

Résumé. — Le milieu de gélose-sang préparé avec du sang d'Anca a été très inférieur au milieu de Löwenstein-Jensen pour l'isolement du *M. tuberculosis* à partir des crachats. Nous croyons que la différence entre ces résultats et ceux d'autres auteurs (1), qui ont trouvés les deux milieux équivalents, doit provenir de l'emploi du sang d'oiseaux d'une espèce différente.

(Institut de Bactériologie Camara Pestana, Directeur M. Candido de Oliveira et Service de Phthisiologie des Hôpitaux de Lisbonne Dir. M. M. de Almeida, et Centre d'Etudes de Bactériologie).

Sur le mécanisme de l'action éosinopénisante de l'adrénaline chez le Rat.

par R. IRIARTE PEIXOTO et J. DAVID FERREIRA.

Dans une note antérieure, nous avons rapporté, confirmant des observations de Recant et coll. que, au moins dans certaines souches de Rats, la simple manipulation est capable de produire des modifications hématologiques parmi lesquelles une éosinopénie notable (1).

Il est évident que cette altération hématologique produite par la manipulation introduit une grave difficulté dans l'interprétation des expériences qui ont pour but d'étudier l'action d'un agent pharmacologique quelconque sur la formule sanguine du Rat. Dans le but de tourner une telle difficulté, Henning et coll. (2) ont proposé de toujours faire l'étude de la réaction d'alarme induite pharmacologiquement, sur des Rats sélectionnés au préalable, de façon à ce que leur niveau initial d'éosinophiles soit déterminé et qu'ils ne réagissent pas d'une façon appréciable à l'injection intrapéritonéale de sérum glucosé, tout en réagissant de façon adéquate à l'injection d'adrénaline.

L'éosinopénie de manipulation a été interprétée, d'une manière schématique, comme le résultat d'une excitation du système nerveux central qui, probablement à travers la sécrétion de substances adrénérgiques, agirait sur l'hypophyse avec production d'hormone corticotrophique et, par conséquent, des corticoïdes surréniaux.

On admet classiquement que l'action éosinopénisante de l'injection d'adrénaline se produit toujours, en dernière analyse, à travers la sécrétion de stéroïdes du type glycogénique par le cortex surrénal.

(**) Travail fait, en partie, dans le Centre d'Etudes de Bactériologie de l'Institut de Haute Culture.

(1) R. Iriarte Peixoto, A. Rosario Dias et J. David Ferreira, *Rev. Ibérica de Endocrin.*, 1954, t. 7, p. 469.

(2) A. E. Henning, M. F. Sax et D. E. Holthcamp, *J. of Pharm. and Exp. Therap.*, 1952, t. 106, p. 271.

lesquels, grâce à un mécanisme encore discuté (lyse des éosinophiles ?) font baisser le nombre des éosinophiles circulants (3).

D'après Long, l'adrénaline peut agir par l'un des trois mécanismes suivants : 1) stimulation de la sécrétion d'ACTH par l'hypophyse ; 2) augmentation de l'utilisation des corticoïdes circulants avec réponse compensatrice corticale ; 3) action directe stimulatrice du cortex. Mais les glyco-corticoïdes interviennent toujours, dans ces hypothèses, comme les responsables directs de l'éosinopénie.

Dernièrement, cependant, certains auteurs comme Jacobsen et Hortling (4), de Fossey (5), Rüppel (6) et Halberg (7) se basant soit sur des expériences personnelles soit sur des travaux cités dans la littérature, ont admis que l'adrénaline peut avoir aussi une action directe sur les éosinophiles, en abaissant le nombre de ces éléments par un mécanisme indépendant de la sécrétion des corticoïdes glyco-géniques.

Les auteurs qui nient la notion classique se basent sur des expériences dans lesquelles on a constaté des baisses significatives des éosinophiles chez des Rats surrénalectomisés, auxquels on avait administré l'adrénaline. Ces résultats sont en parfaite contradiction avec ceux qui ont servi à établir la notion classique.

Impressionnés par ces divergences, nous avons cherché à acquérir une expérience personnelle de cette question. Nous avons, dès le début, posé l'hypothèse selon laquelle les Rats chez qui l'adrénaline produisait de l'éosinopénie n'étaient pas complètement surrénalectomisés. En effet, ainsi que Gilman et Goldberg (8) entre autres, le font remarquer, la présence et la distribution de tissu cortical accessoire dans certaines souches de Rats rend impossible la suppression de toutes les sources d'hormones surrénales endogènes. Même en utilisant l'injection de désoxycorticostérone qui, d'après Halberg, évite l'hypertrophie du tissu accessoire, on n'est pas absolument sûr que, chez certains animaux, il ne se produise pas, sous l'action du stimulus adrénalinique, une sécrétion appréciable de corticoïdes surrénaux.

Il nous est apparu que la meilleure façon de résoudre le problème serait de soumettre chaque animal surrénalectomisé à un test consistant à lui administrer 10 unités d'ACTH. On exclurait ainsi des essais pharmacologiques ceux qui réagissent encore à l'ACTH par une éosinopénie appréciable. Ces animaux ne seraient, en effet, surréno-prives qu'en apparence.

Matériel et méthodes. — 1. ANIMAUX D'EXPÉRIENCE. — On a utilisé des Rats blancs mâles du commerce. Ils ont été maintenus à jeun pendant chaque période d'observation. Le poids des animaux oscille entre 100 et 175 g.

2. MÉTHODES HÉMATOLOGIQUES. — On a obtenu les échantillons de sang en coupant la pointe de la queue avec une lame affûtée. Le sang

(3) R. S. Speirs et R. K. Meyer, *Endocrinol.*, 1949, t. 45, p. 403.

(4) T. Jacobson et H. Hortling, *Acta Endocrinol.*, 1954, t. 15, p. 265.

(5) M. De Fossey et G. H. Deltour, *Ann. d'Endocrinol.*, 1950, t. 11, p. 4.

(6) W. Rüppel et A. Hitzelberger, *Schweiz. Med. Wchschr.*, 1951, t. 31, p. 926.

(7) F. Halberg, *J. of Pharmac. and Exp. Therap.*, 1952, t. 106, p. 135.

(8) J. Gilman et Goldberg, *Endocrinol.*, 1942, t. 31, p. 201.

a été aspiré, autant que possible sans pression, la pipette de comptage des globules blancs (pipette automatique de Trenner) a été remplie de façon à obtenir une dilution à 1/20, après quoi on agitait 50 fois. On a utilisé la solution recommandée par Randolph et dont la formule est la suivante : 1) Solutions « stock » : A. solution de bleu de méthylène à 0,1 % dans le propylène glycol ; B. solution de phloxine à 0,1 % en propylène glycol. 2) Solutions de travail : Solution A, plus une portion égale d'eau distillée ; Solution B, plus une portion égale d'eau distillée. On mélange un nombre égal de gouttes des deux solutions ; on obtient de la sorte le liquide de dilution nécessaire pour le comptage des globules blancs.

Avec ce liquide les globules rouges sont complètement détruits, les lymphocytes, les monocytes et les neutrophiles se colorent en bleu, les éosinophiles se détachent par leur coloration intense.

Les comptages ont été faits dans la chambre de Fuchs-Rosenthal de 0,2 mm d'épaisseur, sous un faible grossissement. Pour les éosinophiles nous avons compté deux chambres, c'est-à-dire quatre champs, pour chaque détermination. On a employé la formule suivante : comptage moyen par champ $\times 100 : 16 =$ éosinophiles par mm³.

En plus du comptage direct des éosinophiles, objectif fondamental de nos essais, on a procédé au comptage des leucocytes totaux dans la chambre de Fuchs et à l'étude de la formule leucocytaire par frottis sur la lame et coloration au Leishmann. La présente note ne se rapporte qu'aux variations des éosinophiles.

Le nombre de neutrophiles et de lymphocytes par mm³ a été calculé à partir du nombre total des leucocytes et du pourcentage de ces éléments déterminé dans le frottis.

3. SURRÉNALECTOMIE. — Nous avons fait les surrénalectomies chez le Rat selon la technique préconisée par Recant. Les rats ont été maintenus en vie par des injections de 2,5 mg de désoxycorticostérone en microcristaux. On leur a fourni, en plus de la nourriture habituelle, de l'eau sucrée et de l'eau contenant du chlorure de sodium à 1 %. La température ambiante après l'opération a oscillé entre 24° et 26°.

4. MÉDICAMENTS. — On a utilisé l'ACTH à la dose de 10 U diluées dans 1 cm³ de sérum physiologique, et l'adrénaline à la dose de 100 gammas dilués dans 1 cm³ de sérum physiologique. On a injecté les deux médicaments par voie intrapéritonéale.

Résultats. — Parmi les 20 rats surrénalectomisés auxquels nous avons au préalable administré de l'ACTH, 12 ont présenté des baisses de pourcentages qui ont oscillé entre + 8 % et — 28 %. La moyenne des baisses a été de — 3 %. Il n'y a donc pas eu de variation significative. Nous en avons donc conclu qu'ils étaient effectivement surrénalectomisés.

Avec l'adrénaline les baisses en pourcentage ont oscillé entre + 20 et — 58 %. La moyenne des baisses a été de — 7 %. Il n'y a donc pas eu non plus de variation significative des éosinophiles sous l'action de l'adrénaline.

Le tableau suivant (tableau I) reproduit les résultats obtenus dans chaque animal.

Rat N°	ACTH (10 U, voie intrapéritonéale)				Adrénaline (100 γ, voie intrapéritonéale)			
	Eosinophiles par mm ³ avant l'injection	Eosinophiles par mm ³ 4 heures après	Baisse absolue (*)	Baisse relative (%)	Eosinophiles par mm ³ avant l'injection	Eosinophiles par mm ³ 4 heures après	Baisse absolue	Baisse relative (%)
P ¹	1.500	1.625	-125	- 8	1.062	1.025	+ 37	+ 4
M ¹	1.750	1.606	+144	+ 8	1.937	1.556	+381	+20
F ¹	1.994	1.900	+ 94	+ 5	1.681	1.662	+ 19	+ 1
P ²	1.587	1.506	+ 81	+ 5	1.238	1.250	- 12	- 1
B.....	612	600	+ 12	+ 2	606	631	- 25	- 4
M ²	537	562	25	- 5	575	600	- 25	- 4
G.....	418	437	19	- 5	518	562	- 44	- 8
M ³	250	319	69	-28	320	356	- 36	-11
P ³	1.281	1.356	75	- 6	1.343	1.362	- 29	- 2
P ⁴	1.058	1.100	42	- 4	1.137	1.206	- 69	- 6
M ⁴	918	975	57	- 6	981	1.100	-119	-12
M ⁵	243	237	+ 6	+ 2	412	650	-238	-58

(*) Les baisses avec signe positif représentent une baisse du nombre d'éosinophiles. Les baisses négatives représentent une augmentation du nombre d'éosinophiles.

Tableau I.
Animaux chez lesquels on n'a pas constaté d'éosinopénie ni avec l'ACTH ni avec l'adrénaline.

Les huit animaux restants ont montré une éosinopénie appréciable après l'injection d'ACTH. Les baisses relatives du pourcentage ont oscillé entre +80 et +22. La moyenne des baisses a été de +45 %. On doit en conclure que ces animaux n'étaient pas complètement surrénalectomisés.

En ce qui concerne leur comportement vis-à-vis de l'injection d'adrénaline on peut diviser ces animaux en deux sous-groupes. Un sous-groupe de 5 animaux a montré une baisse relative du pourcentage avec l'adrénaline. Les baisses ont oscillé entre +90 % et +8 %. La moyenne a été de +39 %. Le tableau II se rapporte à ce sous-groupe. Nous interprétons cette éosinopénie adrénalinique chez des

rats apparemment surrénalectomisés comme étant due à la présence de restes surrénaux.

Rat N°	ACTH (10 U, voie intrapéritonéale)				Adrénaline (100 γ, voie intrapéritonéale)			
	Eosinophiles par mm ³ avant l'injection	Eosinophiles par mm ³ 4 heures après	Baisse absolue	Baisse relative (%)	Eosinophiles par mm ³ avant l'injection	Eosinophiles par mm ³ 4 heures après	Baisse absolue	Baisse relative (%)
E ¹	494	213	+218	+57	519	356	+163	+31
P ¹	138	94	+ 44	+32	131	69	+ 62	+47
J.....	906	518	+388	+43	1181	937	+244	+21
F.....	312	62	+250	+80	181	18	+167	+90
B.....	315	244	+ 71	+22	338	312	+ 26	+ 8

Tableau II.

Animaux chez lesquels ni l'ACTH ni l'adrénaline n'ont produit des éosinopénies nettes.

Trois des animaux chez lesquels on a enregistré une éosinopénie avec l'ACTH ont montré une élévation du nombre des éosinophiles. Les baisses du pourcentage ont oscillé entre — 48 et — 6 et la moyenne des baisses a été de — 23 % (tableau III).

Rat N°	ACTH (10 U, voie intrapéritonéale)				Adrénaline (100 γ, voie intrapéritonéale)			
	Eosinophiles par mm ³ avant l'injection	Eosinophiles par mm ³ 4 heures après	Baisse absolue	Baisse relative (%)	Eosinophiles par mm ³ avant l'injection	Eosinophiles par mm ³ 4 heures après	Baisse absolue	Baisse relative (%)
V.....	225	150	+ 75	+33	537	568	— 31	— 6
E ²	500	294	+206	+41	605	894	—289	—48
R ¹	362	168	+194	+54	312	356	— 44	—14

Tableau III.

Animaux chez lesquels l'ACTH a produit une éosinopénie nette et l'adrénaline une augmentation du nombre d'éosinophiles.

L'analyse comparative des trois tableaux ne fournit aucun appui à la doctrine selon laquelle l'adrénaline exerce une action éosinopénisante directe sur l'effecteur périphérique.

Conclusions. — 1. Il a été confirmé dans notre série d'expériences que la surrénalectomie élimine le « stress » de manipulation dans la mesure où celui-ci se traduit par une éosinopénie.

2. Ces expériences permettent d'appuyer la notion classique selon laquelle l'éosinopénie adrénalinique provient en dernière analyse d'une activation du cortex surrénal.

3. Les résultats obtenus par les auteurs qui soutiennent l'existence d'une action éosinopénisante directe de l'adrénaline doivent être attribués, à notre avis, au fait que les animaux utilisés par eux n'étaient pas totalement surrénalectomisés.

4. L'injection préalable d'ACTH aux animaux opérés permet de vérifier si on a réellement enlevé toutes les sources de corticoïdes endogènes, et d'éviter par conséquent les erreurs ultérieures dans l'appréciation de l'action de l'adrénaline, ou de quelque autre médicament, sur le nombre des éosinophiles circulants.

Résumé. — Les auteurs ont étudié, sur des rats surrénalectomisés l'action de l'adrénaline en injection intra-péritonéale sur le nombre des éosinophiles. Ils ont constaté que chez ces animaux l'adrénaline ne possède pas d'action éosinopénisante.

Ils ont confirmé le critère classique selon lequel, chez l'animal intact ou incomplètement surrénalectomisé, l'adrénaline a une action éosinopénisante due, en dernière analyse, à une sécrétion de corticoïdes.

Les expériences contraires qui décrivent une action directe de l'adrénaline sur les éosinophiles dans le sens d'une baisse du nombre de ces éléments doivent, selon l'opinion des auteurs, être dues à ce que, dans ces expériences, on a utilisé des rats incomplètement surrénalectomisés.

Dans le but de vérifier l'efficacité de la surrénalectomie chez le Rat, les auteurs recommandent l'essai préliminaire systématique avec 10 U d'ACTH par voie intrapéritonéale (*).

*(Institut de Pharmacologie, Faculté de Médecine de Lisbonne
et Centre d'Etudes endocrinologiques et embryologiques.*

(*) Nous remercions le Professeur Neves e Castro de nous avoir enseigné la technique d'extirpation des glandes endocrines. Nous remercions aussi la Maison Ciba de nous avoir généreusement fourni l'ACTH et le percorten cristallifère, et le Dr. Aluisio Marques Leal pour la solution millésimale récemment préparée, qu'il nous a procuré.