

CONTRIBUTIONS A L'ÉTUDE DE LA LÈPRE
II. INOCULATION DU BACILLE DE HANSEN AU SINGE

PAR R. CHAUSSINAND
Institut Pasteur de Saigon, Indo-Chine

Nous avons cherché à reproduire la lèpre expérimentalement sur des *Macacus cynomolgus*. Différentes voies d'inoculation ont été utilisées: voies digestive, intra-dermique, intramusculaire, intra-péritonéale, intra-veineuse, intra-rachidienne, intra-testiculaire, sous-cutanée, et inoculation dans la chambre antérieure de l'oeil. Au début, nous utilisions, comme matière d'inoculation, des lépromes ou des fragments de rates de lépreux, broyés et injectés en totalité. Ensuite, nous nous sommes servis du suc de nodules lépromateux, exprimé d'après la technique employée pour nosensemencements (3). Ce procédé présente l'avantage de procurer une émulsion riche en bacilles de Hansen, exempte de microbes de la peau, et ne contenant que peu de tissu lépromateux.

Seules, les injections intra-dermiques et surtout l'inoculation sous-cutanée ont permis de constater des altérations locales appréciables. Dans ces cas on observe, trois à cinq semaines après l'inoculation, la formation d'un nodule qui augmente progressivement de volume et atteint finalement la grosseur d'une noisette (Fig. 1). La peau infiltrée prend un aspect cuivré et l'on note quelquefois une chute des poils au niveau de la lésion. Ces nodules persistent quatre à huit semaines et disparaissent enfin sans laisser de traces. L'abcédation ou l'ulcération du nodule ne se produit jamais si l'on injecte du suc de lépromes ne contenant que peu de tissu lépromateux. La recherche des bacilles de Hansen dans les nodules est positive, mais ces bacilles sont généralement granuleux, souvent peu colorés, et ils disparaissent graduellement avec les lésions. Nous n'avons pas eu l'impression que les germes inoculés se multipliaient réellement sur place. La multiplication apparente des germes observée nous semble plutôt provenir de la désagrégation des globi injectés. En outre, les lésions notées n'ont jamais apparu ailleurs qu'au lieu d'inoculation, et n'ont pas été accompagnées de symptômes généraux. L'injection sous-cutanée de suc de

léprome mélangé à de l'huile de paraffine, détermine une infiltration nodulaire qui s'abcède sans entraîner d'autres altérations consécutives.

Sur un *Macacus cynomolgus*, recevant un régime alimentaire carencé en vitamines B, nous avons procédé à dix-huit séries d'inoculations du 10 septembre 1937 au 18 août 1938. A chaque séance, cet animal recevait jusqu'à six injections de suc de lépromes riches en bacilles, par les voies les plus diverses. Les seules lésions observées apparurent après injection sous-cutanée. Au début, nous constatons, trois à cinq semaines après l'inoculation, la formation de nodules aux points d'injection. Ces nodules entraient en régression environ trois semaines plus tard et disparaissaient complètement au bout d'un à un mois et demi.

La dimension des nodules était variable et semblait en rapport avec le volume et la richesse en germes de la substance virulente inoculée. Nous avons vu réapparaître des nodules disparus, en pratiquant de nouvelles injections dans une autre partie du corps. Contrairement à ce qu'a pu observer C. Nicolle (4), nous avons noté, après plusieurs séries d'injections, que les altérations provoquées par de nouvelles inoculations se formaient et disparaissaient de plus en plus rapidement. Ainsi après la onzième séance les nodules apparaissaient environ une semaine plus tard; ils étaient de taille plus petite et se résorbaient au bout d'une à deux semaines. A partir de la quatorzième série d'injections, nous n'avons plus réussi à provoquer de lésions locales malgré l'inoculation de doses très fortes.

Ce singe est resté en parfaite santé et a subi la dix-huitième inoculation le 18 août 1938. Les seules altérations ressemblant à des lésions de lèpre humaine qu'il montrait à cette date étaient des troubles trophiques de la peau, avec pigmentation et chute des poils, situés sur la partie antérieure de la jambe droite. Dix jours après la dernière inoculation virulente, ce singe a présenté des troubles de la vue, bientôt suivis d'une hémiplégie, puis d'une quadriplégie avec convulsions. Il est mort le 1er septembre 1938.

A l'autopsie, faite environ cinq heures après la mort, nous n'avons rien observé de particulier, sauf une congestion généralisée et une hypertrophie de la rate et des ganglions lymphatiques des régions où avait eu lieu la dernière inoculation virulente. L'hémoculture, pratiquée avec le sang du coeur,

s'est révélée négative. La recherche des bacilles de Hansen dans les régions cutanées et sous-cutanées, inoculées treize jours auparavant, a été également négative. L'examen des frottis a montré de rares granulations acido-résistantes dans le foie et dans les ganglions lymphatiques des régions récemment inoculées. Les constatations nécropsiques ne permettent donc guère d'affirmer que la mort de ce singe a été directement déterminée par les inoculations expérimentales.

J. Bablet de l'Institut Pasteur de Paris a bien voulu examiner au point de vue histo-pathologique les préparations que nous lui avons adressées.

Poumon: congestion, oedème alvéolaire, exsudats bronchiques, épaississement irrégulier de la trame par infiltrations, congestion, sclérose. *Foie*: granulations acido-résistantes intracellulaires dans les sinusoides et nodules réticulaires réactionnels nombreux; congestion, stéatose, hyperplasie des cellules de Kupffer. *Rate*: raréfaction de la pulpe blanche, plages hémorragiques, pas de centres germinatifs; pulpe rouge hémorragique, pigment ocre, polynucléaires nombreux. *Rein*: congestion, hémorragies interstitielles, dégénérescence granulo-graisseuse des tubes contournés, cylindres leucocytaires, glomérules contractés, sclérose interstitielle. *Surrénale*: dissociée par oedème hémorragique et infiltration leucocytaire abondante. *Ganglions* (provenant des régions inoculées treize jours auparavant): très congestionnés, sinus dilatés avec polynucléaires et nombreux macrophages porteurs de granulations acido-résistantes. *Peau* (fragment de la peau présentant des troubles trophiques): quelques traînées réactionnelles autour des vaisseaux papillaires à endothélium tuméfié; épiderme peu modifié. *Oeil* (inoculation de bacilles de Hansen dans la chambre antérieure de l'oeil le 23 décembre 1937): cristallin détruit, congestion, exsudats dans la rétine et dans la chambre postérieure. Sclérose de la cornée. *Cerveau*: infiltration diffuse de l'encéphale (lymphocytes, polynucléaires), petites hémorragies, pas de réaction méningée.

Il apparaît donc que l'organisme de ce singe, ayant subi dix-huit séries d'injections virulentes durant un an environ, a progressivement acquis la faculté de détruire et d'éliminer les bacilles de Hansen sans présenter d'altérations focales visibles. Treize jours après la dernière inoculation, il ne reste localement plus de traces des très nombreux bacilles injectés, et on ne trouve que dans les ganglions régionaux et dans le foie des granulations acido-résistantes, relativement peu nombreuses. Or, au début, l'organisme de cet animal se défendait contre ces mêmes injections par des réactions locales importantes, et il ne réussissait à se débarrasser *in situ* des bacilles inoculés qu'au bout de deux à trois mois. L'observation clinique et les résultats de l'examen histo-pathologique semblent donc démontrer que les nombreuses injections pratiquées dans les premiers mois

de l'expérience ont progressivement "immunisé" ce singe contre les inoculations ultérieures de bacilles de Hansen.

Il n'est donc pas permis de considérer le *Macacus cynomolgus* comme absolument réfractaire à la lèpre humaine. D'autre part, dans les essais de transmission de la lèpre au singe et, en général, aux animaux paraissant réfractaires à cette maladie, il faudrait, pour avoir quelques chances de réussite, utiliser des animaux jeunes, et leur inoculer, en une seule fois, une très forte dose de germes virulents. Il nous paraît malheureusement assez difficile, sauf peut-être dans certaines léproseries, de pouvoir se procurer le même jour de nombreux lépromes récents, riches en bacilles.

Une autre constatation nous semble intéressante: l'analogie des réactions observées chez ce *Macacus cynomolgus*, inoculé de lèpre humaine, avec les réactions notées chez le singe injecté avec les souches chromogènes que nous avons obtenues par culture chez des lépreux (3). En effet, nous remarquons dans les deux cas: la formation de nodules d'incubation et de durée de plus en plus courtes, puis l'absence de réactions focales visibles avec destruction ou élimination rapide des germes injectés, et enfin la mort paraissant due aux mêmes causes. La seule différence, compte tenu du nombre de bacilles injectés, est que les phénomènes observés chez le singe inoculé avec des bacilles de Hansen, provenant directement d'organismes de lépreux, se sont montrés plus intenses que ceux, dus aux inoculations avec les souches chromogènes, cultivées depuis un certain temps sur milieux artificiels.

Faut-il déduire, de cette similitude de réaction chez les singes, que les bacilles isolés par nous représentent des cultures du bacille de Hansen? Du fait que nous n'avons pu obtenir la réaction de Mitsuda avec nos souches chromogènes chez quelques lépreux de type nerveux, l'hypothèse suivante paraît plus plausible: Le bacille de Hansen serait à placer dans le groupe des bacilles paratuberculeux, et l'organisme du singe ne se montrant que très peu sensible à la lèpre humaine, réagirait vis-à-vis du bacille de Hansen et des bacilles paratuberculeux, considérés comme non pathogènes pour l'homme, d'une façon analogue.

Les beaux travaux de Adler (1) et de Burnet (2) concernant l'inoculation de la lèpre humaine au hamster permettront peut-être de déceler une action éventuelle dans la lèpre de ces bacilles paratuberculeux, isolés à plusieurs reprises et par différents expérimentateurs chez des lépreux.

RÉSUMÉ

En pratiquant dix-huit séries d'inoculations de suc de lépromes à un *Macacus cynomolgus*, on note, au début de l'expérience, la formation de nodules de dimensions variables trois à cinq semaines après. La taille des nodules semble être en rapport avec le volume et la richesse en germes de la substance virulente inoculée. Ces lésions se résorbent sans laisser de traces au bout d'un à un mois et demi. Nous avons vu réapparaître des nodules disparus en effectuant de nouvelles injections dans une autre partie du corps. Après plusieurs séries d'inoculations, on observe que les altérations provoquées par de nouvelles injections se forment et disparaissent de plus en plus rapidement. A partir de la quatorzième série, on ne réussit plus à provoquer de lésions focales, malgré l'inoculation de doses très fortes. Ce singe est mort treize jours après la dix-huitième séance d'injections. Il ne restait localement plus de traces des très nombreux bacilles inoculés et on n'a trouvé que dans les ganglions régionaux et dans le foie des granulations acido-résistantes, relativement peu nombreuses. L'observation clinique et les résultats de l'examen histo-pathologique ont démontré que les nombreuses injections de bacilles de Hansen, pratiquées dans les premiers mois de l'expérience, ont progressivement "immunisé" ce singe contre les inoculations ultérieures. Il n'est donc pas permis de considérer le *Macacus cynomolgus* comme absolument réfractaire à la lèpre humaine. D'autre part, dans les essais de transmission de la lèpre aux animaux y paraissant réfractaires, il faudrait utiliser des animaux jeunes et leur inoculer, en une seule fois, une très forte dose de germes virulents.

REFERENCES

- (1) ADLER, S. *Lancet* 2 (1937) 714; Report of the International Congress on Leprosy, Cairo, 1938.
- (2) BURNET, E. *Compt. rend. Acad. Sci.* 207 (1938) 690; *Arch. Inst. Pasteur de Tunis* 27 (1938) 327; *Bull. Acad. Méd.* 122 (1939) 383.
- (3) CHAUSSINAND, R. *Internat. Jour. Lep.* 9 (1941) 69.
- (4) NICOLLE, C. *Compt. rend. Acad. Sci.* 140 (1905) 539; *Ann. Inst. Pasteur* 20 (1906) 389.

DESCRIPTION OF PLATE

PLATE 19

FIG. 1.—*Macacus cynomolgus* inoculé par voie sous-cutanée avec du suc de lépromes. Quatre stades différents de nodules. Le nodule situé sur la joue montre les traces des biopsies, pratiquées pour la recherche des bacilles de Hansen.



PLATE 19