

55

124

# Vaccination contre le typhus exanthématique par virus vivant de typhus murin

par G. BLANC et M. BALTAZARD

---

*Archives de l'Institut Pasteur du Maroc*  
t. II, Fasc. 3, Décembre 1941, pp. 445-486

---



VACCINATION CONTRE LE TYPHUS  
EXANTHEMATIQUE PAR VIRUS VIVANT  
DE TYPHUS MURIN \*

par

Georges BLANC et Marcel BALTAZARD

---

RAPPEL DU PRINCIPE DE LA VACCINATION  
PAR VIRUS VIVANT

Sous le nom de vaccination, sont, à l'heure actuelle, confondus deux modes de protection humaine de principe bien différent.

1° D'une part, la protection de l'individu en milieu endémique ou épidémique, protection limitée aux seuls volontaires (c'est-à-dire à une partie toujours très restreinte de la population, quel que soit le danger de contagion) et qui ne pourra être rendue obligatoire que par certaines autorités responsables de leurs ressortissants (école, armée, etc...).

Cette vaccination pourra ne conférer qu'une protection transitoire, limitée à la durée d'une épidémie, ou du séjour du vacciné en milieu endémique, elle pourra être faite tout à loisir, en prévision d'une épidémie, ou avant l'arrivée du

---

(\*) Mémoire inédit.

sujet en milieu endémique, et ainsi comporter plusieurs inoculations à intervalles de temps plus ou moins éloignés. Elle pourra également, portant sur un petit nombre d'individus, être recommencée ou entretenue aussi souvent qu'il sera nécessaire. Le type de cette sorte de vaccination est la vaccination antityphoïdique.

2° D'autre part, la lutte contre une maladie endémique à tendance épidémique, par la vaccination massive, répétée, obligatoire, de tous les individus. Procédé qui vise non plus tant à protéger chaque individu qu'à créer devant l'infection une véritable barrière de non-réceptifs, capable d'empêcher la maladie de prendre le tour épidémique et même d'obtenir peu à peu l'éradication de l'endémie. Ce mode de lutte ne peut évidemment être appliqué qu'aux maladies strictement propres à l'homme, ne comportant point de réservoir de virus animal ou de vie libre dans la nature, mais seulement une forme de résistance, de conservation plus ou moins longue.

Une telle méthode ne peut être basée que sur l'emploi d'un vaccin d'application facile et donnant une immunité suffisamment longue pour permettre d'éviter d'avoir à recommencer sans cesse l'œuvre considérable qu'est une vaccination générale. Le type de cette vaccination est la vaccination anti-variolique.

Devant le typhus exanthématique, les deux méthodes peuvent être employées, visant à deux buts bien différents, utilisant des moyens également différents.

La protection de l'individu momentanément exposé à la contagion, du médecin, de l'infirmier, du missionnaire, du voyageur, etc..., protection qui doit être solide mais n'a besoin d'être que transitoire, peut être obtenue avec un vaccin tué. Visant à produire des anticorps puissants dans l'organisme du vacciné, cette méthode utilisera l'inoculation répétée d'un virus extrêmement riche, rendu inoffensif par un procédé quelconque qui en détruit totalement la virulence tout en respectant, autant que possible, le pouvoir antigénique. Les inoculations d'antigène tué devront être répétées (en général trois) à intervalle de temps plus ou moins éloigné

(une semaine à quinze jours), avec un antigène de richesse croissante.

La richesse même exigée de l'antigène en rendra la production difficile, donc très limitée.

Même si l'immunité établie après la dernière inoculation est forte, ce qui peut se produire avec un antigène riche, elle sera de courte durée, égale à la persistance dans l'organisme des anticorps produits par les inoculations de l'antigène : les auteurs mêmes des différentes méthodes l'évaluent à environ six mois.

Objection plus grave, ces anticorps seront d'une spécificité très étroite, actifs seulement contre la souche qui les a produits, obligeant les auteurs de ces méthodes de vaccination à multiplier les souches de virus composant leur antigène. C'est ainsi que Weigl avait été amené à se procurer des souches de typhus de tous les pays où pouvait être utilisé son vaccin : les souches polonaises ne donnant qu'un antigène peu actif contre les souches nord-africaines par exemple.

La protection de la collectivité, la lutte contre l'endémicité ou les retours épidémiques du typhus ne pourront donc être entreprises qu'avec un vaccin vivant.

Ainsi que l'écrivait Charles Nicolle, qui avait, pour son compte, expérimenté tous les moyens d'immunisation contre le typhus et tenté les premiers essais par virus vivant :  
« Seule l'inoculation du virus lui-même apparaît comme  
« susceptible de produire une immunité, sinon définitive  
« (seule la reproduction du typhus avec sa gravité connue y  
« parviendrait), du moins d'une durée pratique... Si l'on  
« parvenait à donner à coup sûr le typhus inapparent à  
« l'homme, le meilleur procédé de vaccination préventive  
« serait acquis de ce fait ».

C'est partant de ces principes que, dès 1933, nous tentions, à l'Institut Pasteur du Maroc, avec M. Noury et J. Bruneau, la mise au point d'un vaccin vivant contre le typhus exanthématique.

Une possibilité nouvelle s'offrait, en effet, à nous, qui permettrait d'éviter le grave écueil dont Ch. Nicolle et ses

collaborateurs venaient d'éprouver le danger en tentant de vacciner par « doses minimales » répétées de virus vivant de typhus exanthématique : un certain nombre de sujets avaient fait un typhus plus ou moins grave, dû au « vaccin ».

Les américains venaient de découvrir une nouvelle infection, proche parente du typhus, mais s'en distinguant cliniquement et expérimentalement par des caractères bien précis. Ils avaient montré qu'elle était due à un virus appartenant, dans la nature, aux rongeurs et plus spécialement au rat, transmise du rat au rat par la puce et pouvant passer accidentellement à l'homme, chez lequel elle provoquait une maladie ressemblant au typhus, mais d'une bénignité totale et constante, tant au point de vue évolution clinique qu'au point de vue pronostic. Ce typhus baptisé « typhus bénin » ou « typhus murin » immunisait le cobaye contre le typhus exanthématique.

Nous venions de découvrir avec M. Noury et M. Fischer, la présence d'un tel virus sur les rats de Casablanca. Plusieurs souches étaient isolées qui pouvaient être comparées entre elles ainsi qu'avec d'autres souches étrangères du même virus (virus américain, virus toulonnais). Plusieurs contaminations de laboratoire et inoculations expérimentales à des volontaires nous montraient la bénignité constante de l'infection. La confirmation répétée sur l'animal de l'immunité croisée rigoureuse entre les différentes souches de typhus murin et le virus de typhus exanthématique, souche « historique » de Ch. Nicolle, nous amenait à tenter l'expérience chez l'homme : cette expérience, répétée chez des sujets volontaires à intervalle de temps plus ou moins éloigné, nous montrait la constance de l'immunité croisée.

Nous entreprenions aussitôt, chez le cobaye puis chez l'homme, des essais d'« atténuation » du virus du typhus murin. Nous basant sur les résultats favorables, obtenus par l'un de nous, avec Caminopétros, à l'Institut Pasteur d'Athènes, d'essai d'« atténuation » du virus de la dengue par la bile de bœuf, nous tentions d'obtenir chez l'homme l'« infection inapparente » par inoculation d'un virus d'organes broyés de cobaye infecté, bilié dans les proportions mêmes

qui avaient donné pour la dengue les meilleurs résultats : c'est-à-dire au 1/20ème.

Dès la première expérience, nous obtenions un résultat favorable : la plupart des sujets inoculés avec le virus bilie ne firent aucune réaction thermique ni générale ; éprouvés dans la suite avec diverses souches de typhus murin ou de typhus épidémique, ils se montrèrent tous rigoureusement immunisés.

Une longue série d'essais expérimentaux commençait alors, où nous tentions de rendre applicable, dans la pratique, cette méthode d'immunisation, en diminuant le nombre des « réactions vaccinales ». Nous y parvenions en augmentant le taux de dilution du broyat d'organes virulents, du 1/40ème (taux des premiers essais) jusqu'au 1/2.000ème, tout en conservant la même proportion relative de bile : 1/20ème, soit 5 cc pour 100 cc d'émulsion virulente. Le taux des « réactions » s'abaissa alors notablement, ne dépassant plus 2 à 5 %, cependant que le pourcentage des immunisés restait très élevé. Le premier essai d'application collective était fait dans un pénitencier, sur 723 détenus, le taux des réactions observées oscilla autour de 3 % ; une série d'épreuves échelonnées démontra l'excellence de l'immunité obtenue.

La Direction du Service de Santé et d'Hygiène publiques du Maroc décidait alors de commencer l'application de la vaccination dans les foyers de typhus. Après plusieurs essais restreints, la première vaccination massive avait lieu à Petit-jean, le 27 mars 1935, sur une population de 8.234 personnes, non épouillées, parmi lesquelles s'étaient produits, depuis un mois, 22 cas de typhus avec 6 décès. Un mois plus tard, le typhus avait complètement disparu de l'agglomération.

Cependant, l'application massive de la vaccination restait difficile, les inconvénients en étaient nombreux, le pire restait de devoir utiliser le virus d'organes de cobaye, qu'il fallait préparer sur place. C'est pourquoi, pendant que se déroulait au Maroc la vaccination (qui devait dépasser au total le chiffre de 1.200.000), nous continuions de pousser activement, au laboratoire, les recherches qui, en nous procurant un virus

stable, devaient nous amener à la méthode que nous utilisons actuellement.

## VACCINATION PAR VIRUS-VACCIN VIVANT SEC

### TRAVAUX DE RECHERCHES

En 1914, Ch. Nicolle, G. Blanc et E. Conseil (1) montraient la virulence des déjections des poux infectés par le virus du typhus épidémique. Ils insistaient sur le rôle, dans la transmission de la maladie, de ces déjections capables de contaminer l'homme en pénétrant à la faveur du grattage par la plaie de piqûre ou les excoriations cutanées.

Da Rocha Lima (2) obtenait un résultat différent et déclarait, en 1916, ne pouvoir obtenir l'infection à partir des déjections de poux.

En 1922, Atkin publie les résultats de recherches faites avec Bacot (3) en 1920 et 1921, au Lister Institute de Londres, sur un virus polonais et un virus irlandais. Poursuivant des travaux sur le mode de transmission du typhus épidémique, ces auteurs suspectent les déjections de poux infectés, de jouer le rôle principal dans la contamination naturelle.

La même année 1922, Bacot, à la demande du gouvernement égyptien, vient étudier le typhus au Public Health Laboratory du Caire, en collaboration avec Arkwright. Les deux auteurs y poursuivent les plus intéressantes recherches que vient malheureusement interrompre rapidement une double contamination de laboratoire par le virus épidémique, et la mort de A.W. Bacot.

En 1923, Arkwright publie, sous son nom et celui de Bacot (4), les résultats de cette trop brève collaboration.

(1) NICOLLE Ch., BLANC G. et CONSEIL E. *C.R. Acad. Sci.*, 1914, 159, 661 et *Arch. Inst. Pasteur Tunis.* 1914 9, 84.

(2) DA ROCHA LIMA *Klin. Wochsch.*, 1916, 53, 567.

(3) ATKIN E.E. et BACOT A. *Brit. J. exp. Path.* 1922, 3, 196.

(4) ARKWRIGHT J.A. et BACOT A. *Brit. J. exp. Path.*, 1923, 4, 70.

Parmi ceux-ci, le plus important est la démonstration de la conservation à sec du virus typhique dans les déjections des poux infectés, pendant 11 jours à la température du laboratoire. Les auteurs avaient opéré de la façon suivante :

« These excreta were shaken as a dry powder through  
« the fine gauze cover of the box containing the lice into a  
« sterile Petri-dish and were kept in a cupboard in the labo-  
« ratory, remaining apparently quite dry. The result is  
« noteworthy, since it has been generally held that drying  
« rapidly destroys the virus of typhus ».

Résultat en effet fort important, en contradiction avec la notion généralement admise de la destruction rapide du virus typhique (\*), spécialement dans les broyats d'organes d'animaux infectés ou dans les broyats de poux, où les différents chercheurs voyaient le virus disparaître en quelques heures, malgré les modes variés de conservation mis en œuvre.

Cette notion de la résistance du virus typhique des déjections, en opposition avec la fragilité du même virus sous ses autres formes, devait cependant tomber dans l'oubli, chose d'autant plus curieuse qu'à cette époque et dans les années qui vont suivre, les chercheurs du monde entier vont, pour des raisons de commodité expérimentale, multiplier les expériences de conservation du virus, sans jamais pouvoir atteindre de délai comparable à celui des auteurs anglais.

C'est seulement treize ans plus tard, en 1936, que B. Fejgin (1), puis J. Starzyk (2), au laboratoire de Weigl à Lwow, devaient remettre la question à l'ordre du jour. Dans un excellent travail expérimental, ce dernier auteur montrait l'extraordinaire longévité du virus des déjections dans les conditions naturelles (66 jours).

---

(\*) Quelque temps auparavant, Ch. Nicolle, lui-même, écrivait (Arch. des Instituts Pasteur de l'Afrique du Nord, 1921) à propos d'expériences sur la non hérédité du virus chez le pou : « Les éclosions demandent un minimum de 8 jours, temps plus que suffisant pour que les crottes, qui demeurent au contact des carapaces des lentes et que les jeunes poux pourraient peut-être emporter à l'état de traces à leurs pattes, perdent toute virulence ».

(1) FEJGIN B. *C.R. Soc. Biol.*, 1936, 123, 37.

(2) STARZYK J. *C.R. Soc. Biol.*, 1936, 123, 121 et *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1936, 27, 263.

Or, à cette époque, où la vaccination par virus murin vivant bilié (broyats d'organes de cobayes infectés) s'étendait de plus en plus au Maroc, devant la menace d'une épidémie exceptionnellement grave, nous cherchions par tous les moyens à conserver le virus de typhus murin utilisé pour les vaccinations.

En effet, la question de l'application massive de ce vaccin, sorti de son stade expérimental, n'était pas simple. Le virus d'organes de cobaye, très fragile, ne pouvait être conservé, non plus que transporté sur de longues distances, sa préparation était délicate. Une équipe spécialisée devait donc se rendre au lieu de la vaccination, emportant avec elle les cobayes infectés et un important matériel d'autopsie, de stérilisation et de préparation du vaccin. Afin d'éviter à cette équipe de trop nombreux et souvent difficiles déplacements, les populations à vacciner étaient rassemblées, en grandes foules, dépassant parfois 30.000 personnes. Ces concentrations, où pouvaient se trouver mélangés des gens venant de points infectés, avec d'autres appartenant à des régions encore épargnées par l'épidémie, n'étaient pas sans danger au point de vue de la dispersion de la maladie.

D'autre part, cette même fragilité obligeait à ne préparer le virus, puis le vaccin, qu'au fur et à mesure de la cadence suivie par les équipes de vaccinateurs. Considérant, en effet, qu'une destruction aussi rapide n'est pas un phénomène brutal et tardif, mais bien continu et précoce, nous nous efforcions d'utiliser le virus dès que possible après sa préparation.

L'expérimentation nous montrait, en effet, qu'à la température moyenne du laboratoire, de 20 à 25°, la survie n'atteignait pas, le plus souvent, 48 heures. Les rickettsias, parasites stricts du réticulo-endothélium, semblaient ne pouvoir survivre à la cellule-hôte et leur conservation, pendant 48 heures, devait se confondre avec celle de cette cellule. Seule, l'action du froid (-20°), qui arrête les échanges physico-chimiques intracellulaires, parvenait à suspendre la mort pendant un laps de temps qui pouvait être considérable si les organes virulents n'étaient pas broyés et, mieux encore, si l'animal infecté était congelé *in toto*.

Paul Giroud (1), cherchant à conserver le virus typhique, utilisait la dessiccation qui donne, pour de nombreux virus, une survie très longue, à la température du laboratoire. Il coupait en tranches minces des organes virulents de cobayes, cerveau et rate, ou les broyait finement ; il desséchait, soit à la température du laboratoire, soit à basse température, sous un vide très poussé et en présence d'anhydride phosphorique. Les résultats obtenus étaient nuls, le virus ne résistait pas à l'opération.

D'autres essais, faits par Zinsser, avec des vaginales de cobayes infectés de virus murin, desséchées en présence de chlorure de calcium, ne donnaient pas de meilleurs résultats.

Laigret et Durand, par contre, réussissaient à maintenir vivant du virus soumis à la dessiccation. Les résultats les plus constants étaient obtenus avec des cerveaux de rats infectés. Ces auteurs recommandaient de faire une dessiccation très rapide et insistaient sur la nécessité d'employer le chlorure de calcium et non l'acide sulfurique ou l'anhydride phosphorique. Le vide devait être poussé à quelques millimètres de mercure. Avec un tel virus, ils parvenaient à infecter des cobayes et des hommes, et ce virus, enrobé dans l'huile, donnait encore à l'homme, dans 1 p. 100 des cas environ, une infection fébrile avec réaction de Weil-Felix positive (2). La survie du virus, dans le vide de 3 à 4 millimètres de mercure, pouvait être constatée, dans certains cas, après 5, 7, 15 et peut-être 30 jours, après enrobage dans l'huile et conservation à la température du laboratoire (3).

Les résultats cependant n'étaient pas uniformes, il arrivait qu'après dessiccation le produit n'était plus virulent, et Laigret et Durand écrivaient : « À la température ordinaire, la conservation n'est pas sûre au-delà de 48 heures » (4).

Nous-mêmes, avons essayé, à plusieurs reprises, de conserver à sec le virus du typhus murin. Nous desséchions, dans le vide, en présence de chlorure de calcium, l'organe virulent (cerveau, rate ou vaginale de cobaye) broyé avec du phos-

(1) GIRLOUD P. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1935, 41, 480.

(2) LAIGRET J., BELFORT J. et DURAND R. *La Tunisie Médicale*, 1937, 31, 167.

(3) LAIGRET J. et DURAND R. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1936, 25, 570.

(4) LAIGRET J. et DURAND R. *Arch. Inst. Pasteur Tunis*, 1936, 25, 92.

phate de soude. Les résultats obtenus étaient négatifs : les cobayes inoculés avec le produit desséché ne s'infectaient pas et réagissaient à l'inoculation d'épreuve. De même, deux hommes ne faisaient ni infection ni immunité à la suite de l'inoculation d'une forte dose de virus desséché.

L'expérimentation nous montrait en même temps que la dessiccation d'organes broyés ne pouvait être ni parfaite ni rapide.

En effet, des organes broyés et mélangés à du phosphate de soude anhydre soumis à un vide au centième de millimètre de mercure, en présence de chlorure de calcium, perdent :

En 15 minutes . . . . .	33 % d'eau
En 3 heures . . . . .	79 % d'eau
En 6 heures . . . . .	82 % d'eau

Dans un tel milieu, qui n'est que partiellement et lentement déshydraté, les échanges entre les cellules que le broyage a laissées intactes et leurs parasites peuvent continuer et la mort des rickettsias accompagne celle des cellules.

La lecture du travail de J. Starzyk, sur la longue résistance du virus épidémique à sec dans les déjections de poux, nous incitait à rechercher le même phénomène dans les déjections de puces infectées de typhus murin.

La question présentait un double intérêt. Intérêt d'ordre spéculatif, puisqu'il avait été démontré par Dyer, puis par nous-mêmes, que le virus du typhus murin ne pouvait être transmis par piqûre de la puce, et que les déjections de l'insecte devaient jouer le rôle principal dans la transmission : une conservation du virus dans ces déjections confirmerait cette façon de voir. Intérêt d'ordre utilitaire, pour la conservation du virus au laboratoire et, mieux encore, pour son stockage et, si possible, son utilisation comme vaccin.

Dès les premiers essais faits en février 1937, nous constatons que la conservation du virus du typhus murin dans les déjections de puces infectées pouvait atteindre, dans les conditions naturelles, 7 jours, puis 21 jours. Ces délais, plus que suffisants pour permettre déjà d'envisager l'envoi de ce virus sec au moins dans le Maroc, nous amenaient à

commencer immédiatement les essais de mise au point d'un vaccin à partir de ces déjections.

Dès le mois de septembre 1937, nous pouvions publier les premiers résultats obtenus, d'autant plus encourageants qu'entre temps nous avons atteint 40, puis 100 jours de conservation du virus sec, délais qui permettaient d'envisager non seulement l'envoi, mais le stockage du virus.

Au cours de la première moitié de l'année suivante, l'expérimentation apportait des précisions sur le virus sec des déjections. 200, puis 325 jours de conservation étaient successivement atteints, sans que se traduise chez le cobaye ou l'homme aucun abaissement de la virulence. Par contre, nous pouvions constater que ce même virus, mis en dilution, ne résistait pas mieux que celui des broyats d'organes et était détruit en moins de 24 heures, à la température du laboratoire. Enfin, nous pouvions, en cherchant à déterminer la dose minima infectante pour l'homme, constater que la virulence des déjections était considérable :  $1/100^{\circ}$  de milligramme, soit le  $1/5^{\circ}$  environ d'une déjection, d'un seul grain, suffisant toujours à infecter l'homme.

D'autre part, l'étude expérimentale nous montrait que l'infection apparente provoquée par l'inoculation de virus sec, était bien du même type que celle obtenue avec le virus de cobaye : cependant, chez l'homme comme chez le cobaye, ce virus, utilisé à la dose minima infectante, avait tendance à provoquer l'infection inapparente dans un pourcentage de cas beaucoup plus élevé que le virus d'organes broyés de cobaye, même très dilué.

De très nombreuses expériences d'immunité croisée pratiquées chez le cobaye et surtout chez l'homme, entre ce virus et le virus de passage-cobaye ainsi que le virus épidémique humain, nous montraient que l'immunité conférée par l'infection apparente ou inapparente due au virus sec, était également très forte et polyvalente vis-à-vis de toutes les souches.

Enfin, une longue série d'expériences montrait que le virus sec, extracellulaire, était plus sensible à l'action de la bile que le virus d'organes broyés, et permettait de fixer au  $1/150^{\circ}$  le taux des essais en grand de vaccination humaine.

Ces essais portèrent au total sur 1.380 personnes dont 142 femmes et 224 enfants. Les résultats confirmèrent les espoirs que nous avions fondés sur la nouvelle forme de virus utilisée : le taux des réactions vaccinales s'abaissa d'emblée de façon considérable ; en même temps, les épreuves d'immunité pratiquées sur 93 volontaires avec de très fortes doses de virus sec ou de virus de passage-cobaye, montraient que l'immunité obtenue était de qualité égale à celle conférée par notre première méthode.

Au mois de novembre 1938, la méthode était fixée sous sa forme actuelle et l'application en commençait au Maroc. Les avantages obtenus étaient considérables et faisaient disparaître tous les inconvénients de notre première méthode, c'est-à-dire :

1° La fragilité du virus. La destruction rapide du virus dans les émulsions d'organes de cobaye, obligeait, ainsi que nous l'avons dit, à préparer le vaccin sur place. Cette préparation, délicate, devait être faite par un médecin de l'Institut Pasteur qui sacrifiait les cobayes et préparait le vaccin au fur et à mesure des besoins des équipes, de façon à éviter toute destruction, même partielle, du virus. Les organes d'un cobaye donnant 2.000 doses de vaccin, que la meilleure organisation ne peut permettre d'inoculer en moins d'une heure, il était pratiquement impossible, le plus souvent, de préparer plusieurs émulsions virulentes à partir de plusieurs cobayes et de mélanger ces émulsions, ce qui eût permis, au moins à l'intérieur d'une même séance de vaccination de diminuer le deuxième inconvénient, c'est-à-dire :

2° l'inégalité de virulence. En effet, le facteur le plus variable était précisément la quantité de virus fournie par chaque cobaye : le facteur individuel, l'âge de l'animal, influant sur l'importance de la réaction ; le poids même des organes utilisés étant extrêmement variable, selon la taille de l'animal.

L'optimum de la réaction, c'est-à-dire le maximum de virulence des organes ayant été expérimentalement fixé au

deuxième jour de la réaction thermique et de la périorchite, et le temps d'incubation variant d'un passage à l'autre, de 2 à 6 jours, il était, d'autre part, difficile de fixer avec précision le moment où devaient être inoculés les animaux destinés à une vaccination, dont la date, à cause des difficultés de rassemblement, devait évidemment être fixée à l'avance. Certains cobayes devaient donc être utilisés au premier jour de leur réaction, d'autres tout à fait à la fin, moments où la virulence est sinon moindre, du moins différente.

Ainsi, chaque lot de 2.000 individus pouvait-il recevoir un vaccin très différent. Enfin à l'intérieur d'un même lot, se marquaient des différences dues à l'inconvénient le plus grave :

3° le défaut d'homogénéité de l'émulsion. Le broyage des organes le plus poussé, s'il parvient à dissocier le tissu, c'est-à-dire à séparer les cellules les unes des autres, n'atteint point la cellule elle-même et ne peut libérer le virus qui y est contenu. Si donc il existe dans l'émulsion un virus extracellulaire, libéré lors du broyage, la majeure partie du virus reste contenue dans les cellules ou groupes de cellules en suspension dans le liquide. D'où inégalité physique de l'action de la bile, inégalité matérielle des doses inoculées, plus ou moins riches en matériel virulent selon qu'elles contiennent plus ou moins de cellules.

Le vaccin obtenu à partir du virus sec supprimait, comme nous l'avons dit, ces inconvénients.

1° la résistance du virus devait permettre l'envoi, la conservation dans les formations sanitaires, l'attaque immédiate des foyers détectés, la décentralisation, entraînant l'extension numérique et géographique et enfin la vaccination douar par douar sans mouvements de populations.

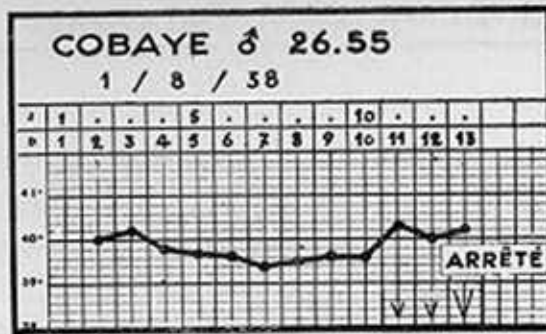
Cette résistance se montrait en effet considérable. La grande quantité de déjections du lot (lot 1 = 13.320 mgs) récolté pendant l'hiver 1937-1938 avec lequel avaient été faits les premiers essais, permettait de multiplier au laboratoire les expériences d'étude et de conservation pendant que se

poursuivait, au Maroc, la vaccination avec le virus du même lot. Le virus continuait de se montrer égal à lui-même quant à son pouvoir infectant pour le cobaye, à la durée de l'incubation (8 à 9 jours), au pouvoir antigénique. Nous donnons ci-joint, à titre d'exemple, les courbes de cobayes inoculés avec ce virus après 6 mois, 1 an, 2 ans et 2 ans 1/2 de conservation.

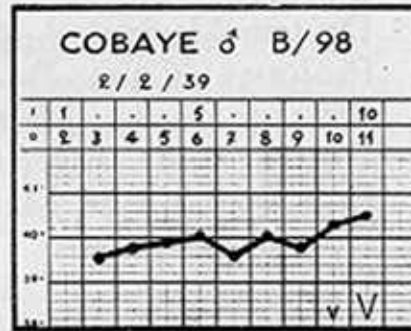
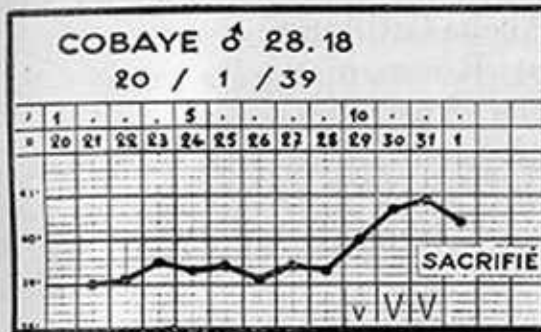
Par ailleurs, la résistance de ce virus permettait son envoi à plusieurs de nos correspondants. Au mois de mai 1938, nous envoyions au docteur Peltier, directeur de l'Institut Pasteur de Dakar, des déjections sèches du lot 1 conservées depuis 120 jours ; ce virus était inoculé au cobaye avec succès. Au mois d'août 1938, nous expédions à l'Institut d'Hygiène de la Faculté de Médecine de Zaghreb, au docteur Trausmiller, du virus sec qui permettait le passage positif au cobaye. Au mois de septembre 1938, à Amsterdam, pendant le Congrès international de Médecine tropicale, nous remettons au professeur Du Toit une ampoule de virus sec qu'il emportait en Afrique du Sud. « I am sure, nous écrivait-il par la suite, you will be interested to learn that the murine typhus virus wich you were good enough to give me in Amsterdam in september proved virulent inoculated into guinea-pig in november. At the present moment, the strain is in its third passage and is producing good temperature and scrotal reaction. The survival of the virus is most interesting, particularly because i was unable to hold it at a low temperature until i arrived back at Onderstepoort ». Ce virus était conservé depuis 275 jours.

Enfin, nous avons envoyé à Paris, fin mars 1939, au professeur Veintemillas, du virus sec du même lot 1. Quelque temps plus tard, notre correspondant écrivait : « El virus tifoso murino africano transportado en el maletin de viaje a la temperatura ambiente, bajo la forma desecada al vacio en excrementos de pulgas, procedente de Casablanca y resemblance sobro cobayos en La Paz (Bolivia) después de 68 días se mantiene vivo y virulento ». Ce virus était conservé depuis 453 jours (1).

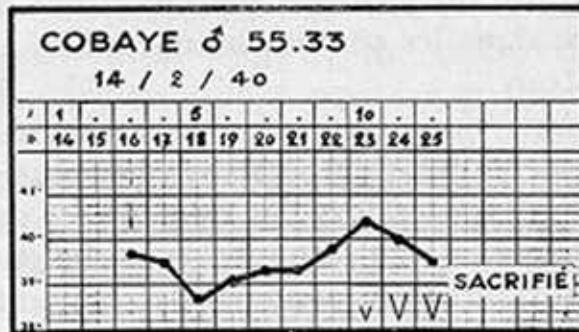
(1) VEINTEMILLAS F. *Suplemento del Instituto Nacional de Bacteriología*, octobre 1939, p. 6, La Paz.



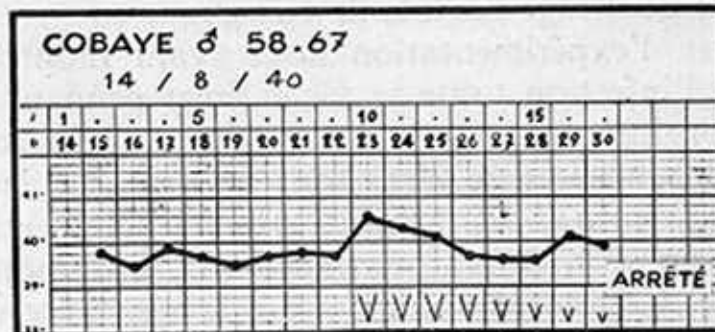
6 mois



1 an



2 ans



2 ans 1/2

Dans la suite, de très nombreux envois de virus conservé depuis un temps plus ou moins long, ont pu être faits, pour les besoins d'expérimentateurs étrangers.

Professeur Weigl, Lwow (Pologne)

Docteur J. Starzyk, Lwow (Pologne)

Docteur P. Giroud, Institut Pasteur, Paris

Docteur H. Mosing, Lwow (Pologne)

Docteur Wohlrab, Frankfurt a/Main (Allemagne)

Docteur Mariani, Addis-Abeba (Ethiopie)

Professeur Ciuca, Bucarest (Roumanie)

Docteur Burnet, Melbourne (Australie)

Docteur Jude, Alger (Algérie)

Professeur Violle, Marseille (France)

Docteur Trigueros, Tetuan (Maroc espagnol)

Docteur Najera, Madrid (Espagne)

Docteur Durieux, Dakar (Sénégal).

Les expériences continuent d'être poursuivies avec le virus du même lot 1 : la dernière en date (février 1941) montre que la conservation du virus sec des déjections de puces peut atteindre 3 ans, dans les conditions naturelles à la température du laboratoire.

D'autres essais nous ont enfin montré que le virus sec résiste parfaitement aux températures les plus élevées qu'il pourrait avoir à affronter lors des expériences ou du stockage dans les infirmeries : l'alternance de la chaleur et du froid (+ 52° - 20°) poursuivie pendant des semaines se montre également sans action.

2° L'égalité de virulence est assurée par le mode même de récolte et de titrage des lots de virus.

En effet, l'expérimentation nous ayant montré que la puce garde l'infection toute sa vie et émet pendant toute la durée de son infection des déjections de virulence constante, les puces productrices de virus sont nourries pendant toute la durée des récoltes, uniquement sur rats blancs infectés de typhus murin, afin de renforcer encore la constance de cette virulence. Cette constance jointe à la résistance du virus permet de mélanger de nombreuses récoltes de déjections, échelonnées par exemple sur plusieurs mois, et d'en obtenir des

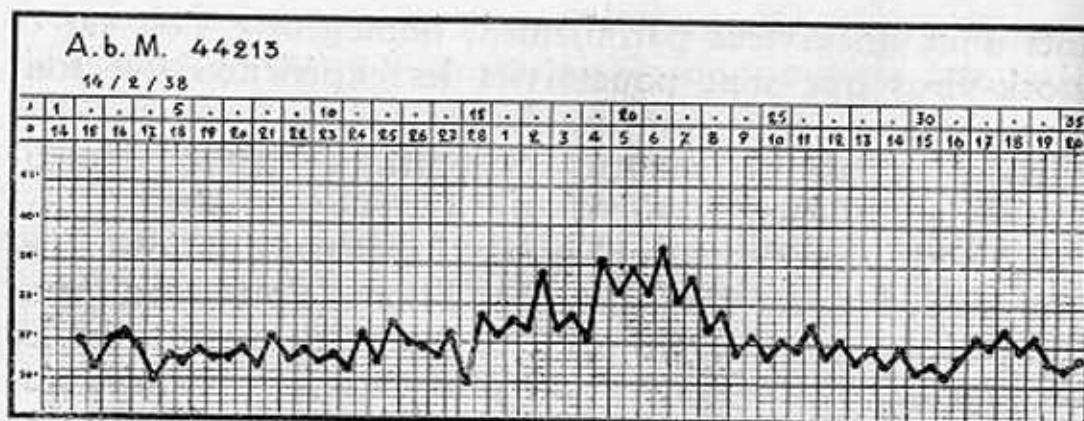
lots d'un stock-virus parfaitement homogène ; c'est sur ce stock-virus que sont poursuivies les expériences qui sont ainsi rigoureusement comparables entre elles. Ainsi, sur chacun des lots récoltés peuvent être pratiqués de véritables titrages de virulence.

Avec le virus frais de cobaye, le titrage par dilutions échelonnées de broyats d'organes, chez l'homme ou les animaux d'expérience, ne pouvait parvenir à aucune exactitude. Le broyage des organes infectés ne peut en effet prétendre réaliser autre chose qu'une grossière dissociation tissulaire et l'émulsion virulente doit être considérée comme une suspension de cellules ou de groupes de cellules infectées ou non. La quantité de virus et de cellules infectées varie de surcroît d'un virus, c'est-à-dire d'un cobaye à un autre.

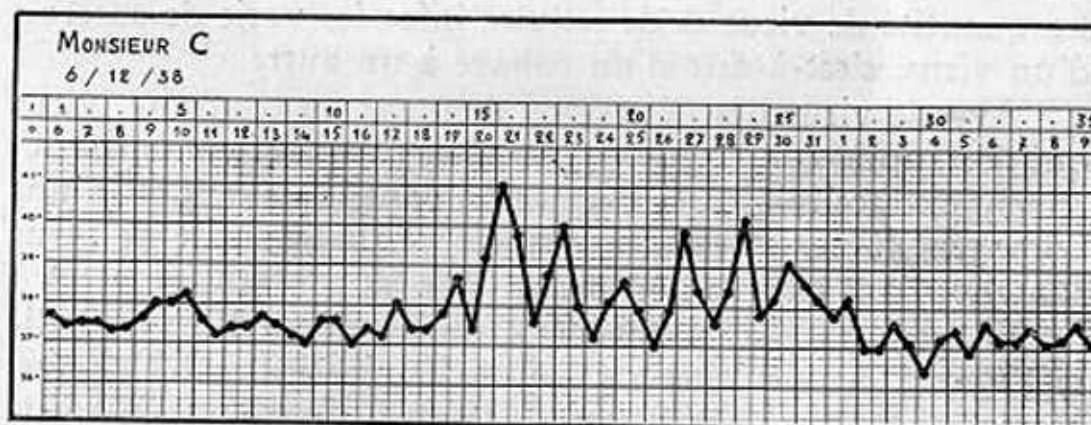
Avec le virus des déjections de puces au contraire, virus qui doit, après conservation à sec, être considéré comme strictement extracellulaire, la suspension dans le solvant est d'une homogénéité parfaite et, pratiquement, la quantité de virus contenue dans chaque centimètre cube est constante.

D'autre part, l'homogénéité du stock-virus, c'est-à-dire l'égalité de virulence de toutes les particules mélangées, permet d'étendre les résultats de titrages pratiqués sur quelques milligrammes d'un lot à l'ensemble de ce lot. Enfin la parfaite conservation du virus autorise, ainsi que le montrent de très nombreuses expériences, à considérer ces résultats de titrage comme valables pendant toute la durée d'utilisation du lot. Le nombre de titrages à faire étant ainsi très réduit (deux ou trois lots de stock-virus seulement étant constitués chaque année), il est possible de multiplier pour chacun d'eux les opérations et d'arriver à une précision très grande.

Grâce à ce mode de titrage, nous pouvions déterminer avec précision la dose minima infectante pour le cobaye et l'homme et mettre en évidence leur différence de réceptivité. Chez l'homme, le 1/100<sup>e</sup> de milligramme se montre régulièrement infectant, le 1/1000<sup>e</sup> de milligramme ne donnant plus que des résultats inconstants. Chez le cobaye, inoculé dans le péritoine, l'infection ne peut être constamment obtenue qu'avec des doses de 10 milligrammes.



1 jour de conservation

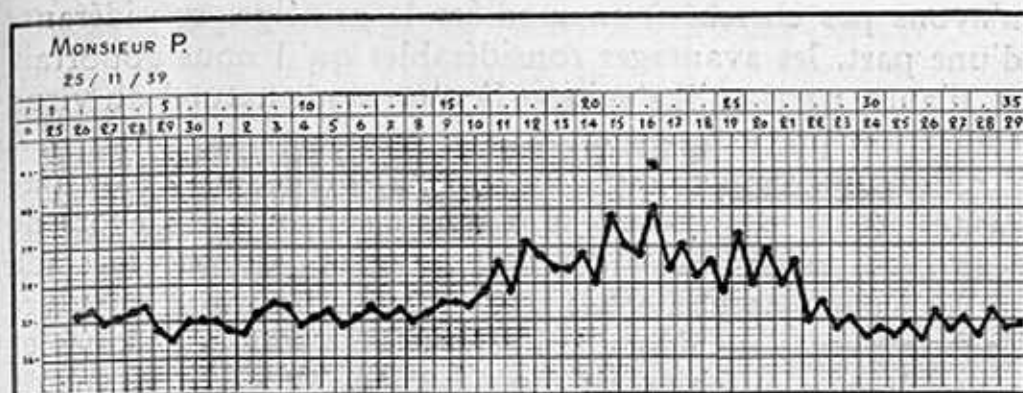


6 mois de conservation

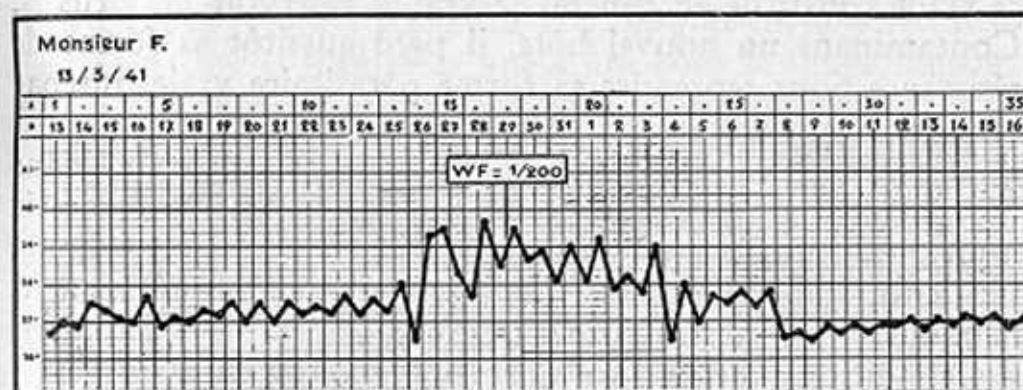
La précision de ces doses permettait de comparer la virulence de différents lots et nous pouvions montrer que dans des conditions de récolte et de stockage identiques, la virulence était la même d'un lot à l'autre.

D'autre part, nous pouvions recueillir sur la qualité de la conservation du virus sec, des précisions intéressantes. Si nous savions, en effet, que le virus sec peut rester vivant pendant un temps considérable, nous ignorions encore si cette conservation était partielle ou totale. L'expérimentation sur le cobaye, obligeant à utiliser des doses relativement énormes, ne pouvait permettre de titrer la quantité de virus avec suffisamment de précision.

Utilisant la dose minima infectante : 1/100ème de mmgr, qui, avec du virus fraîchement récolté, donne chez



1 an 1/2 de conservation



3 ans de conservation

l'homme l'infection dans 100 % des cas (dont 90 % de maladies apparentes), nous avons pu procéder à des expériences échelonnées qui mettent en évidence l'intégrité absolue de la virulence au cours de la conservation.

3° Enfin le dernier inconvénient de notre première méthode, le défaut d'homogénéité de l'émulsion, se trouve également supprimé : le virus sec des déjections de puces, libre, extracellulaire, donnant une véritable « solution » virulente, d'homogénéité absolue, toutes les doses sont comparables entre elles et l'action de la bile identique sur toutes les unités virulentes.

Malgré le caractère un peu étrange du mode de production du virus que nous utilisons pour cette vaccination, nous

n'avons pas cherché à en modifier le principe, considérant, d'une part, les avantages considérables qu'il nous apportait et, d'autre part, qu'il s'agissait là d'un stade naturel du virus tout à fait particulier.

En effet, dans le cycle évolutif de beaucoup d'êtres parasites stricts, c'est-à-dire ne pouvant survivre en dehors de leur hôte, existe un stade extraparasitaire qui est le stade de dispersion naturelle. Ce stade où le parasite devra vivre dans la nature, en dépit de l'action des agents physiques et sans échanges nutritifs, est toujours assuré par une forme de résistance (œuf, spore, kyste, etc...) issue d'une multiplication intense. Grâce à sa grande résistance et sa pullulation, ce stade constitue en général le vrai « réservoir de virus ». Contaminant un nouvel hôte, il perd aussitôt sa forme de résistance pour reprendre sa forme parasitaire vraie, inséparable de l'organisme parasité.

Le virus des déjections de puces nous apparaît, dans l'évolution naturelle du typhus murin, comme ce stade de multiplication, de résistance et de dispersion. Sa très haute virulence, son émission constante par la puce infectée signent la multiplication ; sa conservation considérable à sec, dans des conditions climatiques normales, montre sa résistance ; enfin la connaissance de la non transmission de la maladie par piqûre de la puce, l'évidence de la contamination par voie muqueuse incitent à voir dans ces déjections la forme de dispersion et le réservoir de virus du typhus murin. De même la rapide destruction du virus en milieu aqueux montre que cette forme transitoire perd sa résistance dès qu'elle est mise dans des conditions analogues à celles où, dans la nature, se fait le retour à la vie parasitaire.

La vaccination avec ce virus présente donc, en dehors des avantages matériels que nous avons énumérés, celui d'utiliser la forme même, qui, dans la nature, constitue le réservoir de virus et assure la contamination du vertébré.

TECHNIQUE DE RÉCOLTE ET DE CONSERVATION  
DU VIRUS SEC

Nous nous sommes adressés, pour la production massive de virus sec, à la puce du rat « *Xenopsylla cheopis* » sur laquelle nous poursuivions depuis plusieurs années des travaux expérimentaux, qui nous avaient donné l'expérience, et des questions techniques d'élevage, de manipulation, etc..., et des détails de comportement chez cette puce du virus du typhus murin.

Des élevages importants ont été constitués en partant d'un élevage originel formé de *Xenopsylla cheopis* récoltées dans la nature et identifiées une à une sous la loupe binoculaire. Ce genre de manipulation a été rendu commode et sans danger d'évasion, par l'emploi de la technique suivante. Les nasses contenant des rats sauvages capturés dans la nature sont apportées au laboratoire; ces nasses sont déposées sur un petit plateau retourné au centre d'un grand plateau en tôle émaillée blanche (1 m  $\times$  60 cm) rempli d'eau à mi-hauteur. Dans cette eau, on a vidé le contenu de trois tiroirs de glacière soit environ une centaine de petits cubes de glace, la température de l'eau descend à environ + 8°. Les rats sont étranglés dans la nasse, à travers le grillage, à l'aide d'une longue pince (type pince à col). Les puces abandonnent aussitôt le cadavre et l'on chasse les dernières d'entre elles de la fourrure des rats en soufflant à rebrousse poil sur le cadavre soit avec la bouche, soit mieux avec le courant d'air froid d'un petit séchoir à cheveux. Les puces sautent dans l'eau du grand plateau où elles sont immédiatement immobilisées par le froid et peuvent être facilement recueillies et manipulées. Ainsi, pour l'examen en série des puces sous la loupe binoculaire, les puces immobiles sont rangées par files de 10 sur des lames également refroidies; apportées sous la loupe, les lames sont déposées sur le fond d'un tiroir de glace retourné, ce qui permet de prolonger l'examen aussi longtemps qu'il est nécessaire. Tant que dure l'action du froid, les puces sont strictement paralysées et reprennent leur activité dès que cesse cette action.

Les puces, ainsi récoltées et triées, sont mises dans un tonneau de verre de 10 litres, au fond garni d'un lit de son d'une épaisseur de 5 cm environ (\*). Dans ce tonneau est mis un rat blanc dont les incisives inférieures ont été sectionnées, ce rat est nourri de pain mouillé et de morceaux de feuilles de chou. Les puces piquent et s'accouplent, les femelles vont pondre dans le son, où l'humidité entretenue par les urines du rat, les débris végétaux et la condensation favorisera l'éclosion des œufs. Les larves trouveront leur nourriture dans les déjections des puces et les débris de toutes sortes ainsi que la poussière de son. Dès le dixième jour de fonctionnement d'un tel bocal, les larves grouillent dans le son. Après 20 à 40 jours, selon la saison et la température, le rat est sorti de la cuve avec ses puces et mis dans un autre bocal. Trois à quatre jours plus tard, les dernières puces restées dans le son montent à la surface et sont récoltées. Les larves forment leur cocon et s'immobilisent, le bocal est mis à l'obscurité à l'étuve à 28°. Puis les éclosions commencent ; les puces nouvelles écloses, reconnaissables à leur couleur claire, sautent en très grand nombre à la surface du son. C'est avec ces puces, qui ont devant elles des mois de longévité, que sont entreprises les expériences.

La nécessité d'intensifier nos élevages nous amenait rapidement à abandonner le système du bocal, difficile à multiplier sans risque d'insécurité. Au début de 1938, nous commandions à une fabrique de céramique (\*) 10 cuves en grès-porcelaine d'un modèle spécial, devant permettre l'expérimentation avec tous les ectoparasites aptères, et plus spécialement l'élevage en grand de *Xenopsylla cheopis*.

Ces cuves, destinées à être dans la suite enchâssées dans une banquette de maçonnerie carrelée et à faire partie d'un bâtiment spécialement conçu pour cette sorte d'expérimentation, étaient mises provisoirement dans une pièce isolée, à tambour et double porte étanche. Profondes, à parois absolument lisses, de large ouverture défendue par une rigole

(\*) Technique de Joyeux.

(\*) Jacob Delafon, Paris.

pleine d'huile, ces cuves pouvaient permettre toutes les manipulations nécessaires sans aucun danger d'évasion ; très vastes, elles pouvaient contenir plusieurs rats ou cobayes permettant l'élevage de plus de 50.000 puces dans chaque cuve.

Plusieurs de ces cuves furent réservées pour l'élevage des puces neuves, deux d'entre elles étant consacrées à la récolte du virus murin, selon la technique suivante.

Dans chaque cuve contenant 50.000 *Xenopsylla cheopis* environ, neuves, récemment écloses, n'ayant encore jamais piqué, on met deux rats blancs, inoculés 48 heures plus tôt avec le virus de typhus murin T.M.C. III de passage-cobaye. Ces rats meurent, en général, rapidement ou sont sacrifiés au bout de 48 heures ; les cadavres sont débarrassés de leurs puces et incinérés. On met aussitôt dans les cuves d'autres rats blancs inoculés de la même manière et ainsi de suite tous les deux jours.

Dès la fin de la deuxième semaine, toutes les puces étant dûment infectées, les récoltes commencent. Toutes les 48 heures, les rats agonisants sont sacrifiés et soigneusement épilés. Les poils, englués de déjections de puces sont mis au dessiccateur, sous le vide, en présence de chlorure de calcium anhydre. Le lendemain, les déjections desséchées sont facilement séparées des poils par tamisage sur des soies à bluter de calibre décroissant (\*) ; après la récolte, la poudre fine obtenue est conservée dans des ampoules scellées sous le vide d'une pompe rotative à l'huile (\*).

Tous les quinze jours, les puces infectées sont transférées dans une autre cuve, afin d'éviter l'éclosion de puces neuves, nées de leurs pontes. Pendant toute la durée des récoltes d'ailleurs, on ne mettra dans la cuve que des rats inoculés avec le virus de passage-cobaye, de façon à obtenir un renforcement continu de l'infection des puces.

Trente à quarante récoltes, représentant au total une dizaine de grammes de déjections, sont ainsi faites pour cha-

(\*) Soies à bluter Renaud, Tripette et Cie, Paris, calibres XXX double extra n° 8, 9, 10 (0 mm. 40 à 0 mm. 60).

(\*) Groupe moteur-pompe simple rotative à palettes. Compagnie générale de Radiologie (Gaiffe-Gallot et Pilon) Paris.

que cuve ; après quoi, le nombre des puces allant décroissant, la cuve est supprimée. Deux cuves seulement fonctionnent en général simultanément ; cependant, en cas de besoin, 40 grammes de virus sec pourraient être produits chaque mois sans difficulté.

À la fin de l'année, toutes les ampoules de récoltes des différentes cuves sont ouvertes et leur contenu mélangé. Deux à trois lots de 30 à 40 grammes sont constitués sur lesquels sont faites les opérations de titrage dont il a été parlé plus haut. Ces lots sont répartis dans des ampoules contenant chacune environ 10 grammes de virus sec ; ces ampoules scellées sous un vide poussé au 1/100ème de millimètre, sont conservées, pour éviter tout accident par suite de fêlure, dans des dessiccateurs sous le vide en présence de chlorure de calcium anhydre. Ces dessiccateurs sont mis à la glacière + 4°, considérée non comme chambre froide mais comme armoire isotherme et obscure. Actuellement, 9 millions de doses environ sont ainsi conservées en stock.

Au fur et à mesure des besoins de la vaccination, le virus est réparti en ampoules de 10 cc, en verre neutre, préalablement séchées, à raison de 1 mmgr par ampoule, pesé sur une balance d'une précision de 1/20ème de mmgr (\*). Les pesées sont faites en série et les ampoules scellées immédiatement sous le vide de la pompe à huile. Branché en dérivation sur la canalisation de vide, un tube témoin étinceleur (\*) à électrodes plateaux, alimenté par transformateur, indique la valeur du vide au moment du scellement de chaque ampoule.

Les ampoules scellées sont conservées dans un placard obscur à la température du laboratoire ; au moment de l'envoi, elles sont passées par séries de 10 dans un portoir métallique relié à une bobine d'induction ; lors du passage du courant, les ampoules intactes s'illuminent en rose violacé, les ampoules fêlées ne s'illuminent pas et sont rejetées.

Toutes ces manipulations sont mises en œuvre, non pour dessécher le virus (des mesures précises nous ont montré que

(\*) Balance Jouan à lecture par projection, manipulateur extérieur de poids.

(\*) Tube témoin et transformateur : Compagnie générale de Radiologie.

la perte d'eau ainsi obtenue était pratiquement nulle) mais pour le maintenir, lors du stockage et de l'expédition, à l'abri des conditions hygrométriques. Il est nécessaire de bien spécifier qu'il s'agit là non pas d'un virus desséché, mais d'un virus qui se présente spontanément sec et que l'on se contente de maintenir à sec.

#### TECHNIQUE DE PRÉPARATION DE L'EXCIPIENT

Le virus est transformé en vaccin par dilution dans un excipient bilié.

Au cours de l'expérimentation, nous avons été amenés à abandonner l'eau physiologique, milieu instable et variable, pour la remplacer par une solution isotonique, tamponnée, c'est-à-dire étudiée pour demeurer de pH constant, type solution de Clarke. La solution suivante a été choisie, permettant des préparations toujours identiques à partir de produits chimiquement purs :

Phosphate disodique cristallisé ( $\text{PO}_4 \text{Na}^2\text{H}$ + $12\text{H}_2\text{O}$ ) . . . . .	17 grs 91
ou Phosphate disodique anhydre ( $\text{PO}_4 \text{Na}^2\text{H}$ ) . . . . .	7 grs 16
Acide chlorhydrique N/1 . . . . .	8 cc
Eau distillée . . . . .	1000 cc

Le phosphate disodique est dissous à chaud dans 500 cc d'eau distillée, passés ensuite sur papier filtre pour éliminer les impuretés. Les 8 cc d'acide chlorhydrique sont, d'autre part, étendus à 500 cc avec de l'eau distillée. Les deux demi-litres sont ensuite mélangés : le pH a une valeur constante qui est de 7,5. Cette solution, très stable, peut être conservée indéfiniment.

La bile de bœuf ajoutée à l'excipient est préparée de la façon suivante : aussitôt après l'abattage, une ligature est posée sur le col de la vésicule biliaire et le canal cystique tranché d'un coup de couteau. Les vésicules prélevées sont apportées au laboratoire et leur contenu (150 cc par vésicule environ) vidé dans un pot à lait émaillé. Celui-ci est mis à l'au-

toclave 1 heure à 120° pour précipitation. Filtration sur papier Laurent humide. Répartition en ampoules de 20 cc (mesurés à la pipette). Stérilisation à l'autoclave 45 minutes à 115° seulement pour éviter une nouvelle précipitation, la bile doit rester parfaitement limpide dans les ampoules. Ces ampoules sont conservées à l'obscurité, il peut arriver qu'à la longue la bile se décolore et précipite à nouveau, elle doit alors être rejetée.

L'adjonction de bile à la solution tampon, au taux de 1/150ème est faite de la façon suivante : à trois litres de solution tampon, on ajoute le contenu d'une ampoule de bile (20 cc). Le mélange est agité et réparti en ampoules ou en flacons-canettes (selon le conditionnement adopté) préalablement stérilisés au four Pasteur. Ampoules ou flacons sont fermés puis portés à l'autoclave à 110° pendant 45 minutes. L'excipient bilié, ainsi stérilisé, peut être conservé fort longtemps, il est cependant préférable de ne le préparer qu'au fur et à mesure des besoins.

#### CONDITIONNEMENT DU VACCIN

Rappelons que la dose de virus utilisée pour la vaccination est de 1/100ème de milligramme par personne, soit environ le 1/5ème d'une déjection, d'un des grains de cette poudre fine que représente le virus sec. Il ne saurait être question de peser et de répartir sans chances d'erreur grossière de telles quantités. Aussi, considérant que ce mode de vaccination était destiné en général à une application massive, avons-nous adopté, comme il a été dit plus haut, le conditionnement du virus par ampoules de 1 mmgr, représentant 100 doses. Une telle quantité ne donne lieu, à la pesée, qu'à des causes d'erreur négligeables ; d'autre part, comme elle représente 50 à 60 grains, même dans le cas (rendu très improbable par les méthodes de récolte) où quelques-uns d'entre eux ne seraient pas virulents, la marge de sécurité reste largement suffisante pour l'ensemble des 100 doses. L'expérimentation a montré, en effet, que cette marge de sécurité était

grande, les résultats étant sensiblement les mêmes du 1/300ème au 1/10ème de milligramme.

D'autre part, nous n'avons pas voulu dépasser ce conditionnement par 100 doses, même pour les vaccinations massives. L'expérimentation nous a montré, en effet, que le vaccin, une fois préparé (c'est-à-dire le virus dissous dans son excipient), perdait ses propriétés en quelques heures, ce qui nous a amené à fixer comme limite d'utilisation du vaccin, une demi-heure. Cent doses peuvent toujours être inoculées, même par un expérimentateur non entraîné, en moins d'une demi-heure.

Ainsi, le conditionnement par un milligramme = 100 doses, évite-t-il toute cause de perte. Avec un tel conditionnement du virus, il y a intérêt à présenter l'excipient liquide également par 100 doses, c'est-à-dire par 100 cc. Pour le Maroc, nous avons adopté la présentation en petits flacons-cannettes. Ces flacons, d'une contenance de 125 cc, sont stérilisés au four Pasteur, remplis en série avec un appareil jaugeur semi-automatique, de 100 cc de solution tampon bilingue non stérile, puis fermés et stérilisés à l'autoclave, comme il a été dit plus haut.

Pour l'expédition, virus et excipient sont groupés en caissettes d'un poids net de 5 kgs, contenant 12 flacons-cannettes et 12 ampoules, soit 1.200 doses. Ces caissettes peuvent être envoyées par la poste aux infirmeries de bled, sur demande télégraphique. D'autre part, la parfaite conservation du virus peut permettre à ces formations de n'utiliser le vaccin qu'au fur et à mesure des besoins et d'en garder en réserve pour l'attaque immédiate des nouveaux foyers détectés. 70 caissettes de ce modèle, représentant 84.000 doses de vaccin, sont à l'heure actuelle en service, suffisant à assurer le roulement normal de la vaccination au Maroc. Un mode d'emploi, portant au verso un état à remplir par le médecin-vaccinateur et à renvoyer avec le matériel vide, est joint à chaque caissette.

Ce conditionnement a l'avantage de permettre la décentralisation de la vaccination.

Cependant, pour certaines vaccinations massives assurées par équipes spécialisées, un conditionnement différent a

pu être adopté par grandes caisses de 36 flacons-canettes de 500 cc, remplis à 450 cc, représentant 16.200 doses, ou par caisses de 24 flacons de 1.000 cc, remplis à 900 cc, représentant 21.600 doses. Les ampoules accompagnant ces flacons restent, comme nous l'avons dit plus haut, de 1 mmgr, soit 100 doses. Au moment de l'emploi, le préposé à la préparation doit donc être muni d'une éprouvette stérile de 100 cc, avec laquelle il mesure la quantité nécessaire à chaque préparation, faite au fur et à mesure du débit de l'équipe de vaccination, dans un récipient stérile quelconque, verre à pied par exemple.

Chaque fois que la vaccination est confiée à une équipe pouvant atteindre un rythme de plusieurs milliers de vaccinations par jour, c'est ce conditionnement qui est adopté, les caissettes de flacons de 100 doses étant réservées aux vaccinations fractionnées faites par les médecins du bled. La pénurie actuelle de flaconnage a amené à adopter ce conditionnement et à remettre la vaccination aux mains d'équipes spécialisées, en Algérie par exemple, où le manque de flacons de 100 cc interdisait la décentralisation aux mains des médecins du bled.

Enfin, nous avons réalisé un conditionnement par boîtes de 20 doses, destiné aux vaccinations tout à fait fractionnées, faites par exemple par les médecins en clientèle européenne. Renonçant, pour les raisons que nous avons énumérées plus haut, à mesurer une quantité de virus inférieure à 1 mmgr, nous avons adopté le système de la double dilution. La boîte contient 3 ampoules :

1° l'ampoule ordinaire de 10 cc contenant 1 mmgr de virus sec ;

2° une ampoule en verre blanc de 10 cc contenant 10 cc d'excipient bilié ;

3° une ampoule en verre jaune de 20 cc contenant 18 cc du même excipient.

Ce système qui fait perdre les 4/5ème du vaccin préparé, a cependant l'avantage d'assurer un dosage précis de la quantité de virus contenue dans chacune des 20 doses inoculées.

#### PRÉPARATION DU VACCIN. VACCINATION

Le vaccin est préparé au moment de l'emploi par dilution du virus sec contenu dans une ampoule, dans 100 cc d'excipient bilié, selon la technique suivante :

Vider dans un verre stérile le contenu du flacon-canette de 100 cc ou (si l'excipient est envoyé en grands flacons) 100 cc mesurés exactement avec une éprouvette stérile. Briser la fine pointe de l'ampoule de virus sec avant d'en scier le col, afin d'éviter une rentrée d'air trop brusque. Avec une seringue de 5 cc, munie d'une aiguille d'assez fort calibre (8 à 10/10èmes), prélever 4 à 5 cc d'excipient dans le verre. Dissoudre lentement le virus dans l'ampoule par aspiration et refoulement, en maintenant la pointe de l'aiguille au fond de l'ampoule pour éviter de faire mousser le liquide. La dissolution doit être faite avec le plus grand soin, de façon qu'aucune particule solide ne reste en suspension dans le liquide ou collée aux parois de l'ampoule : toute ampoule dont le contenu ne pourrait être complètement dissous doit être rejetée. Toute perte de liquide doit de même être soigneusement évitée : à ce moment, où les 100 doses se trouvent en solution dans quelques centimètres cubes de liquide, la perte d'une seule goutte suffirait à abaisser la teneur en virus lors de la dilution finale. Il sera, en particulier, prudent de serrer l'embout sur la seringue et l'aiguille sur l'embout avec une forte pince (type pince universelle). La dissolution étant terminée, le contenu de l'ampoule est vidé à la seringue dans le verre. L'ampoule est rincée avec 4 à 5 cc repris à la seringue dans le verre. Les 100 cc de vaccin ainsi préparés sont utilisables immédiatement et pendant une demi-heure.

Pour les boîtes de 20 doses, la technique suivie est exactement la même. La dissolution du virus sec est faite dans les 10 cc de l'ampoule N° 1 (verre blanc). Pour obtenir la dilution finale, on prélève dans cette ampoule 2 cc qui sont mélangés aux 18 cc de l'ampoule N° 2 (verre jaune).

L'injection est faite par voie intramusculaire (deltoïde). La dose inoculée est de 1 cc pour les adultes et de 0 cc, 5 pour les enfants de moins de 10 ans.

L'expérience des vaccinations massives faites au Maroc, a permis de fixer le personnel et le matériel nécessaires et les techniques utiles aux équipes spécialisées, permettant de faire plusieurs milliers de vaccinations par jour.

C'est sur ce schéma que sont organisées les équipes mobiles du Maroc, ainsi que les 4 équipes mobiles de la Direction de la Santé publique d'Algérie.

Personnel : 1 médecin, chef d'équipe.  
4 infirmiers, dont 1 piqueur, 2 injecteurs, 1 aide  
1 infirmier spécialiste ou 1 infirmière pour la  
préparation du vaccin.

Le chauffeur de la voiture.

Sont levés sur place, fournis en général par l'administration locale, les comptables, chargés de dénombrer les vaccinés : hommes, femmes, enfants et, le cas échéant, de tamponner les cartes d'identité, d'alimentation ou autres, et le préposé à l'iodage des bras.

Matériel :	Plateaux blancs, tôle émaillée (20 × 30 environ) . . . . .	10
	Matelas stérilisables pour le fond des plateaux . . . . .	24
	Bouilloires poissonnières . . . . .	2
	Eprouvettes de 100 cc . . . . .	10
	Verres à pied de 200 cc . . . . .	12
	Seringues de 5 cc . . . . .	50
	Embouts . . . . .	50
	Aiguilles 30 - 8/10èmes, biseaux longs . . . . .	150
	Pierre à aiguiser	
	Gaze stérile	
	Coton hydrophile	
	Teinture d'iode	
	Alcool	
	Ecouvillons	
	Pincés de Péan	
	Pince universelle	
	Réchaud à pétrole	

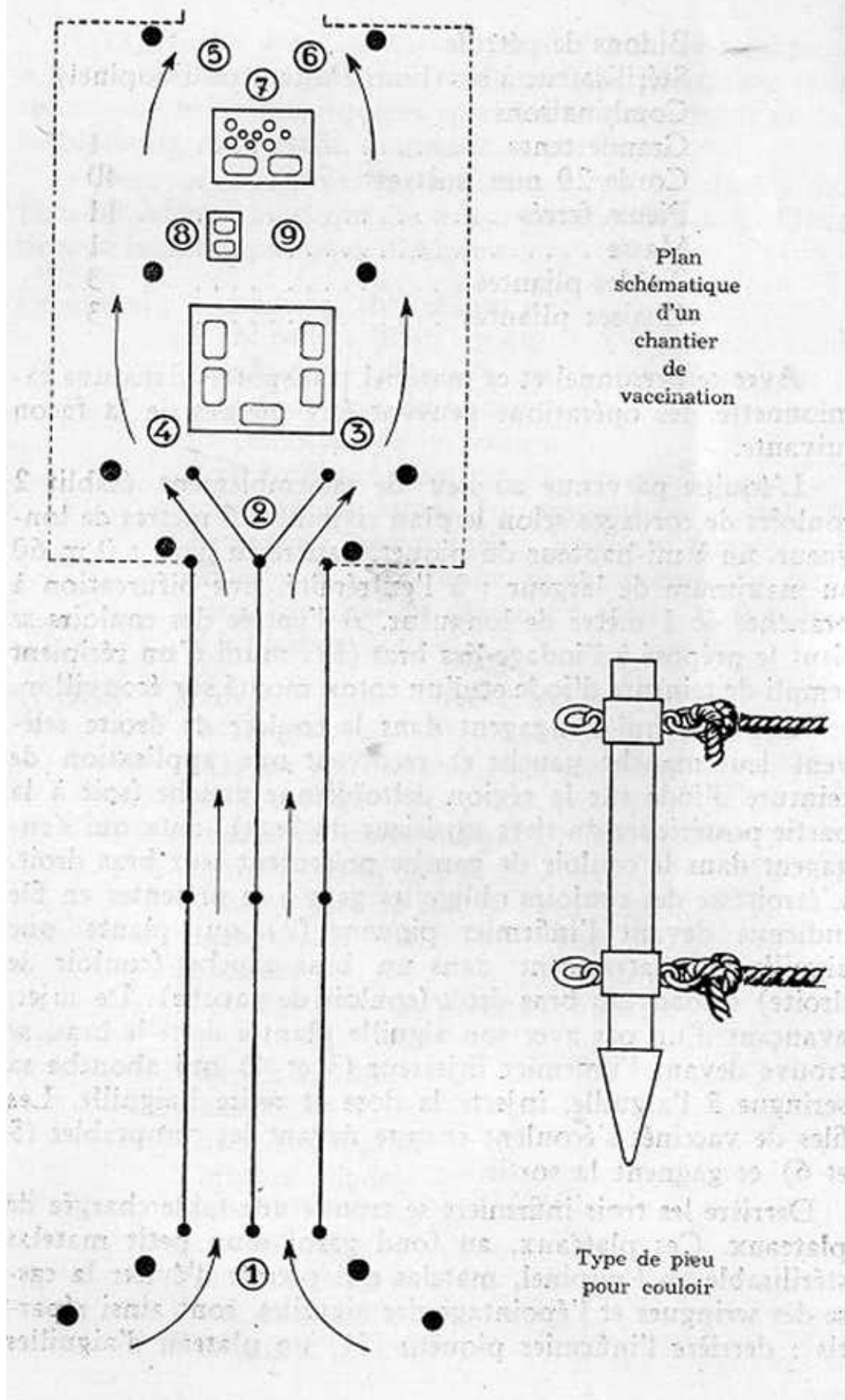
Bidons de pétrole	
Stérilisateur à sec (Four Pasteur ou Poupinel)	
Combinaisons	
Grande tente	1
Corde 20 mm. mètres :	40
Pieux ferrés	11
Masse	1
Tables pliantes	3
Chaises pliantes	3

Avec ce personnel et ce matériel transportés dans une camionnette, les opérations peuvent être menées de la façon suivante.

L'équipe parvenue au lieu de rassemblement établit 2 couloirs de cordages selon le plan ci-joint : 6 mètres de longueur, un à mi-hauteur du piquet, l'autre en haut ; 0 m 60 au maximum de largeur ; à l'extrémité, une bifurcation à branches de 1 mètre de longueur. À l'entrée des couloirs se tient le préposé à l'iodage des bras (1), muni d'un récipient rempli de teinture d'iode et d'un coton monté sur écouvillon.

Les gens qui s'engagent dans le couloir de droite relèvent leur manche gauche et reçoivent une application de teinture d'iode sur la région deltoïdienne gauche (soit à la partie postérieure du tiers supérieur du bras), ceux qui s'engagent dans le couloir de gauche présentent leur bras droit. L'étroitesse des couloirs oblige les gens à se présenter en file indienne devant l'infirmier piqueur (2) qui plante une aiguille alternativement dans un bras gauche (couloir de droite) et dans un bras droit (couloir de gauche). Le sujet, avançant d'un pas avec son aiguille plantée dans le bras, se trouve devant l'infirmier injecteur (3 et 4) qui abouche sa seringue à l'aiguille, injecte la dose et retire l'aiguille. Les files de vaccinés s'écoulent ensuite devant les comptables (5 et 6) et gagnent la sortie.

Derrière les trois infirmiers se trouve une table chargée de plateaux. Ces plateaux, au fond garni d'un petit matelas stérilisable au Poupinel, matelas qui permet d'éviter la casse des seringues et l'épointage des aiguilles, sont ainsi répartis : derrière l'infirmier piqueur (2), un plateau d'aiguilles



stériles : derrière chaque infirmier injecteur (3 et 4), un plateau de seringues pleines, un plateau pour les seringues vides, un plateau pour les aiguilles souillées.

A une autre table plus petite est assis l'opérateur chargé de la préparation du vaccin (7). Devant lui, s'alignent ampoules, flacons-canettes, verres, éprouvettes et deux plateaux à matelas stérile. Aussitôt terminée une préparation de 100 doses de vaccin, selon la technique indiquée plus haut, cet opérateur en remplit 20 seringues et les dépose dans les plateaux qui se trouvent devant lui.

Entre les deux tables est installé le réchaud avec ses bouilloires-poissonnières dont le chauffeur (8) surveille l'ébullition. Un infirmier (9) prend sur la table des vaccinateurs les seringues vides et les aiguilles souillées et les met dans chacune des bouilloires. Il dépose constamment dans les plateaux du préparateur de vaccin des seringues bouillies, dans ceux des injecteurs les seringues remplies par le préparateur du vaccin, dans celui du piqueur des aiguilles bouillies. Par mauvais temps, une grande tente peut abriter tout le chantier de vaccination (ligne pointillée du plan).

Une telle équipe, bien entraînée, peut atteindre sans fatigue le rythme de 40 vaccinations à la minute. Ce rythme dépend, pour la plus grande part, de la régularité de l'écoulement des vaccinés dans les couloirs, régularité qui ne peut être assurée que par une police bien faite. Sur le plan, des points noirs ont été mis aux emplacements où une surveillance est nécessaire, surveillance qui ne peut être assurée que par l'administration locale, guidée par le médecin chef d'équipe auquel incombe la surveillance constante et l'organisation de la vaccination.

#### APPLICATION DE LA VACCINATION

La vaccination par virus-vaccin vivant sec a commencé d'être appliquée systématiquement au Maroc à partir du 20 novembre 1938, remplaçant peu à peu la première méthode qui devait être définitivement abandonnée à la fin de l'an-

née. Du 20 novembre au 31 décembre 1938, 29.908 vaccinations ont été pratiquées. En 1939, 84.700 doses étaient délivrées à la Direction du Service de Santé des Troupes du Maroc, et 211.200 à la Direction de la Santé et de l'Hygiène publiques du Maroc. En 1940, 80.250 doses à la Direction du Service de Santé des Troupes du Maroc, 60.400 à la Direction de la Santé et de l'Hygiène publiques, 2.200 doses étaient expédiées au Ministère de l'Afrique italienne, pour des essais d'application de la vaccination en Ethiopie et 10.500 doses à la Direction du Service de Santé des Troupes du Levant à Beyrouth, pour la vaccination du contingent de Syrie.

Pour ces expéditions hors du Maroc, il devenait impossible et d'ailleurs inutile d'expédier l'excipient du vaccin. Nous envoyions donc à chacun des destinataires les seules ampoules de virus sec avec les instructions pour la préparation de l'excipient. Chacun organisait sur place la fabrication et la répartition de l'excipient. Dans certains cas, pour la mise en route, nous envoyions la bile stérile et des ampoules de solutions concentrées pour la préparation rapide de l'excipient.

En 1941, jusqu'au 15 novembre, nous avons délivré à la Direction de la Santé et de l'Hygiène publiques du Maroc : 297.000 doses ; à la Direction du Service de Santé des Troupes du Maroc : 29.300 doses ; à la Direction du Service de Santé du XIXème corps d'armée (Algérie) : 39.700 doses ; à la Direction de la Santé publique d'Algérie : 37.800 doses ; au Service de Santé de la Zone espagnole du Maroc : 11.000 doses ; à la Direction du Service de Santé à Madrid : 1.200 doses ; à la Préfecture des Bouches du Rhône (Marseille) : 2.400 doses ; à la Direction du chemin de fer transsaharien : 500 doses.

Enfin 67 boîtes de 20 doses, représentant 1.340 doses étaient envoyées à divers médecins et pharmaciens pour la vaccination en clientèle européenne.

La Direction du Service de Santé du XIXème corps d'armée et le Laboratoire central de la Zone espagnole accomplissaient tous deux leurs vaccinations en fabriquant et répartissant sur place, en flacons de 100 doses, l'excipient bi-

lié (Algérie : Pharmacien-colonel Bobier, médecin-commandant Jude ; Maroc espagnol : Docteur Trigueros) (\*).

Au total donc, depuis le début de l'application de cette méthode par virus-vaccin vivant sec, 901.094 doses de vaccin ont été délivrées, ce qui porte le total général des vaccinations par virus murin vivant bilié à 2.143.919.

### INNOCUITÉ. EFFICACITÉ

L'innocuité de la nouvelle méthode par virus vivant sec s'est révélée, à l'application, égale à ce qu'avait montré l'expérimentation. Les vaccinations de bled ne pouvaient apporter sur ce sujet que des renseignements imprécis ; par contre, les vaccinations de collectivités surveillées, spécialement en milieu militaire, devaient permettre de juger sur des milliers de vaccinés rigoureusement observés, du taux exact des « réactions » provoquées par le vaccin.

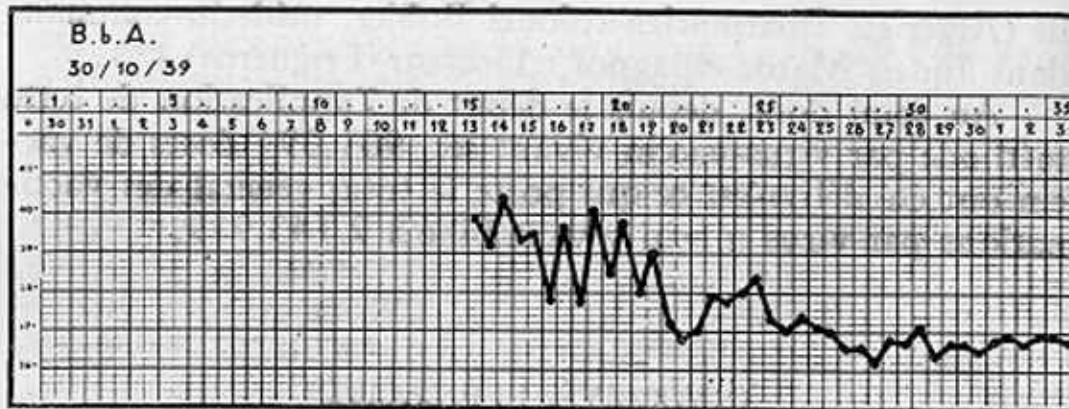
Sur plus de 50.000 vaccinés indigènes nord-africains, soigneusement observés, le taux des « réactions vaccinales » n'a jamais dépassé 1,2 pour 1.000.

Le type de ces « réactions » observées à la suite de l'inoculation de virus-vaccin vivant sec, est en général assez défini : réaction fébrile de 6 à 10 jours de durée avec céphalée et courbature : très rarement (1 fois sur 10) éruption fugace de 24 à 47 heures de durée au quatrième jour de la réaction fébrile.

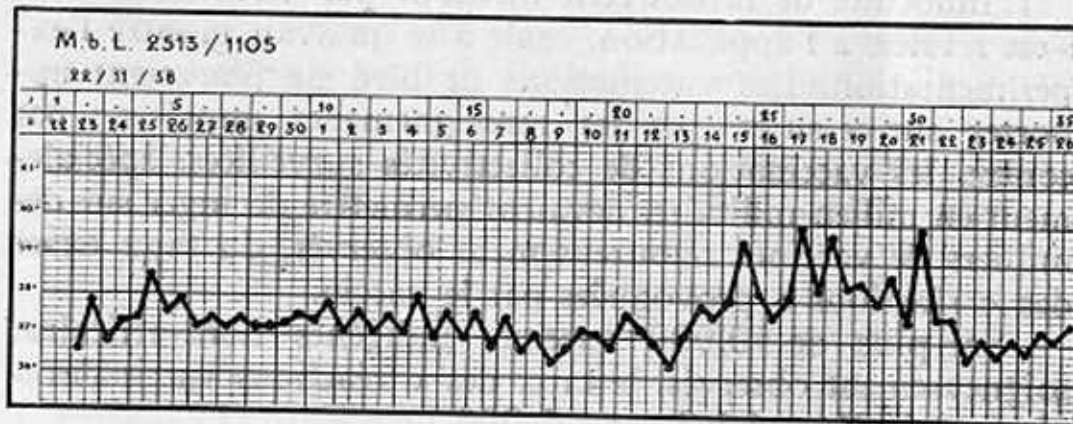
La « réaction vaccinale » se produit du douzième au vingt-septième jour après la vaccination ; avant ou après ces dates, il ne peut s'agir d'une réaction due au vaccin.

Il est souvent tentant, en effet, d'imputer à une vaccination par vaccin vivant, susceptible donc de donner des réactions, tous les « accidents » qui pourraient se produire pendant la période consécutive d'observation. Sans parler

(\*) Depuis le 15 novembre, cette fabrication a été également mise sur pied par la Direction du Service de Santé des Troupes de Tunisie et par la Direction de l'Assistance et de la Santé publiques de Tunisie.



Type de réaction vaccinale précoce



Bien souvent, surtout chez l'indigène nord-africain, le diagnostic différentiel sera fort délicat et seule l'inoculation aux animaux de laboratoire pourra trancher la question (\*).

La réceptivité de l'européen aux virus typhiques s'étant toujours expérimentalement montrée plus grande que celle de l'indigène nord-africain, nous avons voulu attendre pour appliquer la vaccination ailleurs qu'en Afrique du Nord, ou aux européens vivant en Afrique du Nord, que le nombre des essais, poursuivis sur volontaires, fût suffisant. Aussi recommandions-nous, jusqu'à il y a quelques mois, de ne vacciner strictement que les volontaires. A l'heure actuelle, le chiffre des vaccinations européennes ayant dépassé le millier, sans qu'une seule réaction ait été signalée, la vaccination a pu être généralisée et son emploi systématique envisagé en Europe.

L'efficacité de la vaccination par virus-vaccin sec a fait l'objet d'une étude expérimentale très longue. Cette étude qui continue d'être poursuivie à l'heure actuelle, a pu être faite sur les détenus d'un pénitencier marocain, choisis parmi ceux dont la durée de la peine pouvait permettre une observation et une expérimentation échelonnée sur des années. Périodiquement des épreuves sont pratiquées sur des séries de 10 à 20 vaccinés, apportant sur la durée de l'immunité le témoignage le plus précis. Cette expérimentation, commencée il y a exactement trois ans, nous a montré :

1° que 60 à 70 % des vaccinés étaient immunisés de façon absolue contre une épreuve pratiquée avec 10.000 doses infectantes ;

2° que cette immunité solide pouvait être égale à 2 ans et demi au moins.

La suite de cette expérimentation permettra d'atteindre sans doute des délais encore plus éloignés.

Quant au but même de la vaccination, c'est-à-dire à l'effet qu'on en peut attendre en tant que moyen de lutte contre l'épidémie, les résultats immédiats en ont été partout des

---

(\*) Au cours d'une excellente expérimentation, le médecin-commandant Jude a pu récemment mettre en évidence par l'inoculation au cobaye de tels typhus épidémiques se produisant, au cours de la période d'observation chez des vaccinés du XIX<sup>e</sup> corps d'armée. (Ces Archives, ce fascicule).

plus encourageants. Au Maroc particulièrement, où la vaccination a été, le plus souvent, utilisée comme méthode de choc, c'est-à-dire appliquée très rapidement, de façon massive, là où étaient détectés des cas signés, l'arrêt de l'épidémie a toujours été obtenu. Par ailleurs, le fait qu'aucune épidémie étendue n'a pu éclater depuis plusieurs années, abaissant de façon notable les courbes épidémiologiques, a incité le Service de Santé et d'Hygiène publiques à continuer et étendre encore la vaccination.

Les notions nouvelles que nous avons pu acquérir sur l'épidémiologie du typhus : non-transmission par piquûre du pou, « typhus sans pou » : contamination par voie muqueuse par poussières virulentes de déjections de poux, résistance naturelle de ces poussières qui constituent le réservoir de virus permanent de l'infection, font apparaître de plus en plus difficile la protection de l'homme sain en milieu épidémique, puisqu'il ne suffit plus de le garantir du pou.

L'avenir, en matière de prophylaxie, semble donc être à la vaccination, et, lorsqu'il s'agit d'une prophylaxie collective, à la vaccination par virus vivant.

## BIBLIOGRAPHIE

DES TRAVAUX FAITS A L'INSTITUT PASTEUR DU MAROC  
SUR LA VACCINATION CONTRE LE TYPHUS  
PAR VIRUS MURIN VIVANT

## RAPPEL DES PRINCIPAUX TRAVAUX

RELATIFS A LA VACCINATION PAR VIRUS VACCIN VIVANT FRAIS  
(ANCIENNE METHODE)

- BLANC G., NOURY M., BALTAZARD M. et BARNEOUD J. Essais de vaccination humaine contre le typhus exanthématique avec un vaccin vivant.  
*Bull. Acad. Méd.* 1933, 110, 274.
- BLANC G., NOURY M., BALTAZARD M., Mlle MARTIN L.A. et BRUNEAU J. Le typhus murin de Casablanca.  
*Arch. Inst. Pasteur Maroc* 1933, 1, 197.
- BLANC G., NOURY M., BALTAZARD M. et BRUNEAU J. Le typhus expérimental de l'homme par virus murin de Casablanca.  
*Arch. Inst. Pasteur Maroc* 1933, 1, 223.
- BLANC G., NOURY M. et BALTAZARD M. Atténuation de la virulence du typhus murin par la bile.  
*Arch. Inst. Pasteur Maroc* 1933, 1, 255.
- BLANC G. et DELAGE B. Quelques données physico-chimiques sur le comportement des virus typhiques vis-à-vis de la bile.  
*Arch. Inst. Pasteur Maroc* 1933, 1, 275.
- BLANC G., NOURY M., BALTAZARD M., BRUNEAU J. et BARNEOUD J. Essais de vaccination humaine contre le typhus exanthématique avec un vaccin vivant.  
*Arch. Inst. Pasteur Maroc* 1933, 1, 281.
- BLANC G., NOURY M., BALTAZARD M., BRUNEAU J. et BARNEOUD J. Nouvelles expériences de vaccination humaine contre le typhus exanthématique par vaccin vivant. Infection et immunité.  
*Bull. Acad. Méd.* 1934, 111, 582.
- BLANC G. La vaccination contre le typhus exanthématique.  
*Paris Médical*, 1934, 22, 471.
- BLANC G., NOURY M. et BALTAZARD M. L'état de prémunition contre le typhus exanthématique chez l'homme. Simple et double vaccination.  
*Bull. Acad. Méd.* 1936, 116, 33.
- BLANC G. La vaccination contre le typhus exanthématique au Maroc.  
*Bruzelles Médical* 1936, 22 novembre, n° 4.
- BLANC G. Histoire et enseignements d'une vaccination contre le typhus exanthématique faite à Petitjean (Maroc).  
*Revue d'Hygiène*, 1936, 58, 252.

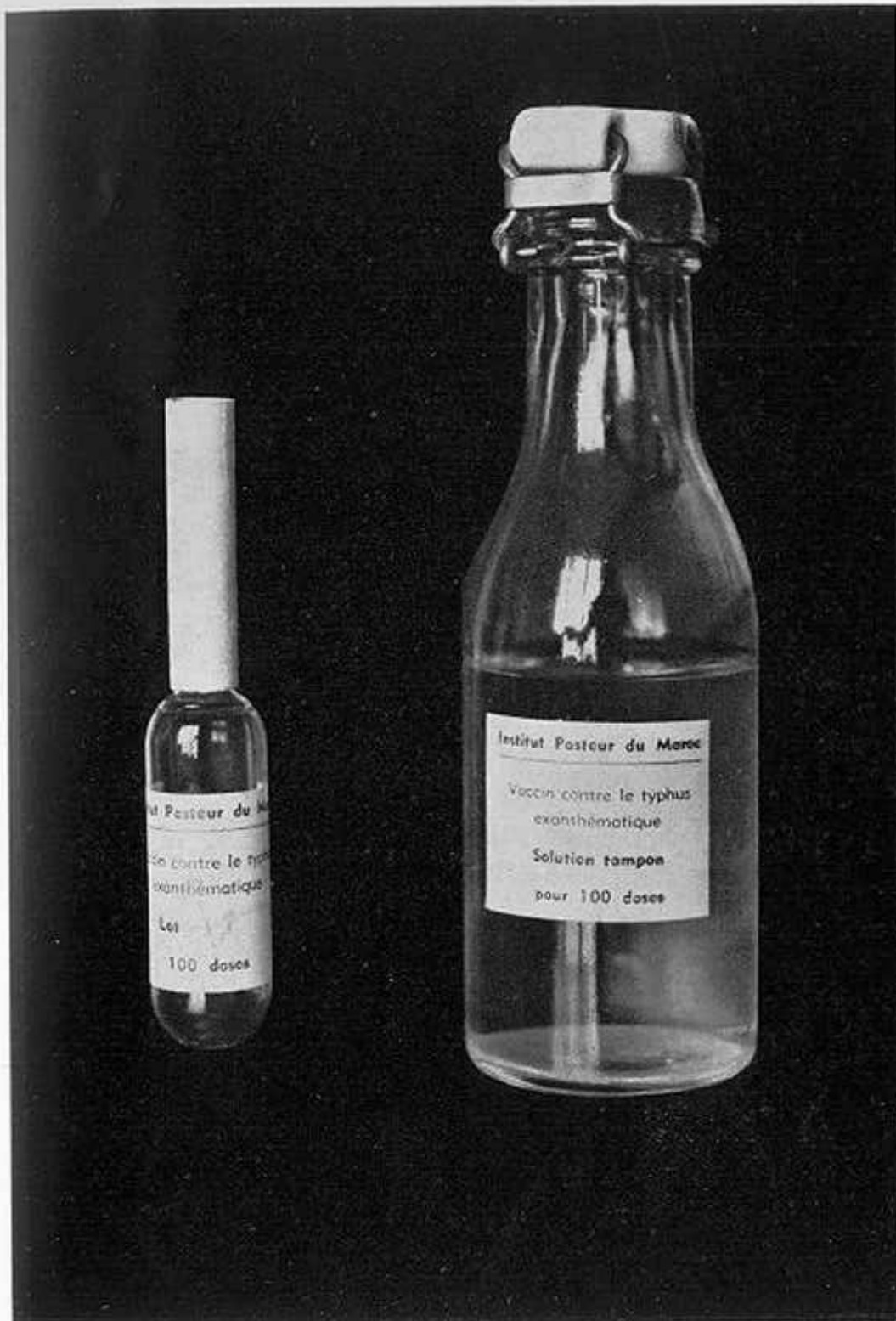
- BALTAZARD M. Typhus murin expérimental ; voies d'introduction et réceptivité.  
*C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, 425.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Action de la bile sur le virus du typhus murin.  
*C.R. Soc. Biol.* 1937, 124, 428.
- BLANC G. La vaccination contre le typhus exanthématique.  
*VII<sup>e</sup> Congrès annuel de la Fédération des Sciences médicales d'Algérie, de Tunisie et du Maroc.* Alger, mars 1937.
- BLANC G. La vaccination contre le typhus exanthématique.  
*Ann. Méd.* 1937, 42, 440 et *Arch. Inst. Pasteur Maroc*, 1937, 1, 869.
- BLANC G. La vaccination contre le typhus et autres fièvres exanthématiques par virus vivant.  
*Acta conventus tertii de tropicis atque malariae morbis. Pars I* Amsterdam 1938, 511.
- BALTAZARD M. Etude d'un séro-test d'immunité dans les fièvres exanthématiques.  
*Bull. Soc. Path. exot.*, 1938, 31, 186.
- BLANC G. et BALTAZARD M. La vaccination contre le typhus exanthématique.  
*Maroc Médical*, 1938, n° 189, 7.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Recherches sur la durée de l'immunité conférée à l'homme par l'infection fébrile ou inapparente de typhus murin.  
*C.R. Acad. Sci.*, 1939, 209, 419.

TRAVAUX AYANT AMENE A LA VACCINATION  
PAR VIRUS-VACCIN VIVANT SEC  
(METHODE ACTUELLE)

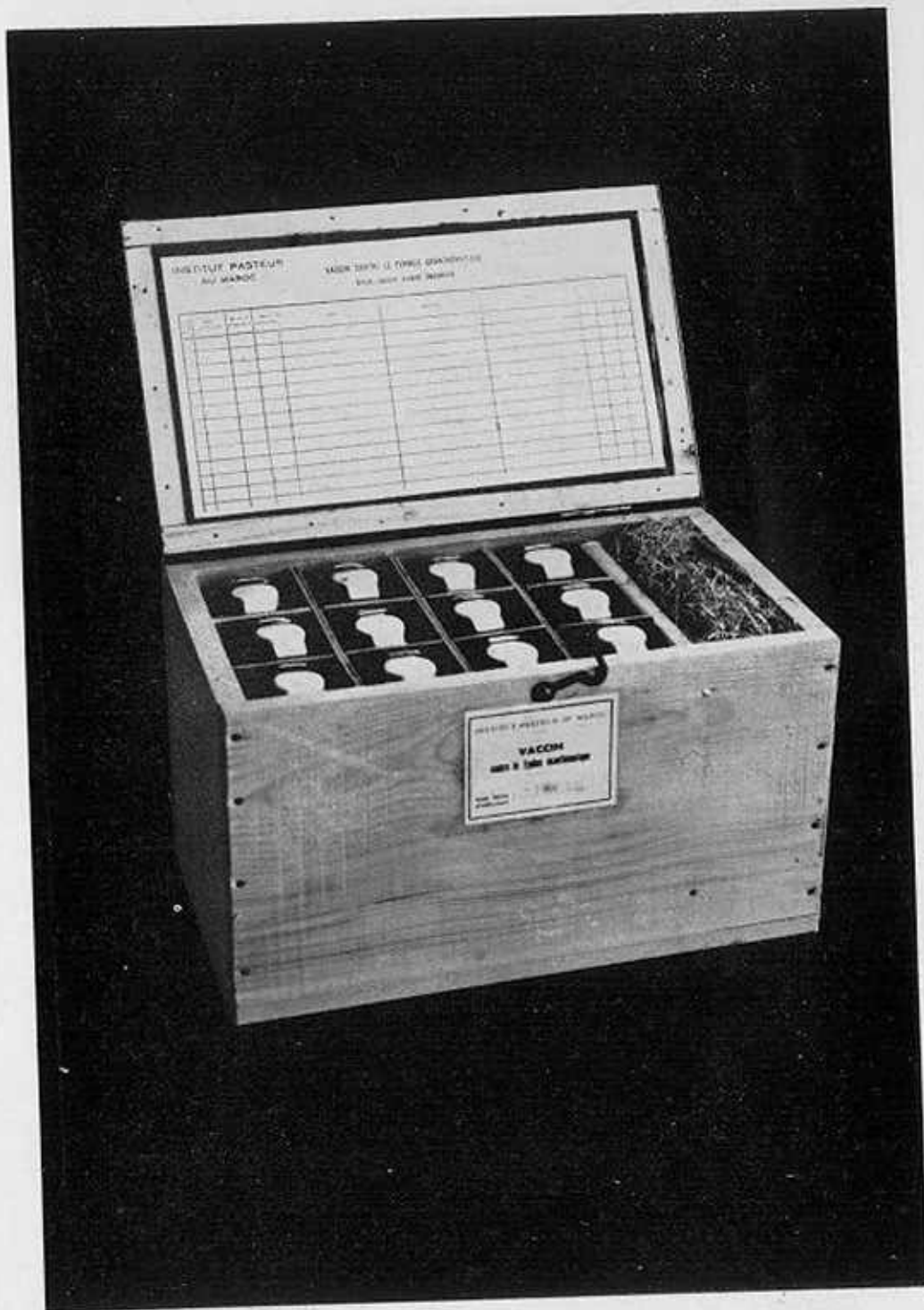
- BLANC G. et BALTAZARD M. Longévité du virus de typhus murin chez la puce (*Xenopsylla cheopis*).  
*C.R. Acad. Sci.*, 1936, 202, 1461.
- BLANC G. et BALTAZARD M. L'influence du jeûne sur le développement du virus du typhus murin chez la puce (*Xenopsylla cheopis*).  
*C.R. Acad. Sci.*, 1936, 202, 2191.
- BLANC G. et BALTAZARD M. L'influence du jeûne sur la persistance du virus du typhus murin chez la puce (*Xenopsylla cheopis*).  
*C.R. Acad. Sci.*, 1937, 204, 919.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Longue conservation à sec du virus du typhus murin dans les déjections de puces infectées.  
*C.R. Acad. Sci.*, 1937, 204, 1046.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Transmission expérimentale du typhus murin par la puce de l'homme (*Pulex irritans*).  
*C.R. Soc. Biol.*, 1937, 124, 1058.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Longue conservation à sec du virus de typhus murin dans les déjections des puces infectées.  
*VII<sup>e</sup> Congrès annuel de la Fédération des Sciences médicales d'Algérie, de Tunisie et du Maroc.* Alger, mars 1937.

- BLANC G. et BALTAZARD M. Non transmission à l'homme du typhus murin par piqûres de puces infectées (*Xenopsylla cheopis* et *Pulex irritans*). *Bull. Acad. Méd.*, 1937, 117, 434.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Longue conservation à sec du virus de typhus murin dans les déjections de puces infectées. Utilisation de ce virus desséché pour la préparation d'un vaccin contre le typhus exanthématique. *Bull. Acad. Méd.*, 1937, 118, 166.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Comportement du virus du typhus murin chez la puce. *Arch. Inst. Pasteur Maroc*, 1937, 1, 765.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Réceptivité comparée du cobaye et de l'homme au virus du typhus murin. *C.R. Soc. Biol.*, 1938, 128, 733.
- BLANC G. et BALTAZARD M. La contamination par voie muqueuse, mécanisme habituel de transmission du typhus murin dans la nature. Rôle du virus sec des déjections d'ectoparasites dans l'épidémiologie des typhus. *Bull. Acad. Méd.*, 1938, 120, 109.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Vaccination contre le typhus exanthématique par virus sec de typhus murin provenant de puces infectées. *C.R. Acad. Sci.*, 1938, 207, 547.
- BLANC G. et BALTAZARD M. La vaccination contre le typhus exanthématique par virus vivant. *Revue d'Hygiène*, 1939-40, 61, 593.
- BLANC G. et BALTAZARD M. Longévité du virus de typhus murin dans les déjections de puces infectées. *Bull. Soc. Path. exot.*, 1940, 33, 25.

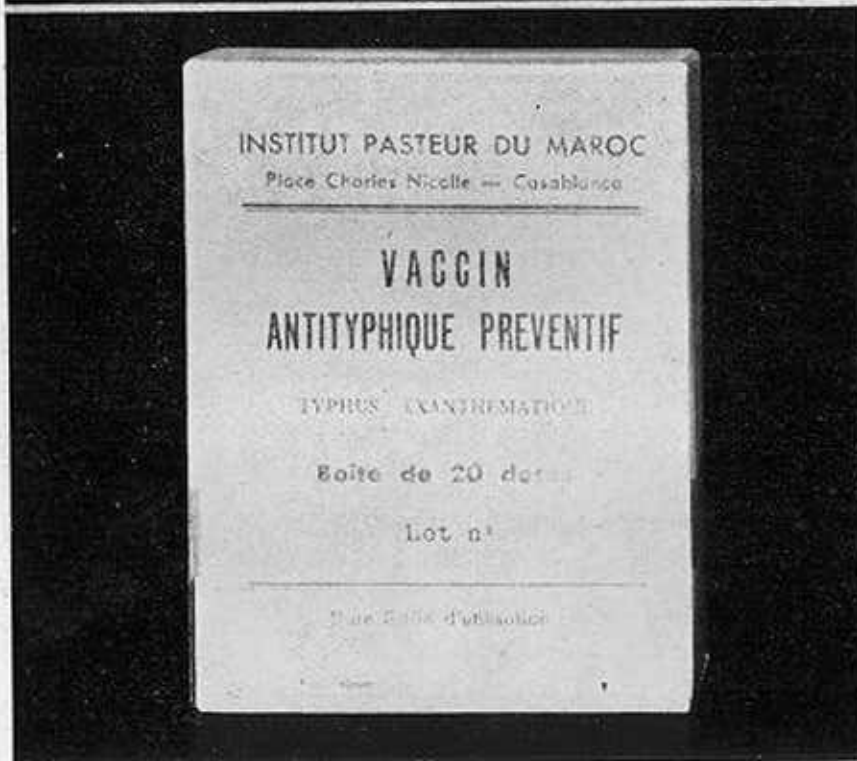
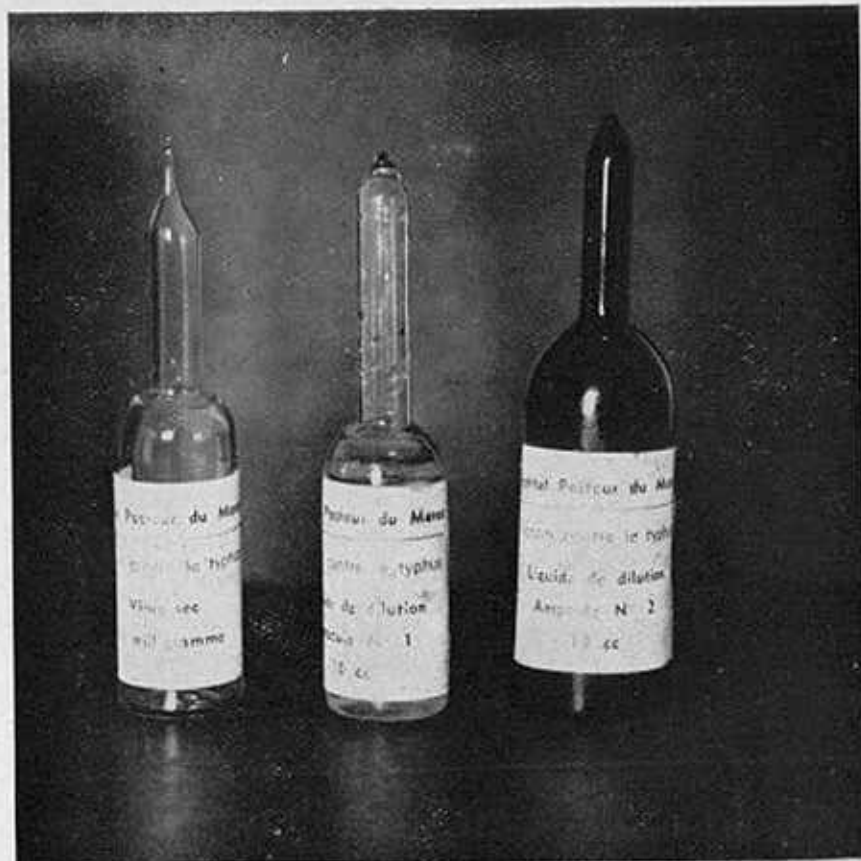


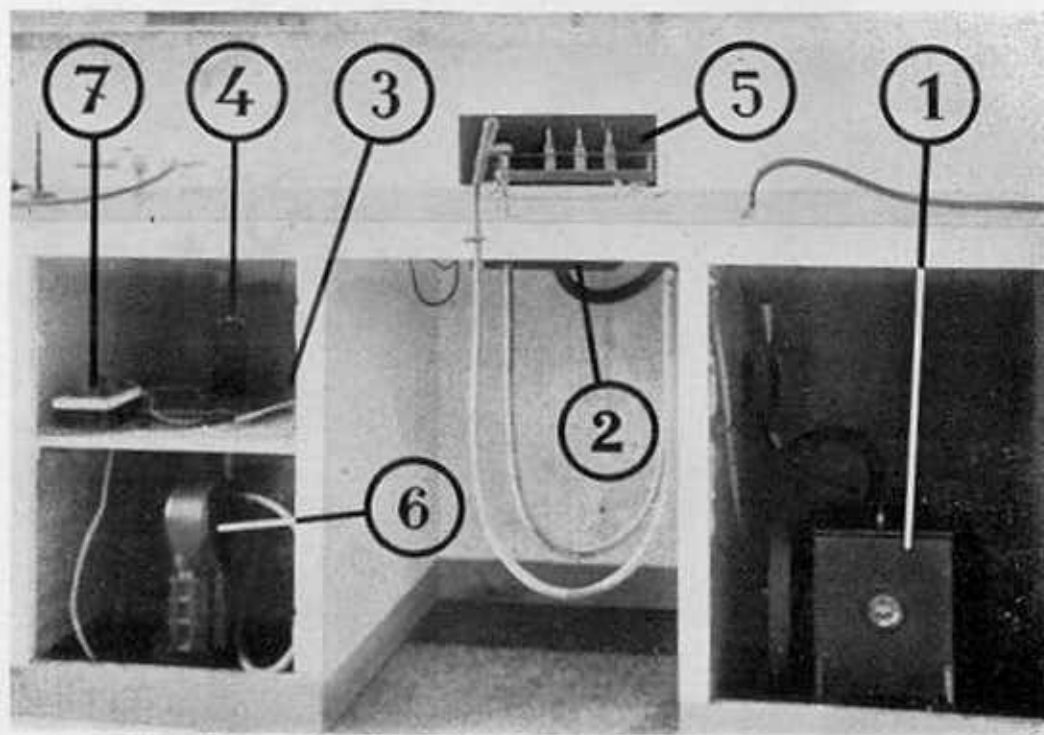
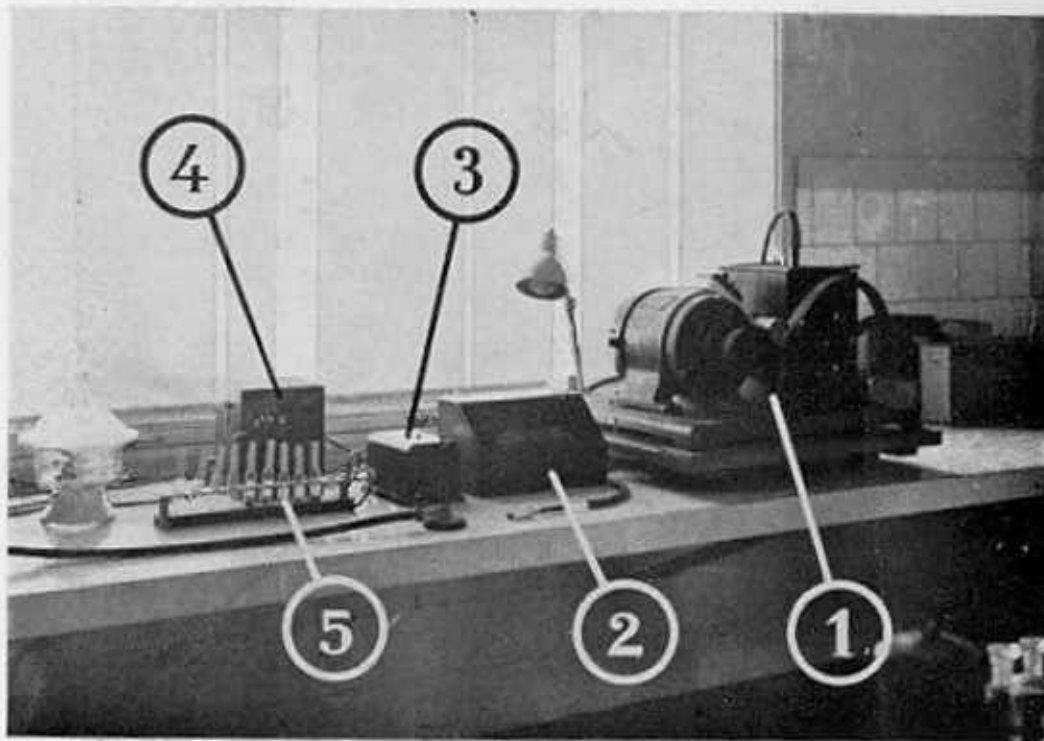


Ampoule de virus et cannette d'excipient



Caissette de 1200 doses.



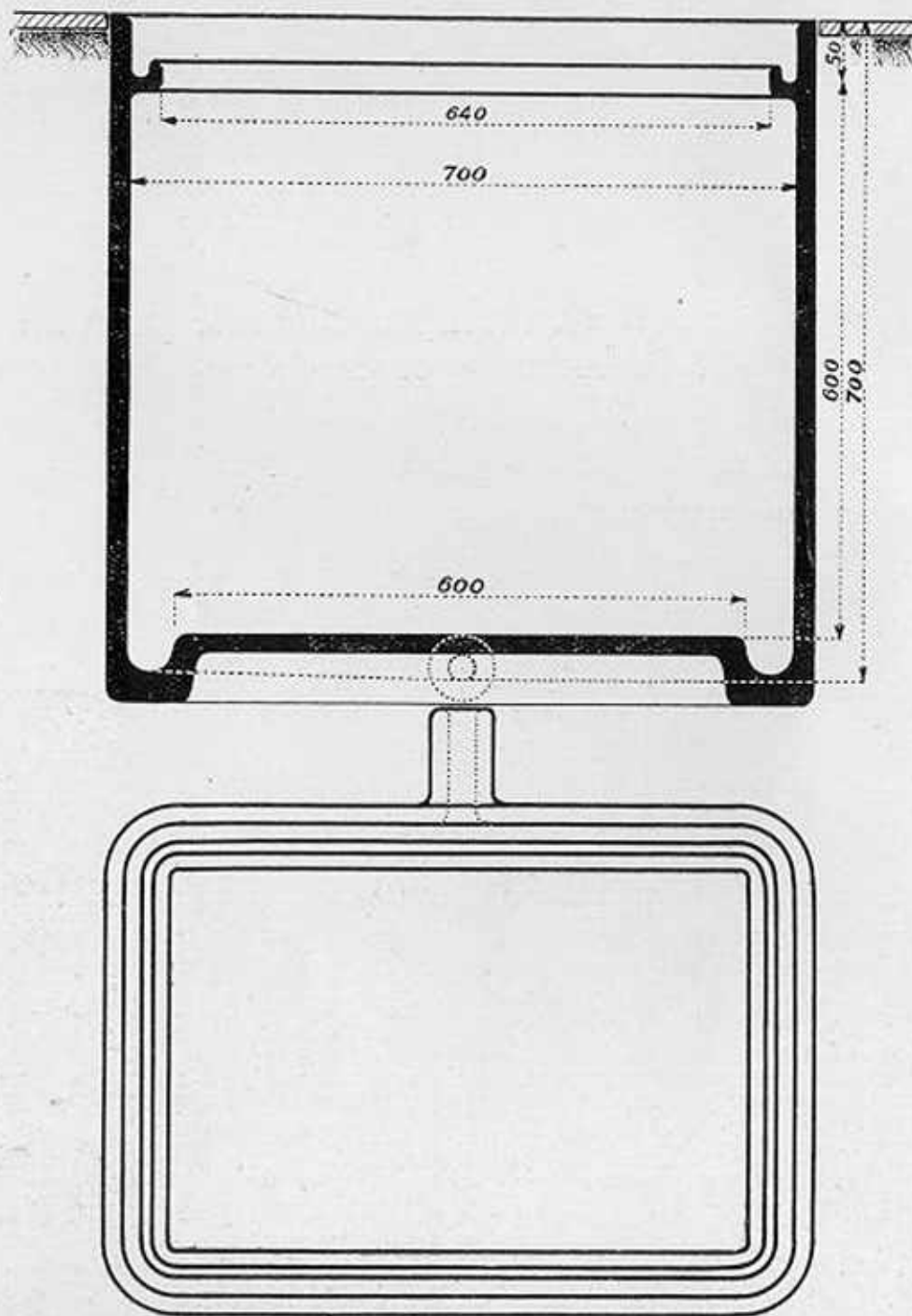


APPAREILLAGE POUR LA RECOLTE, LA MISE EN AMPOULES  
ET LA CONSERVATION DU VIRUS

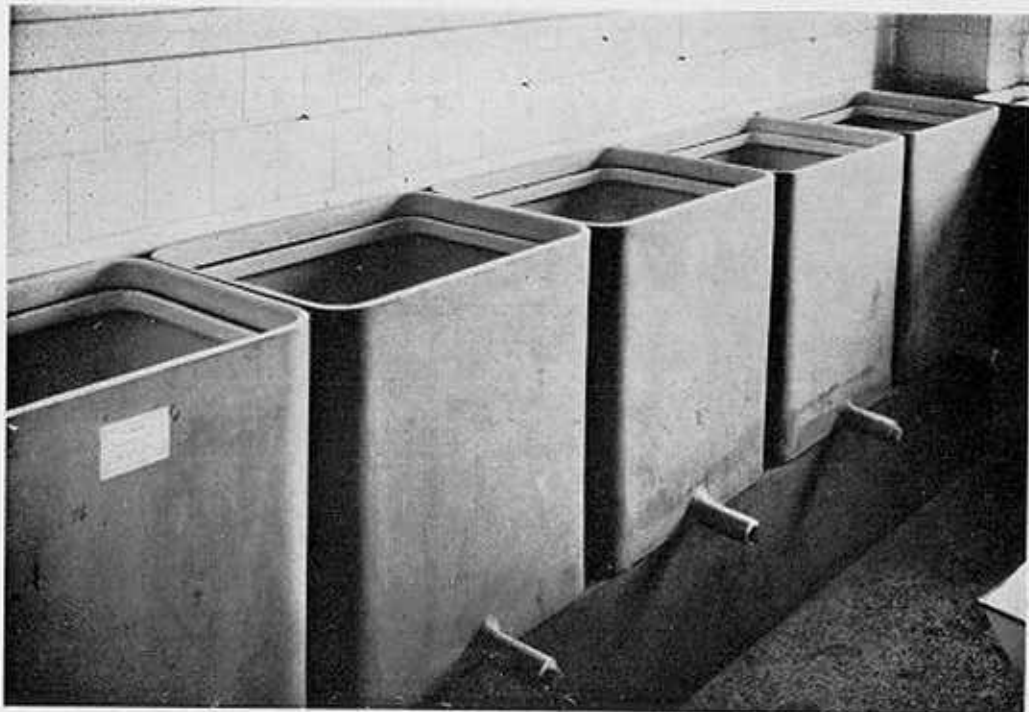
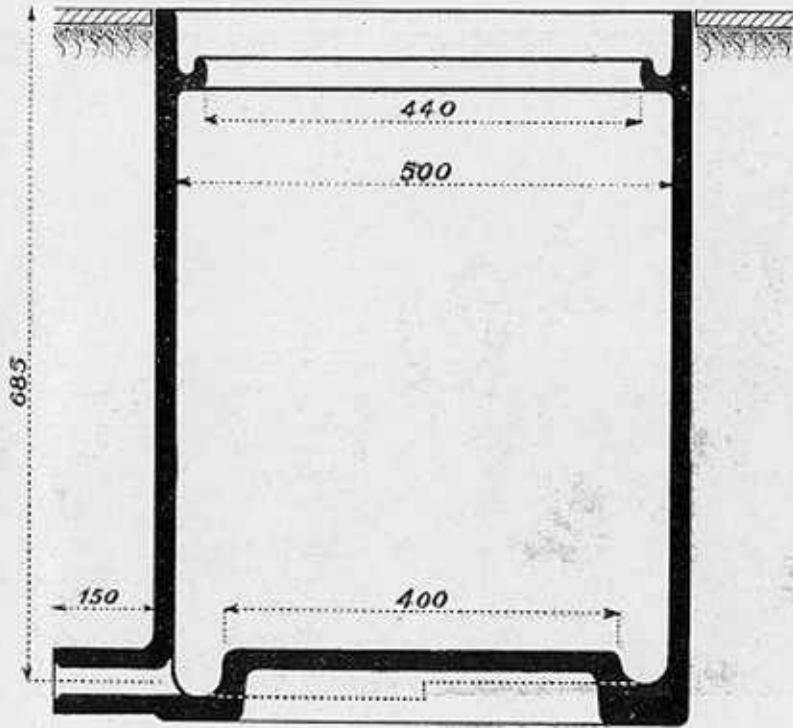
En haut : les différents appareils.

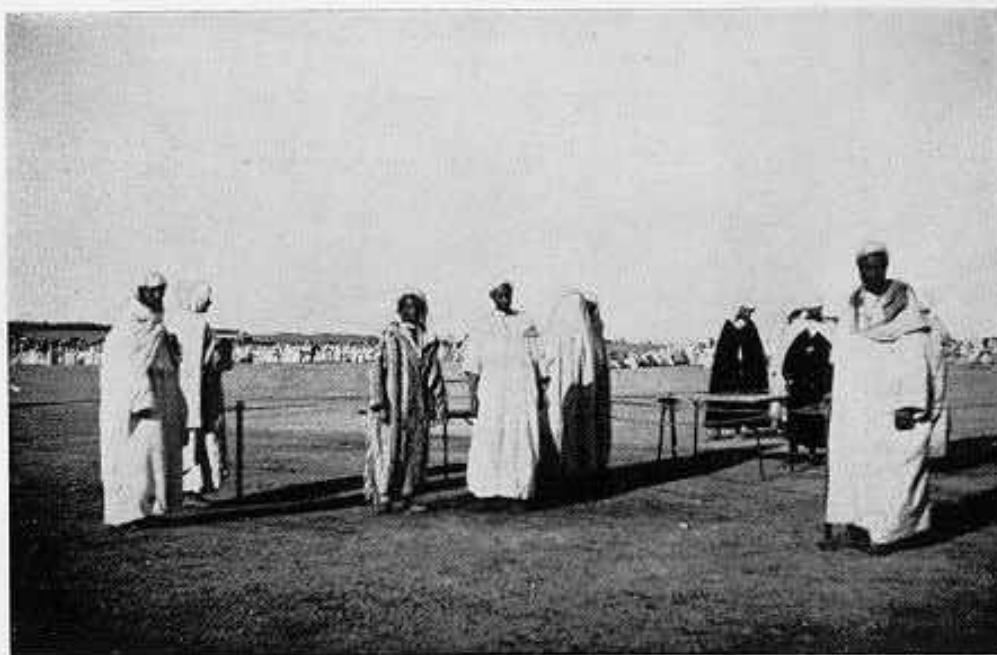
En bas : les mêmes appareils en place dans le meuble du laboratoire de mise en ampoules.

1. Pompe rotative à huile.
2. Tube-témoin étincelateur.
3. Transformateur.
4. Bobine.
5. Portoir-contrôleur.
6. Moteur de la soufflerie.
7. Rhéostat de réglage.



Cuve pour l'élevage des puces





Chantier de vaccination de bled