

Valeur schistosomicide d'un nouveau dérivé aminonitrothiazole le Ciba 32.644-Ba ou ANT

(Essais faits sur des petits ruminants atteints de schistosomiase intestinale)

par Simon GRETILLAT

RÉSUMÉ

Des essais thérapeutiques et toxiques faits avec un nouveau dérivé aminonitrothiazole, le 32.644/Ba CIBA ou ANT, sur ovins et caprins infestés naturellement de schistosomiase intestinale démontrent l'excellente action anti-bilharzienne de ce produit

Un traitement étalé sur 5 jours à raison de 25 mg/kilo/jour permet d'obtenir une guérison clinique, alors que 10 mg/kilo/jour pendant 10 jours consécutifs suffisent pour aboutir aux mêmes résultats.

Une cure de 5 jours à raison de 35 mg/kilo/j ne permet pas d'obtenir une guérison parasitologique (destruction de tous les parasites avec leurs pontes) alors qu'une cure de 10 jours à raison seulement de 25 mg/kilo/j débarrasse l'animal de tous ses schistosomes, fait disparaître toutes les pontes, et permet chez les sujets moyennement parasités, la régression des lésions hépatiques (sclérose).

Au point de vue toxicité, les doses curatives de 25 mg/kilo/j.10 j. (soit une dose globale de 250 mg/kilo) ne provoquent aucun trouble digne d'être signalé. 75 mg/kilo/j /5 j. et 50 mg/kilo/j.5 j. amènent une diminution voire une inhibition passagère de la spermatogénèse dans les 10 jours suivant le traitement avec retour à la normale un mois après environ.

Le produit Ciba 32.644/Ba ou ANT est un nouveau dérivé aminonitrothiazole, 1-(5 nitro-2 thiazoly) imidazolidinone (2), synthétisé par WILHELM & SCHMIDT dans les Laboratoires de la Société Anonyme Ciba de Bâle.

Testé *in vitro* sur *Sch. mansoni* à la dilution de 10^{-6} , il inhibe momentanément la ponte ovulaire et à 10^{-5} , l'arrête complètement et tue les femelles et les mâles en 100 h de contact (LAMBERT, 1964).

In vivo, d'après STRIEBEL (1964), il pénètre d'abord au niveau de l'ovaire et des glandes vitellogènes de l'adulte, mais semble sans effet sur les schistosomules de 1 à 2 semaines d'âge (premiers stades chez l'hôte définitif).

Chez le mâle adulte, la région testiculaire semble être la première atteinte.

La souris infestée par 100 furcocercaires de

Sch. mansoni est guérie parasitologiquement si on la soumet à un traitement de longue durée (3 mois) à la dose journalière de 25 mg/kg. Par contre, une cure de 15 jours avec des doses identiques est suivie de récurrence 3 à 4 semaines après la fin du traitement (réapparition des œufs de parasites dans les fèces) (LAMBERT, 1964).

Au point de vue toxicité chez le singe vierge d'infestation, 50 mg/kg/jour *per os* pendant 10 jours ne provoquent aucun trouble clinique décelable. 100 mg/kg/jour pendant 10 jours font apparaître de l'inappétence de l'adynamie et une perte de poids sensible.

Chez les sujets sacrifiés quelques jours après la fin du traitement, on note une légère diminution de la spermatogénèse, et de petites lésions dégénératives des tubuli rénaux, mais sur ceux

sacrifiés un mois après, on constate une nette réversibilité de ces atteintes tissulaires qui ne sont que passagères (HESS, 1964).

Ces premiers résultats étant très encourageants, des essais de traitement ont été réalisés sur des petits ruminants infestés naturellement de schistosomiase intestinale.

Nous donnons ci-dessous le compte rendu de ce travail.

MATÉRIEL D'EXPÉRIENCE

50 chèvres et moutons furent achetés en région de Kaédi, Mauritanie, fin janvier 1964.

Parmi ces animaux, 42 étaient infestés de bilharziose et 8 étaient indemnes, soit un décompte de :

- moutons positifs : 27,
- mouton négatif : 1,
- chèvres positives : 15,
- chèvres négatives : 7.

Le diagnostic d'infestation est établi sur les lieux d'achat au moyen de la technique de biopsie rectale (prélèvement d'un fragment de muqueuse et de mucus rectaux à environ 8 à 10 cm en avant de l'anus).

Le fragment est examiné après écrasement entre lame et lamelle sans éclaircissement. Par mesure de précaution et pour confirmer les résultats obtenus, 2 à 3 prélèvements sont faits sur chaque animal.

Cette technique mise au point et contrôlée aux abattoirs de Dakar, montre que la présence d'œufs au niveau de la muqueuse rectale coïncide toujours avec celle d'œufs dans les muqueuses de l'intestin grêle, du colon et du cæcum.

Un très grand nombre d'œufs de bilharzies trouvé à l'examen d'une biopsie rectale permet donc de poser le diagnostic d'infestation plus ou moins massive au niveau du grand mésentère et du mésentère colique.

PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

Répartition des animaux par lots. Deux groupes sont constitués : l'un renfermant des animaux parasités, l'autre des sujets vierges d'infestation. Les tests d'efficacité seront réalisés sur le premier groupe, et les tests de toxicité sur le second.

a) *Tests d'efficacité* : 7 lots soit 21 animaux, sont soumis à un traitement étalé sur 5 jours.

6 lots soit 17 animaux, sont soumis à un traitement étalé sur 10 jours.

Pour chaque lot, les doses suivantes sont administrées :

	marque des animaux		
	ovins	caprins	
Lot n° 1 (5 mg/kg/5 j)	878	876	364
Lot n° 2 (10 mg/kg/10 j) . . .	770	877	762
Lot n° 3 (5 mg/kg/10 j)	873	977	
Lot n° 4 (10 mg/kg/10 j) . . .	881	871	365
Lot n° 5 (15 mg/kg/5 j)	879	875	767
Lot n° 6 (20 mg/kg/5 j)	874	882	363
Lot n° 7 (15 mg/kg/10 j) . . .	991	993	761
Lot n° 8 (20 mg/kg/10 j) . . .	859	996	769
Lot n° 9 (25 mg/kg/5 j)	994	999	361
Lot n° 10 (30 mg/kg/5 j) . . .	858	367	768
Lot n° 11 (35 mg/kg/5 j) . . .	995	998	366
Lot n° 12 (25 mg/kg/10 j) . .	992	872	755
Lot n° 13 (30 mg/kg/10 j) . .	751	1000	763
	13	13	12

38 moutons et chèvres

b) *Tests de toxicité.* 7 lots totalisant 12 animaux sont traités à raison de 20 à 75 mg/kg/pendant 5 j ou pendant 10 j.

	marque des animaux		
Lot n° 14 (75 mg/kg/5 j)	875		
Lot n° 15 (50 mg/kg/5 j)	370 (*)		
Lot n° 16 (50 mg/kg/10 j)	754	166	
Lot n° 17 (40 mg/kg/5 j)	175	753	
Lot n° 18 (40 mg/kg/10 j)	369	855	
Lot n° 19 (25 mg/kg/10 j)	752	856	
Lot n° 20 (20 mg/kg/10 j)	852	854	

PRODUIT ET CONDITIONNEMENT

Le 32.644/Ba ou ANT utilisé pour cette expérimentation se présente sous la forme d'une poudre jaune ocre, insoluble dans l'eau.

Pour faciliter son administration *per os* et permettre un dosage exact des quantités de produit à donner à chaque animal, cette poudre est répartie dans des gélules.

* Le n° 370 est un bélier, tous les autres animaux sont des boucs.

ADMINISTRATION DU PRODUIT

Faite tous les matins entre 10 et 11 h, les animaux ne sont soumis à aucune diète préalable et l'abreuvoir est fait vers 4 h de l'après-midi.

TROUBLES GÉNÉRAUX OBSERVÉS CHEZ LES ANIMAUX EN EXPÉRIENCE

Pendant toute la durée des essais, les troubles intestinaux dus aux changements d'alimentation mis à part, aucun signe clinique ne mérite d'être signalé. L'appétit reste normal, sauf cependant chez 2 chèvres présentant depuis leur départ de Kaédi des troubles de la rumination, et sur un bouc soumis à une dose de 75 mg/kg par jour pendant 5 j, où l'on notera un peu d'inappétence quelques jours après la fin du traitement.

AUTOPSIES DE CONTROLE

Pour vérifier les résultats obtenus tant pour les tests d'efficacité que pour les tests de toxicité, les animaux de chaque lot sont autopsiés à raison d'un animal quelques jours après la fin de la période de vermifugation, un autre 15 j après, le dernier 30 à 45 j environ après la fin du traitement. Cette méthode de contrôle permet de se rendre compte des effets du produit sur les parasites adultes, éventuellement sur les œufs de schistosomes, et sur l'évolution des lésions provoquées soit par la bilharziose, soit par le produit lui-même.

Les tableaux n° 1, 2, 3, 4 et 5 donnent les résultats obtenus à la suite de ces autopsies de contrôle.

Technique d'autopsie de contrôle. L'animal une fois sacrifié, l'état du cadavre est examiné ainsi que l'aspect général de la cage thoracique et de la cavité abdominale. Examen de la plèvre, des poumons et du cœur ; examen du foie, de la rate, des reins, des surrénales, de la vessie, de l'intestin. Recherche des schistosomes adultes ayant éventuellement résisté au produit et encore présents dans les veines du grand mésentère, du mésentère colique et des mésentères coecal et rectal.

Prélèvements de raclats de muqueuse intestinale au niveau de l'intestin grêle, du colon, du coecum pour recherche éventuelle des pontes de schistosomes.

Prélèvements d'organes pour histologie et anatomo-pathologie, tels que foie, intestin grêle, rectum, testicule, ovaire, poumon, pour rechercher les lésions provoquées soit par les bilharzies, soit par le produit lui-même.

Les contrôles biologiques suivants ont été faits pour voir dans quelle mesure le produit est capable de supprimer ou de diminuer le pouvoir infectant du miracidium vis-à-vis du mollusque, hôte intermédiaire :

— Evaluation du pouvoir d'éclosion des œufs d'après le nombre de miracidia éclos au bout de 2 h, contrôle de la mobilité du miracidium, puis mise en contact avec des *Bulinus neufs* (*Bulinus truncatus*) pour essais d'infestation expérimentale (voir tableaux III et IV).

— 10 à 15 jours après, dissection des mollusques pour évaluer leur taux d'infestation par les formes larvaires.

Les tests d'éclosion sont faits à partir de raclats de muqueuse intestinale prélevés sur toute la longueur de la paroi rectale et éventuellement sur 5 à 6 m de paroi d'intestin grêle. Le taux d'éclosion est évalué par comparaison avec les résultats obtenus à l'examen microscopique direct des raclats de muqueuse où se rencontrent encore des œufs viables.

ÉVALUATION DU TAUX D'EFFICACITÉ DU PRODUIT D'APRÈS LES RÉSULTATS OBTENUS AUX AUTOPSIES DE CONTROLE

Pour évaluer l'efficacité d'un vermifuge, il est en général très malaisé de pouvoir fixer un chiffre permettant de juger de l'activité du produit. Dans le cas présent, on ne possède comme seul critère que l'absence ou la présence d'adultes mâles et femelles dans les veines mésentériques et le système porte et la destruction ou la persistance des œufs dans les parois du tractus intestinal.

Le taux compris entre 80 et 100 correspond à la guérison clinique de l'animal, le taux 100 étant la guérison parasitologique. Des recherches entièrement négatives en ce qui concerne les adultes de schistosomes et les œufs dans les raclats de muqueuse intestinale correspondent au nombre 100.

Dans les tableaux 1 et 2, une croix dans chaque colonne de recherches de schistosomes corres-

pond à 50 schistosomes mâles et femelles, une croix dans la colonne relative à l'examen des raclats de muqueuse intestinale pour recherche d'œufs correspond à 2 pontes en chaîne d'œufs vivants, présents dans une surface de paroi égale à 4 cm² environ. Au nombre 100 est retiré 2 points pour chaque groupe de 5 schistosomes du même sexe dans chaque colonne considérée.

Une croix dans la colonne des schistosomes enlève 10 points, une croix dans la colonne des raclats de muqueuse enlève 1 point.

INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS OBTENUS AU COURS DES TESTS D'EFFICACITÉ.

Les 2 courbes A (traitement étalé sur 5 j) et B (traitement étalé sur 10 j) sont établies en prenant la moyenne arithmétique des valeurs des taux d'efficacité relatifs à chacun des animaux de chaque groupe.

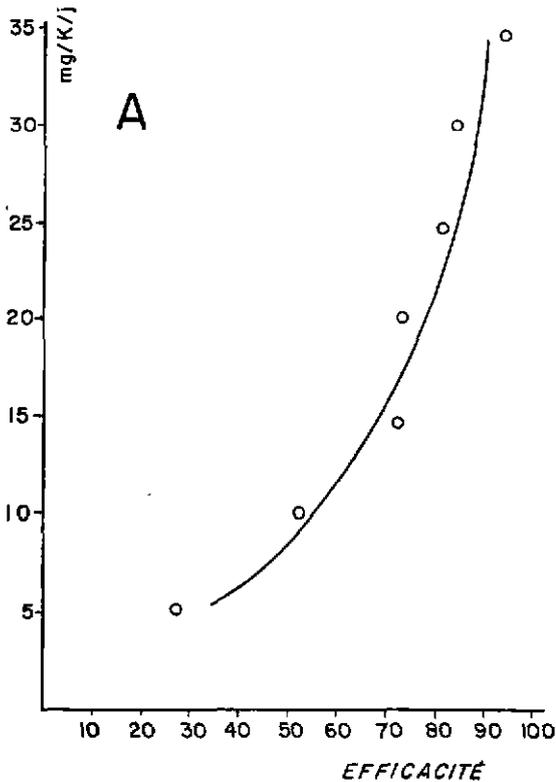
La courbe A (traitement étalé sur 5 j) montre qu'il faut atteindre 25 mg/kg pendant 5 j pour

obtenir une guérison clinique de l'animal. 35 mg/kg pendant 5 j ne débarrassent pas l'animal de tous ses parasites.

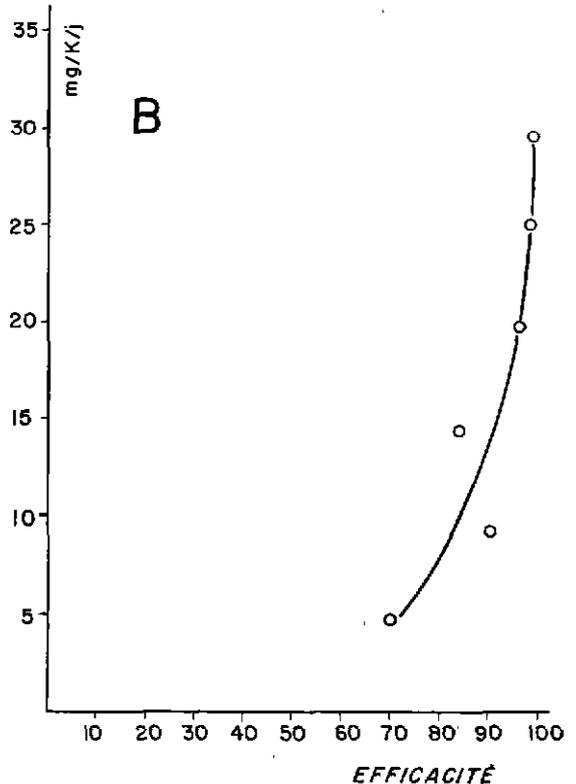
La courbe B (traitement étalé sur 10 j) montre qu'une dose de 6 à 7 mg/kg pendant 10 j permet d'obtenir une guérison clinique (taux d'efficacité 80). Avec une dose de 20 mg/kg pendant 10 j, le taux d'efficacité est de 97.

A raison de 25 à 30 mg/kg pendant 10 j, le produit détruit tous les parasites adultes et tous les œufs présents dans la muqueuse intestinale.

A ce sujet, il est intéressant de signaler que ce sont d'abord et principalement les femelles de schistosomes qui sont tuées par l'anti-bilharzien. Cette remarque a pu être faite au cours des autopsies pratiquées quelques jours après la fin du traitement et au cours desquelles il a été possible de trouver de très nombreux œufs à coque plus ou moins déformée dans les muqueuses et sous-muqueuses intestinales alors qu'aucune femelle n'était présente dans les veinules. Quelques mâles sont encore vivants dans les principaux troncs mésentériques.



Traitement pendant 5 jours



Traitement pendant 10 jours

Les œufs semblent être détruits en 5 ou 6 j dans la sous-muqueuse de l'intestin. Lors de la persistance des femelles dans les veinules mésentériques, il n'a pas été possible de mettre en évidence une baisse quelconque dans les cadences de ponte chez celles-ci. En effet, pour des doses de 15 à 25 mg/kg pendant 5 j et 5 à 15 mg/kg pendant 10 j chez des animaux autopsiés 15 j environ après la fin du traitement, l'examen des raclats de muqueuse intestinale (surtout rectale) montre que malgré l'administration du produit, il existe parmi des masses d'œufs à coque plus ou moins déformée et lysée, des chaînes d'œufs

vivants parfois nombreuses, montrant que les femelles ayant résisté à l'antibilharzien, sont capables de poursuivre normalement leur ponte. Il est possible d'infester des bulins à partir de ces œufs ; cependant un très grand nombre de miracidia est nécessaire pour réaliser cette opération.

Au sujet de la vitesse d'absorption et du pouvoir de diffusion du 32.644/Ba dans le milieu intestinal des petits ruminants, les remarques suivantes s'imposent :

1° L'examen des résultats consignés dans les 2 tableaux montre que ce sont les schistosomes

TABLEAU N° I

Traitement étalé sur cinq jours.

numéro animal	doses mg/kilo	Recherches schistosomes				Examens raclats muqueuse				Efficacité
		Int. gr.	colon	coecum	rectum	Int.gr.	colon	coecum	rectum	
M 995	35	0	0	0	I ?	0	0	0	0	98
M 998	35	0	0	0	I ?	0	0	0	0	96
C 366	35	2 ♂ I ?	0	3 ♂ I	5 ♂ 5 ?	0	0	0	++	86
C 768	30	2 ♂	0	0	2 ♂ I ?	0	0	0	0	94
C 367	30	5 ♂ 3 ?	10 ♂ 3 ?	20 ♂	0	+	+	0	0	80
M 858	30	20 ♂ 5 ?	6 ♂ 7 ?	2 ♂	5 ♂ 5 ?	0	0	0	+	75
M 994	25	5 ♂ 4 ?	0	0	15 ♂ & ?	0	0	0	++	82
C 361	25	6 ♂ I ?	4 ♂ I ?	I ♂	3 ♂ 2 ?	0	0	0	++	82
M 999	25	10 ♂ & ?	12 ♂ & ?	0	3 ♂	0	0	0	0	81
C 363	20	0	0	0	I ♂ I ?	0	0	0	+	95
M 882	20	4 ♂ & I ?	3 ?	0	7 ♂ & ?	0	0	0	+	85
M 874	20	70 ♂ & 40 ?	I ♂ I ?	2 ♂	3 ♂ I ?	0	0	0	+++	43
M 879	15	0	I ♂	0	2 ♂ i ?	0	0	0	+	93
C 767	15	12 ♂ & ?	15 ♂ & ?	0	I ♂	0	0	0	+++	73
M 875	15	I ♂ I ?	2 ♂	0	+++	0	0	0	0	64
						œufs lysés				
M 770	10	0	0	0	I ♂	0	0	0	0	98
C 762	10	+	+	+	++	0	0	0	+	49
						œufs lysés				
M 877	10	++	++	++	++	++	++	++	++	12
C 364	5	+	+	+	++	+++	+	0	+++	43
M 876	5	++	+	+	++	0	0	0	++	38
M 878	5	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	0
		mauvaise rumination								

M = ovin C = caprin

situés dans les veines rectales qui paraissent résister le mieux à l'action toxique du produit, de même que ce sont les œufs présents dans la muqueuse rectale qui persistent le plus longtemps et sont lysés beaucoup plus tardivement que ceux situés dans les muqueuses de l'intestin grêle, du côlon et du cæcum.

Un transit intestinal très lent chez les ruminants (8 à 10 j) surtout chez des animaux buvant très peu, est sans doute à l'origine des différences d'efficacité constatées en tenant compte de la position des parasites et de leurs œufs dans les différentes parties du tube intestinal (schistosomes et pontes ayant résisté au traitement).

2^o La courbe B (résultats du traitement étalé sur 10 j), présente un point aberrant (taux d'efficacité 84 pour une dose de 15 mg/kg) expliqué par le mauvais résultat obtenu chez le mouton

n° 993 (efficacité : 70). Cet animal présentait des troubles digestifs pouvant avoir provoqué cet échec partiel.

Il n'a pas été fait mention dans le tableau (Traitement étalé sur 10 j), des 2 chèvres n° 761 et 755 traitées respectivement à raison de 15 mg/kg et 25 mg/kg, et où les taux d'efficacité ont été respectivement de 60 et 50. Ces deux animaux étaient atteints de troubles de la rumination très marqués et avaient un transit intestinal perturbé.

En résumé, une administration quotidienne de 20 à 25 mg/kg pendant 10 j consécutifs semble être chez le petit ruminant la posologie curative, alors que des doses plus élevées 30 à 35 mg/kg/j, mais seulement pendant 5 j, ne suffisent pas à obtenir une guérison parasitologique.

Une dose de 20 mg/kg/j tous les 2 j pendant

TABLEAU N° II

Traitement étalé sur dix jours.

numéro animal	doses mg/kilo	recherches schistosomes				raclats muqueuse intestinale (œufs)				Efficacité
		int. gr.	colon	coecum	rectum	int.gr.	côlon	coecum	rectum	
M 751	30	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 1000	30	0	0	0	0	0	0	0	0	100
C 763	30	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 992	25	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 872	25	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 859	20	0	0	0	0	0	0	0	0	100
M 996	20	2♂	0	0	4♂	0	0	0	0 lysés	96
C 769	20	0	0	0	2♂ 2♀	0	0	0	+ lysés	95
M 991	15	0	0	0	5♂	0	0	0	0	98
M 993	15	23♂ & 1♀	18♂ & 15♀	5♂ & 2♀	2♂ & 2♀	0	++	++	++	70
M 871	10	1♂ & 4♀	2♀	0	0	+	0 lysés	0	0 lysés	93
M 881	10	1♂	0	1♂	6♂ & 3♀	0 lysés	0 lysés	0	0 lysés	90
C 365	10	2♂	1♂	0	4♂ & 2♀	0	0	0	++	90
M 997	5	0	0	0	10♂ & 10♀	0	0	0	+	91
M 873	5	+++	0	5♂ & 1♀	7♂ & 3♀	0 lysés	0 lysés	0 lysés	++++	52

M = ovine

C = caprine

10 J (dose totale 100 mg/kg) ne détruit pas tous les schistosomes (ovin 880, résultats donnés en bas du tableau IV).

Ces résultats concordent avec ceux obtenus aux cours des premiers essais faits chez l'homme, où une administration de 25 mg/kg/j en 2 prises quotidiennes pendant 7 J (LAMBERT et coll., 1964) délivre le malade de tous ses parasites.

EXAMEN ET INTERPRÉTATION DES COUPES HISTOLOGIQUES D'ORGANES CHEZ LES ANIMAUX SOUMIS AUX TESTS D'EFFICACITÉ.

— **Tube intestinal** : Intestin grêle, cæcum, rectum.

Les parois de 14 intestins grêles, 1 cæcum et 20 rectums présentant encore des œufs de schistosomes vivants dans leur muqueuse, ont été examinés sur coupes histologiques colorées à l'hémalun-éosine.

On note, principalement au niveau du rectum de petites réactions granulomateuses entourant les amas d'œufs situés dans les couches sous-muqueuse et musculuse.

Certains œufs présentent un miracidium apparemment viable alors que d'autres sont en voie de lyse plus ou moins avancée avec coque déformée.

Les œufs vivants sont en général alignés en chaîne, alors que les œufs en partie détruits sont disposés en amas irrégulièrement distribués.

S'agit-il pour les premiers de pontes récentes effectuées par des femelles ayant résisté à l'action schistosomicide du produit ? (doses trop faibles ou absorption irrégulière de l'antibilharzien au niveau de la muqueuse intestinale). Le nombre des œufs en partie détruits ainsi que leur répartition par groupes, peut faire penser à une action ovicide possible du ANT sans que l'on puisse cependant affirmer qu'il les détruit « in mucosa ». Comparativement, sur coupes ou raclats de muqueuse d'ovins et de caprins non traités, on rencontre toujours parmi les pontes, un certain pourcentage d'œufs à coque déformée et plissée avec miracidium atrophié à leur intérieur, mais sans lyse véritable et en général sans éclatement de la paroi.

STRIEBEL en 1964, a montré à l'aide du 32.644/Ba marqué au C¹⁴ que ce produit se con-

centrait au niveau de l'œuf et des cellules vitello-gènes de *Schistosoma mansoni*.

Foie.

A l'examen de 44 coupes histologiques de tissu hépatique (23 ovins et 11 caprins parasités et traités au 32.644/Ba), on trouve de nombreux îlots de sclérose plus ou moins étendus chez les sujets autopsiés quelques jours après la fin du traitement et chez ceux où la dose de 32.644/Ba n'a pas été suffisante pour détruire tous les parasites.

Ces lésions sont beaucoup plus rares et semblent en voie de régression chez les sujets autopsiés 3 semaines à 1 mois après le traitement et soumis à une dose suffisante pour les débarrasser de presque tous leurs parasites.

Le foie des animaux guéris parasitologiquement, et autopsiés environ 1 mois après le traitement est normal ou ne présente plus que quelques rares zones de fibrose en voie de régression.

La présence de blocs et amas de pigment brun dans les cellules de KUPFFER va en général de pair avec des lésions importantes de sclérose. Quand ces dernières diminuent d'importance, le pigment devient plus rare jusqu'à disparaître complètement.

Ces résultats concordent avec ceux donnés par GÖNNERT en 1955 sur souris infestées expérimentalement par *Sch. mansoni* et traitées au Miracil D. Cet auteur remarque sur les sujets guéris un changement dans la distribution du pigment qui disparaît d'autant plus tardivement que la durée d'infestation a été plus longue et la date de l'autopsie plus proche de la fin du traitement.

Au sujet de la nature chimique de ces dépôts pigmentaires, MELENEY et coll. en 1953 les appellent « Hematin-pigment » alors que Toshisatta SADAWA et coll. en 1956, les placent dans le groupe des mélanines.

Nous avons montré tout récemment (GRETIL-LAT & PICART, 1964) par colorations différentielles faites sur coupes de tissu hépatique et pulmonaire ainsi que sur sections transversales de femelles gravides de schistosomes, que ce pigment est bien de nature mélanique et qu'il est aussi présent dans la lumière des coeca des femelles mûres de schistosomes.

A titre purement indicatif, nous signalons les résultats suivants trouvés à l'autopsie du mouton

TABLEAU N°III

numéro animal	dose mg/k./50.	date fin traitement	date autopsie	tests éclosion miracidia	mobilité miracidia	pouvoir infectant miracidia	Lésions observées sur coupes histologiques					
							foie	Poumons	Reins	Ovaire	Testicules	
M 878	5	8-2-64	10-2-64	++	++	+		Hepat. Mel.+++			N.	
M 876	5	8-2-64	20-2-64	+	+	0				Mel.+++		
C 364	5	8-2-64	20-2-64	++++	++++	++						
M 770	10	8-2-64	21-2-64	0							N.	
M 877	10	8-2-64	11-2-64	0						Mel.+++		
C 762	10	8-2-64	10-3-64									
M 879	15	8-2-64	27-2-64	+	+	0					N.	
M 875	15	8-2-64	12-2-64	0								
C 767	15	8-2-64	24-2-64	+++	+++	+++				Mel.++		N.
M 874	20	8-2-64	4-3-64	0								
M 882	20	8-2-64	4-3-64									
C 363	20	8-2-64	11-2-64									
M 994	25	8-2-64	13-2-64									
M 999	25	8-2-64	19-2-64							Mel. +		
C 361	25	8-2-64	9-3-64	+	+	0						
M 858	30	8-2-64	17-2-64									
C 367	30	8-2-64	12-2-64	0								
C 768	30	8-2-64	11-3-64									
M 995	35	8-2-64	22-2-64									
M 998	35	8-2-64	13-2-64									
C 366	35	8-2-64	24-2-64									

N = ovin C = caprin Scl.=sclérose Mel.= pigment mélanique N: normal ++++: Massif +++= très important ++: important +: moyen -: en régression

TABLEAU N° IV

numéro animal	dose mg/k./10j.	date fin traitement	date autopsie	tests éclosion miracidia	mobilité miracidia	pouvoir infestant miracidia	Lésions observées sur coupes histologiques				
							Foie	Poumons	Reins	Ovaire	Testicules Spermatogénèse
M 673	5	13-2-64	14-2-64	0			Scl.+++ Mel.+++				
M 997	5	13-2-64	22-2-64	+	+	0	Scl. ++ Mel. ++		Mel.+++ - Dépôt de mélanine emplissant le bassinnet		
M 881	10	13-2-64	14-2-64	+++	+++	++	Scl. ++ Mel. +				
M 871	10	13-2-64	9-3-64	++	+	0	Scl. + Mel. +		Mel. +		
C 365	10	13-2-64	11-2-64				Scl.-		N.		
M 991	15	13-2-64	17-2-64				Mel. ++ Scl.+++		Mel. +		
M 993	15	13-2-64	21-2-64				Scl.- Mel. +	Mel. +			
M 859	20	13-2-64	10-3-64				N.		N.		
M 996	20	13-2-64	17-2-64				Scl.-		N.		
C 769	20	13-2-64	24-2-64	0			Scl.-		N.	N.	
M 992	25	13-2-64	22-2-64						Cong.ren		nulle
M 872	25	13-2-64	9-2-64				N.		N.		
M 751	30	13-2-64	9-3-64				Scl.-		N.		
M1000	30	13-2-64	18-2-64				Scl.-		N.		
C 763	30	13-2-64	27-2-64				Scl.-		N.		N.
C 761	15	13-2-64	10-3-64	+	+	0	Scl.+ Mel. ++		Mel. +		
C 755	25	13-2-64	18-2-64	+	+	0	Scl.+++ Mel.+++				
M 880	20 mg/k. ts les 2 j. pd. 10 j.	18-3-64	21-3-64	++	+	0	Scl. ++	Mel.++	Mel. +	N.	

M = ovin C = caprin Scl.=sclérose Mel.=pigment mélanique N.: normal ++++= massif +++: très important ++: important +: faible - : en régression.

n° 997 traité à raison de 5 mg/kg pendant 10 j : dépôts massifs de pigment mélanique (détermination par tests différentiels) au niveau du bassinet rénal (autopsie pratiquée 9 j après la fin du traitement). Serait-on en présence d'un cas d'élimination massive de pigment bilharzien chez un sujet guéri ? Nous ne pouvons l'affirmer.

Poumons.

Macroscopiquement, les poumons des animaux autopsiés quelques jours après la fin du traitement et soumis à des doses sub-curatives, ont une coloration brune (piqueté noirâtre) qui va jusqu'au noir franc chez les ovins et caprins encore très parasités.

Sur coupes histologiques (5 moutons et 5 chèvres), il est facile de mettre en évidence, la présence de dépôts de pigment mélanique au niveau des capillaires péri-alvéolaires dans les histiocytes du S.R.E. pulmonaire (GRETILLAT et PICART, 1964). Ce sont eux qui donnent aux lobes pulmonaires, cette coloration plus ou moins foncée.

Chez les animaux guéris parasitologiquement ce pigment disparaît complètement au bout de 3 semaines à 1 mois, alors qu'il persiste en partie chez les sujets où un certain nombre de femelles a résisté à une dose trop faible d'antibilharzien.

Tout se passe comme si l'organisme était capable d'éliminer ce pigment mélanique dès que les femelles de bilharzies sont supprimées.

Sur le mouton n° 997 cité précédemment (élimination massive de pigment au niveau du bassinet rénal), les poumons ont un aspect marbré noir et rose avec des plages pigmentées à contours plus ou moins précis.

Rein.

Parmi 30 reins examinés (21 ovins et 9 caprins) sur coupes histologiques, 15 ne présentent aucune lésion, 1, une légère congestion de la médullaire, 2, une néphrite interstitielle subaiguë au niveau des tubuli, et 11, quelques mottes et dépôts de pigment mélanique autour des tubules rénaux.

Les 15 reins normaux correspondent à des animaux complètement ou presque totalement guéris, autopsiés en général au moins 2 semaines après la fin du traitement et sur lesquels les îlots de sclérose hépatique sont en nette régression.

Les 2 reins avec néphrite interstitielle subaiguë appartiennent à 2 moutons en mauvais état

général sacrifiés peu de temps après avoir été traités. Même remarque pour le rein présentant un peu de congestion sans que l'on puisse incriminer l'action toxique du 32.644/Ba.

Sur les 11 coupes de reins renfermant des blocs de pigment, la plupart d'entre elles correspondent à des sujets mal déparasités ou autopsiés dans les quelques jours suivant la fin du traitement. Le foie de ces ruminants est lui aussi très fortement chargé en pigment bilharzien.

Ovaire.

Rien d'anormal à signaler sur les 6 ovaires examinés (4 ovins et 2 caprins).

Testicules.

Examen de 5 coupes de testicules (3 béliers et 2 boucs). Spermatogenèse normale sauf pour un bélier traité à 25 mg/kg/10 j, autopsié 9 j après le traitement et dont les tubes séminifères semblent au repos.

En résumé, les lésions de sclérose hépatique propres à la schistosomiase ovine, régressent puis disparaissent à peu près complètement chez les animaux débarrassés de leurs parasites par le 32.644/Ba en même temps que se raréfie le pigment bilharzien présent dans les cellules de KUPFFER, les histiocytes des capillaires péri-alvéolaires du poumon et autour des tubuli urinaires.

INTERPRÉTATION GÉNÉRALE DES RÉSULTATS OBTENUS AU COURS DES TESTS DE TOXICITÉ.

Ces tests ont été faits sur 11 caprins et 1 ovin mâles, vierges d'infestation bilharzienne.

Cette expérimentation avait pour but principal de voir dans quelle mesure le CIBA 32.644/Ba utilisé à des doses supérieures et égales à la dose reconnue curative, pouvait provoquer l'apparition de troubles généraux et éventuellement une diminution ou une annulation de la spermatogenèse.

Le ANT est administré *per os* à raison de 20 à 75 mg/kg/j pendant 5 ou 10 j (voir tableau n° V).

Les animaux en expérience ont un état général satisfaisant. Ils sont surveillés journallement pendant toute la durée de l'expérimentation et pesés régulièrement jusqu'au jour où ils sont sacrifiés pour examen et prélèvement de certains

TABLEAU N° V
Tests de Toxicité

numéro animal	dose mg/k.	durée de l'administration en jours	date fin traitement	date autopsie	poids initial en k.	poids 10 j. après en k.	poids au jour de l'autopsie en k.	comportement de l'animal	Lésions			
									Testicules Spermato-génèse	Epididyme Spermato-zoïde	Foie	Rein
C 857	75	5	8-2-64	19-2-64	23	23,300	22,900	diminution légère appétit 8 jours après administration Puis appétit redevient normal.	diminution légère	rare	hépatite inst. subaiguë	N.
M. 370	50	5	8-2-64	23-3-64	23,700	22	23	appétit capricieux les 8 premiers jours.	N.		N.	N.
C 754	50	10	13-2-64	18-2-64	17,250	17,900	17,350	N.	N.		N.	N.
C 166	50	10	13-2-64	3-3-64	11,550	10,700	11	N.	N.		N.	N.
C 175	40	5	8-2-64	18-2-64	16,700	16,550	16,450	N.	inégaie d'un tube		N.	N.
C 753	40	5	8-2-64	3-3-64	15,900	15,700	15,800	N.	N.		N.	N.
C 369	40	10	13-2-64	24-2-64	22	24,400	23,200	N.	inégaie & faible		N.	N.
C 855	40	10	13-2-64	9-3-64	19	20	18,800	N.	N.		N.	N.
C 752	25	10	13-2-64	24-2-64	21,850	22,100	20,400	N.	inégaie & faible	absence		N.
C 856	25	10	13-2-64	23-3-64	21,500	21,200	20,200	amaigrissement tardif au bout d'un mois	N.		N.	
C 852	20	10	13-2-64	24-2-64	17,900	18,500	17,900	N.	N.		N.	N.
C 854	20	10	13-2-64	21-3-64	26,100	26,400	25,100	Léger amaigrissement en fin d'expérimentation	N.			N.

viscères à examiner sur coupes histologiques (foie, rein, testicule).

Troubles généraux observés.

Au point de vue poids, le tableau n° V montre que dans les premiers 10 j, il n'est pas possible de mettre en évidence une chute sensible, même chez les sujets soumis à des doses de 40,50 et 75 mg/kg/j.

Les 2 boucs n° 856 et 854 autopsiés 31 et 37 j après la fin du traitement, présentent un amaigrissement tardif non imputable à l'action du produit mais plutôt dû à une stabulation prolongée toujours néfaste à des animaux habitués à vivre en liberté.

Le bouc 857 et le bélier 370 traités à raison de 75 mg/kg/j et 50 mg/kg/j pendant 5 j (3 et 2 fois la dose curative) ont un appétit capricieux pendant les 8 premiers jours, avec refus d'abreuvoir, puis tout redevient normal, sans que l'on remarque de dérèglement intestinal.

EXAMENS DES COUPES HISTOLOGIQUES D'ORGANES PRÉLEVÉS AUX AUTOPSIES DE CONTROLE CHEZ LES ANIMAUX SOUMIS AUX TESTS DE TOXICITÉ.

Foie.

Aucune remarque ne s'impose, sauf chez le bouc n° 857 (75 mg/kg/j/5 j) où on note une légère hépatite interstitielle subaiguë. L'autopsie ayant été faite 11 jours après le traitement, il s'agit peut-être d'une action toxique du produit.

Rein.

L'examen des coupes histologiques ne révèle rien de particulier, même chez les sujets sacrifiés 5 à 10 j après la fin de la période d'administration du produit.

Contrairement à ce qui a été observé chez le singe et la souris (LAMBERT, 1964) le 32.644/Ba ne semble pas provoquer de lésions au niveau des tubuli rénaux chez le petit ruminant, du moins à des doses de 75 mg/kg/j/5 j et 50 mg/kg/j/10 j.

Testicules.

Les résultats obtenus sur petits ruminants semblent concorder avec ceux signalés chez la souris et chez le singe (LAMBERT, HESS et SINARI, 1964).

Diminution, voire inhibition passagère de la spermatogenèse au cours de la première quinzaine suivant la fin du traitement, puis retour progressif à la normale au bout de 30 à 40 j.

Seuls en effet, les sujets n° 857, 175, 369 et 752, autopsiés 11 j, 10 j et 11 j après la fin de l'administration du 32.644/Ba ont une diminution plus ou moins importante de leur spermatogenèse avec absence de spermatozoïdes dans certains tubes séminifères alors que chez les autres animaux sacrifiés plus tardivement, le testicule a un aspect normal.

Le 32.644/Ba par son action inhibitrice passagère et réversible sur la spermatogenèse, se comporte à la manière de tous les nitrofuranes (LAMBERT, 1964).

En résumé, les résultats obtenus au cours de ces tests de toxicité montrent que les doses de 50 mg/kg/j administrées pendant 10 j consécutifs (2 fois la dose curative), n'amènent aucun trouble toxique décelable chez le petit ruminant et que l'inhibition ou la diminution de la spermatogenèse avec atteinte de l'épithélium germinatif, observée au cours de la première décade suivant le traitement n'est que passagère, les lésions étant réversibles.

Au cours de cette expérimentation, il n'a malheureusement pas été possible de tenir compte du facteur représenté par les périodes d'activité sexuelle de chacun des animaux.

Il faut atteindre 75 mg/kg/j/5 j pour enregistrer chez l'animal une légère inappétence qui d'ailleurs ne dure que quelques jours, l'appétit et le comportement du sujet redevenant normaux dans la semaine qui suit l'administration de 32.644/Ba.

RÉSUMÉ ET CONCLUSION

Des essais thérapeutiques et toxiques faits avec un nouveau dérivé aminonitrothiazole, le 32.644/Ba/CIBA ou ANT, sur ovins et caprins infestés naturellement de schistosomiase intestinale démontrent l'excellente action antibilharzienne de ce produit.

Un traitement étalé sur 5 jours à raison de 25 mg/kg/j permet d'obtenir une guérison clinique, alors que 10 mg/kg/j pendant 10 j consécutifs suffisent pour aboutir aux mêmes résultats.

Une cure de 5 j à raison de 35 mg/kg/j ne per-

met pas d'obtenir une guérison parasitologique (destruction de tous les parasites avec leurs pontes) alors qu'une cure de 10 j à raison seulement de 25 mg/kg/j débarrasse l'animal de tous ses schistosomes, fait disparaître toutes les pontes, et permet chez les sujets moyennement parasités, la régression des lésions hépatiques (sclérose).

Au point de vue toxicité, les doses curatives de 25 mg/kg/j/10 j (soit une dose globale de 250 mg/kg) ne provoquent aucun trouble digne d'être signalé. 75 mg/kg/j/5 j et 50 mg/kg/j/5 j amènent une diminution voire une inhibition passagère de la spermatogenèse dans les 10 j suivant le traitement avec retour à la normale 1 mois après environ.

*Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire
des Pays tropicaux.
Laboratoire national de l'Elevage et de
Recherches vétérinaires, Dakar (Sénégal).*

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre reconnaissance au Docteur PAGOT, Directeur général de l'Institut d'Elevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux à Maisons-Alfort, et au Docteur ORUE

Directeur du Laboratoire national de l'Elevage et de Recherches vétérinaires de Dakar, pour nous avoir facilité l'accomplissement de ce travail.

Nous remercions Monsieur le Professeur TISSEUR de l'Ecole nationale Vétérinaire d'Alfort, et Monsieur le Docteur HESS, CIBA, Bâle, d'avoir examiné et interprété les préparations histologiques que nous leur avons confiées pour étude.

Grâce aux documents techniques fournis par les Docteurs LAMBERT et STRIEBEL, CIBA, Bâle, nous avons pu rédiger cette note, et interpréter certains résultats en les comparant avec ceux obtenus à Bâle sur animaux de laboratoire. Nous les remercions de cette collaboration.

Nous devons signaler que c'est par l'intermédiaire de Monsieur le Professeur LARIVIERE de la Faculté de Médecine de Dakar et de Monsieur LAVARINO, CIBA, Abidjan que nous avons été pressentis par la Société CIBA de Bâle, pour effectuer ces essais thérapeutiques sur ruminant domestique. Nous les en remercions.

Nous remercions également le Docteur ALLOUI, vétérinaire chef du Secteur d'Elevage de Kaédi (Mauritanie) pour l'aide qu'il nous a fournie lors de l'achat des animaux ayant servi à cette expérimentation.

SUMMARY

**The schistosomicide value of a new aminonitrothiazole derivative
the CIBA 32.644/Ba or ANT
(Tests carried out on small ruminants affected by intestinal
schistosomiasis)**

Therapeutic and toxicity tests carried out with a new aminonitrothiazole derivative, 32.644/Ba CIBA or ANT, on sheep and goats naturally infested with intestinal schistosomiasis demonstrate the excellent antibilharzial action of this product

A treatment spread out over 5 days at the rate of 25 mg/kilo/day makes it possible to obtain clinical cure, whereas 10 mg/kilo/day during 10 consecutive days suffice to produce the same results.

A 5 days cure of 35 mg/kilo/day does not enable one to obtain a parasitological cure (destruction of all the parasites together with their eggs) whereas a 10 days cure of only 25 mg/kilo/day frees the animal of all of its schistosomes, causes all the eggs to disappear, and enables the regression of the hepatic lesions (sclerosis) in animals that are moderately infested by the parasite.

From the point of view of toxicity, the curative doses of 25 mg/kilo/day/10 days (i. e. a total dose of 250 mg/kilo) do not cause any after effects worth mentioning, 75 mg/kilo/day/5 days and 50 mg/kilo/day/5 days cause a decrease or even a temporary inhibition of spermatogenesis in the 10 days following the treatment with return to the normal one month afterwards.

RESUMEN

Valor esquistosomicida de un nuevo derivado aminonitrotiazolo el CIBA 32.644/Ba o ANT (Ensayos hechos en pequeños ruminantes atacados por la esquistosomiasis intestinal)

Ensayos terapéuticos y tóxicos hechos con un nuevo derivado aminonitrotiazolo, el 32.644/Ba CIBA o ANT, en ovinos y caprinos infectados naturalmente por la esquistosomiasis intestinal demuestran la excelente acción antibilaziana de este producto.

Un tratamiento durante 5 días con 25 mg/kg/día permite obtener una curación clínica, mientras que 10 mg/kg/día durante 10 días consecutivos son suficientes para tener mismos resultados.

Una cura de 5 días con 35 mg/kg/día no permite obtener una curación parasitológica (destrucción de todos los parásitos con sus huevos) mientras que una cura de 10 días con sólo 25 mg/kg/día desembaraça el animal de todos sus esquistosomas, hace desaparecer todos los huevos, y permite en los animales medianamente parasitados la regresión de las lesiones hepáticas (esclerosis).

En cuanto a la toxicidad, las dosis curativas de 25 mg/kg/día/10 días (es decir una dosis global de 250 mg/kg) provocan ningún desorden importante para ser notado 75 mg/kg/día/5 días y 50 mg/kg/día/5 días provocan una disminución y también una inhibición pasajera de la espermatogénesis durante los 10 días luego del tratamiento con regreso al comportamiento normal después de un mes.

BIBLIOGRAPHIE

- GÖNNERT (R.). — Schistosomiasis-Studien-3- Ueber die Einwirkungen; von Miracil D auf *Schistosoma mansoni* im Mäuseversuch und die Verteilung des Pigmentes in der Wirtsleber. *Z. Tropenmed. Parasit.*, 1955, 6, 257-279.
- GRETILLAT (S.) et PICART (P.). — Premières observations sur les lésions provoquées chez les Ruminants infestés massivement par *Schistosoma curassoni*. *Premier Congrès Int. Parasit.*, septembre 1964, Rome.
- LAMBERT (C. L.). — Activité et tolérance du Ciba 32.644 dans la schistosomiase expérimentale de la souris et dans la bilharziose vésicale humaine. *Premier Congrès Inter. Parasit.*, septembre 1964, Rome.
- LAMBERT (C.) et FERREIRA (D. A.), CRUZ (F. S.). — Résultats du premier essai thérapeutique de la bilharziose vésicale par le Ciba 32.644-Ba (à paraître) *Bul. O. M. S.*, 1964.
- LAMBERT (C.), HESS (R.) et SINARI (V. S. P.). — Action du CIBA 32.644-Ba sur la spermatogénèse (à paraître), 1964.
- LAMBERT (C.) et STAUFFER (P.). — Chemotherapy of experimental *Schistosoma mansoni* infections with a nitro-thiazole derivative, Ciba 32.644-Ba (à paraître) *An. Trop. Med. Parasitol.*, 1964.
- LAMBERT (C.), WILHELM (M.), STRIEBEL (H.), KRADOLFER (F.) et SCHMIDT (P.). — Eine neue gegen Bilharziose und Amoebiose wirksame Verbindung. *Experientia*, 1964, 20, 452.
- STRIEBEL (H.). — Mode d'action du Ciba 32.644-Ba sur *S. mansoni*. *Premier Congrès Inter. Parasit.*, septembre 1964, Rome.
- WILHELM (M.) et SCHMIDT (P.). — Synthèse du Ciba 32.644-Ba (à paraître), 1964.
- Notes d'orientation du Ciba 32.644-Ba. Ciba, Bâle, 1964.
- Addenda aux notes d'orientation. Ciba, Bâle, 1964.