

M. B

6

*Essais de vaccination humaine
contre le typhus exanthématique avec un vaccin vivant,*

par MM. Georges Blanc, M. Noury, M. Baltazard
et J. Barnéoud.

Les nombreuses expériences de laboratoire sur la vaccination contre le typhus exanthématique ont abouti à deux procédés applicables à l'homme. Une méthode, celle de Castañeda-Zinsser, consiste à inoculer, à trois reprises, un vaccin préparé avec l'exsudat péritonéal de rat infecté de typhus murin. Le vaccin formolé est un virus tué. Expérimentalement il se montre incapable de protéger le cobaye contre le typhus historique (1). Il ne peut donc donner à l'homme qu'une immunité limitée au typhus murin, le moins pathogène des typhus. Cette immunité même n'est pas absolue. Sanchez Casco (2), après avoir vacciné 12 sujets, les a éprouvés avec 11 gouttes d'une dilution de vaginales à 1/500; 3 ont fait du typhus malgré que la dose virulente eût été faible et que sur 3 témoins non vaccinés et inoculés avec cette même dose 2 seulement aient contracté le typhus.

L'autre méthode est celle de Weigl. Le vaccin, phéniqué, est préparé avec l'intestin de poux infectés de *Rickettsias*. Il faut faire trois injections, qui représentent environ 150 intestins de poux, soit approximativement 5 milliards de germes. La difficulté de préparation d'un tel vaccin, son prix de revient très élevé limitent son emploi à un très petit nombre de personnes. De plus, quoique son efficacité paraisse démontrée par plusieurs expériences sur animaux, par une expérience faite sur l'homme (3) et par les statistiques établies sur les vaccinés, cette efficacité n'est pas absolue. En Pologne (4), parmi les personnes vaccinées par la méthode de Weigl, 9 ayant reçu une injection ont contracté le typhus, 9 autres ont également contracté le typhus après avoir reçu deux injections de vaccin, et enfin 14 personnes après avoir reçu trois injections. En ne tenant compte que des deux dernières caté-

(1) Sanchez Casco. *Medicina Revista mexicana*, t. XII, 1932, p. 332-360.

(2) H. Mooser et H. Sparrow. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, t. XXII, 1933, p. 1-9.

(3) Ch. Nicolle et H. Sparrow. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, t. XXI, 1932, p. 25-34.

(4) W. Chodsko. *Office international d'Hygiène publique*. Session de mai 1933.

guits, on trouve que, sur 2791 personnes, 21 ont contracté le typhus.

Nous devons rappeler que Ch. Nicolle et ses collaborateurs ont montré que la vaccination humaine par virus vivant était possible et efficace (1). Ils ont réussi à immuniser un homme avec des doses sous-infectieuses de virus augmentées graduellement jusqu'aux doses infectieuses. Pour être sans danger, cette méthode doit être progressive et les inoculations faites à long intervalle de temps (il. inoculations faites du 1^{er} juillet au 25 octobre, dans l'expérience de Ch. Nicolle).

Telle qu'elle a été établie, cette vaccination ne peut être appliquée largement, mais des expériences qui ont permis de l'établir nous permettent d'admettre qu'il est possible de vacciner fortement l'homme contre le typhus avec un vaccin vivant. Le problème à résoudre est d'obtenir un tel vaccin avec la certitude que son emploi ne peut être dangereux pour l'individu vacciné, ni pour la collectivité, en créant des porteurs de germes susceptibles d'infecter les peaux.

Recherches préliminaires. — Pour aborder ce problème, nous avons classé un virus de caractère constamment bénin, le virus du typhus murin. Nous avons dit ailleurs (2) comment nous avons pu isoler, à Casablanca, des rats de la ville et du port, une souche extrêmement peu pathogène pour l'homme auquel elle ne donne qu'une affection fébrile sans symptômes généraux, sans éruption ou à éruption très discrète et fugace, affection au cours de laquelle et dans les semaines qui suivent la réaction de Weil-Felix reste négative, ou à taux d'agglutination faible de 1/30 à 1/60 au plus. Après plus de 30 passages sur cobaye, la virulence des deux souches autogènes n'a pas été modifiée. Par abréviation, nous appelons les souches isolées à Casablanca T. M. C., c'est-à-dire typhus murin de Casablanca, pour les différencier de la souche T. M. T., ou typhus murin de Toulon et de la souche de typhus à poux ou typhus histriétique que nous désignons par les lettres T. H. (3).

Essai de vaccination. — *Protocole des expériences :* Les points à élucider et les problèmes à résoudre étaient les suivants :

- 1^o S'assurer que l'infection typhique ultrabénigne que donne à l'homme le virus T. M. C. le vaccine contre les virus T. M. C., T. M. T. et T. H.;
- 2^o Éliminer la virulence du T. M. C., sans le tuer, jusqu'à supprimer chez l'homme toute réaction;
- 3^o Établir si un tel virus-vaccin protégeait contre les virus T. M. C., T. M. T. et T. H.;

(1) Ch. Nicolle, H. Sparrow et E. Cassin. *Archiv. f. Path. Bact.*, 1920, t. XVI, avril 1920, p. 129.
 (2) C. R. de l'Acad. Sci., t. CLXXI, 1924, p. 112 et t. CLXXI, 1924, p. 189.
 (3) Nous remercions le professeur Ch. Nicolle et le Dr. Marnaudier auxquels nous devons respectivement T. M. et T. M. T.

4^o Toutes ces questions résolues, il fallait s'assurer que les vaccins ne seraient pas susceptibles de devenir porteurs de germes et capables d'infecter les peaux.

Dans cette note, nous ne donnerons pas le détail de nombreuses expériences que nous avons faites (4) et qui seraient trop long de rapporter; nous résumerons simplement les conclusions auxquelles elles nous ont conduits.

A. Immunisations faites par le virus murin de Casablanca (T. M. C.) répété du T. M. T. et du T. H. — Nous avons fait 5 expériences, chaque fois avec succès. Pour les inoculations d'épreuve avec T. M. C. et T. M. T., les témoins étaient des hommes; pour le T. H., des animaux de laboratoire, singes et cobayes :

1^o Deux sujets inoculés avec T. M. C. 1 ont une réaction positive et très légère, ils sont épuisés, trois jours après la première inoculation, avec une forte dose de virus T. M. C. 1, le 4^e environ du produit de broyage des deux vialsites d'un cobaye typhique. Aucune réaction.

2^o Quatre sujets inoculés avec T. M. C. font la réaction habituelle.



Graphique 1. — Réaction typhique à l'épreuve avec le virus T. M. C. 1. (Mouchet et Gille. Archives de médecine et de biologie expérimentales.)

(4) Les expériences ont pu être faites grâce à la cordiale collaboration que nous ont apportée le Dr J. Calanchini et le Dr Guet, directeur et directeur adjoint de la salle et clinique polyclinique de Marrakech.

Deux sont éprouvés avec T. M. T. quinze jours après l'oculation, l'un a encore un peu de fièvre. Aucun d'entre eux ne réagit à l'oculation d'épreuve faite comme précédemment. Le troisième, réimmunisé dix-sept jours plus tard, également avec le T. M. T. alors qu'il n'a encore de la fièvre, ne réagit pas davantage. Il en est de même pour le quatrième, éprouvé après vingt et un jours, toujours avec T. M. T.

3° Un sujet ayant eu un typhus à virus toulonnais (T. M. T.) est éprouvé, quarante-huit heures plus tard, avec une très forte dose de virus T. H. (600 doses infectantes). Aucune réaction.

4° Un sujet ayant eu un typhus à virus marocain (T. M. C. III) est éprouvé soixante-cinq jours plus tard, avec une forte dose de virus T. H. (également 600 doses infectantes). Aucune réaction.

De ces expériences découle ce fait qu'une infection, même légère, due au typhus marocain de Casablanca (T. M. C.) immunise contre ce virus, contre celui du typhus de Toulon et contre le typhus historique. L'immunité apparaît dès le début de l'infection. La réinoculation d'un sujet en période fébrile ne modifie pas le cours de sa maladie et ne provoque pas de rechute.

R. Atténuation du virus. — Nous avons employé, pour atténuer le virus marin T. M. C., la méthode qui nous avait donné de bons résultats dans les essais d'atténuation du virus de la dengue (1). Nous mettons en contact le virus avec de la bile de bœuf. Dans toutes nos expériences nous avons utilisé la même technique. La bile est chauffée quinze minutes à 120° à l'autoclave, filtrée sur papier charbon, le filtrat, réparti en ampoules, est stérilisé par chauffage à 115° pendant quinze minutes.

La vaccine est constituée par le produit de broyage en eau physiologique de la rate et des vaginules d'un cobaye ayant une forte réaction. La dilution est d'environ 20 cent. cubes d'eau physiologique. Après avoir laissé sédimenter les grosses particules du produit de broyage, on prélève le liquide et on l'additionne de bile.

Nous avons essayé le pouvoir d'atténuation de la bile à des taux variant de 1/50 à 1/10 et après contact de dix à quinze minutes. Le virus bilie à 1/10 est encore virulent pour le cobaye. L'oculation de 2 cent. cubes, dans le péritoine, lui donne un typhus accompagné de la périorchéite caractéristique. L'immunité vient après l'oculation dans le deltoïde de 2 cent. cubes de virus bilie lorsque le taux de bile est inférieur à 1/20 ou lorsque le temps de contact entre le virus et la bile est inférieur à un quart d'heure. Lorsqu'il reçoit 2 cent. cubes de virus bilie à 1/20, après un temps de contact de quinze minutes, il ne réagit pas.

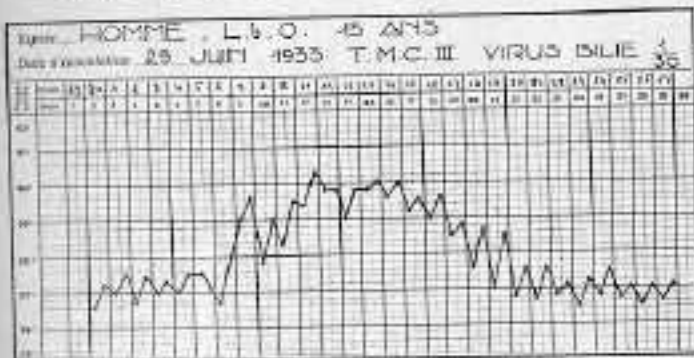
(1) H. Durr et J. Guimaraes - *Année de l'Institut Pasteur*, t. XLIV, 1925, p. 405.

La dose qui n'est plus virulente pour l'homme peut, parfois, l'être encore pour l'animal.

L'expérience qui nous a permis d'établir ces faits a porté sur 30 personnes.

1° Vingt sujets adultes de trente-quatre à cinquante ans ont reçu en injection dans le deltoïde 2 cent. cubes, soit environ 1/10 du virus total (virus) par la rate et les vaginules d'un cobaye. Le liquide virulent avait été additionné de 1/20 de bile et le contact avait été maintenu un quart d'heure. Aucun de ces vaccinés n'a montré la moindre réaction. Un témoin, ayant reçu la même dose de virus non bilie, a fait une réaction typique.

2° Trois adultes, immunisés avec un virus bilie à un taux inférieur



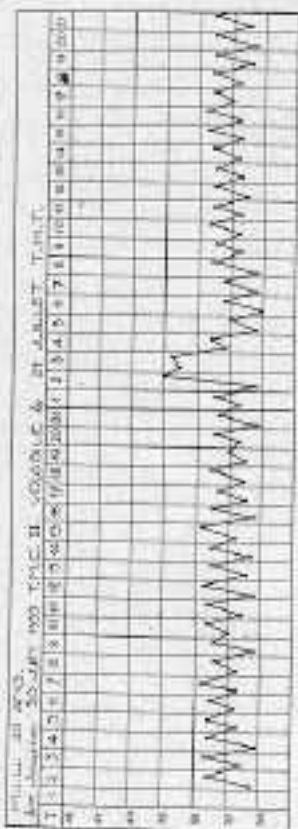
Graph. 2. — Réaction à l'oculation de virus bilie (taux 1/20) chez un homme. Pas de réaction. Un seul élève.

à 1/20 ou après un contact de moins de dix minutes, ont tous réagi.

3° Sept enfants de deux à quinze ans, inoculés avec la même dose de virus bilie par les adultes de la première série (2 cent. cubes) après un contact de dix à quinze minutes, donnent 4 réactions. Trois enfants seulement ne réagissent pas.

Il peut arriver, comme nous l'avons constaté au cours d'autres expériences, que, malgré le temps de contact de la bile pendant un quart d'heure et un taux de 1/20, une réaction thermique apparaisse chez un vacciné. Nous attribuons ce fait à ce que notre technique, encore grossière, de broyage d'organes et de dilution permet d'occuper, avec le liquide de suspension bilie, quelques particules de tissu assez grosses pour venir échappé à l'action de la bile.

Il est à noter que toutes les réactions complémentaires au virus filie ont été très faibles, jamais on n'a noté de réaction locale. L'état général est resté excellent, il n'y a pas eu d'éruption, la réaction de Weil-Felix est restée négative ou douteuse (1/10 à 1/50); seul le thermomètre a pu déceler l'infection.



Graph 1. — Absence de réaction au vaccin, absence de réaction au virus (T. M. T.) vingt et un jours après la vaccination. Examen de détail.

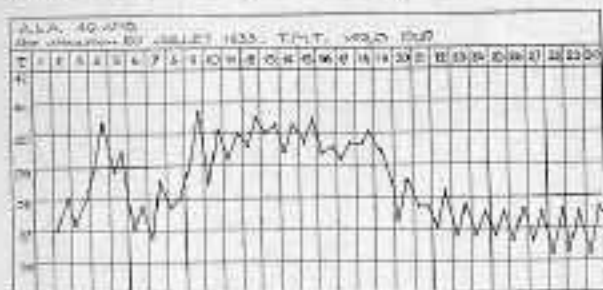
La réaction de Weil-Felix chez les vaccinés. — Tous les sujets vaccinés avec le virus filie avaient un Weil-Felix négatif au moment de l'inoculation. La réaction fut recherchée ensuite quinze, vingt, vingt-cinq à trente jours et, pour certains d'entre eux, éprouvés avec du virus T. M. T. soixante jours après la vaccination. Les vaccinés qui n'ont fait aucune réaction après l'injection de virus filie ont gardé un Weil-Felix négatif, même après la réinoculation avec un virus pur.

Les vaccinés qui ont fait une légère réaction ont eu, soit un Weil-Felix négatif, soit un Weil-Felix légèrement positif: agglutination microscopique totale de 1/20 à 1/100. Le taux d'agglutination est resté constant et n'a pas été influencé par réinoculation. Pour l'un des sujets il était resté à 1/20 soixante jours après la vaccination.

4. **Immunité conférée par la vaccination vis-à-vis du virus murin.** — Les sujets vaccinés suivant la technique indiquée ont été éprouvés vingt à vingt-cinq jours plus tard par inoculation, dans le deltoïde, de 2 cent. cubes de virus murin de Toulon (T. M. T.), aucun n'a réagi à la réinoculation, alors que les sujets seuls, tels comme témoins et qui reçurent la même dose du même virus, firent un typhus murin tout à fait caractéristique.

Cette première série d'expériences a porté sur 11 sujets. Une seconde série, portant sur 5 vaccinés, a donné les mêmes résultats. La seule réaction qui, quelquefois, accompagnait la réinoculation avec le liquide de vaccination est l'échauffe du premier doigt, constaté dans la maladie expérimentale; cette réaction, toujours très courte, ne s'accompagne d'aucun phénomène général.

5. **Possibilité préventive de la vaccination contre le typhus revêté bactériologique.** — Nous avons, pour cette sévère épreuve, choisi des sujets



Graph 2. — Réaction typique à l'inoculation de virus (T. M. T.). Sujet témoin.

particulièrement vigoureux. L'un avait fait un typhus murin expérimental (T. M. T.) terminé depuis cinquante jours, un autre un typhus à T. M. T. terminé depuis vingt-huit jours. Six avaient été vaccinés avec le virus filie, réinoculés quarante-sept jours auparavant avec du virus murin T. M. T. Aucun des sujets n'avait reçu qu'une inoculation de virus filie, soixante-trois jours auparavant. Tous ces sujets après avoir été lavés, soignés et tenus dans une salle, furent inoculés, chacun avec 2 c. c. d'une émulsion épaisse de deux carottes, de côtes de bœuf sacrifiées ou pleine réaction fibrille. Les 2 c. c. d'émulsion représentaient environ 1/8 de serceon, soit, en suivant le titrage de Ch. Nicolle, environ 825 doses virulentes. En même temps que les vaccinés nous avons inoculé dans le péritoine un singe (*Macaca sylvana*), âgé d'environ un an et demi, avec 4 cent. cubes de la même dilution, ainsi que 2 cobayes, chacun avec 2 cent. cubes de l'émulsion, dans le péritoine également.

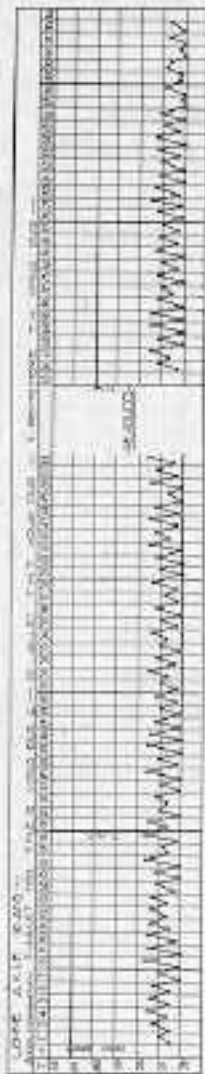


Figure 5. — Vaccination, inoculation T. M. T., réinoculation V. H. Abaissements de réaction.

Le typhus se déclare chez le singe après huit jours d'incubation, la température monte au-dessus de 40°, elle reste en plateau pendant neuf jours, l'animal paraît très malade, il meurt dix-sept jours après l'inoculation, avec des phénomènes bulbaires. Les 2 cobayes restés au huitième jour. Des cultures du singe et de celui des cobayes des passages positifs sont faits à d'autres cobayes. Aucun des hommes inoculés, sains typhiques ou vaccinés, n'a la moindre réaction. La température est prise pendant un mois, elle reste normale. La réaction de Weil-Felix, négative au jour de la réinoculation pour les vaccinés et légèrement positive (1/30) pour les sains typhiques, n'est pas modifiée par la réinoculation.

Une seconde série d'expériences est faite, avec les mêmes précautions que pour la première. Trois sujets ayant été vaccinés par une injection de virus lilié, sans avoir fait la moindre réaction, sont inoculés trois et un jours après la vaccination avec la forte dose de virus T. H. employés dans l'expérience précédente, aucun ne réagit. Six autres sujets vaccinés une première fois au virus lilié, inoculés sans résultat avec du virus mort, sont réinoculés : 3, quatre-vingt-huit jours après la seconde inoculation; 2, quatre-vingt-dix-huit jours après la seconde inoculation; 1, cent dix-huit jours après la seconde inoculation.

Aucun d'entre eux ne fait la moindre réaction. Les cobayes témoins s'infectent.

De ces expériences on est en droit de conclure que la vaccination par vaccin lilié confère une solide immunité contre le typhus exanthématique historique.

E. Les vaccinés ne sont pas devenus porteurs de germes, les jours suivants

car eux ne s'infectent pas. — Si défensive pour le vacciné que pût être la vaccination et quelle que fût son efficacité, il n'est possible de l'utiliser dans la pratique que si elle ne risque pas de créer des foyers de typhus. Nous avons recherché la virulence du sang en deux séries d'expériences. Dans la première nous avons recueilli du sang à deux semaines, au moment où les témoins réagissent. Ce sang, inoculé à la dose de 1 cent. cube, par voie intrapédonale, à 2 cobayes, ne les a ni infectés ni immunisés. Dans la seconde série nous avons vacciné 3 sujets, porteurs d'un grand nombre de pores. Ces 3 sujets ont été soigneusement isolés et, de quatre jours en quatre jours, nous avons pris des pores et inoculé des cobayes, par voie intrapédonale, avec ces

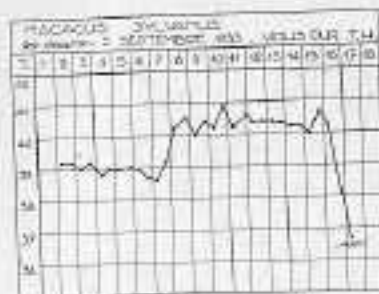


Figure 6. — Singe (X, sains). Temp. de la tête du sujet de la figure 5, inoculé avec T. H.

pores broyés en eau physiologique — de 10 à 50 pour chaque fois — les pores ont été recueillis à partir du huitième jour après la vaccination jusqu'au dix-septième jour (1). Aucun des cobayes ne s'est infecté et n'a contracté d'immunité contre une réinoculation de virus de typhus mort.

Résumé et conclusion. — 1° Il est possible, par addition de bile au virus mort constitué par le produit du broyage de vaginales et de rate de cobaye infecté d'atteindre sa virulence et de le rendre non pathogène pour l'homme.

2° Le virus atténué est secree vivant, il vaccine contre le typhus exanthématique.

3° La vaccination ne crée pas de porteurs de germes; le sang des vaccinés ne peut, dans les conditions naturelles, infecter les pores.

(1) A cette fin, les travaux de nos collègues ont été effectués.