

### III. - Atténuation de la virulence du Typhus Murin

par la bile

PAR

GEORGES BLANC, M. NOURY

ET M. BALTAZARD

---

BLANC et CAMINOPETROS ont montré, en 1930 (1), que la bile de bœuf, ajoutée à du sérum de malades atteints de Dengue, peut détruire le virus, si elle est à un taux suffisamment élevé ; qu'elle peut aussi, à moindre taux, par exemple à celui de 5 pour 100 et si le contact ne dépasse pas un laps de temps de dix à quinze minutes, modifier le virus de telle sorte qu'il perde son pouvoir pathogène, sans cependant être tué. Que le virus soit vivant est démontré par le fait que les sujets inoculés avec un tel virus modifié acquièrent l'immunité contre la Dengue, alors que ceux qui sont inoculés avec un virus tué par action physique ou chimique n'acquièrent aucune immunité. Il est encore possible de démontrer que le virus est vivant en l'inoculant par voie intra-veineuse.

Alors que le virus bilié au 1/20, inoculé sous la peau, ne donne aucune réaction, la même quantité

---

(1) G. BLANC et J. CAMINOPETROS. — Contribution à l'étude de la vaccination contre la Dengue. - *Bull. Acad. Médecine*, 102 N° 26, 1929 et Recherches expérimentales sur la Dengue. - *Annales de l'Institut*

(2 cc.) du même virus bilité, inoculé dans les veines, donne l'infection (4).

Nous avons recherché quelle pouvait être l'action de la bile sur le virus de Typhus murin. Nous avons fait nos essais en utilisant le virus de Toulon, celui de Mexico et celui de Casablanca (souches T.M.C. I. — T.M.C. III et T.M.C. IV). C'est avec ces derniers virus, particulièrement le T.M.C. III, que nous avons fait le plus grand nombre d'expériences. Comme les résultats obtenus avec les virus murins de diverses origines ont été identiques, nous ne tiendrons compte, dans cet exposé, que des expériences, les plus nombreuses, faites avec nos souches T.M.C. — Ces expériences ont été faites pour établir si l'adjonction de la bile au virus ne diminuerait pas son pouvoir pathogène déjà faible pour l'homme et s'il ne deviendrait pas possible, de ce fait, de vacciner sans danger contre le typhus exanthématique avec un vaccin vivant.

#### ACTION DE LA BILE SUR LE VIRUS (2)

*Technique*: Presque toutes les expériences ont été faites en appliquant la technique suivante :

(1) On sait que la bile de bœuf morte de grade bovine a 260 millibé pour la vaccination par inoculation de cette bile aux rats blancs seuls. Les résultats ont été contradictoires. Il serait intéressant de savoir si l'action de la bile, si variable selon il y a, est due à la présence d'anticoagés dans la bile, ce qui est peu probable, ou à une action comparable à celle que nous avons observée dans la Drogue et dans le Typhus exanthématique (voir pour l'exposé détaillé des recherches qui ont été faites, le travail de G. CROISSANT, « La Peur humaine. Paris, Vigot, 1933.

(2) Des recherches sont en cours, actuellement, sur les modifications d'ordre physique apportées par la bile au virus de Typhus murin. Nous donnerons ci-après les premières observations que nous avons faites sur les modifications de la tension superficielle.

*Bile*. — Nous avons toujours utilisé la bile fraîche de bœuf. Le titrage des extraits secs a donné des chiffres allant de 77.9 à 105 grammes par litre.

La bile, précipitée par chauffage à 120° pendant 15 minutes, est filtrée sur papier Chardin, répartie en ampoules scellées et stérilisée à l'autoclave.

*Addition de Bile au Virus* : Au volume de virus utilisé (suspension en eau physiologique, soit de vaginales, de rate, de capsules surrénales et parfois du cerveau, soit du cerveau seul), on ajoute 1/20 de bile. Le mélange est fortement agité à la main et ensuite laissé au repos pendant un laps de temps variable. En pratique, nous avons laissé la bile et le virus en contact pendant un quart d'heure, une heure et deux heures.

#### EXPÉRIIMENTATION SUR LE COBAYE

Les expériences ont été peu nombreuses, elles ne pouvaient pas nous éclairer beaucoup sur l'action que pourrait avoir le virus bilé sur l'homme, aussi avons-nous simplement recherché par elles si la bile, au taux de 1/20 et après un temps de contact de un quart d'heure à une heure, détruisait le virus.

EXPÉRIENCE I. — *Action de la Bile au 1/20* —

*Temps de contact* : un quart d'heure :

Le 24 juin 1933, le cobaye 28/91 inoculé avec le virus T.M.C. III, vingt-troisième passage, est sacrifié. Les vaginales sont adhérentes, très hémorragiques — la rate grosse et granuleuse. Il y a de gros ganglions sous-lobaires. La rate et les vaginales sont broyées dans 20 cc. d'eau physiologique. — Trois cobayes sont inoculés, par voie intrapéritonéale, l'un avec

2 cc., les deux autres avec 1 cc. de la dilution. De plus, un autre cobaye, 93/27, est inoculé par voie intrapéritonéale également avec 1 cc. du même virus, mais auquel a été ajoutée de la bile de bœuf dans la proportion de 1 pour 20. Le contact entre la bile et le virus a été maintenu quinze minutes avant l'inoculation.

Les cobayes-témoins réagissent, le cobaye 93/27 réagit également avec fièvre et vaginalite (voir Fig. 1).

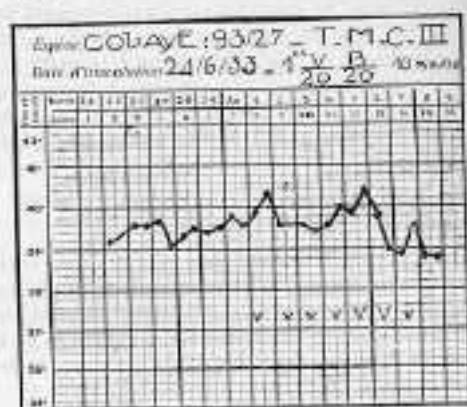


Figure 1. — Réaction fébrile et vaginale du cobaye 93/27, inoculé avec du virus bilé au 1/20 pendant un quart d'heure.

EXPÉRIENCE II. — Action de la bile au 1/20 —  
Temps de contact : une heure :

Le 30 mai 1934, le cobaye 4/80, inoculé avec du virus T.M.C. IV, onzième passage, est sacrifié. Les vaginales sont légèrement congestionnées, la rate est

peu augmentée de volume. Rate et vaginales sont broyées dans 50 cc. d'eau physiologique. Une partie de la dilution est bilée au 1/20.

Après une heure de contact, quatre centimètres cubes de cette dilution sont inoculés dans le péritoine du cobaye 4/93. L'animal réagit par une fièvre bien marquée, mais sans vaginalite (voir Fig. 2). Les vagi-

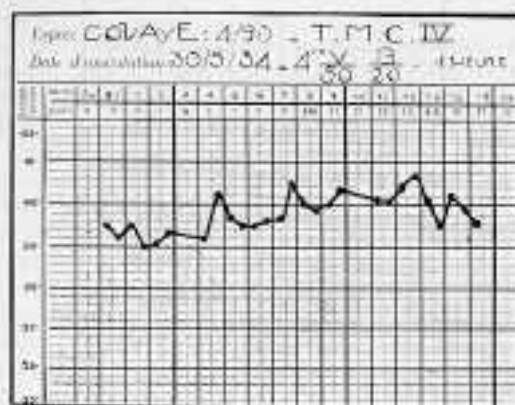


Figure 2. — Réaction fébrile du cobaye 4/93, inoculé avec du virus bilé au 1/20 pendant une heure — pas de vaginalite.

nales sont légèrement congestionnées, la rate est grosse et granuleuse. Le cerveau est broyé dans 20 cc. d'eau physiologique. Deux centimètres cubes de cette dilution sont inoculés dans le péritoine d'un nouveau cobaye — 2/20 — La température monte à 40° à partir du quatrième jour — la vaginalite apparaît le on-

zième jour (voir Fig. 3). L'animal est sacrifié, les passages sont continués.

En résumé, la bile au taux de 5 p. 100 ne détruit pas le virus du Typhus murin, ni après un quart d'heure, ni après une heure de contact.

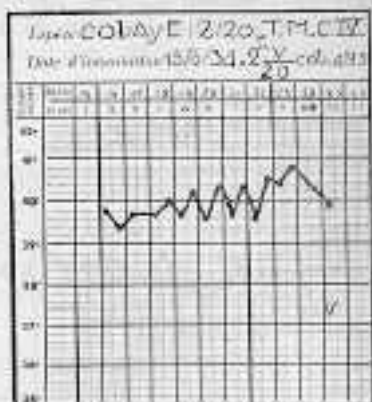


Figure 1 — Cobaye 2/20 — passage de cobaye précédent — Fièvre et vaginite.

#### EXPÉRIENCES SUR L'HOMME

La technique employée est la même que celle utilisée pour le virus pur. C'est-à-dire inoculation intramusculaire, dans le deltoïde, de 1 à 2 centimètres cubes de la dilution virulente préalablement bilée au 1/20 pendant un quart d'heure.

Les résultats sont intéressants à comparer à ceux obtenus avec le virus pur. Alors que, dans ce dernier

cas, les inoculés ont une réaction fébrile plus ou moins marquée, dans la proportion de 89,50 pour 100, les inoculés avec le même virus bilé ne réagissent que dans la proportion de 20,83 pour 100. Notre statistique porte sur 120 sujets que nous avons pu suivre régulièrement avec prise de la température deux fois par jour, pendant plus d'un mois. Sur ces 120 inoculés, 95 n'ont pas réagi — 25 ont fait une réaction fébrile.

Pour faible qu'il soit, ce pourcentage de réactions montre que le virus bilé est encore vivant, ce que nous avait déjà appris l'expérimentation sur le cobaye.

Les sujets qui réagissent n'appartiennent pas à une série particulière, ils appartiennent à des séries où les autres vaccinés n'ont pas réagi, bien qu'ils aient reçu, par voie intramusculaire, la même dose du même virus bilé.

*Type de la réaction:* La réaction générale des vaccinés est nulle. Pas de céphalée, pas de douleur lombaire, pas de frissons. En règle presque absolue, il n'y a pas d'éruption. (1) Seule indique l'infection la réaction fébrile. Celle-ci n'offre pas des types aussi tranchés que la réaction fébrile des inoculés avec le virus pur.

Dans la grande majorité des cas — 20 sur les 25 de la série que nous étudions — la courbe thermique est plus courte que la réaction typique au virus pur et la température n'atteint pas 40°, elle se maintient entre 38° et 39° (voir Fig. 4, 5, 6 et 7).

(1) Nous en avons constaté deux cas sur des européens et deux sur des indigènes à peau claire.



Figure 4. — Réaction fibrée à la suite de l'excitation d'une tige fine d'un de vosse M.H. Homme.

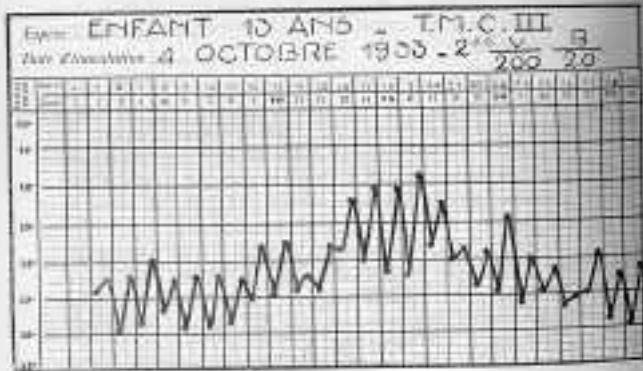


Figure 5. — Réaction fibrée à la suite de l'excitation d'une tige fine d'un de vosse M.H. Enfant.

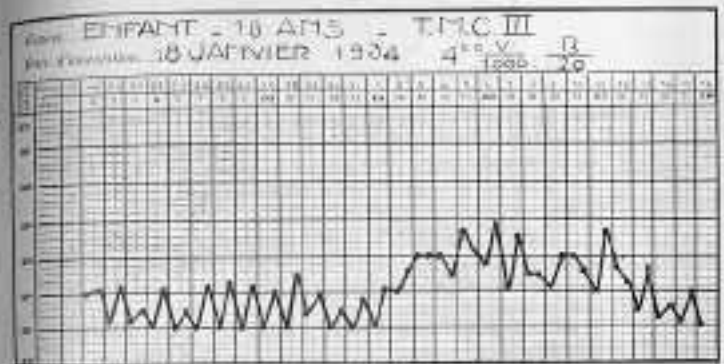


Figure 6. — Réaction fibrée légère à la suite de l'excitation d'une tige fine d'un de vosse M.H. Enfant.

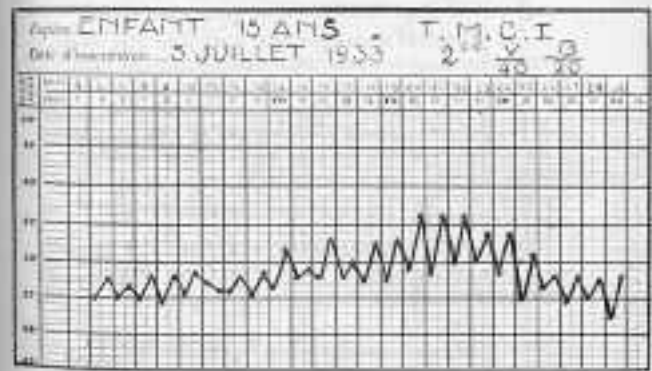


Figure 7. — Réaction fibrée légère à la suite de l'excitation d'une tige fine d'un de vosse M.H. Enfant.

Sur vingt-cinq vaccinés, on ne rencontre qu'une fois une réaction au huitième jour (4 pour 100), alors que du 9<sup>e</sup> au 13<sup>e</sup> jour, on trouve 13 réactions (soit 52 pour 100). Du 14<sup>e</sup> au 17<sup>e</sup> jour, le pourcentage tombe à 28 pour 100) (7 réactions). Enfin, du 21<sup>e</sup> au 26<sup>e</sup> jour, on ne compte que 4 réactions (soit 16 pour 100).

Jamais on n'observe le premier clocher caractéristique de l'infection expérimentale par virus pur. Ce fait signifie que le virus bilié se trouve, dans l'organisme, comme incapable de se développer au moment où il est introduit ; petit à petit, il entre en contact plus intime avec les cellules de l'organisme et alors il donne soit une infection atténuée, soit ce qui est le plus fréquent, une infection tout à fait inapparente.

Parfois l'incubation est longue (voir fig. 8 et 9), vingt-et-un, vingt-deux et même vingt-cinq jours.

Ces infections à retardement sont peut-être dues à une cause seconde, favorisante, qui transforme brusquement l'infection inapparente en infection apparente. Quoi qu'il en soit, l'intensité de l'infection ne paraît pas proportionnelle à la longueur de l'incubation. La réaction peut être de type bien marqué après une incubation de courte durée (Fig. 10) aussi bien qu'après une des plus longues que nous ayons constatées (vingt jours) (Fig. 8).

Quelle que soit l'intensité de la réaction, la fièvre n'est jamais précoce, ainsi que le montre le tableau suivant (1).

(Voir Tableau à page 117).

(1) Les signes +++ ++ + indiquent l'intensité de la réaction fébrile.



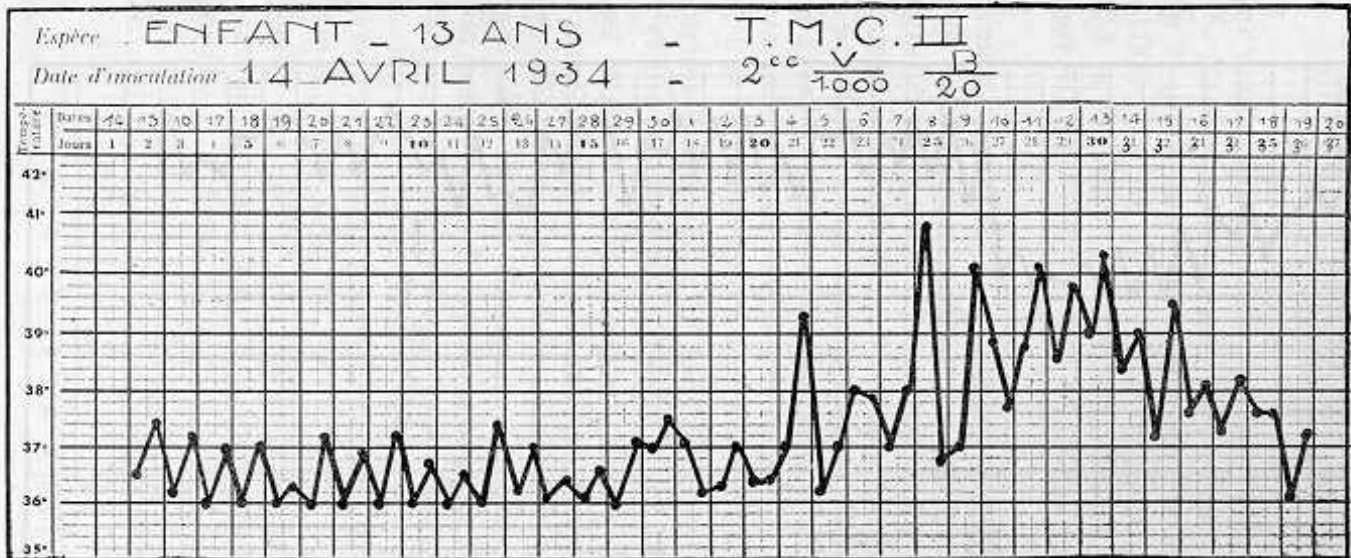


Figure 9. — Réaction faible, très retardée, à la suite de l'inoculation d'une quantité faible de vaccin bilié. Européen adulte.

Numéro de la série	Age	Type de la réaction	Jour d'apparition de la fièvre après l'inoculation
2	40	++	12 <sup>e</sup>
2	20	+++	11 <sup>e</sup>
2	15	+++	9 <sup>e</sup>
4	15	+++	8 <sup>e</sup>
5	15	+	10 <sup>e</sup>
6	40	+	13 <sup>e</sup>
6	12	++	9 <sup>e</sup>
6	12	++	13 <sup>e</sup>
9	40	+++	11 <sup>e</sup>
10	15	++	14 <sup>e</sup>
11	13	++	16 <sup>e</sup>
12	13	++	9 <sup>e</sup>
14	40	++	14 <sup>e</sup>
14	40	++	12 <sup>e</sup>
23	25	++	24 <sup>e</sup>
24	14	+	11 <sup>e</sup>
26	16	+	17 <sup>e</sup>
28	14	+	15 <sup>e</sup>
28	25	+	26 <sup>e</sup>
29	12	+	10 <sup>e</sup>
30	12	+	17 <sup>e</sup>
32	13	++	15 <sup>e</sup>
32	13	+	22 <sup>e</sup>
32	13	+++	21 <sup>e</sup>

*Réaction de Weil-Félix* : Cette réaction a été recherchée sur les vaccinés au virus bilié, en suivant la technique employée pour la recherche du Weil-Félix dans le sérum des sujets inoculés avec du virus pur.

Nous n'avons jamais trouvé cette réaction positive chez les vaccinés qui n'ont fait aucune réaction. Chez ceux qui ont réagi, le taux d'agglutination est toujours faible — il n'est pas en rapport avec l'intensité de la réaction fébrile ni avec sa date d'apparition.

Le taux maximum que nous avons trouvé avec OX 19, est de 1/100 (agglutination totale) — taux observé chez un sujet ayant eu une faible réaction. La réaction de Weil-Félix a été toujours recherchée le jour de la vaccination — elle a d'ailleurs été constamment trouvée négative — puis, autant que possible, elle a été recherchée pendant la période fébrile et après la défervescence.



Figure 10. — Réaction fébrile après coxité inoculée, à la suite de l'inoculation d'une forte dose de vaccin légal. Exfert.

Le tableau suivant donne les résultats obtenus (nous ne tenons compte que des agglutinations totales).

Numéro du vacciné	Type de la réaction	Weil-Félix	Observations
45	+	—	
146	+	—	
156	+	1/300	
166	+	1/100	
170	+	1/50	
181	+	1/50	
185	+	1/100	
195	+	1/50	
21	++	1/60	
47	++	—	
49	++	1/30	
82	++	—	
85	++	—	recherche au 15 <sup>e</sup> jour d'
88	++	—	Européen.
138	++	1/100	
194	++	—	
22	+++	—	
23	+++	—	
34	+++	1/60	
78	+++	—	
196	+++	—	

#### RECHERCHE DU VIRUS DANS LE SANG DES VACCINÉS

Cette recherche s'est toujours montrée négative chez les sujets n'ayant présenté aucune réaction fé-

brile, quelle qu'ait été la date à laquelle le sang a été prélevé. Le plus souvent les prises de sang ont été faites du dixième au vingtième jour, quelquefois à plusieurs reprises sur le même individu. Les cobayes inoculés avec le sang n'ont présenté ni réaction ni immunité.

Nous ne croyons pas utile de donner toutes ces expériences négatives.

Fait plus intéressant — les résultats obtenus en prenant le sang de sujets ayant eu une réaction fébrile à la suite d'inoculation de virus bilé, ont été également négatifs — en voici deux exemples :

EXPÉRIENCE. — Le 28 septembre, le cobaye 90/80, trente-deuxième passage du Virus T.M.C. III, est sacrifié. La rate est grosse, les vaginales hémorragiques. Rate et vaginales sont broyées dans 15 cc. d'eau physiologique, ce qui donne une émulsion très épaisse. De la bile est ajoutée au taux de 1/20 et après un quart d'heure de contact, on inocule deux volontaires, chacun avec 1 cc. dans le deltoïde. À la suite de l'inoculation de cette forte dose, les deux sujets font une courbe fébrile caractéristique (Fig. 11 et 12).

Le 17 octobre, en pleine période fébrile, du sang est prélevé aux deux sujets, et 2 cc. de chaque sang inoculé à deux cobayes. L'un d'entre eux meurt de maladie intercurrente, l'autre ne fait aucune réaction. Un mois plus tard, il est éprouvé avec du virus de T.M.C. III et réagit.

Il est bien entendu que d'expériences si peu nombreuses, il ne peut être tiré de conclusions générales, mais il est permis de considérer que dans les formes inapparentes ou les formes légères consécutives

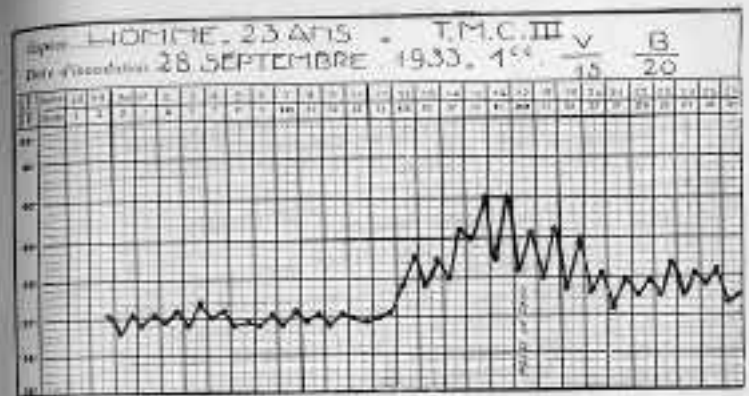


Figure 11. — Réaction fébrile, retardée, après inoculation d'une titre forte, dose de vaccin bilé préparé avec du virus de Toulon (T.M.T.) — Le sang prélevé le sixième jour de la fièvre n'a pas infecté le cobaye.

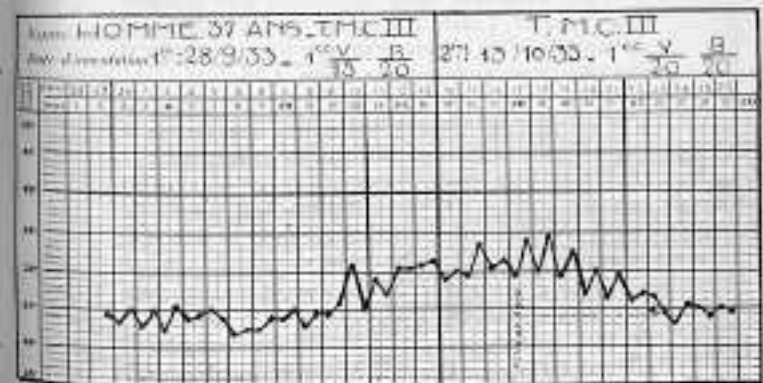


Figure 12. — Réaction fébrile légère après inoculation d'une très forte dose de vaccin bilé. Le sang ne s'est pas manifesté virulent pour le cobaye. Émulsion, adaléc.

à la vaccination, le sang est peu virulent et doit encore moins que le sang des malades que nous avons étudiés au chapitre précédent, être susceptible d'infecter les poux.

#### ESSAIS D'INFECTION DE POUX NOURRIS SUR DES VACCINÉS

Une expérience a été faite. Elle a porté sur deux sujets qui avaient été inoculés avec un virus de Typhus murin de Toulon, bilit. Le virus de Toulon se montre plus virulent que celui de Casablanca et, de ce fait, il nous paraît que les résultats obtenus en expérimentant sur ce virus ont une valeur au moins égale pour le virus T.M.C.

Le 3 septembre, deux volontaires sont inoculés, l'un avec 1 cc., l'autre 2 cc., d'une émulsion de rate et de vaginales d'un cobaye ayant une forte vaginalite et une rate grosse et granuleuse (virus T.M.T.).

L'un d'eux, celui qui a reçu 2 cc., ne réagira pas à la vaccination. L'autre fera quinze jours après la vaccination une réaction fébrile caractéristique.

Trois jours après l'inoculation, les deux sujets reçoivent chacun 100 poux déposés dans leurs vêtements, puis, à divers intervalles, des poux sont recueillis, broyés et inoculés à des cobayes.

1° Le 11 septembre, 10 poux provenant des deux vaccinés sont inoculés à un cobaye 90/57 sans résultat.

2° Le 18 septembre, 25 poux provenant des deux vaccinés sont prélevés et inoculés à un cobaye 90/72, avec résultat négatif :

3° Le 19 septembre, 25 poux sont recueillis sur les deux vaccinés dont l'un a une réaction fébrile depuis quatre jours. Nouvelle inoculation (90/75) — nouveau résultat négatif :

4° Le 25 septembre, 20 poux sont recueillis sur le vacciné fébrile (la fièvre dure depuis huit jours) ils sont inoculés comme précédemment et toujours sans résultat. De même 50 poux pris le même jour, sur l'autre vacciné apyrétique ne donnent aucune réaction au cobaye inoculé.

Cette expérience confirme celles que nous avons faites avec les poux nourris sur des hommes atteints de Typhus murin expérimental. Elles montrent que les vaccinés, même à réaction fébrile, ne constituent pas un danger et ne paraissent pas susceptibles d'infecter les poux.