

M.B.

12

*Nouvelles expériences de vaccination humaine
contre le typhus exanthématique par vaccin vivant.
Infection et immunité,*

par MM. Georges Blanc, M. Noury, M. Baltazard, J. Bruneau
et J. Barneoud.

Dans une note antérieure (1), nous avons fait connaître le résultat de nos premières expériences de vaccination humaine contre le typhus exanthématique avec un vaccin vivant. Ce vaccin était préparé en broyant finement, dans une petite quantité d'eau physiologique (20 à 25 cent. cubes), les vaginales et la rate d'un cobaye infecté de typhus murin, le liquide décanté était additionné de bile de bœuf dans la proportion de 1/20. Après un temps de contact d'un quart d'heure, le vaccin était inoculé à la dose de 2 cent. cubes dans le muscle deltoïde. Nous avons utilisé, comme souche de typhus murin, celle que nous avons isolée des rats de Casablanca et que nous désignons par les lettres initiales T. M. C.

Les conclusions de ce premier travail étaient que le vaccin employé donnait une immunité complète contre les différents virus de typhus exanthématique qui nous ont servi de virus d'épreuve : virus murins de Toulon et de Casablanca, virus historique de Ch. Nicolle.

Pour introduire, dans la pratique, une méthode ne relevant encore que de l'expérience de laboratoire, il fallait être assuré de sa parfaite innocuité, c'est-à-dire avoir la certitude que le virus, après de nombreux passages sur animaux de laboratoire, n'avait pas augmenté de virulence. Il fallait aussi obtenir un vaccin préparé avec une dilution d'organes virulents telle qu'un seul animal pût fournir un nombre élevé de doses, ce vaccin, ainsi dilué, étant encore assez actif pour conférer l'immunité contre une inoculation d'épreuve. Ce sont les deux points principaux sur lesquels ont porté nos recherches et dont nous apportons ici, de façon sommaire, les résultats :

I. — *Le pouvoir pathogène, pour l'homme, de la souche de typhus murin T. M. C. peut-il s'accroître par passages successifs sur cobayes?*

(1) *Bull. Acad. de Méd.*, t. CX, 31 octobre 1933.

L'hypothèse et l'expérience s'accordent et permettent de répondre par la négative. S'il est admissible, en effet, de supposer une origine commune aux souches de typhus murin et de typhus historique, il n'est pas prouvé que la transformation actuelle d'un virus en l'autre soit possible. Moseer a montré (1) qu'il était possible de conférer, momentanément, au virus de typhus historique, certaines propriétés du virus murin, en particulier la possibilité de provoquer une périorchite chez le cobaye et de devenir très pathogène pour le rat blanc. Mais ces caractères ne sont pas définitivement fixés, et, après plusieurs passages sur cobayes, le virus reprend ses caractères de typhus historique, les conditions de développement du virus chez le cobaye et le rat ont été modifiées, mais le virus, lui, est resté fixe. D'après Moseer, la transformation du typhus murin en typhus historique doit se faire par passage du virus chez le pou de l'homme. Il est possible, effectivement, d'infecter le pou par la méthode de Weigl, et même de l'infecter au laboratoire sur un animal atteint de typhus murin grave. Moseer, lui-même, reconnaît qu'il est impossible de l'infecter sur des sujets atteints de typhus léger. Nous mêmes n'avons jamais réussi à infecter des poux recueillis sur nos vaccinés et sur les sujets atteints de typhus murin expérimental.

Il reste d'ailleurs à démontrer le fait que le typhus murin passeant par pou devient plus virulent pour l'homme. Le doute semble permis, puisque, d'après Dyer (2), le typhus historique garde, même après trois passages par poux, ses caractères de typhus historique.

Des faits précédents, nous pouvons penser que le virus T. H. G., employé pour la préparation du vaccin antityphique, ne risque pas de modifier sa virulence pour l'homme. L'expérience, jusqu'à présent, confirme l'hypothèse.

Le cobaye, est intrinsèque dans le cycle du typhus, suivant l'expression formulée de Ch. Nicolle, se montre un excellent agent de conservation et de stabilisation de la virulence, que les souches soient murines ou historiques. Nous avons utilisé, pour nos expériences de vaccinations humaines, deux souches isolées des rats de Casablanca, l'une a fait trente-cinq passages sur cobayes (84 cobayes inoculés), l'autre, qui nous conservons actuellement depuis quelques mois, est à son sixième passage (302 cobayes inoculés). Avec ces deux souches, nous avons fait 324 expériences de vaccination et d'inoculation d'épreuve, sur l'homme, y compris 45 humains. Ces expériences ont été faites en 31 séries : la première, faite avec un virus qui n'avait que quatre passages sur cobaye; la dernière, avec un virus qui était au sixième passage sur la même espèce animale.

Toutes les séries sont absolument superposables, les serums fondant

(1) H. Moseer, *Ann. of Exper. Med.*, t. LIX, Janvier 1914, p. 127.
 (2) E. E. Dyer, *The Effect of Pox passage on Epidemic Typhus Virus*, *Public Health Report*, t. 3113, Feb. 1914, p. 221.

infectieux homogènes, à réaction générale peu marquée (3). Les vaccinés ne font aucune réaction ou s'en font qu'une tardive et très légère.

II. — Deux séries de dilution de virus, influence de la filtration, infection et inoculation.

Désireux d'obtenir un vaccin de préparation homogène et de l'obtenir en grande quantité, nous avons dilué, de plus en plus, le liquide virulent et avons, par expériences sur l'homme, contrôlé son pouvoir préventif après sa transformation en vaccin par addition de bile; nous avons également essayé de rendre plus homogène le produit virulent en le filtrant, soit sur des filtres de papier Whatman, soit des filtres de papier Laurent, avec ou sans adjonction de terre d'infusoires. Le résultat de toutes ces expériences, dont le détail ne peut être donné ici, est que la filtration joue le même rôle que la dilution : elle n'ajoute rien à la valeur du vaccin, elle diminue le pouvoir virulent et antigénique du produit filtré d'environ les trois quarts. Un virus filtré a les propriétés virulentes ou vaccinales du même virus non filtré et dilué quatre fois. L'expérience nous a appris également que, dans la pratique, la dilution la plus grande qui peut être faite, sans filtration, d'un produit constitué par la rate et les vaginales d'un cobaye en pleine réaction typhique est de la grandeur de 1.000; ce qui revient à dire que, pratiquement, un cobaye infecté peut servir à préparer une quantité de vaccin suffisante pour 1.000 personnes. Voici quelques expériences qui, avec les graphiques qui les accompagnent, préciseront ces données.

Exp. 1. — Le 18 janvier, le cobaye 36/46 est sacrifié, c'est le quarante-neuvième passage de notre virus murin de Casablanca (T. H. G. III).

À l'autopsie, on voit que les vaginales sont congestionnées, épaissies, très adhérentes à leur gaine séreuse; la rate est un peu augmentée de volume et granuleuse. Les ganglions sous-lombaires sont gros.

En résumé, telle est typique réaction du cobaye au typhus murin.

La rate et les vaginales sont broyées en une émulsion physiologique, pesées sur la balance et l'émulsion est amenée à 1.000 cent. cubes, 4 cent. cubes de cette dilution sont inoculés à un cobaye, pour passage. Ce cobaye fera une réaction typique.

Le reste de la dilution est alors filtré sur filtre de papier Laurent stérile. Seuls, les 50 premiers cent. cubes filtrés sont utilisés.

Avec cette dilution de 1/1.000, filtrée, nous inoculons 7 sujets dans la série (4).

Un avec 1 cent. cube, soit 1/1.000 de l'émulsion.
 L'autre, 2 cent. cubes, soit 1/500 de l'émulsion.

Le troisième, à cent. cubes, soit 1/100 de l'émulsion.

Le reste de la dilution est alors additionné de bile, dans la proportion de 1/20 et, après un contact d'un quart d'heure, trois séries de vaccinations sont faites, chacune de 4 sujets.

(3) Il est peu marqué que, de tous les résultats que l'on obtient, elle se présente que peu d'intérêt dans la prophylaxie des P. G. et des maladies.

La première reçoit 1 cent. cubes, soit 1/100 de la dilution filtrée et filtrée;
 La seconde reçoit 2 cent. cubes, soit 1/50 de la dilution filtrée et filtrée;
 La troisième reçoit 3 cent. cubes, soit 1/33 de la dilution filtrée et filtrée;

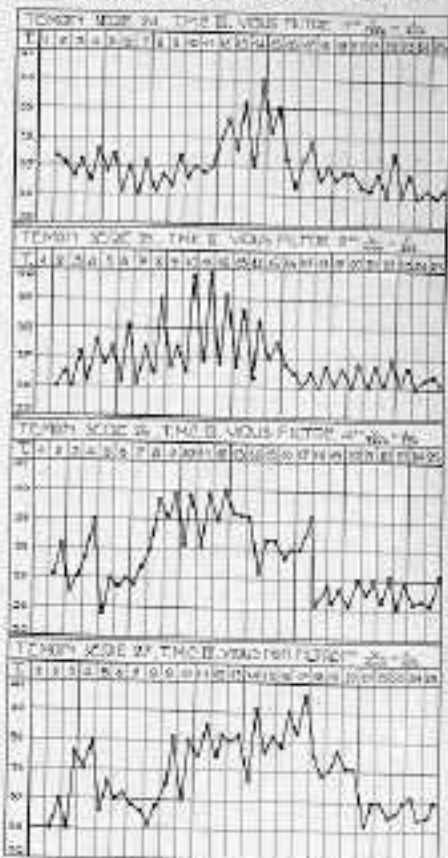


Fig. 1. — Courbes de température montrant que la réaction fébrile est d'autant plus marquée que la dose de virus inoculée est plus forte, montrant aussi que le virus non filtré est aussi actif, à dose égale (sa mesure 1/1.000) que le virus filtré (1/33).

Le résultat de l'expérience est le suivant :
 Le témoin de la première série fait une réaction fébrile très faible;

Le témoin de la seconde série, une réaction plus forte et plus longue;
 Le témoin de la troisième série enfin présente une courbe de température tout à fait typique (fig. 1).

Les inoculés accompagnant ces trois séries ne font aucune réaction, sauf

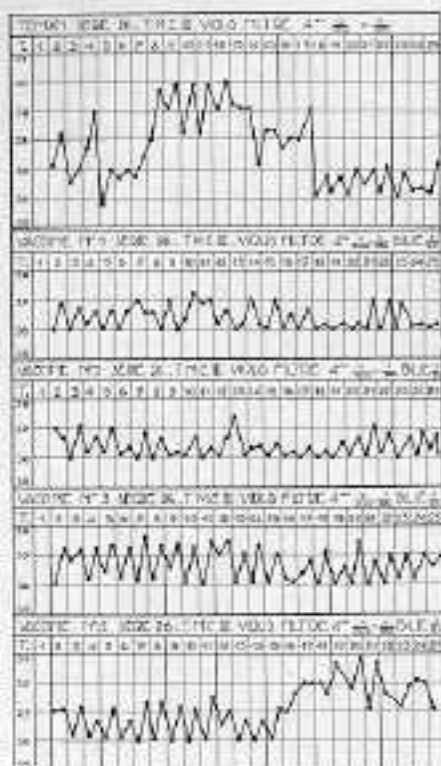


Fig. 2. — Témoin et inoculés avec 1/250 de virus filtré, courbe typique de témoin, absence de réaction de 3 inoculés, réaction faible et tardive du quatrième.

l'un de la série 3, qui a reçu 3 cent. cubes de vaccin filtré. Sa réaction est tardive et légère (fig. 2).

Cette première expérience nous montre toute l'importance de la dose employée. Dans les trois séries, il s'agit du même produit, ayant subi les mêmes manipulations; nous voyons cependant que la seule réaction

typique est celle qui provoque à cent. cubes de virus au 1/1.000 filées. Nous verrons, dans l'expérience donnée plus loin, que la valeur antigène du virus-vaccin est également proportionnelle à la quantité employée.

Exp. II. — Le 22 janvier, le cobaye *n°* 34/37 est sacrifié. Il est, comme chez l'expérimenteur précédent, le quarante-cinquième passage du virus T. N. C. III. Les vaginales sont très congestives, au peu épaissies, adhérentes; la muqueuse est à peine augmentée de volume, mais est recouverte d'un film léger et diffus, linéolaire, caractéristique. Il y a un gros ganglion sous-lombaire; le tube et les vaginales sont érythémateuses, passives sur la tarlatrice et dilués dans 1.000 cent. cubes d'eau physiologique.

1 cent. cube (représentant 1/1.000 de la dilution virulente) est inoculé dans le deltoïde d'un sujet témoins. La dilution virulente est alors diluée au 1/70. Le temps de contact est de quinze minutes, puis 6 sujets sont inoculés avec ce virus dilué, chacun également avec 1 cent. cube (1/1.000). Le témoin fait une courbe tout à fait typique, exactement comparable à celle qu'a faite, dans l'expérience précédente, le témoin qui a reçu à cent. cubes (1/100) de virus par filtre (fig. 1 et fig. 3).

Des 6 vaccinés, 5 n'ont aucune réaction, le sixième, une réaction légère et tardive, du type de celle qu'a présentée un des vaccinés de la série 3 de l'expérience précédente (fig. 3).

De ces deux expériences ressort ce fait que la dilution virulente filtrée est quatre fois moins virulente que la dilution non filtrée; celle-ci donne au 1/1.000 une réaction tout à fait typique.

Immunité et réaction.

La dilution filtrée s'est avérée nettement virulente, le vaccin dilué fait avec cette dilution est encore vivant, puisqu'un des vaccinés de la série 3, inoculé avec 4 cent. cubes de vaccin, a fait une réaction qui, bien que tardive et légère, donne la preuve que le virus n'est pas détruit.

Il était intéressant de voir si, aux doses faibles de 1 et 2 cent. cubes, ce vaccin vivant donnait l'immunité et de comparer la valeur antigénique des quatre vaccins : celui de la dilution au 1/1.000 non filtrée, employé au 1/1.000 et celles de la dilution au 1/1.000 filtrée et employée au 1/1.000 et au 1/500 et au 1/250.

Pour cela, nous avons fait une expérience d'épreuve en réinoculant tous les vaccinés et les quatre témoins qui avaient réagi du façon régulière. Chacun reçut, dans le deltoïde, 2 cent. cubes d'une dilution virulente au 1/1.000, soit, en fait, 1/500 de dilution virulente, deux au moins double de celle qui est sûrement infectante. Cette inoculation d'épreuve est faite le 16 février, soit un mois après la vaccination. Le résultat est tout à fait caractéristique :

a) Aucun des quatre témoins, qui ont fait une réaction plus ou moins forte à la suite de l'inoculation de virus pur, ne fait la moindre réaction à l'inoculation d'épreuve. Ils ont acquis l'immunité.



Fig. 2. — Température et réaction au 1/1.000 de virus non filtré, vaccin typique de Kersin, réaction de réaction de 6 vaccinés, réaction faible et tardive du témoin (1/1.000).

- A) Aucun des vaccinés avec le vaccin bilé non filtré ne fait la moindre réaction à l'inoculation d'épreuve. Ils sont vaccinés (fig. 4).
- C) Aucun des vaccinés avec le vaccin bilé filtré de la troisième série,

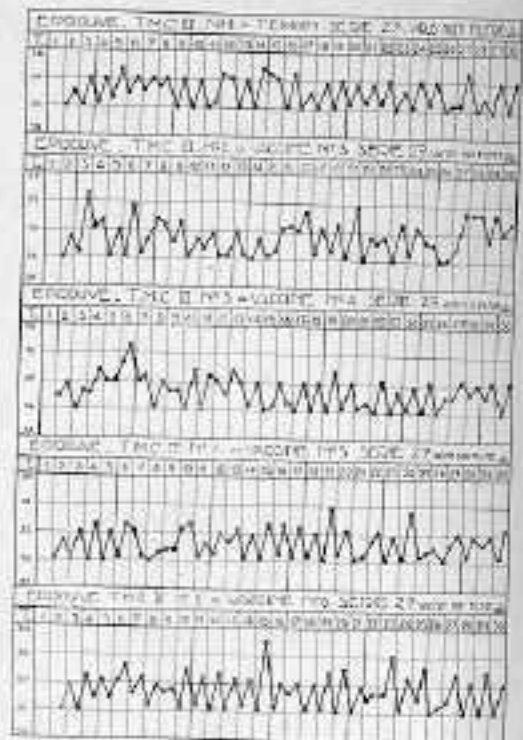


Fig. 4. — Courbes de température du blood et des vaccinés avec 1/1.000 de virus non filtré, prises à la suite de l'inoculation d'épreuve. Pas de réaction.

c'est-à-dire ayant reçu 1/250 de virus bilé, soit une dose quatre fois plus grande que celle de la série précédente, ne fait la moindre réaction à l'inoculation d'épreuve. Ils sont vaccinés (fig. 5).

d) La moitié des vaccinés avec le vaccin bilé filtré, de la deuxième et de la première série, c'est-à-dire ayant reçu 1/500 ou 1/1.000 de vaccin,

font une réaction typique à l'inoculation d'épreuve. La moitié seulement avec de l'immunité à la suite de la vaccination (fig. 6).

La conclusion très nette de cette expérience est que le vaccin bilé filtré, à dose égale, est quatre fois moins actif que le vaccin bilé non

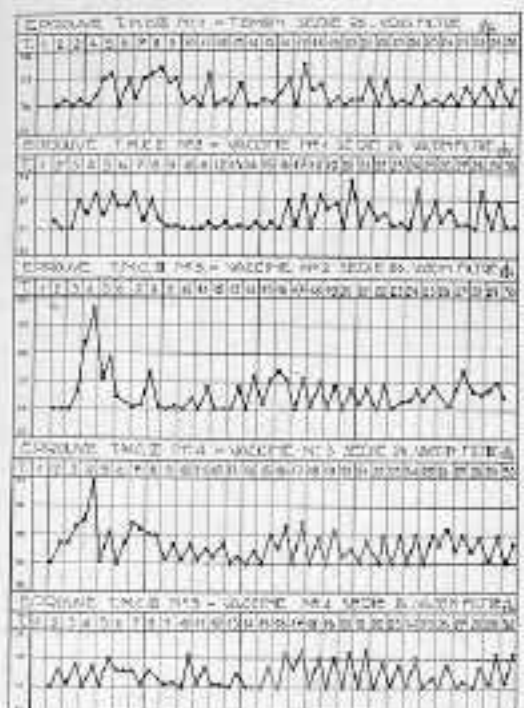


Fig. 5. — Courbes de température du blood et des vaccinés avec 1/250 de virus filtré, prises à la suite de l'inoculation d'épreuve. Pas de réaction.

filtré. Au-dessous d'une certaine dose : 1/1.000 vaccin non filtré, 1/250 vaccin filtré, le vaccin, bien que vivant, ne donne plus l'immunité. La signification de ce fait nous paraît importante.

Pour donner l'immunité à l'homme contre le virus exanthématique, il faut lui donner l'infection. Le vaccin, même vivant, ne donne cette

immunité que s'il donne une infection, qu'elle soit ultra-bénigne ou qu'elle soit tout à fait inapparente. Sans infection inapparente, pas

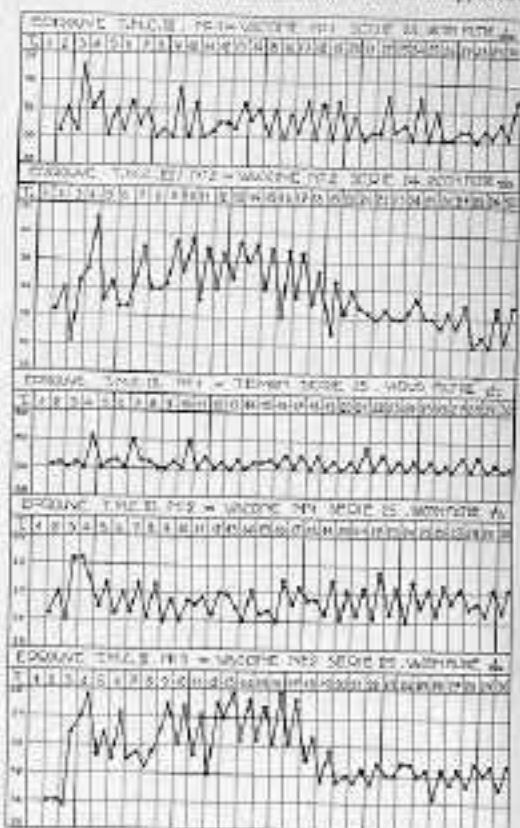


Fig. 5. — Courbes de température de 5 vaccins avec 1/100 de vaccin étéré de temais filtrés avec 1/200 de virus étéré et de 2 vaccins avec 1/100 de vaccin étéré. Températures prises après inoculation d'épreuve. La lecture se réagit sur 2 vaccins étérés.

d'immunité. Pour être maître de la vaccination, il faut être maître de l'infection inapparente.

Cette maîtrise ne peut être absolue; il faut donc, pour être sûr de l'efficacité du vaccin, l'employer à une dose suffisante pour donner un certain pourcentage de réactions légères, signatures du pouvoir antigénique du vaccin.

CONCLUSIONS

Des nouvelles recherches et expériences que nous avons faites sur la vaccination humaine contre le typhus exanthématique avec un vaccin vivant, nous pouvons conclure :

1° Que le virus de typhus marin que nous avons isolé des rats de Casablanca reste, après quinze mois de conservation par passage sur cobaye, aussi peu pathogène pour l'homme qu'il l'était aux premiers jours de l'isolement;

2° Qu'il est possible de diluer jusqu'au millième les produits virulents obtenus par broyage de la rate et des vaginales de cobayes infectés de typhus marin et d'obtenir de cette dilution filtrée un vaccin efficace. Ce qui revient à dire que, dans la pratique, il est possible de vacciner un millier d'individus avec le vaccin fourni par un seul cobaye;

3° Que la filtration, sur filtres de papier, du virus typhique se comporte mieux avantage, mais diminue très fortement la virulence de la dilution;

4° Que la vaccination contre le typhus n'apparaît efficace, même avec un vaccin vivant, que si cette vaccination donne une maladie inapparente. Une telle vaccination, faite avec le virus marin de Casablanca, confère l'immunité et ne comporte aucun danger.