

## Infectiosité des spirochètes « *Sp. duttoni* » au cours du traitement à l'arsénobenzène

PAR

A. DUBOIS.

---

J'ai montré il y a quelques années, avec Kohn, que des trypanosomes prélevés chez une souris traitée depuis 15-20 minutes à l'Arsénobenzène sont fréquemment dépourvus d'aptitude infectieuse. Les résultats ne sont du reste pas absolument réguliers, sans doute parce que tous les parasites d'un même animal ne sont pas également sensibles (1). L'effet en question a été noté avec le 914, la novoflavine et surtout le Bayer 205, et non avec l'émétique de potassium, la tryparsamide et le sérum humain (2).

Cette constatation me paraît intéressante car elle montre non seulement l'action directe du produit sur le parasite, mais encore que cette action se passe dans le corps même du parasite et non, par exemple, dans le plasma de l'hôte. Cette dernière hypothèse peut être envisagée, en particulier en suite aux notions acquises sur le rôle antivitaminique des sulfamides, qu'on peut imaginer s'exerçant soit dans la cellule du parasite, soit dans le plasma où il vit.

J'ai essayé de retrouver le même phénomène au cours du traitement au 914 de souris infectées de *Sp. duttoni* (\*). Disons

---

(\*) Souche originaire du Kivu (J. Schwetz) dont la sensibilité à l'arsenic paraît normale. Chez les souris les parasites disparaissent en quelques heures (8 à 9 heures). Chez l'homme l'action du 914 est aussi favorable. J'ai pu en juger par 2 contaminations de laboratoire successives. Dans chaque cas l'accès de première attaque (fièvre élevée, céphalée

immédiatement que cette tentative a été vaine. Vu les circonstances, je n'ai pu expérimenter avec de nombreux animaux, mais quasi toujours les spirochètes prélevés plusieurs heures après traitement I. V. par des doses élevées d'Arsébényl (4-5 mg. par souris) se sont montrés infectieux, même près du moment de la stérilisation.

Tout comme dans les expériences avec trypanosomes, l'inoculum est constitué par quelques gouttelettes prélevées à la queue et le nombre des spirochètes, évalué grossièrement, a varié entre 200 et 2.000.

Les essais ont porté sur 6 souris, dont une inutilisée à cause d'une stérilisation exceptionnellement rapide (crise spontanée ?)

A partir des 5 autres, j'ai inoculé 8 souris neuves, avec comme résultat : 6 infections, 1 mort précoce et 1 souris négative. Notons, à titre de comparaison que, au cours de ces essais, 3 souris infectées de *Tryp. evansi* ont été traitées de même façon. Les trypanosomes prélevés entre 20 et 50 minutes après traitement ont été inoculés à 6 souris avec 5 résultats négatifs et 1 positif (après 30 minutes).

Faut-il conclure de ces expériences que l'action du 914 sur *Sp. duttoni* est indirecte. Ce serait une conclusion excessive. Je rappelle que le même fait est observé avec des trypanosomes et l'émétique. Ici, cependant, la rapidité de la stérilisation et l'activité *in vitro* déjà notée autrefois par Broden et Rodhain (3) font admettre par tous l'action directe. En réalité, un produit à action directe peut être dépourvu d'un grand pouvoir de fixation sur le parasite, ou bien les lésions créées sont réversibles. L'action *in vitro* apparaît comme une épreuve plus sûre pour caractériser l'action chimiothérapique directe.

Il se trouve que, précisément, cette dernière constatation a été faite au sujet des spirochètes.

---

intense, spirochètes nombreux) a été coupé sans rechute (600 mg. 914 x 3). Le second de ces cas était sûrement causé par *Sp. duttoni*; quant au premier, un doute subsiste sur la nature du parasite (*Sp. babylonensis* ?) qui n'a pu être inoculé aux animaux. Ces deux cas doivent nous apprendre la prudence dans le maniement d'une infection que jusqu'à présent j'avais considérée comme peu dangereuse au laboratoire.

Papamarku autrefois (4) a noté l'action *in vitro* du Salvarsan sur les spirochètes sanguicoles (1/1 million — t° du laboratoire, la trypaflavine a une action au moins égale).

Plus récemment Hawking (5) a réétudié cette question en utilisant la technique ancienne de W. Yorke et coll. Il indique les résultats suivant : 1) la plupart des arsenicaux cycliques trivalents étudiés sont actifs *in vitro* à faible concentration comme ils le sont vis-à-vis des trypanosomes. La concentration léthale en 24 heures à 37° variant entre 0,06  $\gamma$  et 0,3  $\gamma$  par c.c. soit 1/15.000.000 à 1/3.000.000; 2) la diaminométhylacridine est active à 0,5  $\gamma$  par c.c. (1/2 million); 3)  $As_2O_3$  et le tartre émétique sont inactifs (80 et 200  $\gamma$ /c.c.); 4) le Solganal est également inactif (50  $\gamma$ /c.c. = 1/20.000) et, fait digne de remarque, cette concentration agit aussi sur les spirochètes auro-résistants.

Hawking a en outre constaté une faible fixation de As par les parasites: indiscernable par les méthodes biologiques (désintoxication de solutions vis-à-vis des trypanosomes), elle peut être appréciée chimiquement.

Généralement parlant, les spirochètes sont 20 fois moins sensibles aux arsenicaux cycliques trivalents que les trypanosomes.

Enfin, en présence d'acriflavine les spirochètes deviennent photosensibles comme les trypanosomes, et du reste l'homme.

J'ai fait quelques essais *in vitro* avec du 914, du chlorhydrate de m-amino p-hydroxyphényldichlorarsine (Halarsol) (\*) et le m-amino p-hydroxyphénylarsin oxyde (solubilisé par une trace de Hcl. (\*\*)).

Je crois utile d'indiquer la technique suivie, car il est relativement difficile de conserver le *Sp. duttoni* à 37°. Chorine et Crouge (6) notent comme optimum de température pour les cultures 28°-30°. Autrefois, avec Bruynoghe, nous avons indiqué 37° comme température utilisée pour nos cultures (7), mais des essais récents avec notre ancien milieu me font aussi admettre comme optimum  $\pm$  30°. Il semble du reste que Hawking ait éprouvé quelques difficultés à conserver les spirochètes bien vivants pendant 24 h. « the parasites in the control tubes usually survived for 24 h. in undiminished numbers but after this they began rapidly to die off » (p. 4).

Voici la technique suivie : on prélève aseptiquement le sang du cœur de souris fort infectées, le mélange à du citrate de soude à 3 p. c. puis ajoute le sang citraté à un mélange de Rin-

---

(\*)  $Cl_2 = As - C_6H_3 - NH_2 - OH$  (1-3-4).

(\*\*)  $O = As - C_6H_3 - NH_2 - OH$  (1-3-4).

ger (6 vol.) + sérum de bœuf (\*) 1 vol. + glucose ad. 1-2 p. m. J'utilise ordinairement 3 c.c. du mélange Ringer-sérum pour une souris. On centrifuge à petite vitesse quelques minutes et on obtient un liquide clair riche en spirochètes. On peut ordinairement l'utiliser comme tel, s'il est trop riche en spirochètes on peut le diluer avec le milieu.

L'idéal me paraît être d'avoir 10-12 spirochètes par champ, ce qui, après dilution par le produit, sera réduit de moitié. On répartit en petits tubes capuchonnés de verre, 0,2 ou 0,3 c.c. dans chaque tube.

D'autre part, on prépare les solutions médicamenteuses : la première dilution est faite dans l'eau distillée, la deuxième ou la troisième, dans le mélange Ringer-sérum.

On répartit 1 c.c. de sérum-Ringer dans  $n$  tubes, ajoute au premier tube 1 c.c. de la dilution de départ choisie de la drogue, on mélange et reporte 1 c.c. dans le tube suivant et ainsi de suite. Cela fait, on ajoute dans les tubes à spirochètes le même volume (0,2 ou 0,3 c.c.) du produit en commençant par les plus faibles concentrations. La concentration finale est donc divisée par 2. Mélanger, et puis, chose qui m'a paru indispensable, recouvrir de quelques gouttes de paraffine liquide stérile. Dans ces conditions, même à 39° (l'étuve utilisée atteignait souvent cette température) la survie a été bonne, jusqu'à 24 h., assez bonne jusqu'à 48 h., et s'est étendue jusqu'à 72 et 96 h. (forte diminution de nombre).

Le glucose, le sérum, la paraffine me paraissent des conditions indispensables de réussite, sans parler de la stérilité (les tubes n'ont jamais montré de microbes visibles à l'examen direct; il n'a pas été fait de cultures.)

L'examen a été fait au fond noir en comparant un certain nombre de champs des tubes d'expérience et de contrôle. On ne tient compte que des spirochètes mobiles, les cadavres, en effet, ne se lysent pas très vite. Hawking considère que 90 p. c. de cadavres indiquent la concentration léthale. Il me paraît important que le nombre des parasites par mm. c. ne varie pas beaucoup aux divers essais.

---

(\*) Filtré sur Seitz et chauffé à 56°, 30 minutes.

Les essais faits peuvent se résumer comme suit :

|                    | Concentration léthale<br>en 6 heures | 24 heures        |
|--------------------|--------------------------------------|------------------|
| Halarsol ... ..    | 1/1,5 millions                       | 1/5 millions     |
| Oxyde d'arsine ... | 1/2,5 millions                       | 1/10 millions    |
| Arsébényl ... ..   | 1/1,2 millions                       | 1/40 millions    |
| Néosolganal ... .. | 1/1 million                          | 1/4 millions (*) |

Ces résultats ne diffèrent pas essentiellement de ceux obtenus par Hawking, à part pour le composé aurique. Le résultat du 914 est quantitativement différent 0,3  $\gamma$  par c.c. chez Hawking et ici 0,025  $\gamma$  en 24 h., alors que, en 6 h., l'action est bien moindre (près de 1  $\gamma$  par c.c.).

Il faudrait, en ces cas, faire une moyenne sur un certain nombre d'essais, mais vu la rareté des animaux, je n'ai fait plusieurs essais qu'avec les deux premiers produits.

Quant au Néosolganal, il paraît avoir une réelle action *in vitro*. Remarquons que ce produit n'est pas celui utilisé par Hawking. Je me propose de vérifier ultérieurement l'action de divers composés auriques.

### CONCLUSION

L'action *in vitro* sur les spirochètes sanguicoles n'est pas douteuse pour divers arsenicaux trivalents; elle doit être étudiée pour les composés d'or.

Par contre, il est impossible de vérifier chez les spirochètes l'existence de la non-infectiosité observée souvent chez les trypanosomes, cela au cours de traitements chimiothérapiques. Ce fait est sans doute en relation avec la faible fixation signalée plus haut.

*Samenvatting.* — Schrijver heeft willen nagaan of spirocheten (*Sp. duttoni*) uit het bloed van besmette dieren opgenomen 15 tot 20 minuten na behandeling door hoogactieve arsenika-

---

(\*) Les dilutions n'allaient pas au delà.

lien hun infectie vermogen verloren hebben. Het feit is vastgesteld voor Trypanosomen uit het bloed van muizen behandeld door arsenobenzène.

De aangestelde proeven liepen negatief uit. De spirocheten behouden hun infectievermogen.

Schrijver heeft verder de werking van verschillende trivalente arsenikalien : halarsol, arsine oxyde, arsebenyl alsook van een goudzout Neosolganal, op spirocheten *in vitro* onderzocht. Hij heeft de uitslagen van Hawking grootendeels bevestigd, behalve wat het goudprodukt betreft. Dit laatste doodt de spirocheten na 24 uur nog in verdunning van 1 op 4 miljoen.

De *in vitro* werking van andere goudprodukten zal verder worden onderzocht.

#### BIBLIOGRAPHIE.

1. Dubois, A. et Kohn, I. — A propos du mode d'action de l'arsénobenzène sur les trypanosomes. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1939, t. XIX, p. 501.
2. Dubois, A. et Kohn, I. — Infectiosité de trypanosomes au cours de traitements chimiothérapiques. *Ann. Soc. Belge Méd. Trop.*, 1940, t. XX, p. 173.
3. Broden et Rodhain. — Traitement de la trypanosomiase humaine (3<sup>e</sup> communication préliminaire). *Arch. f. Schiffs. u. Tropenhyg.*, 1908, t. 12, p. 443.
4. Papamarku. — Versuche über die Wirkung chemotherapeutische Stoffen auf Spirochäten u. Trypanosomen *in vitro*. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh.*, 1927, t. 107, p. 407.
5. Hawking. — The chemotherapeutic reaction of Relapsing fever spirochaetes *in vitro*. *Ann. Trop. Med. and Paras.*, 1939, t. 33, p. 1.
6. Chorine et Crouge. — Culture de spirochètes sanguicoles de l'homme. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1943, t. 36, p. 262.
7. Bruynoghe, De Greef, Dubois. — L'hémoculture dans la fièvre récurrente humaine. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, t. 96, p. 1071.