

COMMUNICATIONS

Sur l'activité anti-brucellique du Fébyxane

par J. JACQUET et Mme L. STEEG

Un mélange d'huile de pin, de polychlorocamphre et d'oléocétylsulfate de soude, connu sous le nom de Fébyxane, a été étudié antérieurement par divers laboratoires français, qui en ont retenu une activité intéressante *in vitro* contre différents germes microbiens, notamment les *Brucella*.

Nous avons, de notre côté, tenté une expérimentation plus étendue visant à élucider l'efficacité possible sur la variété économiquement la plus importante pour l'élevage bovin et la production laitière, celle qui est responsable de l'avortement épizootique.

Les essais ont été conduits *in vitro* et *in vivo*.

I. — ESSAI IN VITRO

Cinq souches de *Brucella abortus bovis* ont été cultivées séparément sur gélose brain heart Difco, en atmosphère légèrement carbonique.

Pour chaque souche, le contenu de trois anses d'un fil de nichrome raclé sur une culture en gélose, a été introduit dans une série de dilutions de fébyxane. Au bout de 15 minutes de contact, les germes ont été rassemblés par centrifugation. Puis le culot a été lavé avec du sérum physiologique et recentrifugé ; le liquide surnageant a été rejeté et le culot définitif ensemencé abondamment dans un tube de bouillon brain heart, placé à 37° C en atmosphère carbonique.

Aucune souche mise en contact avec la solution de dilution finale au 1/8.000 n'a donné lieu à culture ultérieure. Des croissances ont été parfois obtenues après contact avec la

dilution au 1/9.000, mais, toujours, après contact du produit réparti au 1/10.000 et au-delà.

Des cultures analogues préparées dans les mêmes conditions, mais sans contact des germes avec le Fébyxane, ont, toutes, donné lieu à une pousse bien visible.

II. — ESSAI IN VIVO

1. *Essais de toxicité.*

A. — *Utilisation du produit pur.*

a) *Expériences sur rats.*

Produit utilisé : fébyxane pur.

— *animal n° 1* : 1 cc par voie sous-cutanée,

— *animal n° 2* : 2 cc par voie sous-cutanée,

— *animal n° 3* : 5 cc par voie sous-cutanée.

Aucun de ces 3 animaux n'a montré d'intoxication générale ou d'accident local. Le rat paraît donc particulièrement tolérant.

b) *Expériences sur cobayes.*

Produit utilisé : fébyxane pur.

— *premier cobaye* : 2 cc par voie sous-cutanée le 19 mars 1958 et 2 autres injections sous-cutanées le 20 mars ;

— *deuxième cobaye* : 5 cc sont introduits sous la peau le 19 mars. Au bout de quelques jours, il apparaît une inflammation importante au point d'injection, qui s'est transformée, le 30, en une escarre énorme avec nécrose profonde des tissus, puis la mort survint le 9 avril ;

troisième cobaye : 2 cc par voie sous-cutanée le 20 mars et 2 cc le 21 mars. L'animal mourut le 22 mars.

Il résulte de ces essais que le fébyxane se montre nettement plus toxique et escarifiant pour le cobaye que pour le rat. Les essais bactériologiques devant être poursuivis sur le cobaye, animal très sensible, en principe, aux *Brucella*, il importe de tenir compte de ces conditions particulières et, par conséquent, de ne jamais utiliser le fébyxane pur, mais en dilution dans le sérum physiologique.

Des expériences analogues devront être tentées chez les animaux domestiques avant de fixer, s'il y a lieu, la forme

thérapeutique la plus commode. Bien que d'une espèce à l'autre, il y ait des variations considérables de sensibilité, on peut, d'ores et déjà, préconiser pour ces recherches, la présentation en ampoules, du fébyxane dilué à l'avance dans le sérum physiologique et non pas le produit pur.

B. — *Utilisation du produit dilué.*

L'expérience ne fut réalisée que sur des cobayes.

a) *fébyxane en dilution au 1/500 dans du sérum physiologique.*

— *cobaye n° 1* : 5 cc de la dilution par voie sous-cutanée le 20 mars ;

— *cobaye n° 2* : 2 cc. de la dilution par voie sous-cutanée le 20 mars ;

— *cobaye n° 3* : 2 cc par voie sous-cutanée, tous les jours, du 20 mars au 21 avril. Aucun indice de toxicité générale ou locale n'est apparu sur ces animaux.

Pensant, d'après les résultats effectués *in vitro*, que les dilutions précédentes devaient s'avérer efficaces, nous ne poursuivîmes pas, au début, les essais de toxicité plus loin.

Devant l'échec thérapeutique, ou les résultats seulement partiels enregistrés, nous avons dû reprendre plus tard de nouveaux essais de toxicité, avec des solutions plus concentrées cette fois.

b) *fébyxane en dilution au 1/100 dans le sérum physiologique.*

— 2 cc d'une dilution au 1/100 furent injectés par voie sous-cutanée à deux cobayes *tous les jours*, du 27 août au 11 septembre. Aucune réaction ne fut constatée ;

— 2 cc de la dilution au 1/100 furent injectés chaque jour à deux cobayes dans une des cuisses, du 27 août au 11 septembre. Il apparut une petite tuméfaction, au niveau de la cuisse, qui se résorba, entièrement, par la suite.

c) *fébyxane en dilution au 1/50 dans le sérum physiologique.*

— *lot n° 1* : 2 cc d'une solution au 1/50 furent injectés à trois cobayes du 27 août au 11 septembre, sans produire aucun trouble ;

— *lot n° 2* (trois animaux) : 2 cc d'une solution au 1/50 furent injectés dans les muscles des deux cuisses, un jour

de chaque côté, du 27 août au 11 septembre. Au bout de huit jours, une tumeur apparut, mais qui ne devint jamais très grosse et se résorba après la cessation des essais.

2. Première expérience microbiologique in vivo.

Le 20 mars, 13 cobayes reçurent chacun, par voie sous-cutanée, 150.000.000 de corps microbiens d'une souche vivante de *Brucella abortus bovis* (dans 1 cc de sérum physiologique).

6 cobayes moururent avant le 14 mai. L'évolution des autres est résumée ci-dessous :

— *cobaye n° 1* : il montra une réaction positive à la mélitine le 26 juin, mais la séro-agglutination n'a donné qu'un taux d'anticorps (1) très faible n'atteignant pas le 1/80, en positivité totale (++) mais prolongé jusqu'au 1/160 en positivité partielle (+). L'animal mourut le 28 juin. L'autopsie montra une hypertrophie des reins et une piqueté sur le foie et la rate, caractéristique de la brucellose. La souche de *Brucella* fut trouvée par culture de la moelle osseuse et de la rate ;

— *cobaye n° 2* : réaction positive à la mélitine, selon la technique de BURNET, le 21 juin. Séro-agglutination le 30 juin nettement positive (++) au 1/80, partiellement positive (+) jusqu'au 1/320. L'animal mourut le 21 juin. Pas de signes caractéristiques à l'autopsie. La recherche du bacille de Bang ne put être faite ;

— *cobaye n° 3* : séro-agglutination le 14 mai, partiellement positive jusqu'au 1/160.

Malgré cette séro-agglutination assez peu probante encore, mais qui peut être interprétée en disant que la brucellose n'est qu'en début d'évolution et n'a pas fait former encore beaucoup d'anticorps, le traitement est tenté par injection, les 14 et 21 mai, de 2 cc de fébyxane au 1/500. Le 21 juin, la réaction à la mélitine est toujours positive. Le 28 du même mois, la sérologie est inchangée. En août, nous faisons toujours les mêmes constatations, mais en septembre, le taux

(1) Comme dans un travail antérieur sur la brucellose humaine occulte (*Bull. Acad. Nat. Méd.*, 1948, 132, 579), nous avons noté, comme agglutinations positives (++) , celles qui comportaient, à la fois, un rassemblement des corps microbiens dans le fond du tube et un éclaircissement total de la solution surnageante, devenue, de ce fait, transparente, eau de roche. Ont été appelés agglutinations partielles (+) celles qui étaient caractérisées seulement, par un rassemblement d'une partie des brucelles, sans éclaircissement total du liquide resté opalescent.

d'agglutines s'éleva jusqu'au 1/5.000. Pensant que les concentrations initiales de médicament avaient été insuffisantes pour amener la stérilisation de l'organisme, nous faisons trois injections de fébyxane au 1/100 à huit jours d'intervalle, du 1^{er} au 31 octobre. Le 13 novembre, l'agglutination n'est plus positive qu'au 1/20.

Pour frapper fort et essayer d'en terminer, la décision d'injecter 2 cc de dilution au 1/50, tous les quatre jours, est alors prise. Le 15 janvier 1959, l'animal est toujours vivant, a augmenté de poids et ne présente plus ni allergie brucelique, ni agglutinine, même au 1/5.

— *cobaye n° 4* : injection de fébyxane les 14 et 21 mai (2 cc de solution par voie sous-cutanée). Réaction positive à la mélitine le 21, séro-agglutination le 30 juin, positive au 1/40. L'animal meurt le 3 juillet ; l'autopsie ne put être pratiquée ;

— *cobaye n° 5* : séro-agglutination positive au 1/80 le 14 mai. Le sujet reçoit, du 14 mai au 14 juin, 2 cc de fébyxane au 1/500 par voie sous-cutanée. Le 21 juin, réaction à la mélitine négative. Le 28 juin, séro-agglutination positive au 1/160, partielle au 1/320.

Cet animal est particulièrement intéressant à suivre. En effet, on pourrait supposer que le fébyxane aurait fait disparaître, d'abord, l'allergie. En revanche, le taux d'anticorps continue à monter, ce qui ne veut pas forcément dire que l'infection se soit poursuivie, la formation d'anticorps pouvant être le témoin de la réaction continue de l'organisme contre l'introduction de l'antigène. En fait, il n'en est rien ; comme l'animal n° 3, et pour les mêmes raisons, l'arrêt d'un traitement insuffisant aboutit à une nouvelle formation importante d'anticorps : la séro-agglutination, fin septembre, était positive jusqu'au 1/5.000.

Une nouvelle période de traitement fut instituée à raison d'une injection de 2 cc de la solution au 1/100 tous les quatre jours, soit huit fois pendant la période du 2 au 30 octobre. L'agglutination n'était plus positive qu'au 1/20 et partiellement positive (+) au 1/80 le 13 novembre. Malheureusement, une malencontreuse épidémie de pasteurellose entraîna la mort de ce sujet le 25 novembre 1958.

— *cobaye n° 6* : le 14 mai, séro-agglutination positive au 1/160 ; injection sous-cutanée de fébyxane au 1/500 du 14 mai

au 14 juin. Le 21 juin, réaction à la mélitine très faible. Le 30 juin, séro-agglutination positive au 1/40, partielle (+) au 1/160.

En fin septembre, les anticorps se sont accrus et atteignent le taux du 1/2.500. Huit injections de la dilution au 1/100 sont faites, huit fois, en octobre, tous les 4 jours. La sérologie ne montre plus qu'une positivité au 1/10 et une positivité partielle au 1/20. L'animal mourut le 3 décembre : on isola de son cadavre une *Pasteurella*.

— les cobayes n^{os} 7 et 8, à réaction positive à la mélitine le 21 juin et à taux d'anticorps relativement faible (réaction positive au 1/40 et partielle jusqu'au 1/64) ont servi de témoins et n'ont pas été traités. Le taux d'agglutinine atteint pour chacun d'eux le 1/5.000 fin septembre ; mais baissa spontanément au cours du mois d'octobre, sans que l'on ne fit rien. Cependant la mort survint à cette époque et l'on retrouva dans l'organisme des *Brucella*.

3. Deuxième expérience microbiologique in vivo.

Le 30 mai 1958, neuf autres cobayes neufs furent inoculés avec une nouvelle suspension de *Brucella abortus bovis*, à raison de 72.000.000 de germes dans un denri cm³. Six cobayes succombèrent rapidement. Trois animaux, seulement, purent être traités.

— *cobaye n° 7* : allergie positive et agglutination positive au 1/100 dès le 14 mai. Deux injections sous-cutanées de fébyxane au 1/500 sont pratiquées à huit jours d'intervalle, pendant le mois de juillet. Le taux d'anticorps reste inchangé en août, mais augmente ensuite pour atteindre, le 27 septembre, le 1/2.500. Cinq injections sous-cutanées, pratiquées en octobre, à huit jours d'intervalle environ, de la dilution de fébyxane au 1/100 firent tomber l'agglutination au 1/20. Puis en novembre et décembre, quinze injections, une tous les quatre jours, de 2 cc au 1/50, aboutirent à faire disparaître totalement et l'allergie et les anticorps lors du contrôle de janvier 1959 ;

— *cobaye n^{os} 8 et 9* : l'évolution de la brucellose chez ces animaux est tout à fait parallèle à la précédente. On y constate, encore, un effet insignifiant des solutions trop diluées de fébyxane (1/500), suivi d'une montée considérable des agglutinines. L'emploi de solutions cinq fois plus concen-

trées (1/100), fut suivi d'une baisse des agglutinines qui disparurent, ainsi que l'allergie, après l'utilisation de solutions au 1/50.

*
**

A titre de contrôle, les quatre cobayes apparemment guéris (n° 3 du premier essai — numéros 7, 8 et 9 du deuxième essai) furent examinés, sans qu'ils aient subi de nouveau traitement — les 2 et 3 mars 1959. Aucun ne manifesta la moindre sensibilité allergique ; aucun n'avait, non plus, de traces d'agglutinines dans son sérum sanguin.

*
**

De nouveaux essais doivent être poursuivis, d'autant plus que la mortalité observée chez les témoins non traités, ainsi qu'une pasteurellose intercurrente dans notre élevage, vite jugulée, d'ailleurs, ne nous permet pas de dire ce qu'il serait advenu de l'évolution spontanée des agglutinines chez les cobayes non traités, inoculés avec une souche peu virulente de *Brucella* qui n'eut pas entraîné la mort rapidement. Si de nouvelles tentatives, qu'il faudrait réaliser aussi, maintenant, sur les bovins, montraient l'efficacité réelle du fébyxane en matière d'infection par le bacille de Bang, il serait souhaitable que le principe actif exact soit isolé du mélange proposé et seul utilisé, de façon à fournir ce dernier à la concentration optima.

Il nous apparaît, enfin, qu'en l'état d'infection du cheptel bovin français par la brucellose (jusqu'en 65 % des étables en certaines régions), il reste assez illusoire et, en tout cas, extrêmement onéreux, de penser pouvoir recourir aux seules méthodes de police sanitaire pour lutter contre la maladie. La découverte d'un médicament de valeur (jusqu'à présent, les antibiotiques se sont avérés dénués d'intérêt pour nos animaux), permettrait de guérir un nombre très important de malades et d'infectés latents. Quand le taux de morbidité aurait été, ainsi, considérablement réduit, alors, mais alors seulement, les méthodes les plus draconiennes de la police sanitaire (abatage compris, s'il le fallait), pourraient être mises en œuvre, pour étouffer définitivement et vite, la dernière étincelle qui couvrirait sous la cendre. Mais, nous som-

mes loin d'en être là pour l'instant. Nous maintenons, simplement, le principe de la nécessité d'études approfondies en cette matière : il doit sûrement exister un ou plusieurs corps capables de détruire *in vivo* les *Brucella*, même prétendues abritées dans des zones profondes et peu irriguées, au même titre que l'on a bien su atteindre et faire disparaître chez l'homme, grâce à divers agents chimiothérapeutiques et surtout à la pénicilline G, le *Treponoma pallidum*, qui est au moins aussi résistant et caché profondément dans l'organisme que les *Brucella*.

(Laboratoire de Microbiologie de la Faculté des Sciences de Caen.)