

## Problèmes posés par l'emploi de la streptomycine dans le traitement de la gonococcie

PIERRE DUREL<sup>1</sup>, VÉRA ROIRON<sup>2</sup> & LOUIS DELOUCHE<sup>3</sup>

*Depuis 1951-52, la streptomycine est largement utilisée en France, de préférence à la pénicilline, pour le traitement de la gonococcie, et son emploi a été recommandé en 1954 par la Commission des Maladies vénériennes du Conseil permanent d'Hygiène, du Ministère de la Santé. Les auteurs étudient l'influence de cette thérapeutique généralisée sur la sensibilité du gonocoque au laboratoire et en clinique.*

*Sur 341 souches examinées, 76,5% n'étaient inhibées que par 50 µg/ml, et pour 23,2%, il fallait au moins 1000 µg/ml. Les souches résistantes à la streptomycine ne restent que partiellement sensibles à la pénicilline, sans que l'on puisse parler cependant d'une réelle résistance croisée.*

*La fréquence des échecs du traitement a conduit à ajouter du sulfathiazol à la streptomycine.*

*En conclusion, les auteurs estiment qu'il faut prévoir le remplacement prochain de la streptomycine dans le traitement de la gonococcie, ou du moins son renforcement par d'autres substances, ce qui n'est pas sans poser de sérieux problèmes pratiques.*

Dans la plupart des pays, la pénicilline est l'antibiotique de choix opposé à la gonococcie. Devant la baisse de sensibilité d'un nombre croissant de souches de gonocoques à cet antibiotique et devant l'augmentation du nombre des échecs après des doses autrefois actives, on peut se demander si l'on ne devra pas recourir, dans un avenir plus ou moins proche, à un autre antibiotique.

Tous les vénéréologues hésitent à prescrire des produits actifs par voie buccale, car les malades auront vite appris à se traiter eux-mêmes, ils se traiteront mal et, surtout, il deviendra impossible de découvrir les partenaires infectés et de faire cesser le danger que représente, chez elles, la latence de l'infection.

Pratiquement et actuellement, le seul antibiotique injectable, en dehors de la pénicilline, est la streptomycine. En France, pour les raisons que nous exposerons, on recourt peu à la pénicilline, et la streptomycine, ou la dihydrostreptomycine (DHS) est très largement employée depuis 1951/52. Il peut donc

être intéressant de savoir quelle est, maintenant, la situation, du point de vue bactériologique et clinique.

En France, la streptomycine a été préférée à la pénicilline dans la gonococcie, pour deux raisons:

1. La principale est la crainte que la pénicilline masque une syphilis en incubation. On connaît ce problème et l'on sait que des doses de pénicilline inférieures à 1,2 million d'unités internationales (UI) par exemple, peuvent retarder le début clinique de la syphilis d'un temps égal à la durée du séjour de l'antibiotique dans l'organisme, et peut-être même en rendre trompeurs les signes cliniques initiaux. Cette juste crainte a motivé les recommandations formulées, en faveur de la streptomycine, par la Commission des Maladies vénériennes du Conseil permanent d'Hygiène sociale du Ministère de la Santé publique, en mars 1954. Cette crainte a été étendue dans certains milieux médicaux d'une manière excessive, comme nous avons eu l'occasion de le montrer ailleurs (Durel & Hardy, 1957).

On a publié par exemple, comme syphilis masquée, le cas d'un soldat qui avait reçu 12 millions d'UI de pénicilline (pour une blessure), qui avait à ce moment et un an après une sérologie négative, dont la partenaire présentait une syphilis une nouvelle année après, à un moment où lui-même présentait une syphilis clinique. Cette syphilis fut considérée comme anté-

<sup>1</sup> Médecin Chef du Dispensaire de Salubrité, Directeur du Centre des Urétrites non gonococciques, Institut Alfred Fournier, Paris.

<sup>2</sup> Chef de Laboratoire, Centre des Urétrites non gonococciques, Institut Alfred Fournier, Paris.

<sup>3</sup> Attaché de Consultation à l'Hôpital Saint-Louis, Service du D<sup>r</sup> Delinotte.

rieure à la blessure et retardée deux ans par les 12 millions d'unités de pénicilline!

Malheureusement il y a eu toute une série de publications semblables, et peu à peu s'est ancrée l'idée que la pénicilline, quelle que soit la dose, camouflait la syphilis, et la pénicilline ne fut à peu près plus employée dans la gonococcie.

2. La deuxième raison est la crainte de voir survenir un accident grave à l'occasion du traitement d'une maladie bénigne.

Tout ceci fait que le traitement courant d'une gonococcie en France est la streptomycine ou la dihydrostreptomycine (DHS) en deux injections de 1 g données à 4-6 heures d'intervalle.

## RECHERCHES BACTÉRIOLOGIQUES<sup>1</sup>

Nous avons étudié, la sensibilité à la streptomycine, de 341 souches de gonocoques isolées d'octobre 1958 à février 1960.

### MÉTHODE

A l'exception d'une femme et de 4 fillettes, tous les malades étaient des hommes. Les souches étaient, évidemment, prélevées avant traitement de l'urétrite actuelle. Les prélèvements étaient effectués sur place à l'aide d'écouvillons de coton stériles, introduits ensuite dans le milieu de transport et apportés au laboratoire dans la journée. Ce milieu est le suivant:

Gélose . . . . .	3 g
Peptone bactériologique . . .	20 g
Acide <i>p</i> -aminobenzoïque	0,1 g
Solution de cristal violet à 1%	0,5 ml
Eau distillée	1000 ml

Répartir en tubes de 10×120 mm, 2 ml par tube, stériliser à l'autoclave, 30 minutes à 120°C.

Dès réception, les ensemencements étaient faits à la surface de une ou deux boîtes de Petri contenant notre milieu de culture (Roiron, 1954) à base de plasma de cheval:

A. Ajouter à 100 g de viande de bœuf, dégraissée et hachée, 500 ml d'eau du robinet. Alcaliniser par 15 ml de NaOH N et chauffer 5 minutes à 75°-80°C. Après refroidissement à 40°C, ajouter 0,2 g de poudre de trypsine<sup>2</sup> et placer le tout à l'étuve à 37° pendant 6 heures. Au bout de ce temps, arrêter la digestion trypsique par 0,7 ml d'acide acétique et par 10 minutes d'ébullition. Garder au frais la nuit. Le lendemain, filtrer sur gaze et sur papier.

B. D'autre part, dissoudre 12,5 g de gélose dans 500 ml d'eau salée à 1%.

C. Mélanger à parties égales A et B, ajouter 1 g de glucose et 5 g de PO<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>H cristallisé. Ajuster le

pH à 7,4 avec NaOH N. Répartir en ballons et autoclaver à 110° pendant 30 minutes.

Au moment de l'emploi, fluidifier un ballon du milieu au bain-marie, laisser refroidir à 50°-60° et ajouter 20% de plasma de cheval, citraté à 5% et stérilisé par filtration sur Seitz.

Pour l'étude des fermentations sucrées, utiliser l'ascite à la place de plasma de cheval, trop riche en glucose par lui-même.

Le milieu sans plasma se conserve 6 mois à la température du laboratoire.

Les boîtes étaient placées à l'étuve à 36°C en atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> par une bougie allumée dans une boîte hermétiquement close et contenant un récipient d'eau. Au bout de 24 heures, les colonies de gonocoques (contrôlées par un examen microscopique et la réaction d'oxydation) étaient repiquées. Au besoin les repiquages étaient répétés plusieurs jours de suite jusqu'à l'obtention d'une culture pure qui était ensuite identifiée par l'étude des fermentations sucrées.

Pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, ces derniers furent incorporés à doses croissantes au même milieu de culture fluidifié et refroidi à 50° et ensuite coulé en boîtes de Petri. Dans chaque série, une boîte ne contenant pas d'antibiotique servait de témoin de pousse.

Au début du travail un ensemencement direct fut utilisé mais ensuite on adopta l'ensemencement d'une suspension de germes en sérum physiologique évaluée à 25×10<sup>6</sup> germes par mm<sup>3</sup>.

Les deux sortes d'ensemencements ont donné des résultats sensiblement comparables. Mais la suspension, au cours des tests de sensibilité répétés pour les mêmes souches, s'est montrée plus fidèle.

Chaque boîte de Petri recevait 4-6 souches différentes ensemencées sur 2 cm<sup>2</sup> de surface, un espace de même valeur au moins était prévu entre les souches.

La lecture des boîtes était faite après 48 heures d'incubation. A ce moment, la surface était aspergée

<sup>1</sup> Institut Alfred Fournier, Centre des Urétrites.

<sup>2</sup> Trypsine préparée à partir de pancréas de porc (Laboratoire Choay, Paris).

avec une solution à 1% de chlorhydrate de *p*-diméthylphénylènediamine fraîchement préparée. Grâce à la clarté du milieu utilisé, la réaction d'oxydation était visible d'emblée et rendait la lecture très facile. La sensibilité de la souche était définie par la dose minimum inhibitant complètement la pousse du germe dans la boîte à laquelle l'antibiotique était incorporé. Elle est exprimée en  $\mu\text{g}$  par ml de milieu de culture.

## RÉSULTATS

*Streptomycine*

	$\mu\text{g/ml}$	Nombre	%
Souches sensibles * à	2,5	33	9,7
„	5	69	20,2
„	10	133	39,0
„	50	26	7,6
„	500	1	0,3
„	1000	1	0,3
résistantes** à	1000	78	22,9
		341	100

\* Sensible à  $\geq$  la concentration indiquée.

\*\* Résistance à  $\leq$  la concentration indiquée.

Si l'on considère que le seuil d'activité thérapeutique est de  $50 \mu\text{g/ml}$  nous n'avons donc trouvé que 76,5% de souches de gonocoques sensibles à la streptomycine.

Nous nous sommes posé la question de savoir si cette sensibilité variait en fonction de l'époque à laquelle les souches furent recueillies.

D'octobre 1958 à fin juillet 1959, 233 souches furent examinées: 20% étaient résistantes à  $> 1000 \mu\text{g/ml}$ .

D'octobre 1959 à fin février 1960, sur 108 souches, 28% étaient résistantes à cette concentration.

Les chiffres sont trop faibles pour être significatifs; ils donnent cependant l'impression que la situation s'aggrave lentement.

Nous n'avons évidemment pas limité notre étude à la seule streptomycine et il est peut-être intéressant d'indiquer les chiffres trouvés pour d'autres antibiotiques:

*Pénicilline G (sel de sodium)*

UI	$\mu\text{g/ml}$	Nombre	%
Souches sensibles à 0,025	= 0,015	165	50,5
„	= 0,050	72	22,0
„	= 0,100	53	16,2
„	= 0,250	18	5,5
„	= 0,500	15	4,6
„	= 1	1	0,3
„ résistantes à 1	= 0,600	3	0,9
		327	100

En général, on s'accorde pour considérer comme sensibles les souches qui sont inhibées par 0,05 UI et moins. Dans notre étude, 72,5% des souches seraient sensibles et 27,5% résistantes ou, plus exactement, moins sensibles. En effet, dans le cas de la pénicilline et du gonocoque, il est difficile de parler de résistance: l'augmentation de la dose a, en général, raison de l'infection.

L'étude de la sensibilité à la pénicilline permet de comparer la sensibilité aux deux antibiotiques des 76 souches qui étaient résistantes à  $1000 \mu\text{g/ml}$  de streptomycine.

*Sensibilité comparée à la streptomycine et à la pénicilline*

Les 76 souches résistantes à  $1000 \mu\text{g/ml}$  de streptomycine présentent la sensibilité suivante à la pénicilline:

Concentration de la pénicilline (UI/ml)	Nombre de souches
$> 1$	0
1	2
0,5	1
0,25	7
0,100	22
0,05	21
0,025	23

Ainsi, 44 des 76 souches résistantes à la streptomycine peuvent être considérées comme sensibles à la pénicilline. Il n'y a donc pas résistance croisée, mais ces souches sont quand même moins sensibles à la pénicilline que les souches non sélectionnées (57,9% contre 72,5% dans notre expérience).

*Tétracycline (chlorhydrate)*

	$\mu\text{g/ml}$	Nombre de souches	%
Souches sensibles à	0,12	39	63
„	0,25	21	34
„	0,50	2	3
		62	100

*Spiramycine*

	$\mu\text{g/ml}$	Nombre de souches	%
Souches sensibles à	0,12	6	10
„	0,25	38	62
„	0,50	16	26
„	1	1	2
		61	100

D'après notre expérience clinique, une concentration de  $1 \mu\text{g/ml}$  maintenue 5-6 heures assure la

guérison de l'urétrite masculine. On peut donc considérer que toutes nos souches ont été sensibles.

### Sulfathiazol

	$\mu\text{g/ml}$	Nombre de souches	%
Souches sensibles à	2	45	29,2
“	10	62	40,3
“	50	37	24,0
“	100	6	3,9
résistantes à	100	4	2,6
		<hr/> 154	<hr/> 100

Si on admet, avec d'autres auteurs, que les souches inhibées *in vitro* par 50  $\mu\text{g/ml}$  et moins sont sensibles au produit, nous trouvons que 93,5% des 154 souches étudiées le sont.

### DISCUSSION

Ces résultats indiquent que 23,2% des souches que nous avons isolées étaient donc résistantes à la streptomycine, à la concentration énorme de 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Un tel taux n'est pas atteint dans l'organisme, et on verra plus loin que les malades ne guérissent pas par la streptomycine.

On sait qu'au Danemark où le traitement courant de la gonococcie est la pénicilline. A. Reyn et al. (1958), pour des souches isolées en 1957 chez des malades ayant déjà subi un traitement par la streptomycine, n'ont trouvé que 4 souches sur 204 (1,96%) résistantes à une très forte concentration de streptomycine (2048  $\mu\text{g/ml}$ ). Il est donc probable que nos pourcentages élevés de souches résistantes sont dus à la généralisation de l'emploi de la streptomycine dans notre pays.

On sait également que d'autres germes, en particulier le bacille tuberculeux, acquièrent rapidement une résistance à la streptomycine, et, si l'on déplore la résistance observée chez le gonocoque, on ne doit pas trop s'en étonner.

Un certain degré de résistance croisée avec la pénicilline semble exister: les souches insensibles à

la streptomycine sont moins sensibles à la pénicilline que les souches non sélectionnées. Toutefois, dans l'ensemble, cette résistance croisée n'est pas évidente.

Les recherches faites sur d'autres antibiotiques et sulfamides ont montré que le sulfathiazol a retrouvé son activité initiale; ceci a d'ailleurs déjà été remarqué, en particulier par Love & Finland (1955), par Craddock-Watson et al. (1958), et les sulfamides peuvent sans doute figurer, pour une nouvelle période, dans l'arsenal antigonococcique.

En dehors des résultats précédents, la présente étude a permis d'autres recherches qui seront exposées en détail ailleurs<sup>1</sup> mais que l'on peut signaler:

1. Nous avons comparé la méthode des disques (disques de l'Institut Pasteur, Paris) avec la méthode des dilutions rappelée plus haut. La concordance a été excellente pour la pénicilline et pour la streptomycine (moindre pour le sulfathiazol). Les laboratoires ne désirant pas employer la méthode des dilutions pourraient donc recourir à la méthode des disques.

2. Dans l'idée de rendre plus facile le travail des laboratoires de clinique n'ayant pas le temps d'isoler les souches de gonocoques avant d'en étudier la sensibilité, nous avons comparé à notre méthode habituelle l'antibiogramme courant fait sur l'ensemble des sécrétions urétrales, sans isolement préalable du gonocoque. Cet antibiogramme, utilisant les disques, donne une approximation satisfaisante de la sensibilité, sous condition d'employer un milieu clair sur lequel la réaction d'oxydation est nette et de disposer d'un prélèvement suffisamment riche en gonocoques pour obtenir des colonies sur toute la boîte. Il faut, en outre, ne pas perdre de vue que la réaction d'oxydation est positive avec tout le groupe *Neisseria*; cette technique ne permet donc pas d'être sûr qu'il s'agit de *N. gonorrhoeae* (bien que la présence de ce germe soit évidemment très probable dans un écoulement urétral).

### RECHERCHES CLINIQUES<sup>2</sup>

Nous avons abordé le problème de la résistance thérapeutique à la streptomycine de deux façons: 1. en comparant les pourcentages de guérison selon des tranches chronologiques; 2. en recherchant s'il y avait ou non parallélisme entre la sensibilité des

souches et la réponse au traitement. Il ne s'agit là que de cas masculins d'urétrite non compliquée.

### RÉSULTATS

Du 1<sup>er</sup> janvier 1957 jusqu'au 1<sup>er</sup> novembre 1958, les malades ne furent traités que par 2 g de dihydro-

<sup>1</sup> A paraître en 1961 dans les *Annales de l'Institut Pasteur*.

<sup>2</sup> Hôpital St-Louis, Service du D<sup>r</sup> Delinotte.

streptomycine (1 g dans la matinée, 1 g 4-6 h après). A ce moment, le pourcentage des échecs nous a inquiété et nous avons renforcé le traitement précédent par la prescription de 4 g de sulfathiazol par jour pendant 5 jours. Ceci a amélioré les résultats, mais l'insuffisance de ceux-ci devient de nouveau préoccupante. Les chiffres figurent au tableau 1.

TABLEAU 1  
POURCENTAGE DES ÉCHECS DU  
TRAITEMENT DES URÉTRITES EN FONCTION DE LA  
PÉRIODE DE TRAITEMENT

Thérapeutique	Période	Nombre de sujets traités	Nombre d'échecs	%
Didromycine 2 g en 2 inj. à 4-6 heures d'intervalle	Année 1957	3119	307	9,8
	Du 1. I. 58 au 30. X. 58	2471	336	13,6
DHS (même dose que ci-des- sus) + sulfathiazol (20 g en 5 j.)	Du 1. XI. 58 au 30. IV. 59	1462	120	8,2
	Du 1. V. 59 au 30. X. 59	1716	156	9,1
	Du 1. XI. 59 au 30. IV. 60	1614	155	9,6
	Du 1. VII. 60 au 30. IX. 60	946	122	12,9

Nous ne parlons que des malades revenus pour contrôle; deux instillations de nitrate d'argent étaient pratiquées avant de parler de guérison.

2. Au cours de 1959-60, alors même que le traitement de routine était le traitement mixte (DHS+sulfathiazol), un certain nombre de malades étaient pris au hasard pour étude de la sensibilité du gonocoque et ne recevaient que la streptomycine.

Le tableau 2 montre que lorsqu'une souche est résistante à  $\geq 1000 \mu\text{g/ml}$ , l'échec est presque inévitable.

#### DISCUSSION

L'expérience a été troublée par l'introduction du sulfathiazol mais on ne pouvait laisser s'accroître le nombre des échecs. Depuis que le sulfamide a été ajouté à la DHS, la courbe fut influencée au début, mais elle reprend sa montée (qu'il va falloir interrompre par une modification appropriée de la thérapeutique). Deux interprétations peuvent être données

TABLEAU 2  
COMPARAISON DES RÉSULTATS OBTENUS  
AU LABORATOIRE ET EN CLINIQUE CHEZ 242 MALADES  
TRAITÉS PAR 2 g DE DHS EN DEUX FOIS

Sensibilité à la streptomycine in vitro		Résultats cliniques correspondants		
Concentration ( $\mu\text{g/ml}$ )	Nombre de souches	Malades guéris	Non revus	Échecs
<b>Souches sensibles</b>				
2,5	21	18	3	0
5	55	48	7	0
10	89	75	14	0
50	12	12	0	0
total		177 (73,4%)	24 14%	0 0%
<b>Souches résistantes</b>				
1000	65 (26,86%)	3 4,6%	1 1,5%	61 94%

de cette nouvelle ascension: a) le sulfathiazol a gardé sa bonne activité depuis novembre 1958 et c'est l'accroissement de la résistance à la streptomycine qui a fait monter la courbe; b) le sulfathiazol commence, lui aussi, à perdre l'activité qu'il avait retrouvée.

De toute façon, l'étude bactériologique s'accorde avec l'étude clinique pour souligner l'importance de la résistance à la streptomycine. Il peut être intéressant de signaler que la plupart des cas qui avaient échoué furent traités par la pénicilline: 600 000 UI de pénicilline aqueuse associée à l'injection de 4 ml d'un bouillon vaccin (Propidon), les échecs à ce deuxième traitement ont été de 9,2% en 1958, de 11,6% en 1959, de 15,6% pour les 9 premiers mois de 1960 et ceci est peut-être à rapprocher du certain degré de résistance croisée que nous évoquions plus haut — à moins que ce soit le fait de la diminution graduelle de l'activité de la pénicilline.

Nous ne voulons pas sortir du cadre de cet article en parlant des modifications à apporter aux traitements de routine de la gonococcie; il faut, à nos yeux, si l'on continue la streptomycine, la renforcer par un antibiotique buccal plus actif que les sulfamides ou, si l'on revient à la seule pénicilline, employer des doses élevées (par exemple, 1 million UI de pénicilline aqueuse+1,2 million de benzathine pénicilline G). Mais cela aussi pose des problèmes.

## SUMMARY

Penicillin has been relatively little used for gonorrhoea therapy in recent years in France as it has been thought that it might mask or modify the early signs of syphilis, and in 1954 the Venereal Diseases Commission of the Permanent Health Advisory Council of the French Ministry of Health recommended the use of streptomycin for the treatment of gonococcal infections. (Subsequent experience, however, has shown that concomitantly acquired syphilis is not masked by penicillin given in adequate doses.)

Streptomycin having now been in current use for gonorrhoea for a number of years, it was thought worth while to assess the bacteriological and therapeutic situation which prevails at present in France.

Study of the sensitivity to streptomycin of 341 gonococcal strains has shown that 76.5% were not inhibited by less than 50  $\mu\text{g/ml}$  and 23.2% required at least 1000  $\mu\text{g/ml}$ , an enormous rate impossible to apply to man. Analysis of the sensitivity from year to year shows that the number of resistant strains is tending to increase. However, streptomycin-resistant strains remain by and large susceptible to penicillin, although only partially. Thus 57.9% of such strains are sensitive to 0.05 IU or more of penicillin, as against 72.5% of all the strains studied. Only 1.2% of all strains required 1 IU/ml or more of penicillin.

A satisfactory sensitivity was shown to both tetracycline and spiramycin. In studies with 154 strains, it was found that 93.5% were sensitive to 50  $\mu\text{g/ml}$  of sulfathiazole, which seems to have regained its initial activity:

Since 1 January 1957, 11 328 men suffering from acute urethritis have been treated with 2 g of dihydrostreptomycin. (In view of the growing number of treatment failures, 20 g of sulfathiazole have been added to this regimen for 5738 patients since 1 November 1958.)

In 1957 there were 9.8% treatment failures, and 13.6% in the first ten months of 1958. With the addition of sulfathiazole, failures dropped to 8.2% and then rose again to 12.9% for the period July-September 1960.

A different group of 242 male patients selected at random was treated in 1959-60 with 2 g of dihydrostreptomycin alone, and the gonococcal strains isolated from them were tested in the laboratory for sensitivity to that antibiotic. In 177 cases in which the strain was susceptible to 50  $\mu\text{g/ml}$  or less there were no treatment failures, but in the 65 cases in which the isolated strain required 1000  $\mu\text{g/ml}$  or more there were 61 treatment failures (94%).

Thus both the bacteriological and the therapeutic evidence points to the need to replace streptomycin in the treatment of gonococcal infections, or at least to supplement it with some other antibiotic.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Cradock-Watson J. E., Shooter R. A. & Nicol C. S. (1958) *Brit. med. J.*, **1**, 1091  
 Durel P. & Hardy N. (1957) *Rev. Hyg. Méd. soc.*, **5**, 219  
 Love B. D. & Finland M. (1955) *A.M.A. Arch. intern. Med.*, **95**, 66  
 Reyn A., Korner B. & Weis-Bentzon M. (1958) *Brit. J. vener. Dis.*, **34**, 227
-