

L'ALGERIE MEDICALE

Extrait

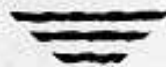
Juillet 1937

31

Longue conservation à sec  
du virus murin  
dans les déjections des puces infectées

par

Georges BLANC et M. BALTAZARD



VII<sup>e</sup>ème Congrès annuel de la  
Fédération des Sciences médicales  
d'Algérie, de Tunisie et du Maroc  
(Alger, 22-23-24 mars 1937)

## Longue conservation à sec du virus du typhus murin dans les déjections des puces infectées

par

Georges BLANC et M. BALTAZARD

---

En 1914, Ch. NICOLLE, G. BLANC et E. CONSEIL démontraient la virulence des déjections des poux infectés par le virus du Typhus exanthématique épidémique (1).

Ces auteurs écrivaient alors : «...le grattage de la peau avec l'ongle « souillé des déjections des poux est capable de transmettre la maladie, aussi « bien que la piqûre. »

Mais l'évidence de la transmission par piqûre faisait passer au second plan la virulence des déjections dont le rôle dans l'épidémiologie du virus semblait négligeable.

DYER et ses collaborateurs (2), (3), en 1931, étudiant la transmission du Typhus murin par la puce montrent qu'à l'inverse du pou dans le Typhus épidémique, la puce ne peut transmettre le virus par piqûre. Ils démontrent la virulence des déjections et supposent que la transmission de la maladie est assurée dans la nature de rat à rat par la souillure des plaies de piqûre par les déjections de l'ectoparasite.

---

(1) Ch. NICOLLE, G. BLANC et E. CONSEIL. — Quelques points de l'étude expérimentale du Typhus exanthématique (*C. R. Acad. Sc.*, 3 novembre 1914, p. 661-664) et Nouvelles recherches expérimentales sur le Typhus exanthématique pratiquées à l'Institut Pasteur de Tunis pendant l'année 1914 (*Arch. Inst. Past. Tunis*, 1914, p. 84).

(2) E.-T. CEDER, R.-E. DYER, A. RUMREICH et L.-F. BADGER. — Typhus virus in faeces of infected fleas (*X. Cheopis*) and duration of infectivity of fleas (*Publ. Health. Reports.*, 1931, XLVI, 3.103).

(3) R.-E. DYER, E.-T. CEDER, M. C. WORKMANN et L.-F. BADGER. — Transmission

Au laboratoire du Professeur WEIGL, Jan STARZYK (1), en 1935, ramène à l'ordre du jour l'importance des objections d'ectoparasites dans la conservation et la transmission naturelle du Typhus épidémique, en démontrant la très longue conservation du virus dans les déjections des puces infectées.

Cette conservation atteignant, dans ses essais, 66 jours dans les conditions naturelles, il émet, à juste titre, l'hypothèse d'une survie interépidémique du virus dans ces déjections sèches.

Dans le Typhus murin, où le puce à l'inverse du pou qui meurt du Typhus épidémique, héberge le virus pendant toute sa vie et où la transmission naturelle est assurée, pour la plus grande part, par le virus des déjections, il était particulièrement intéressant de connaître la longévité de ce virus.

Nous rapportons ici nos premières expériences qui portent toutes sur la puce « *Xenopsylla cheopis* ».

**1° Déjections de puces conservées dans les conditions naturelles :**

Un rat neuf est mis dans un bocal contenant des « *Xenopsylla cheopis* » infectées depuis plus d'un mois par le virus du Typhus murin (E. M. C. 111).

Après un temps variable, ce rat est sacrifié et débarrassé de ses puces. On recueille au poignet fin les déjections de puces qui sont imbibées collées à ses poils. Ces déjections sont mises dans une boîte de Pétri sur du papier buvard, avec un petit morceau de chlorure de calcium. Cette boîte est déposée dans un placard obscur à la température du laboratoire (10-25°). Après des temps variables, on prélève une certaine quantité de cette poussière fine et sèche qu'on dilue dans de l'eau physiologique; la dissolution est totale et quasi instantanée, le liquide présente une couleur brune due à l'hémoglobine digérée.

On inocule 5 cc. dans le péritoine de cobayes mâles. Avec plusieurs récoltes de déjections des mêmes puces faites à des dates différentes, nous avons pu attendre les délais de conservation suivants.

**7 jours :** Deux expériences positives.

1° La totalité des déjections recueillies sur un rat piqué pendant 24 heures par 400 puces et conservées pendant 7 jours est diluée dans 10 cc. d'eau physiologique. On inocule 4 cc. dans le péritoine de deux cobayes mâles qui font tous deux un Typhus murin typique accompagné de périorchite.

2° La moitié des déjections recueillies sur un rat piqué pendant 48 heures par 400 puces et conservées pendant 7 jours est diluée dans 10 cc. d'eau physiologique. On inocule 4 cc. dans le péritoine de deux cobayes mâles qui font tous deux après 5 jours d'incubation un Typhus murin avec périorchite.

**14 jours :** Une expérience positive.

La moitié des déjections recueillies sur un rat piqué pendant 48 heures par 400 puces et conservées pendant 14 jours est diluée dans 10 cc. d'eau physiologique. On inocule 5 cc. dans le péritoine d'un cobaye mâle qui fait après 4 jours un Typhus murin accompagné de périorchite.

En même temps, 5 cc. de ce virus dilué au 1/2.000 sont inoculés dans le péritoine d'un cobaye mâle qui fait après huit jours d'incubation un Typhus fébrile accompagné de périorchite, montrant ainsi la haute virulence du produit conservé.

**21 jours :** Une expérience positive.

Un quart des déjections recueillies sur un rat piqué pendant 48 heures par 400 puces et conservées pendant 21 jours est diluée dans 10 cc. d'eau physiologique. On inocule 5 cc. dans le péritoine de deux cobayes mâles qui s'infectent après 6 jours d'incubation.

Des essais de conservation plus longue par cette méthode sont actuellement en cours.

**2° Déjections de puces conservées à sec dans le vide :**

Des déjections de puces prélevées comme précédemment sont rapidement desséchées dans le vide en présence de chlorure de calcium, puis mises en ampoules scellées sous le vide très poussé fourni par une pompe à huile.

Ces ampoules sont conservées en placard obscur à la température du laboratoire.

**7 jours :** Une expérience positive.

La totalité des déjections recueillies sur un rat piqué pendant 3 jours par 400 puces et conservées depuis 7 jours est diluée dans 10 cc. d'eau physiologique. On inocule 4 cc. dans le péritoine de deux cobayes mâles qui s'infectent après 6 jours d'incubation.

Des essais de conservation plus longue par cette méthode sont actuellement en cours.

**3° Puces entières conservées à sec dans le vide :**

Des puces sèment infectées sont tuées au chloroforme et rapidement desséchées dans un verre à pied, sous vide absolu en présence de chlorure de calcium, puis mises en ampoules scellées sous vide absolu, conservées dans un placard obscur à la température du laboratoire.

**7 jours :** Une expérience positive.

30 puces conservées 7 jours sont broyées dans 5 cc. d'eau physiologique. On inocule 4 cc. dans le péritoine de deux cobayes. Tous deux s'infectent, fièvre et périorchite.

(1) J. STARZYK, — *Wskazywanie i powozy d'immunizacji do Rikozitow przy pomocy ciawienki kowu de tyfogenemu dy puu w mchuw kowu w mchuw kowu*. — *Pr. P. Nauk. Pol.*, 1936, CXXXI, 1221.

Des essais de conservation plus longue par cette méthode sont actuellement en cours.

4 Broyat de puces caractérisé à sec dans le vide :

Des puces infectées sont tuées au chloroforme, lavées à l'alcool puis à l'eau physiologique et séchées sur papier buvard. Elles sont ensuite broyées à sec dans un verre à pied, aussitôt porté au dessiccateur à chlorure de calcium sous vide absolu. Le broyat est ensuite conservé dans le vide à l'obscurité, à la température du laboratoire.

7 jours : Une expérience négative.

Le broyat de 30 puces conservé 7 jours est repris dans 8 cc. d'eau physiologique. On inocule 4 cc. dans le péritoine de deux cobayes mâles, aucun des deux ne s'infecte.

De nouvelles expériences de conservation du virus par cette méthode sont actuellement en cours.

Ces expériences montrent que le virus du Typhus marin se conserve pendant au moins 21 jours et probablement beaucoup plus longtemps dans les déjections des puces infectées.

Cette constatation appelle, à notre avis, plusieurs conclusions et hypothèses :

1° Elle insiste, une fois de plus, la grande importance de l'ectoparasite dans la multiplication et la propagation du virus.

500 puces infectées émettent en 24 heures environ 1 gramme de déjection. La puce infectée le reste toute sa vie et toutes ses déjections sont virulentes.

Le virus se conserve longtemps dans ces déjections.

Si l'on songe au nombre considérable de puces dont sont porteurs les rats saouages, et à la fréquence de leur infection, on se représente l'énorme quantité de virus mise ainsi en liberté dans la nature.

La possibilité d'une contagion humaine par ce virus à grande résistance répandu sous forme de poudre fine partout où se trouvent les rats, prend en face des expériences négatives de transmission par objets que nous publierons prochainement, une plus grande probabilité (1).

2° La longue conservation à sec du virus dans les déjections, démontrée par STARZYK pour le Typhus épidémique et par nous-mêmes pour le Typhus marin, opposée aux multiples essais négatifs de durée de longue

(1) Méris pour la relation de cet article : G. BLAS et M. BOUWARD. Rapport remis au Comité de l'hygiène du Typhus marin par un groupe de puces infectées. (2) CLEAIR et F. TISSIER. Bull. Acad. médecine, 111, p. 424-440, 1931.

conservation à sec de ces virus lors de leur vie intracellulaire, semble montrer qu'ils possèdent une plus forte résistance sous leur forme extra-cellulaire.

S'agit-il d'une forme particulière de résistance assurant la survie et la propagation du virus? Ou bien doit-on considérer que les lésions ou les résultats incertains obtenus dans les essais de dessiccation de tissus vivants sont dus au fait qu'une dessiccation, même parfaite en apparence, d'un tel matériel, n'est en réalité qu'une déshydratation partielle.

En effet, le dosage permet de montrer que la plus forte partie d'eau obtenue ne peut dépasser 40 %.

Dans un tel milieu, la vie des Rickettsias demeure intracellulaire, reste liée à celle de la cellule et la mort lente de celle-ci entraîne celle du parasite exactement comme cela se passe dans les conservations de broyats de tissus en milieu aqueux.

3° Cet aspect particulier, extraparasitaire, du virus d'une part, et, d'autre part, la longue résistance qu'il offre sous cette forme, nous conduisent à essayer de substituer ce matériel virulent aux organes d'animaux infectés que nous utilisons jusqu'à présent pour la préparation de notre vaccin vivant contre le Typhus épidémique.

En effet, les deux objections principales faites à notre méthode étaient, d'une part, l'impossibilité de stocker le vaccin (objection propre aux méthodes de vaccination par virus vivants) et, d'autre part, l'indégalité dans la virulence des matériaux utilisés selon le moment de leur prélèvement (objection qui peut être faite à toutes les méthodes utilisant des broyats d'organes d'animaux).

En effet, le virus apparaît chez le vertébré atteint rapidement au maximum, puis disparaît des organes plus ou moins vite, selon qu'il s'agit de cerveau, d'appareil lentel ou d'organes tels que la rate, les vaginales dont la virulence est très forte mais très brève.

Une troisième objection (celle-ci propre à notre méthode) réside dans le fait que le matériel virulent utilisé était (en dehors des Rickettsias libérées des cellules par le broyage) une émulsion de cellules entières, vivantes, parasitées par le virus.

Comme se passait « l'enrêlage » de telles cellules, ou même groupes de cellules par la rate.

Tous les essais que nous avons tenté pour débarrasser l'émulsion virulente de ces cellules par des méthodes mécaniques (centrifugation, filtration) ou pour libérer le virus des cellules par des méthodes physiques (cataphorèse, dialyse-adsorption) (1) et éviter ainsi des phénomènes de « non enrêlage », étaient restés peu concluants.

L'utilisation comme matériel virulent d'une dilution de déjection de puces supprimerait ces objections. En effet :

(1) G. BLANCHÉ et J. DOUACE. — *ibid.*

1° L'envoi et l'utilisation tardive du virus (et même le stockage) deviennent possibles ;

2° Le dosage, au moins relatif, de la quantité de virus utilisée, devient facile ;

En effet, le virus une fois établi dans le tube digestif de la puce s'y maintient sous la même forme pendant toute la durée de la vie de l'insecte.

Si l'on s'adresse à un lot de puces, où chaque puce est certainement infectée, ce qui est facile à réaliser, on peut admettre que la quantité de virus émise par ces puces pendant un certain laps de temps, à une certaine époque est la même que la quantité de virus émise pendant le même temps par les mêmes puces à n'importe quelle autre époque de leur vie.

De plus, la pesée de la poudre fine que constituent les déjections de puces est facile à faire.

Un roulement de puces infectées pour remplacer les puces mortes, peut permettre de prélever à n'importe quel moment une quantité de virus qui n'est limitée que par le nombre des puces.

La haute virulence de ce matériel montre qu'une très petite quantité de poudre (moins de 1 gr.) peut servir à préparer 2.000 cc. d'un virus parfaitement actif.

3° Les déjections des puces, surtout après dessiccation, ne contenant évidemment pas de cellules vivantes, l'homogénéité du matériel virulent est parfaite.

L'expérimentation montrera quelle est l'action de la bile sur de telles Rickettsias extracellulaires et si l'on peut en obtenir un vaccin vivant dosable, homogène, à longue conservation.

---