Madimba fortement résistante, c'est donc cependant réalisable.

Cela étant, nous avons procédé par les deux méthodes suivantes :

1. *Contacts « in vivo »*. — La souche Madimba a été passée successivement par 25 souris, soit pendant environ 4 mois. Ces souris ont reçu dès la période d'incubation des injections de l'acide paraminobenzoïque à la dose de 0,01 d'abord puis 0,02, à jours alternatifs. Il a été administré en moyenne à chaque souris 3-4 injections et en tout 82 injections du produit soit : $32 \times 0,01$ et $50 \times 0,02$.

La souche a donc été en contact, si pas continu, au moins répété, avec le produit ou ses dérivés dans les humeurs.

2. *Contacts « in vitro »*. — Nous inspirant des travaux de Yorke et coll. (10) sur la possibilité d'obtenir des souches résistantes par contact « in vitro » avec des substances thérapeutiques, et du fait déjà signalé que l'acide paraminobenzoïque est légèrement actif « in vitro » sur les parasites, nous avons aussi recouru à cette méthode.

Des trypanosomes pris à l'acmé de l'infection ont été mis en contact « in vitro » avec ce produit, en milieu sérum-Ringer-glucose, à température de 37°. Après un certain temps de contact nous avons choisi les trypanosomes qui paraissaient les plus altérés, mais encore capables d'infecter, les avons lavés par centrifugation et inoculés à des souris neuves. Il fut fait ainsi 10 contacts successifs « in vitro » suivis d'inoculation.

Nous n'avons pu malheureusement observer aucune augmentation de résistance « in vitro » et en fait, au 10^e contact, les trypanosomes choisis, plus altérés sans doute, que nous ne l'avions cru, n'ont plus infecté les souris et l'essai a dû être interrompu. Nous avons cependant pu observer des souris du 8^e et du 9^e contact et apprécier leur sensibilité à l'atoxyl.

RESULTATS.

Les essais faits après contacts « in vitro » n'ont montré aucune apparition de résistance à l'atoxyl, cela après 8 et 9 contacts « in vitro » avec l'acide paraminobenzoïque (usuellement vers 1 p. c., quelques heures).

Les essais faits après contacts « in vivo » n'ont jamais non plus abouti directement à une souche atoxyl-résistante. Il a cependant été observé en ce cas quelques anomalies qui paraissent indiquer une moindre sensibilité vis-à-vis de l'atoxyl. Voici les faits en question :

Une souris du 19^e passage, traitée à l'atoxyl se montre peu sensible à l'atoxyl (4 puis 5 mgr. par 20 gr. ne produisant que des stérilisations passagères) et déjà après 1 mois l'atoxyl est sans action. Le passage fait de cette souris a été perdu accidentellement et il est donc impossible d'affirmer qu'il était atoxyl-fest.

Cette souris est devenue fort rapidement réfractaire à l'atoxyl : notre expérience de la souche normale nous montre que les traitements à l'atoxyl peuvent être poursuivis pendant \pm trois mois avant d'être inactifs.

Deux souris du 20^e passage traitées à l'atoxyl ont montré des phénomènes semblables : dès le début faible action de l'atoxyl, rapidement absence complète d'action, et d'une de ces souris au bout de 1 mois et 7 traitements obtention d'une souche qui par passage se montre vraiment atoxyl-fest.

Il y a là des faits inusuels selon notre expérience avec la souche Madimba. (Il faut usuellement 3 mois et 12-15 traitements pour obtenir une souche résistante.)

D'autre part, ces souris de passages avaient subi l'action de l'acide paraminobenzoïque et on pourrait interpréter ces faits comme indiquant une interférence entre les deux produits (interférence qui nous avait paru peu appréciable au début de nos essais).

Il était évidemment indispensable d'étudier la souche de trypanosomes chez des animaux neufs.

Du 25^e passage ont donc été inoculées 5 souris, traitées concurremment avec 5 souris infectées de la souche normale gardée dans l'intervalle sur souris.

Ces souris des 2 souches ont reçu des doses de 3-4 mgr. pour 20 gr. (selon l'infection) et ont été retraitées aux rechutes.

Dans aucun cas il n'y a eu résistance immédiate aux doses normales d'atoxyl, dans l'une comme dans l'autre souche. Encore une fois cependant, il a été obtenu plus rapidement que usuellement une souche atoxyl-fest (40 jours, 8 traitements) en partant de la souche paraminobenzoïque, mais ce fait n'a été constaté que pour 2 souris sur 5, et n'a plus été vérifié sur 3 autres souris d'un passage suivant (fait bien entendu avant l'action de l'atoxyl). Il serait donc imprudent d'attacher à ces constatations une valeur notable. Il se pourrait qu'il y ait eu là une série spécialement favorable.

CONCLUSIONS.

Les conclusions sont donc négatives : il n'a pas été possible d'obtenir avec le produit utilisé (acide paraminobenzoïque) non arsenical et non trypanocide une souche atoxyl-résistante (4 mois, 25 passages sur souris, 82 injections du produit).

L'acide paraminobenzoïque ne provoque sans doute pas de réaction suffisante chez le parasite pour le modifier. On pourrait évidemment envisager la prolongation du contact, peut-être l'emploi d'une autre souche, surtout peut-être le choix d'un autre produit, mais actuellement, malgré les quelques faits aberrants observés, il faut considérer les résultats comme négatifs.

BIBLIOGRAPHIE.

1. Yorke W., Murgatroyd F., Hawking F. — *Ann. Trop. Med. & Parasitol.*, 1932, fasc. 4, p. 587.
 2. Yorke W., Murgatroyd F. — *Ibidem*, 1930, fasc. 3, p. 449.
 3. Yorke W., Murgatroyd F., Hawking F. — *Ibidem*, 1931, fasc. 2, p. 313.
 4. Yorke W., Murgatroyd F., Hawking F. — *Ibidem*, 1931, fasc. 2, p. 351.
 5. v. Jancso N. — *Zentrabl. für Bakt. Originale*, 1932, t. 123, p. 129 et t. 124, p. 167.
 6. Hawking F. — *Ann. Trop. Med. & Parasit.*, 1934, fasc. 1, p. 67.
 7. Stannus H. S. et Yorke W. — *Transact. R. Soc. Trop. Med. & Hyg.*, 1934/35, pp. 466 et suivantes (discussion).
 8. Yorke W., Adams A. et Murgatroyd F. — *Ann. Trop. Med. & Parasitol.*, 1929, fasc. 4, p. 501.
 9. Dubois A. et Noël G. — *Bruzelles Médical*, n° 1, 3 novembre 1935.
 10. Yorke W., Murgatroyd F., Hawking F. — *Ann. Trop. Med. & Parasitol.*, 1931, fasc. 3-4, p. 521.
-