

L'INFECTION EXPERIMENTALE DU RAT PAR LE  
BACILLE DE STEPHANSKI OBSERVÉE  
EN BELGIQUE

PAR W. GAVRILOV, A. DUBOIS

ET MME. FESTER

*Institut de Médecine Tropicale, Prince Leopold Institut d'Hygiène  
Anvers, Belgique*

Il est tout naturel, pour qui s'intéresse à la lèpre humaine, d'utiliser comme matériel de comparaison le bacille de la lèpre murine. Cette étude avait pour nous d'autant plus d'intérêt, que nous savions déjà par les essais intermittents de l'un de nous, que le passage de la lèpre de rat à rat ne paraît pas s'effectuer aussi facilement que le disent les auteurs, du moins dans notre milieu (Belgique). Le fait a, croyons nous, été noté également par le Professeur Bruynoghe et le Professeur Maisin à Louvain. Nous avons donc décidé d'étudier ce germe, à la fois par culture, si possible, et par inoculation aux animaux.

*Matériel d'origine.*—Faute d'avoir trouvé en Belgique la lèpre spontanée du rat, nous avons utilisé des lépromes de provenance étrangère. Le Professeur Marchoux (auquel nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements) nous a envoyé de Paris des fragments de léprome. Ces pièces montrent de nombreux bacilles et une structure qui rappelle celle des lépromes humains ou murins (Fig. 1). Cependant les tissus en étaient fort altérés et les noyaux des cellules épithélioïdes, en particulier, ne prenaient plus la coloration. Le Professeur Kikuth (d'Elberfeld) nous a fort aimablement remis des rats vivants porteurs de volumineux lépromes et, en outre, des rats inoculés sur place par l'un de nous, selon la technique même du laboratoire d'Elberfeld. La souche Kikuth a, du reste, comme origine le laboratoire du Professeur Marchoux. Du Professeur Maisin nous avons reçu un fragment de léprome marqué "Tunis" et des viscères de rats inoculés par lui de cette souche.

ESSAIS DE CULTURE

Nous avons antérieurement signalé dans une note préliminaire (1) les résultats obtenus. Nos essais ont été prolongés, mais sans obtenir des résultats essentiellement différents. Nous avons noté

des microcultures persistant pendant plus de deux ans et cinq ensemencements successifs, sans qu'il y ait, en général, de vraies cultures visibles à l'oeil nu; toutefois dans certains tubes il a pu être noté de petites colonies.

*Méthodes de culture.*—La glycérine des fragments provenant du laboratoire Marchoux a été éliminée par des lavages à l'eau; puis les fragments ont été broyés et soumis à l'action de l'acide sulfurique à 5 pour-cent. (Le temps du lavage à l'eau a évidemment été omis pour les lépromes non conservés à la glycérine.) Le produit de broyage a été débarrassé de l'acide sulfurique par trois lavages (centrifugation) à l'eau physiologique stérile et réparti sur les milieux suivants:

1. Les milieux conseillés pour la lèpre humaine par le Löwenstein (4).
2. Le milieu de Denys aux oeufs mélangés à du bouillon de peau de rats. La masse est homogénéisée et coagulée à 82°, puis stérilisée trois jours consécutifs une demi-heure à 75°. Cette stérilisation nous a toujours donné des tubes stériles. Vu la longue durée des essais le bouchon d'ouate est scellé avec de la cire à cacheter, précaution du reste générale.
3. Agar glycérimé, préparé également avec du bouillon de peau de rat.
4. Un milieu aux pommes de terre, selon la méthode de Shiga. Les pommes de terre sont coupées en morceaux, puis bouillies dans du bouillon de rat. Les morceaux sont mis en tubes de Roux et humidifiés avec du bouillon de peau de rat ou un filtrat de macération de peau de rat. Le milieu est stérilisé en le tenant trois jours consécutifs une heure à 80°. Leur stérilité est vérifiée par séjour à l'étuve.

Un bon nombre d'essais ont été faits après action de l'acide sulfurique à 5° selon Simayochi, mais dans d'autres cas, des fragments prélevés stérilement ont été ensemencés sans action de l'acide sulfurique.

Les tubes de culture ont été vérifiés par frottis tous les trois à quatre mois, et chaque semaine à la loupe afin de découvrir des colonies éventuelles.

Nous avons ensemencé les produits suivants: (a) *Souche Marchoux*, Stephanski I (broyage sans acide sulfurique) et Stephanski II (même souche traitée à l'acide sulfurique). (b) *Souche Maisin* (Tunis), Stephanski III (morceaux de léprome) et Stephanski IV (viscères, l'un et l'autre traités à l'acide sulfurique). (c) *Souche Kikuth*, Stephanski V (lépromes bien développés sur des rats vivants).

*Résultat.*—Les cultures de Stephanski I et II ont montré des bacilles augmentant en nombre jusqu'au troisième et cinquième ensemencement. Ce phénomène a été observé spécialement sur les milieux aux pommes de terre et de Denys. Les frottis ont souvent montré une augmentation du nombre de bacilles, que, faute de procédé plus précis, nous indiquons par un nombre variable de +; ou bien nous pouvions constater l'apparition d'un grand nombre de bacilles, alors qu'un frottis antérieur n'en avait pas montré.

Dans un certain nombre de tubes (agar-peau de rat, ou Denys-peau de rat), après un intervalle variant entre 6 et 12 mois, nous avons constaté de très petites colonies visibles à la loupe surtout, soit isolées, soit faisant de petits rassemblements ou même parfois une sorte de petit nuage (voir Figs. 2 et 3). Les frottis des colonies montraient une assez grande quantité de bacilles qui à la longue, cependant, s'altéraient; et les colonies elles-mêmes, après quelques mois, n'étaient plus nettement dissociables, prenant un aspect compact.

La dégénérescence des bacilles se manifestait par une modification de leur colorabilité. Au début ils étaient courts et colorés en rouge vif, ultérieurement ils devenaient granuleux ou à contour érodé, et d'une teinte plus pâle (fuchsine de Ziehl, décoloration à l'acide sulfurique à 5 pour-cent).

Dans la règle, les bacilles ont commencé à augmenter en nombre environ trois mois après l'ensemencement; jusque vers six ou sept mois ils augmentaient en nombre, pour diminuer et dégénérer ultérieurement. Parfois ce développement a été plus lent encore.

Des essais de conservation de ce bacille en culture de tissu ont été tentés par l'un de nous, mais ces essais ne sont pas achevés. L'épreuve de la virulence de nos cultures nous manque jusqu'à présent, mais comme nous le verrons, le bacille pris dans les lésions est lui-même si peu virulent qu'on ne peut guère exiger que les cultures fournissent des résultats très concluants en inoculation aux rats.

Stephanski III a fourni de moins bons résultats en ce sens que nous avons seulement vu quelques bacilles dans un deuxième ensemencement, mais pas de colonies visibles.

Stephanski IV a été complètement négatif.

Stephanski V (provenance Kikuth). Les ensemencements ont été faits sur les milieux Agar-Denys et pomme de terre sauf que les milieux ont été arrosés avec le filtrat de macération de peau de rat, pas sur les milieux de Löwenstein qui ne paraissaient pas particulièrement avantageux en ce cas. Les résultats obtenus rappellent ceux notés avec le Stephanski I et II; c'est-à-dire, microculture et augmentation du nombre des bacilles au cours de frottis successifs, et parfois après trois mois environ, petites colonies à peine visibles à l'oeil nu. Ici aussi les bacilles paraissent se développer pendant trois ou six mois, puis progressivement diminuer et dégénérer (Figs. 4, 5 et 6). Avec cette souche nous n'avons pas jusqu'à présent dépassé le quatrième ensemencement.

Un certain nombre de tubes ont été incubé en atmosphère contenant 10 à 20 pour-cent de CO<sub>2</sub>, sans succès.

#### INOCULATION AUX ANIMAUX

Le fait qui a surtout attiré notre attention c'est la difficulté de maintenir, en Belgique, la lèpre murine sous une forme cliniquement appréciable. L'un de nous a noté ce fait il y a plusieurs années déjà, alors qu'à l'ancienne Ecole de Médecine Tropicale il entretenait, sans du reste, faire des essais systématiques sur une souche reçue des laboratoires d'Elberfeld, qui finit d'ailleurs par se perdre. Le même fait a été souvent noté par le Professeur Maisin, au point que celui-ci (communication verbale) a été entravé dans des expériences thérapeutiques. Cette difficulté a été rencontrée aussi au laboratoire du Professeur Bruynoghe.

On ne peut guère songer à des erreurs de technique. Celle-ci, en effet, selon Marchoux, est des plus simple: injections intra-péritonéales, injections sous-cutanées, ou même transmission transcutanée (après épilation ou scarification) assurent, selon cet auteur, 100 pour-cent de résultats positifs; la transmission dans la nature, selon lui, se fait, vraisemblablement par contact des lésions ouvertes avec des plaies banales. Kikuth utilise une technique un tant soit peu plus élaborée: c'est-à-dire qu'il greffe de petits morceaux de léprome dans des décollements sous-cutanés. Encore n'y a-t-il là aucune technique difficile, et au surplus, l'un de nous a pu se mettre au courant de cette méthode au laboratoire même d'Elberfeld. Lampe et de Moor (2), Lowe (5) signalent aussi la facilité du passage expérimental.

Éliminées les erreurs techniques, il ne reste guère pour expliquer la différence de résultat que, ou bien la souche microbienne dont la virulence pourrait varier, ou bien la race et la constitution des rats—ou enfin, des facteurs inconnus tenant aux conditions géographiques et de milieu, si tant est qu'on puisse croire à de notable différences entre pays si voisins qu'Allemagne, France, Belgique.

Pour ce qui regarde la *souche*, nous avons utilisé du matériel des trois provenances susdites: la souche Kikuth était, du reste, originellement identique à celle de Marchoux. Si dans le cas de la souche Marchoux ou Maisin on peut, à la rigueur, admettre une altération de la virulence par la conservation, l'autolyse etc.,<sup>1</sup> il ne saurait être question de faire la même remarque sur la souche Kikuth, puisqu'ici les inoculations ont été faites en partant de rats lépreux vivants.

<sup>1</sup>On ne voit pas, cependant, ce phénomène se passer à Paris, selon les expériences de Marchoux, et l'hypothèse paraît donc peu fondée.

Pour éliminer, dans la mesure du possible, l'influence de la *race*, nous avons utilisé des rats de provenance différente. Sur un total de 134 rats, 100 sont des rats d'élevage de provenance Belge (plusieurs élevages), 22 sont de provenance Allemande (dus à l'amabilité du Professeur Kikuth), 9 sont de provenance Française (qui nous ont été donnés par notre collègue Stephanopoulos de l'Institut Pasteur) et 3 sont des rats sauvages de Belgique. Nous disons provenance et non *race*, car nous ne savons pas, en fait, où s'approvisionnent les fournisseurs d'animaux.

#### RESULTATS

1. *Souche Marchoux (Paris)*.—(a) Inoculation à des cobayes: Quatre cobayes ont été inoculés avec le culot de centrifugation de lépromes traités à l'acide sulfurique, deux de ces cobayes avaient été préalablement infectés de Sodoku, mais ils sont morts de cause inconnue avant qu'on en puisse tirer une conclusion quelconque. Les deux autres ont été soumis à un régime d'avitaminose, recevant seulement de l'eau distillée et de l'avoine stérilisée à 120° pendant une heure, et de là, lorsqu'ils étaient trop affaiblis, un peu d'herbe. L'un de ces animaux est mort après dix jours; sans du reste montrer de bacilles.

L'autre cobaye soumis à ce régime est mort après quatre mois et demi, et son observation est intéressante. Autopsie: dégénérescence grasseuse du foie, hyperplasie de la rate avec un petit foyer de nécrose, hydronéphrose, dégénérescence caséuse des ganglions lymphatiques axillaires, présence de bacilles acido-résistants en grande quantité dans la rate et les ganglions. Pour nous assurer qu'il ne s'agissait pas de tuberculose, deux cobayes ont été subinoculés avec ce matériel et sont restés indemnes plus d'un an. C'est là un cas d'infection par le bacille de Stephanski chez un animal réputé "non sensible." Le rôle possible de l'avitaminose nous a fait reprendre des essais sur un certain nombre de cobayes, mais l'observation n'en est pas encore assez longue.

(b) Inoculation aux rats: Huit rats ont été inoculés et ont seulement fourni deux résultats positifs, encore s'agit-il de manifestations discrètes telles que nous les décrirons plus loin. Deux rats soumis à l'action d'injections d'hormones thyroïdiennes (Elytyran, Bayer) n'ont pas donné de résultat. Deux rats qui recevaient de l'adrénaline (Parke, Davis) ont donné un résultat négatif et un résultat positif.

2. *Souche Maisin (Tunis)*.—En mars 1936 nous avons reçu du Professeur Maisin un morceau de léprome broyé venant de

Tunis et un morceau de foie et de rate provenant d'un rat infecté par lui. Les frottis montraient de nombreux bacilles.

Inoculations à des lapins: Ce matériel traité à l'acide sulfurique a été injecté à cinq lapins, dont deux par la voie sous-cutanée, un sous la dure-mère, un intra-oculaire et un intra-veineux. Seul, le lapin injecté dans l'oeil est mort, sans du reste, montrer des bacilles; huit jours après l'injection, le liquide de la chambre antérieure de l'oeil était troublé, mais ce trouble a disparu par après. A part cela, toutes ces inoculations ont été négatives.

Inoculations aux rats: Des essais faits sur des rats, 15 en tout inoculés, soit sous la peau, soit dans le péritoine, soit dans le cerveau, ont été négatifs, même chez les animaux soumis à des régimes pauvres en vitamines ou injectés d'hormones. Divers de ces animaux sont morts (à des intervalles de plusieurs mois à un an) présentant des lésions viscérales diverses, et du reste, souvent légères, mais aucune lésion de lèpre. Nous en concluons que, alors que la souche reçue de Marchoux s'est montrée assez faiblement virulente (peut-être par le séjour dans de la glycérine?), celle-ci avait très fortement diminué de virulence et n'était pratiquement plus inoculable. Le fait qu'on a constaté des bacilles dans un deuxième ensemencement nous fait croire cependant que les bacilles n'étaient pas morts.

3. *Souche Kikuth (Elberfeld)*.—Cette souche a été reçue sur des rats vivants montrant de volumineux lépromes (Fig. 7). La technique de passage a été le plus souvent celle du Kikuth, que l'un de nous a vue appliquée à son laboratoire: greffe d'un fragment de léprome dans un décollement sous-cutané refermé par une agrafe. Cependant un certain nombre de rats ont été injectés de broyage après éventuellement l'action de l'acide sulfurique à 5 pour-cent (selon Simayochi). Ajoutons qu'un certain nombre de rats ont été injectés du produit de filtration sur bougie Chamberland L<sub>3</sub>.

Inoculation à des lapins: Quatre lapins ont été injectés avec du léprome broyé traité à l'acide sulfurique, deux sous la dure-mère, un dans l'oeil, un dans la veine. Il n'y a eu aucune inoculation positive. Cependant le lapin 27, injecté sous la dure-mère, mort quatre mois après l'injection, présentait de l'hyperémie cérébrale et quelques bacilles dans le cerveau et dans les ganglions lymphatiques. Nous voyons là une simple persistance du bacille et non une action pathogène précise.

Filtration: Le filtrat du broyage (Chamberland L<sub>3</sub>) a été injecté à six rats, deux par voie sous-cutanée, deux par voie

intra-cranienne et deux par le péritoine. Il n'y a eu aucun résultat positif. L'un des rats a été tué ( $\pm$  20 jours après) et nous avons injecté le filtrat à quatre autres rats qui n'ont présenté aucune lésion et sont vivants. L'injection de ce filtrat à ces lapins a été également négative (voie intra-oculaire, intra-veineuse et sous la dure-mère—en tout quatre lapins).

Inoculation aux rats: Nous avons inoculé cette souche à 46 rats dont 16 seulement ont fourni des résultats d'inoculation positive. Parmi ces 16 il y en a 12 qui ont été injectés sous la peau, 2 dans le péritoine et 2 dans le cerveau. Mais ces résultats positifs sont bien différents de ceux obtenus par Kikuth, dont nous avons vu les animaux vivants, et également par Marchoux (nous ne connaissons que ses descriptions mais pouvons juger du volume des lépromes d'après les morceaux envoyés).

Nous n'avons, en effet, jamais obtenu les grands lépromes sous-cutanées fermes et volumineux qui sont décrits ou figurés par les auteurs. Comme nous l'avons dit plus haut, dans un grand nombre de cas l'inoculation est restée infructueuse, même quand la durée de survie a été suffisante pour espérer les résultats classiques (8 à 10 mois). Dans un certain nombre de cas on ne trouve au lieu de l'inoculation, soit rien à noter sauf une petite cicatrice, soit un minuscule dépôt caséux avec bacilles qui paraît plutôt un résidu d'inoculation. Dans d'autres cas, il se forme un petit nodule peu développé, très riche, du reste, en bacilles. Enfin, diverses fois nous avons noté chez nos animaux la formation, au lieu d'infection, d'une sorte d'abcès froid, s'ouvrant au dehors (Fig. 9). Le centre caséux est entouré d'une membrane d'enveloppe, composée de cellules rondes et épithélioïdes avec de nombreux bacilles (Fig. 10). On observe souvent l'hyperplasie de la rate avec bacilles et éventuellement de petits granulômes dans les viscères, mais non les tubercules avec cellules géantes décrites par Lampe, de Moor et Van Veen (3). Les ganglions sont souvent caséux et présentent le même aspect (Fig. 11).

Nous nous sommes demandés si la différence appréciable dans l'évolution anatomo-clinique de la maladie ne pouvait provenir soit de la race des animaux, soit du milieu géographique. Kikuth, auprès duquel nous nous sommes renseignés, ne rejette pas la possibilité que la race soit en cause. Il nous écrit à ce sujet:

"Nach Rücksprache mit unserem Physiologen Herrn Dr. Grab habe ich aber in Erfahrung bringen können, dass tatsächlich bei den Ratten verschiedene Rassen vorzukommen pflegen, die sich namentlich bei der Vitamin- und Hormonforschung grund verschieden verhalten. Unter ande-

“rem gibt es die Englische und eine sogenannte kontinentale Rasse. Die Englische Rasse kommt aber auch in Basel wieder vor. Es ist z. B. durchaus möglich, dass wir mit der kontinentalen Rasse arbeiten, während Sie von Ihren Händlern in Belgien die Englische Rasse beziehen. Herr Dr. Grab glaubt, dass die verschiedene Empfindlichkeit der Tiere gegen die Rattenbazillen evtl. auf diese Umstände zurückgeführt werden kann. “Fütterungsverhältnisse spielen anzeichend keine Rolle.”

Pour élucider ce fait, nous avons injecté des bacilles provenant d'un des foyers de caséification décrits plus haut et exempt de microbes banaux, à 10 rats de provenance allemande, 10 rats de provenance belge, et 9 rats de provenance française. Il ne nous est pas apparu une différence bien appréciable dans les résultats et, jusqu'à présent, nous tendons à considérer que la provenance des rats est peu importante; à dire vrai, comme nous l'avons déjà noté, provenance ne signifie pas race, avec les facilités de transport et de commerce de notre époque. Peut-être faut-il, dans ces conditions, faire jouer un rôle plus important au milieu géographique, dans son sens le plus large. Nous nous proposons de faire ultérieurement, avec la collaboration du Professeur Kikuth, une expérience cruciale qui permettra d'éclaircir ce point. Remarquons, en attendant, qu'un rat inoculé à Elberfeld et transporté ici a donné aussi le même aspect d'abcès froid (Fig. 12) aboutissant à l'élimination du léprocome.

*Resumé.*—Résumant nos essais d'inoculation, nous pouvons dire qu'avec la souche Marchoux nous avons inoculé 8 rats dont 2 positifs; avec les souches Maisin, 21 rats, aucun positif; avec la souche Kikuth 46 rats et 16 positifs. Soit en tout, pour ces essais 75 rats dont 18 positifs. Comme on le voit, même avec la souche Kikuth qui paraît la plus favorable, nous sommes bien loin d'obtenir 100% de succès. Non seulement notre chiffre d'inoculations positives est bien en-dessous de celui signalé par Marchoux, Kikuth, etc., mais encore ces manifestations éventuelles sont d'un caractère clinique différent. Bien entendu, un certain nombre d'animaux sont morts trop précocement pour qu'on puisse considérer leur observation comme pleinement valable, mais d'autres ont survécu environ un an et même deux ans, et devraient donc fournir des observations valables.

#### TYPES D'INFECTION RENCONTRÉS

Nous croyons utile de donner quelques exemples de divers types d'infection rencontrés.

##### A. INFECTION NULLE

*Rat No. 1 (Ga).*—Souche Marchoux. Provenance Belge. Survie 8 mois,



mort avec lésion de broncho-pneumonie; ni dans la peau ni dans les viscères on ne relève de signes macroscopiques ou microscopiques d'infection par bacilles de Stephanski.

*Rat No. 5 (Ga).*—Même histoire, sauf que la survie est de 10 mois.

*Rat No. 150 (Ga).*—Souche Kikuth. Survie 9 mois, examens macroscopique et microscopique négatifs.

De tels cas sont loin d'être rares et peuvent se résumer en ces mots: absence totale d'infection active ou latente. Ils s'opposent à la complète ou quasi complète régularité d'infection signalée par les auteurs observant en d'autres pays (Marchoux, Kikuth, etc.).

B. INFECTION ABORTIVE AVEC, ÉVENTUELLEMENT, ULCÉRATION PRÉCOCE ET ÉLIMINATION DU CASÉUM

*Rat I (Ad).*—Souche Kikuth. Rat de provenance Belge. Survie 6 mois. A la place de l'injection persiste un petit nodule de la grosseur d'un grain de blé, plutôt inférieur en volume à l'inoculum greffé. Les viscères ne montrent rien, ni macroscopiquement ni microscopiquement. Examen histologique de la lésion locale: masse composée exclusivement de bacilles acido-résistants avec centre nécrosé et mince membrane d'enveloppe composée de tissu conjonctif peu modifié.

*Rats II et III (Ad).*—Même inoculation, même survie et pratiquement le même résultat, sauf qu'il y a des bacilles dans les ganglions qui sont un peu hypertrophiés.

*Rat sauvage No. 2 (Ga).*—Souche Kikuth. Survie 10 mois. Ulcère caséux à la place de l'injection, ganglions inguinaux hypertrophiés. Bacilles au lieu de l'injection et dans les ganglions; les viscères sont normaux à l'examen bactériologique.

*Rat sauvage No. 3 (Ga).*—Même histoire que le précédent mais survie d'un peu plus de 9 mois.

*Rat No. 153.*—Souche Kikuth. Provenance Allemande. Survie 10 mois. Pratiquement aucune lésion visible à l'oeil nu, sauf à la place de l'injection où il existe un léger dépôt caséux sans structure. Bacilles dans ce caséum et dans les ganglions.

*Rat No. 154 (A).*—Même série que le précédent, mais tué après 1 an. A l'endroit de l'injection, il existe une poche à contenu caséux du volume d'un petit pois avec aux environs 2-3 petits nodules caséux. A part localement, il n'est pas trouvé de bacilles. Les ganglions ne sont pas hypertrophiés.

C. INFECTION AVEC PEU DE SYMPTÔMES LOCAUX MAIS RETENTISSEMENT VISCÉRAL PLUS OU MOINS MARQUÉ

*Rat No. 1.*—Souche Kikuth. Provenance Belge. Survie 9 mois. Petite ulcération caséuse au lieu d'inoculation, ganglions lymphatiques superficiels gros et caséux, rate volumineuse; bacilles nombreux dans les ganglions, la rate et le foie.

*Rat No. 7.*—Souche Marchoux. Survie 4 mois. Avitaminose partielle. Présence de bacilles dans divers viscères: ganglions, rate, poumons.

*Rat gris.*—Provenance Allemande. Survie 7 mois et demi. L'animal a été inoculé par greffe chez Kikuth et a donné rapidement une tumeur ferme,

qui dès le troisième mois s'est ouverte en éliminant du caséum et laissant un grand ulcère à fond granuleux avec bacilles. Les jeunes rats nés de cette femelle sont morts après 1 mois. L'ulcère s'était cicatrisé à 7 mois et demi. L'autopsie montre les lésions suivantes: bacilles au lieu de l'injection cicatrisé, ganglions caséifiés avec bacilles, rate hypertrophiée avec bacilles: dans le foie granulomes avec ou sans bacilles.

Le broyage des organes bacillifères a été injecté à 12 rats de provenances diverses et composant 3 séries de 4 animaux entretenus séparément. Seule, une de ces séries (C) a présenté des phénomènes anormaux, en ce sens que ces rats sont morts endéans 10 et 15 jours, en montrant des lésions infectieuses des viscères et des bacilles au lieu d'injection et dans les ganglions; et, dans un cas, dans les poumons. Quatre rats réinoculés d'un des rats de cette série sont dans trois cas morts endéans 9 à 16 jours et dans 1 cas après 6 ou 7 mois. Les trois animaux morts rapidement montraient des bacilles au lieu d'injection et dans un cas dans les ganglions lymphatiques. Les 2 autres premières séries de rats n'ont pas présenté de phénomènes anormaux, pas de mortalité rapide, mais dans quelques cas des développement de lésions caséuses à bacilles de Stephanski, sans autre bacille ou germe pathogène constaté.

On en peut conclure que l'inoculum était exempt de autres germes ou virus, d'autre part, il n'existait pas dans les animaux vivant au contact de la série C une épidémie constatable. On serait tenté d'attribuer la mortalité en question et les lésions constatées à une recrudescence notable de la virulence du bacille. Nous n'avons plus, à dire vrai, retrouvé la même phénomène et nous ne pouvons donc être affirmatifs sur ce point.

*Rat. No. 211 (Ga).*—Souche Kikuth. Inoculation par greffe. Survie 5 mois. Cicatrisation de l'endroit d'injection, ganglions inguinaux un peu hypertrophiés, viscères normaux apparemment. Bacilles 3+ au lieu de l'injection et 4+ dans la rate.

*Rat. No. 212.*—Même histoire que le précédent et même survie. Tuméfaction locale apparue après 3 mois. Le cinquième mois elle a disparu par abcédation spontanée. Ganglions inguinaux et axillaires augmentés de volume (environ 5 mm. de diamètre). Viscères apparemment normaux. Bacilles 4+ dans les ganglions, isolés et en gros amas "blogi"; 3+ dans la rate.

Il est possible que ces animaux aient succombé à l'infection par le bacille de Stephansky. Des autres lésions expliquant la mort n'ont pas été notées. Il faut faire remarquer que, en général, les rats utilisés sont de jeunes adultes chez qui on peut donc escompter une assez longue survie, et que d'autre part, il n'y a pas de mortalité anormale parmi les rats non inoculés.

#### DISCUSSION

Quant à ce qui regarde nos essais de culture nous serons brefs. Ces essais n'ont pas abouti, il faut le reconnaître, à une culture facile en série comme l'est, par exemple, celle du bacille de Koch, pour ne pas parler des bacilles à culture rapide. Cependant le bacille de Stephanski apparaît comme plus cultivable que celle de Hansen, et des progrès paraissent possibles dans ce domaine.

Des essais de culture avec ce germe sont spécialement intéressants, vu la possibilité qui manque encore dans la lèpre humaine de vérifier la nature des cultures par des inoculations.

Nous ne croyons pas que les bacilles que nous avons vus dans nos tubes de réensemencements successifs (trois à cinq) sont des bacilles transportés de tube en tube avec des petits débris s'autolysant. Ce fait paraît difficile à croire après plusieurs ensemencements successifs et des frottis fortement positifs, alors que le précédent était à peu près négatif. Nous ne croyons pas, d'autre part, que les germes vus soient des acido-résistants saprophytes parce que leur culture en a été trop lente et trop difficile et qu'en outre, notre matériel de départ paraissait bien exempt de germes étrangers.

Pour ce qui regarde les inoculations aux animaux, nous croyons intéressant de signaler la notable différence clinique et anatomique qui se manifeste dans l'infection par le B. de Stephanski dans divers pays, même voisins.

Marchoux (6) distingue à la maladie deux formes principales: une forme ganglionnaire, où les ganglions sont plus ou moins infiltrés et deviennent très volumineux (atteignant 3cm.1,5), et une forme cutanéomusculaire caractérisée par des nodules, des ulcérations cutanées et de l'alopécie. Il rencontre la première forme dans 5 pour-cent des rats à Paris et la deuxième dans 0,6 pour-cent des rats.

Lampe et de Moor (2) observent à Batavia sur 10.000 rats 9 pour-cent qui ont des lésions ganglionnaires et parmi eux 300 qui ont de la lèpre cutanée latente (non décelable cliniquement), 20 de la lèpre cutanée clinique fermée, et 3 qui ont de la lèpre cutanée ouverte. Lampe, de Moor et Van Veen, (3), au cours de la transmission expérimentale par voie cutanée, qui pratiquement réussit toujours mais se manifeste plus complètement en cas de manque de vitamine B2, notent, après cinq mois, de l'adénopathie, de cinq à dix mois de l'infiltration dans l'aîne, à douze mois des lépromes.

Les rats injectés par Kikuth montrent, après six mois, l'infection qui aboutit à de volumineux lépromes, qui après dix mois ont tendance à s'ouvrir (l'animal succombe ordinairement alors).

Lampe, de Moor et Van Veen (3), décrivant les lésions de la "Modder Lepra" qu'ils estiment identique à la maladie de Stephanski, signalent des lépromes cutanés constitués de cellules à protoplasme faiblement basophile et à noyaux peu colorés. Ces histiocytes sont remplis de bacilles intracellulaires. Ils subissent une dégénérescence allant jusqu'à la nécrose, mais sans ramollissement. Les formations tuberculoïdes se voient dans la peau et surtout dans les organes profonds, moins abondantes, à vrai dire, dans la lèpre murine banale.

Au contraire, dans nos essais dans plus de la moitié des cas, malgré des inoculations copieuses, il ne se produit quasi rien de décelable cliniquement, tout au plus, un petit nodule facilement

caséux. L'histologie y montre des amas massifs de bacilles avec une réaction modérée à cellules rondes qui subissent la nécrose vers le centre.

Cette lésion de début, apparaissant après cinq ou six mois, a souvent un caractère régressif. Dans un certain nombre de cas il se produit, à la place d'injection, une sorte de poche caséuse volumineuse, atteignant dans certains cas le volume d'une noix, sorte d'abcès froid à centre casieux et à parois infiltrées de cellules rondes ou épithélioïdes. Ce sac s'ouvre précocement et éventuellement, là encore, les lésions rétrocedent. Cependant on voit aussi les ganglions s'entreprendre et même apparaître dans les viscères (foie, rate, poumons) des granulômes dont les uns sont bacillifères et les autres non. Les rats finissent par succomber, mais il n'est pas aisé de faire la part de l'infection dans cette mortalité tardive.

Dans l'ensemble, la maladie apparaît, chez nous, comme plus difficile à inoculer, d'évolution plus irrégulière, tendant, semble-t-il, soit à la guérison, soit à des généralisations viscérales. Peut-être, faut-il songer au rôle de l'alimentation, qui dans les expériences rappelées plus haut des auteurs hollandais, a joué, sur l'infection par la "Modder Lepra", un rôle tantôt favorisant (manque de vitamine B), tantôt empêchant (manque de vitamine A). Cependant, nous ne pouvons pas, jusqu'à présent, confirmer ce point, qui du reste, a été peu appréciable dans les expériences faites par les auteurs hollandais avec la lèpre murine authentique en passage direct.

#### CONCLUSIONS

Nos essais de culture du bacille de Stephanski ont abouti à des micro-cultures jusqu'au cinquième ensemencement et parfois à l'apparition de colonies à la limite de la visibilité à l'oeil nu. Cette culture n'apparaît pas encore comme facilement maniable.

La caractère pathogène du bacille de Stephanski ne se manifeste pas dans nos essais tel qu'il est classiquement décrit. L'infection semble difficile à conserver parmi nos animaux ou bien évoluer sous des formes anormales.

Bien que nous ne voulions pas, quant à présent, être trop affirmatifs, faute d'expérience décisive, nous avons tendance à voir là l'influence du milieu géographique et des conditions de vie.

Nous nous efforcerons de résoudre cette intéressante question par des expériences ultérieures.

Il est en tout cas incontestable que dans notre milieu la lèpre

du rat apparaît comme une maladie à expérimentation peu aisée, dont l'évolution assez irrégulière s'écarte des résultats classiques.

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) GAVRILOV, W. ET DUBOIS, A. Culture du bacille de Stephanski. C. R. Soc. Biol. 121 (1936) 1384.
- (2) LAMPE ET DE MOOR. Ratten Lepra. Geneeskundig. Tijdschr. Nederlandsch-Indië 76 (1936) No. 26.
- (3) LAMPE, DE MOOR, VAN VEEN. Ratten Lepra. Geneeskundig. Tijdschr. Nederlandsch-Indië 76 (1936) No. 35.
- (4) LOEWENSTEIN, E. The cultivation of the leprosy bacillus. Internat. Jour. Lep. 3 (1935) 43.
- (5) LOWE, J. Rat leprosy. Internat. Jour. Lep. 5 (1937) 311.
- (6) MARCHOUX, E. The leprosy of rats. Internat. Jour. Lep. 2 (1934) 88. (From *Rev. française Dermatol. Vénérol.* 1933.)

## EXPLICATION DES PLANCHES

## PLANCHE 35

FIG. 1. Léprome du rat, reçu du Professeur Marchoux. Coloration de Ziehl. Les bacilles apparaissent en noir.

FIG. 2. Culture N.A., souche Marchoux, sur Denys. Rat quatrième réensemencement: 26.VI.36 (pomme de terre) 28.XI.36 (Denys-Rat) 16.III.37 (Denys-Rat) 20.X.37 (Denys-Rat). La flèche indique le morceau d'une colonie un peu rugueuse au centre de la surface, touchant la ligne noire du verre.

FIG. 3. Culture B., deuxième réensemencement neuvième mois sur Denys-Rat. La flèche indique, à la partie inférieure d'une petite dépression du milieu, une petite colonie rugueuse.

FIG. 4. Culture 37, souche Kikuth, quatrième mois sur Denys-Rat, réensemencement de pomme de terre après trois mois. La flèche indique une zone plate de colonies au milieu de la surface.

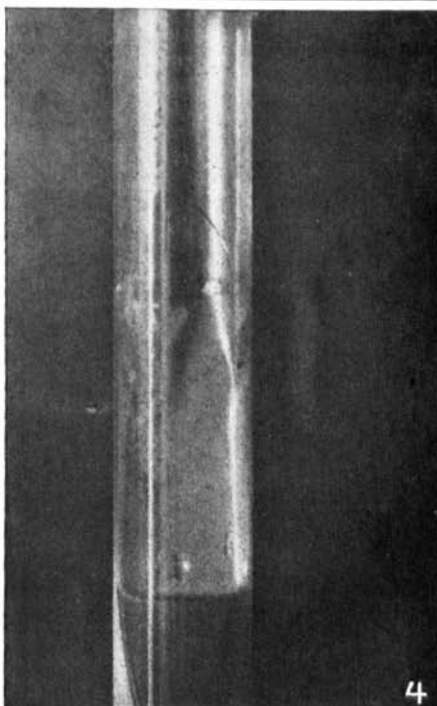
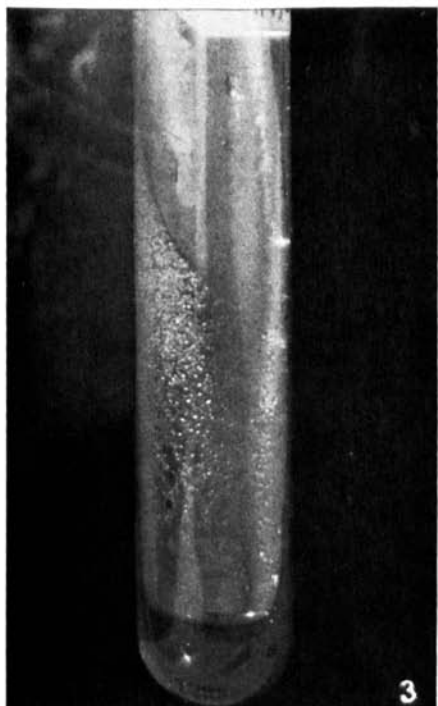
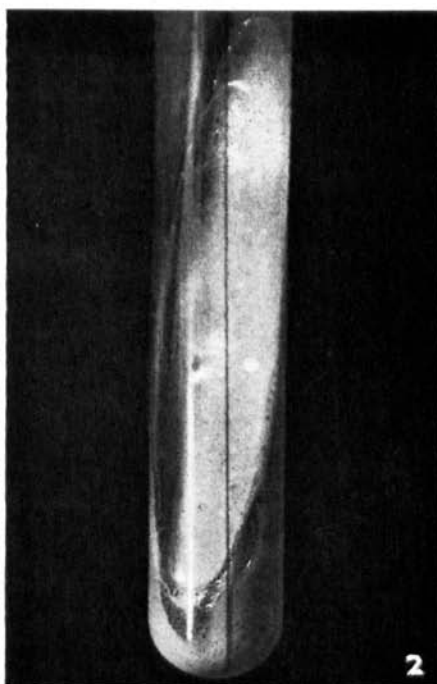
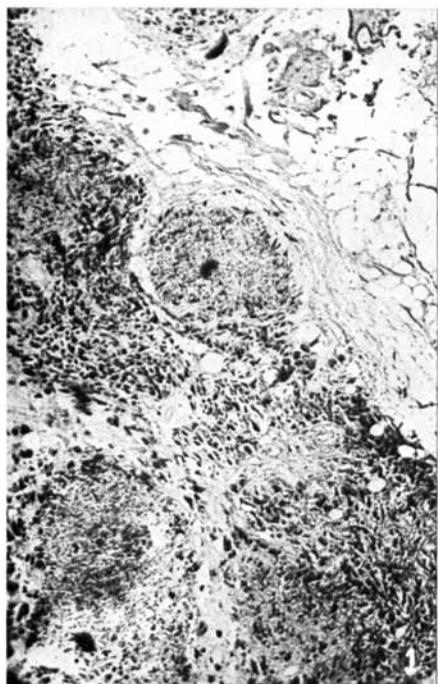


PLATE 35

PLANCHE 36

FIG. 5. Culture N. 51, souche Kikuth, deuxième réensemencement (Denys-rat cinquième mois, agar-rat septième mois. La flèche indique une zone du tube où il y a un semis plan de colonies.

FIG. 6. Culture N. 46, deuxième réensemencement sur agar-rat (chaque fois six mois de durée). La flèche indique de petites colonies en amas.

FIG. 7. Léprose rat, animal reçu du Professeur Kikuth. Cellule épithélioïde à la périphérie des zones très riches en bacilles. Ceux-ci très nombreux apparaissent en noir.

FIG. 8. Léprose humain à titre de comparaison. Bacilles non colorés.



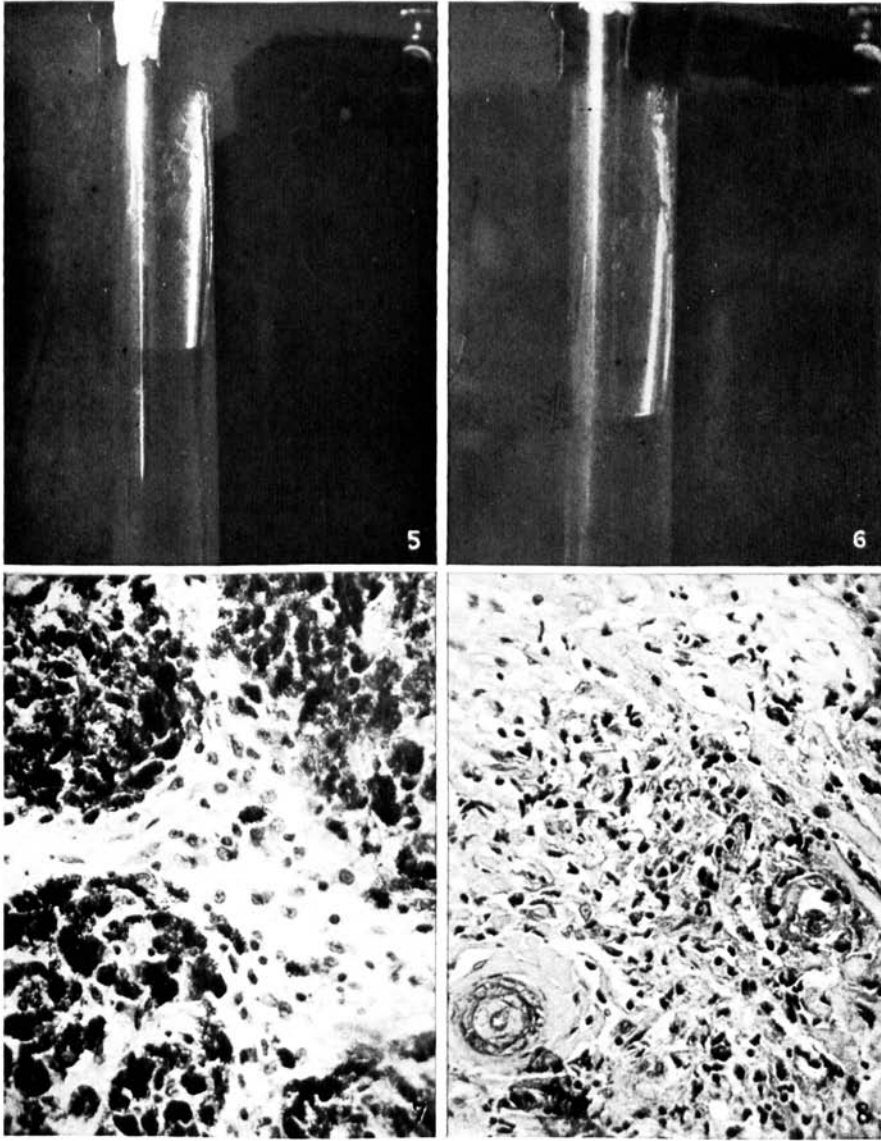


PLATE 36

#### PLANCHE 37

FIG. 9. Rat 146, huit mois après inoculation. Tuméfaction caséuse à la place de l'injection. Bacilles 3+. (Ultérieurement abcédation éliminant la lésion.)

FIG. 10. Tuméfaction à la place de l'injection, six mois après inoculation. Noter la forte caséification centrale, et à la périphérie la zone peu étendue de cellules rondes et épithélioïdes avec nombreux bacilles (en noir). Structure montrant plus de nécrose que les deux lépromes précédents (Fig. 1 et Fig. 7) et moins de réaction productive.

FIG. 11. Ganglion après six mois, montrant également une nécrose centrale (partie inférieure droite). Bacilles en noir.

FIG. 12. Tuméfaction locale après sept mois. Aspect comparable à celui de la Fig. 10. Bacilles en noir. Il s'agit d'un rat inoculé en Allemagne par le Professeur Kikuth et donnant ici une nécrose intense.

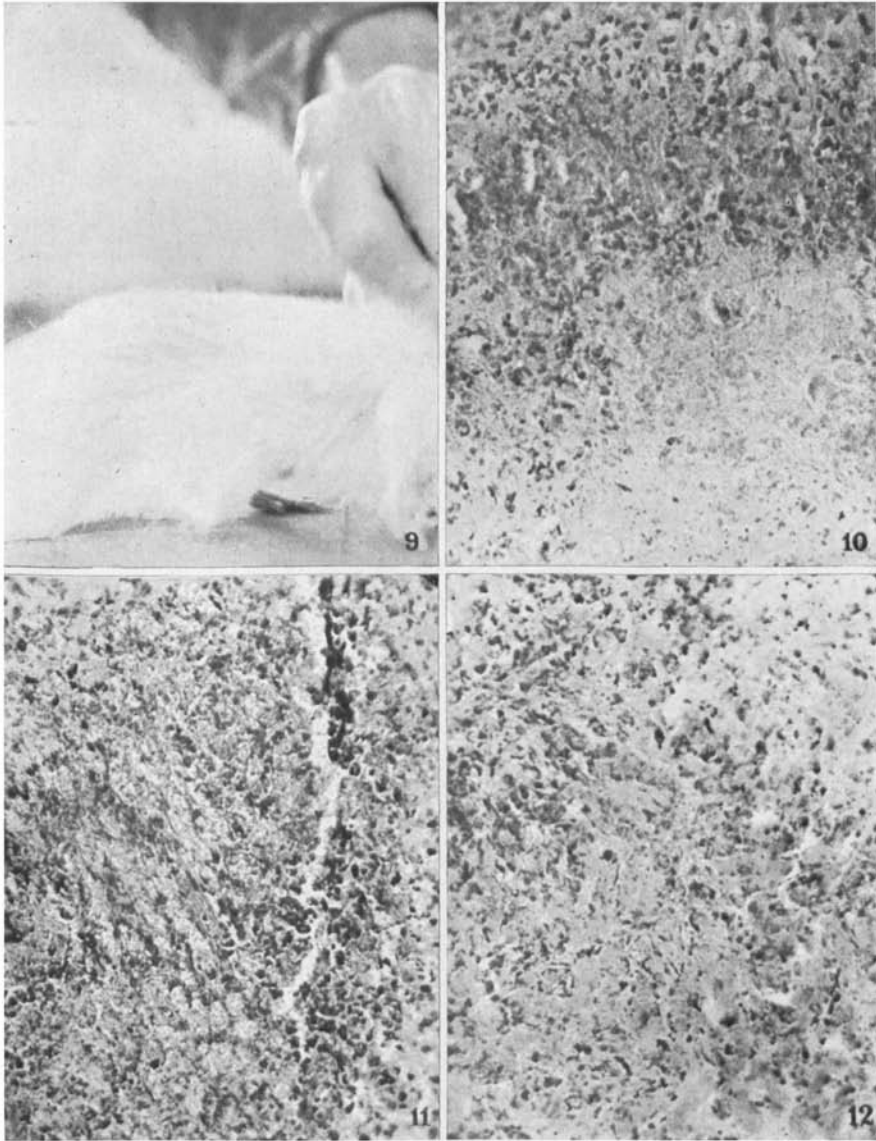


PLATE 37