

Recherches sur le Prothidium *

I. Solubilité, toxicité; valeur préventive en conditions d'infestation naturelle en Oubangui-Chari

par J. MAGIMEL †

Le laboratoire de Farcha, au Tchad, étant placé dans une région où sévissent des trypanosomiasés bovines, expérimente les produits susceptibles d'être utilisés efficacement contre ces maladies. Les recherches ont lieu, en particulier, à la section expérimentale de son service de protozoologie, installée à Bouar en Oubangui-Chari. Là, les animaux d'expérience sont placés dans les plus sévères conditions naturelles possibles d'infestation trypanosomienne; ils sont maintenus, en effet, en bordure d'une galerie forestière (à Bewiti) où sont entretenues à l'état sauvage des glossines fortement infestées.

A partir de mai 1957, a été étudié le produit couramment nommé bromure de prothidium, poudre rouge brique foncé, de formule brute 10 : l'-diméthylbromure de 2-amino-7 (2-amino-6-méthyl-4-pyrimidylamino)-9-p-aminophénylphénanthridine. L'expérimentation a porté d'une part sur la solubilité et la toxicité du produit à Farcha, d'autre part sur son pouvoir trypanopréventif à Bouar.

I. — Solubilité

1. Solubilisation du bromure de prothidium.

Aux titres indiqués par le fabricant comme titres pratiques (2,5 à 3 p. 100), la solubilisation du bromure de prothidium s'effectue aisément dans l'eau ordinaire filtrée portée à une température supérieure à 70° C pendant 5 minutes; cependant il persiste un sédiment floconneux, dense, blanchâtre, peu abondant. La solution réalisée au titre de 2,5 p. 100 est rouge intense.

2. Conservation de la solution.

A Farcha, une solution aqueuse à 2,5 p. 100, préparée à chaud puis refroidie et conservée au frigidaire à 4° C environ s'est troublée après

trois jours; au quatrième jour s'est déposé un précipité épais et caséux et au cinquième, un voile d'aspect dichroïque est apparu en surface. Le fabricant recommandant de ne pas employer de solutions altérées, la solution de prothidium dans l'eau ordinaire, au Tchad, doit être faite pratiquement au jour le jour.

II. — Toxicité

Le produit est utilisé en injection intramusculaire.

Localement apparaît une réaction œdémateuse, chaude, sans caractère spécifique dont le volume semble proportionnel à la dose injectée. L'inflammation disparaît en 3 à 4 semaines.

Quant aux accidents généraux, la toxicité varie avec l'état de santé de l'animal et plus particulièrement avec l'intensité de l'infestation parasitaire. L'expérimentation a porté à Farcha sur des bouvillons de 83 à 100 kg choisis à dessein parmi les sujets en état moyen ou quasi-débiles. Deux lots de deux animaux, de poids et d'état sensiblement identiques, ont été constitués. Les deux bouvillons du premier lot furent traités avec un anthelminthique composé (choisine 15 g/100 kg + phénothiazine 30 g/100 kg); ils reçurent 48 heures plus tard la solution de bromure de prothidium par voie intra-musculaire à la dose respective de 5 et 10 mg/kg, alors qu'ils ne rejetaient plus d'œufs d'helminthes dans les fèces.

Les animaux du deuxième lot ont reçu le bromure de prothidium sans traitement préalable contre les parasites intestinaux. Ils étaient porteurs de nombreux helminthes (bunostomes, bosicola, haemonchus).

Dans tous les cas, l'intensité du parasitisme a été évaluée par numération coproscopique des œufs avant et pendant l'expérience (tableau I).

(*) Ce produit (P.R. 2801; Prothidium M.D.) nous a été fourni pour expérimentation par Boots Pure Drug Company limited.

A la dose de 5 mg/kg, le bouvillon n° 83 non déparasité est mort au bout de 6 jours alors que celui (n° 207) qui a reçu un anthelminthique n'est mort qu'après 25 jours.

d'étiologie imprécise qui ont abouti dans certains cas à la mort 26 à 100 jours après l'injection. L'hypothèse d'accidents toxiques à longue échéance ne peut être écartée.

TABLEAU I

			ANIMAUX D'EXPERIENCE			
			1er lot		2ème lot	
			N° 83.- 87 kg	N° 204.- 93 kg	N° 207.- 94 kg	N° 186.- 83 kg
Etat parasitaire	Copros-copique	Avant dépa-rasitage	+	+++	+	0
		Anthelmin-thiques	0	0	Choisine + phénothiazine	Choisine + phénothiazine
		Avant prothidium	+	+++	0	0
		Après prothidium	+++	mort	0 → + → 0	0 → +++
	Nécrop-sique		Putréfié	+++ Bunostomes Haemonchus Bosicola	Quelques Haemonchus Paramphistomes	Quelques Bosicola
Prothidium	Dose	par kg	5 mg	10 mg	5 mg	10 mg
		totale	0,5 g	1 g	0,5 g	1 g
		voie	i.m.	i.m.	i.m.	i.m.
Lésions toxiques	Précoces	Locales	0	Produit mal résorbé	0	0
		Générales	0	mort	0	0
	Retardées	Locales	Réactions fi-breuses légères	Réactions fi-breuses légères	Réactions fi-breuses légères	Réactions fi-breuses légères
		Générales Nécrop-siques	0	0	0	0
Survie			6 jours	12 heures	25 jours	10 jours

A la dose de 10 mg/kg, le bouvillon non dépa-rasité (n° 204) est mort après 12 heures et celui (n° 186) qui a reçu un anthelminthique est mort après 10 jours.

Aux doses inférieures à 5 mg/kg il n'a pas été relevé de phénomènes toxiques à Farcha, ni à Bouar lors de l'expérimentation ultérieure. Néanmoins certains animaux traités aux doses de 3, 3,5 ou 4 mg/kg ont présenté des accidents

III. — Pouvoir trypanopréventif

1. Animaux d'expérience.

Les animaux utilisés sont de jeunes taureaux zébus m'borrora, au nombre de 22. Les poids variaient de 100 à 225 kg. Tous les animaux étaient en bon ou moyen état d'entretien.

2. Technique.

Chaque animal a été marqué à la joue et pesé. Le signalement sommaire a été fait ; un couloir de vaccination a été utilisé pour les injections. Trois lots ont été constitués : deux de huit animaux et un de six. Ce dernier lot a été acheminé immédiatement vers un pâturage sans glossines pour y constituer le lot de témoins de remplacement qui seront utilisés au fur et à mesure que les témoins des lots 1 et 2 seront infestés.

Les essais préliminaires de toxicité effectués à Farcha ayant montré que l'infestation parasitaire des animaux traités pouvait avoir une certaine influence sur leur comportement vis-à-vis du produit essayé, nous avons jugé opportun de transposer cette donnée dans l'expérience conduite sur la valeur préventive du bromure de prothidium. Les animaux ont donc été divisés en deux lots de 8 unités.

Alors que les animaux du lot n° 1 ont été utilisés sans déparasitage préalable, ceux du lot n° 2 ont reçu avant l'injection de prothidium un anthelminthique composé de phénothiazine (30 cg/kg) et de choisine (15 cg/kg) en suspension dans l'eau.

Six bouvillons non déparasités du lot n° 1 et six du lot n° 2 déparasités ont reçu en injection intra-musculaire à l'encolure une solution de bromure de prothidium à 2,5 p. 100 aux doses variant de 2 mg à 5 mg/kg (tableau II).

TABLEAU II

Prothidium doses en mg/kg	1er lot parasité	2ème lot déparasité	3ème lot en réserve
2	2	2	
3	2	2	
4	1	1	
5	1	1	
Témoins	2	2	6
Nombre total	8	8	6

Les 16 animaux des lots I et II ont été acheminés le lendemain de l'injection vers la galerie forestière de Bewiti. Aucun des animaux traités n'a paru souffrir avant ou pendant le voyage.

3. Conditions d'infestation.

Le milieu où furent placés les animaux est du type guinéen préforestier, à une altitude voisine de 700 mètres. C'est une savane arbustive coupée par une vaste et dense galerie forestière morcelée où coulent la Nana et ses affluents. La savane abonde en tabanidés et la galerie en glossines. Finelle y a signalé *Glossina fuscipes fuscipes* Newstead 1910, *G. fusca congolensis* Newstead et Evans 1921, *G. fuscipennis* Austen 1909. Nous y avons capturé *G. fusca*, *Tabanus marmorosus* Surcouf 1909, *Euancala maculatissima* Macquart 1838, *Haematopota decora* Walha 1950, *H. ciliatipes* Bequeart 1930.

Ces insectes sont maintenus en état permanent d'infestation trypanosomienne grâce à la conduite journalière dans la galerie forestière de jeunes zébus eux-mêmes infectés de *T. congolense* et *T. vivax*.

La transmission de l'affection aux animaux en expérience s'effectue donc dans les conditions les plus sévères parce qu'il s'agit en l'occurrence de passages successifs de souches de *T. congolense* et *T. vivax* sauvages par l'intermédiaire de glossines elles-mêmes sauvages ou d'insectes vecteurs mécaniques divers.

Toutes ces conditions réunies font que les expériences, ainsi conduites à Bouar le sont dans des conditions absolument naturelles et les plus sévères.

Sous la surveillance de deux bouviers de la station de Bouar, les bouvillons circulaient au moins une heure par jour sous le couvert de la forêt.

4. Contrôles.

Effectués périodiquement tous les 6 à 8 jours pendant 2 mois, puis tous les 15 à 21 jours par la suite, ils ont porté :

- sur l'état général ;
- sur les réactions locales ;
- sur la parasitémie.

Le contrôle hématologique consistait en un examen direct du sang entre lame et lamelle, en une préparation de goutte épaisse, et à partir des animaux reconnus positifs en un frottis. La coloration utilisée a été le Giemsa R.

5. Résultats.

Les réactions à l'injection de prothidium, semblables à celles observées précédemment à Farcha, n'ont jamais été inquiétantes, quoique parmi les réactions générales, il faille noter

particulièrement la gravité des entérites hémorragiques chez certains animaux.

La durée de la protection conférée par le bromure de prothidium est donnée par le tableau III.

TABLEAU III

Prothidium doses en mg/kg	Durée de la protection (en jours)	
	Animaux déparasités	Animaux parasités
2	128 - 120	128 - 120
3	187 - 0 (mort 77j)	172 - 187
4	172	120
5	0 (mort 26 j)	187

Ce tableau montre que des douze animaux en expérience, les trois derniers trypanosomés l'ont été 187 jours après avoir reçu du bromure de prothidium, aux doses respectives de 3, 3 et 5 mg/kg.

Quant aux témoins, ils ont été tous infectés en 23, 23, 32 jours au mois de juillet, en 14, 18 et 48 jours en août et en septembre.

Les trypanosomes trouvés dans le sang des animaux, dans tous les cas en infection pure, ont été *T. vivax*, le plus abondant en juillet et en novembre-décembre, et *T. congolense*, dominant entre ces deux périodes. Chez les témoins, la parasitémie a toujours été intense ou assez intense, alors que chez les animaux traités, les premiers trypanosomes apparus dans le sang ont toujours été rares ou assez rares.

IV. — Discussion

Tout d'abord, on peut dire que sur des animaux d'éleveurs qui ne sont pas maintenus en stabulation, le traitement anthelminthique ne se justifie pas, tant du point de vue toxicité du Prothidium que du point de vue gain éventuel de poids et durée de la trypanoprévention, du moins pour les doses usuelles de 2 et 3 mg/kg. Seuls les animaux débiles pourraient être justifiables de cette précaution.

Le bilan pratique du pouvoir trypanopréventif minimum du Prothidium peut s'exprimer ainsi :

Dose en mg/kg	Protection minimum
2	120 jours
3	172 —
4	120 —
5	187 —

Mais en réalité, seules les doses inférieures ou égales à 3 mg/kg semblent adéquates. Pour 2 mg/kg, il n'y a aucun incident et le temps de protection, homogène chez les 4 animaux traités, est de 120 jours au minimum. A 3 mg/kg, la protection peut être estimée à 6 mois au moins, ce qui est déjà un espace de temps très appréciable permettant de concevoir une chimio-prophylaxie de masse basée sur des expériences convenables de résultats positifs ; mais à cette dose, parfois même à la dose de 2,5 mg/kg, des accidents toxiques de gravité variable, peuvent survenir, assez rarement toutefois, chez des animaux en mauvais état, ou trop âgés, ou trop parasités, ou trop infestés de trypanosomes, ou par suite de susceptibilités particulières dont l'origine reste indéterminée. Ceci implique une évaluation du poids des animaux à traiter, aussi approchée de la réalité que possible.

Pour les dosages supérieurs à 3 mg/kg, les animaux sont irrégulièrement protégés sans que l'on puisse s'expliquer les raisons de cette irrégularité et des accidents d'étiologie incertaine sont observés sur certains sujets. En particulier, le seul cas de dermatite du type photosensibilisation observé au cours de cette expérience, correspondait à un bouvillon de 130 kg traité à 5 mg/kg, déparasité au préalable. La dermatite est apparue 15 jours après l'injection de Prothidium et la mort est survenue 26 jours après ce traitement.

Lors d'un essai du pouvoir curatif sur 2 témoins très infectés (*T. vivax*), 4 heures après l'injection, les 2 animaux se déplaçaient difficilement et semblaient sous le coup d'un choc intense. Ils avaient reçu 3,5 et 5 mg/kg. Il s'agissait vraisemblablement d'un choc trypanolytique. Ces 2 bouvillons se sont rétablis lentement.

Dans tous les cas, quelles que soient les doses utilisées, la trypanoprévention que nous avons observée en Oubangui, a été inférieure à celle signalée par les auteurs anglo-saxons :

avec 2 mg/kg, contre *T. congolense* en mode de transmission artificielle : au Tanganyika, 6 zébus sur 6 protégés plus de 6 mois et 5 sur 6 plus de 7 mois ; au Soudan, 34 zébus sur 35 protégés 4 mois et 8 mois ;

avec 2 mg/kg. contre *T. congolense*, et *T. vivax* avec infestation de glossines : au Tanganyika, 98 zébus sur 98 protégés au moins 6 mois ; au Nigéria, 11 zébus sur 12 protégés pendant 4 mois, et 8 sur 12 pendant 6 mois (forte infestation de glossines) ; au Kénya, 25 zébus protégés sur 25 au 6^e mois, 24 sur 25 au 7^e mois, et 17 bovins sélectionnés sur 25 au 6^e mois (faible infestation de glossines) ;

avec 2 mg/kg contre *T. congolense*, *T. vivax* et *T. brucei* avec forte infestation de glossines au Kénya : 24 zébus protégés sur 24 au 6^e mois, 20 sur 24 au 7^e mois ; 17 bovins sélectionnés protégés sur 21 au 6^e mois ;

avec 4 mg/kg en milieu infesté de glossines : au Tanganyika, 45 zébus sur 45 sont protégés plus de 6 mois ; au Kénya, 24 zébus sur 24 sont protégés jusqu'au 6^e mois et 22 sur 24 jusqu'au 7^e mois, et 20 bovins sélectionnés sur 20 sont protégés jusqu'au 6^e mois et 16 sur 20 jusqu'au 7^e (Robson et Milne (3) ; Watkins et Woolfe (5) ; Brownlie, Watkins et Wolfe (1)).

Deux hypothèses peuvent être avancées pour expliquer ce fait :

— La zone d'infestation naturelle que nous avons choisie était très dense en glossines très infectées.

— Les souches trypanosomiennes d'Oubangui sont de plus en plus antrycido-résistantes (Finelle). Or W.-M. Brownlie du Département de Recherches Vétérinaires Boots nous a signalé que les souches antrycido-résistantes présentent un certain degré de résistance vis-à-vis du Prothidium.

V. — Conclusion

1. Le Prothidium (M.-D.) ou R.D. 2801 s'est révélé un trypanopréventif et trypanocide intéressant sur les souches de *Trypanosoma vivax* et *T. congolense* des bovins d'Oubangui. Réalisée au titre de 2,5 p. 100 par ébullition soignée du Prothidium dans l'eau filtrée, la solution rouge intense obtenue doit être employée au jour le jour. Injectée dans le muscle, cette solution n'entraîne généralement, aux doses de 2 à 3 mg/kg, aucun accident local ou général.

2. Son pouvoir trypanopréventif pratique sur les souches locales semble être au minimum de 4 mois pour le dosage 2 mg/kg et près de 6 mois pour 3 mg/kg.

3. Il s'avère en outre un excellent curatif. Cependant, dans les cas de parasitémie intense,

il peut entraîner, comme d'ailleurs la plupart des trypanocides, un choc lytique temporaire alarmant. La protection consécutive au traitement curatif semble, à dose égale, équivalente à celle conférée par un traitement trypano-préventif pur. Ceci rend son utilisation possible sur l'ensemble des bovins d'un troupeau sans discrimination des infectés et des sains.

4. Il semble que l'on puisse envisager d'emblée un traitement sur une grande échelle. Si l'on s'en tient aux précautions énoncées plus haut, les accidents doivent pouvoir être évités. Les traitements préventifs à la dose de 2 mg/kg devront obligatoirement être renouvelés tous les 3 à 4 mois si les animaux restent dans des zones infectées, afin de diminuer le risque d'une éventuelle apparition de souches trypanosomiennes prothidium-résistantes.

5. Enfin pour simplifier la posologie, il est possible de fixer des doses standard. Elles sont évidemment assez strictes pour les bouvillons de poids inférieur à 200 kg mais au-dessus de 500 kg elles sont larges. Quoi qu'il en soit, ces doses standard ne doivent pas être dépassées sous peine de voir apparaître des accidents toxiques directs ou indirects.

Poids vif	Volume à injecter
50 à 75 kg	6 cm ³ de la solution 2,5 p. 100
75 à 100 kg	8 cm ³ — —
100 à 150 kg	12 cm ³ — —
150 à 200 kg	16 cm ³ — —
200 à 300 kg	25 cm ³ — —
300 à 300 kg	45 cm ³ — —
500 à 800 kg	65 cm ³ — —

BIBLIOGRAPHIE

- BROWNLIE (W.-M.), WATKINS (T.-I.) et WOOLFE (G.). — **Prothidium = essais en laboratoire et sur le terrain**, déc. 1957. Publ. Boots Pure Drug Co Ltd. Nottingham (Angleterre).
- FINELLE (P.). — **Les trypanosomoses bovines dans l'Ouest de l'Oubangui-Chari**. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays Trop.*, 1957, 10, n° 3, 231-47.
- ROBSON (J.) et MILNE (A.-H.). — **A Preliminary Trial with three New Drugs as Prophylactics Against Trypanosoma congolense in Zebu Cattle**. *Vet. Rec.*, 1957, 69, 564-6.
- West African Institute for Trypanosomiasis Research. **Annual Report 1955**.
- WATKINS (T.-I.) et WOOLFE (G.). — *Nature* 1956, 178, 368.

SUMMARY

Research on Prothidium. 1. Solubility, Toxicity; The Prophylactic Value under Natural Infestation in Oubangui-Chari (A.E.F.)

The author declares the conditions under which he has experimented with Prothidium. This chemical is soluble in boiling water at between 2,5-3 p. 100, but in order to prevent the development of a precipitate the solution should be utilised the same day. Toxicity depends on the general health of the animals and particularly on their degree of intestinal parasitism. In doses of 2-3 mg/kg inoculated inter-muscularly in an aq. solution of 2,5 p. 100 prothidium causes no local or general reaction.

The prophylactic value of this drug against *T. vivax* and *T. congolense* has been examined in young Zebu cattle placed under conditions of severe infection. The author estimates that under such conditions the minimum duration of protection is 120 days for a dose of 2 mg/kg and 180 days for a dose of 3 mg/kg. He notes also the interesting trypanocidal value of prothidium.

RESUMEN

Investigaciones sobre el prothidium. I. Solubilidad, toxicidad valor preventivo en condiciones de infestacion natural en Oubangui-Chari

El autor expone las condiciones en las cuales él ha experimentado el prothidium (M.D.). El producto es soluble en agua hirviente a 2,5 o 3 por 100 ; pero a fin de evitar la formación de un precipitado la solución debe ser utilizada el mismo día.

La toxicidad está en función del estado general de los animales y particularmente de su grado de parasitismo intestinal, pero a dosis de 2 a 3 mg/kg inyectados por vía intramuscular en solución acuosa al 2,5 por 100 el prothidium no entraña ningún accidente local ni general.

El valor preventivo del producto ha sido ensayado contra el *T. vivax* y el *T. congolense* en cebús jóvenes sometidos a las mas severas condiciones naturales de infestación.

El autor estima en este caso que la duración de la protección mínima es de 120 dias para una dosis de 2 mg/kg y de 180 dias para una dosis de 3 mg/kg. El autor nota en fin que el prothidium posee cualidades tripanocidas interesantes.