

150  
84

**Contribution à l'étude  
du comportement des microbes pathogènes  
chez les insectes hématophages**

par G. BLANC et M. BALTAZARD

---

*Archives de l'Institut Pasteur du Maroc*  
t. III, Cahier 7, 1947, pp. 463-475



CONTRIBUTION A L'ETUDE  
DU COMPORTEMENT DES MICROBES PATHOGENES  
CHEZ LES INSECTES HEMATOPHAGES

TROISIÈME MÉMOIRE (\*)

par

Georges BLANC et Marcel BALTAZARD

---

Dans deux mémoires antérieurs <sup>(1)</sup> <sup>(2)</sup>, nous avons étudié le comportement chez la puce *Xenopsylla cheopis* du bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs, de diverses salmonelles, d'une pasteurella et du bacille du charbon.

Ces expériences étaient conduites selon le même mode que celles poursuivies par ailleurs à notre laboratoire avec le bacille de la peste et le bacille de Whitmore.

Travaillant à séparer ou à rapprocher, d'après leur comportement chez les arthropodes piqueurs, des espèces considérées comme voisines ou appartenant au même genre, nous avons été amenés à

---

(\*) Ce travail a fait l'objet d'une note préliminaire. *C. R. Acad. Sc.*, 1942, 215, 43.

(1) *Arch. Inst. Pasteur Maroc*, 1944, 3, 21.

(2) *Arch. Inst. Pasteur Maroc*, 1945, 3, 51.

expérimenter avec le bacille pyocyanique, dont Legroux et ses collaborateurs (1) ont montré la parenté avec le bacille de Whitmore et le bacille morveux.

#### BACILLE PYOCYANIQUE

Les techniques utilisées ont été les mêmes que dans nos expériences antérieures : puces en tubes Borrel ou en cuves, infectées sur des animaux inoculés à la période agonique, puis reportées sur des animaux neufs.

Nous avons utilisé pour ces expériences une souche isolée au laboratoire, la souche F.

Cette souche, ainsi que les quatre autres souches que nous avons isolées et étudiées expérimentalement sur le cobaye, ont montré des caractères identiques (2). L'inoculation sous-cutanée ou intrapéritonéale de culture tue toujours le cobaye en un temps allant de 24 heures à quelques jours, à condition que l'inoculation ait été suffisamment forte (1 cc. de la dilution d'un tube de culture dans 10 cc. d'eau physiologique). Les lésions, comme l'a fait remarquer Legroux, sont très comparables à celles produites par l'infection à bacilles de Whitmore, et, tout particulièrement, les lésions de la rate sont parfois entièrement superposables à celles que l'on observe dans cette infection. La virulence du bacille pyocyanique reste cependant assez faible pour que le passage de cobaye à cobaye par inoculation d'organes broyés ne puisse être obtenu à coup sûr.

Dans cette sorte d'inoculation, la voie péritonéale est plus sûre que la voie sous-cutanée, très infidèle ainsi que le montrent les exemples suivants :

*Souche F* (origine cobaye). Un cobaye : 87/71 est inoculé le 27/10 sous la peau avec 1/30<sup>e</sup> de l'émulsion d'une culture sur gélose de 24 heures. Mort le 28/10 (36 heures), placard violacé au lieu d'inoculation avec sérosité ; rate très grosse, foncée, granuleuse ; pou-

(1) R. LEGROUX et PONS (travail cité dans le mémoire ci-dessous). R. LEGROUX et GENEVRAY, *Ann. Inst. Pasteur*, 1933, 51, 249.

(2) Nous n'avons pas rencontré parmi ces souches fraîchement isolées de l'homme ou d'animaux, de souches faiblement pathogènes ou apathogènes, du type de celles signalées par LEGROUX et GENEVRAY dans leurs souches de collection.

mons avec infarctus. Frottis rate et sérosité placard : nombreux bacilles. Cultures sang, rate, sérosité : positives.

Passage 1/20<sup>e</sup> broyat rate sous la peau du cobaye 87/68, qui présentera une lésion cutanée au point d'inoculation, mais survivra.

*Souche F*. Un cobaye : 89/9, est inoculé le 30/10 sous la peau avec la totalité de l'émulsion d'une culture sur gélose de 24 heures. Mort le 31/10 (24 heures) : placard sous-cutané très gros ; rate grosse, lisse, sans abcès ; poumons parsemés de plages nécrotiques. Frottis rate et sérosité placard : bacilles assez nombreux. Cultures sang, rate, sérosité : positives.

Passage 1/10<sup>e</sup> broyat rate sous la peau du cobaye 89/10, qui présentera une lésion cutanée au point d'inoculation, mais survivra.

*Souche B* (origine plaie humaine). Un cobaye : 89/45, est inoculé le 4/2 sous la peau avec 1/5<sup>e</sup> de l'émulsion d'une culture sur gélose de 24 heures. Mort le 6/2 (2 jours) : gros placard sous-cutané ; rate grosse avec nombreux abcès ; poumons avec infarctus et quelques nodules. Frottis rate et sérosité : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/3 broyat rate à chacun des cobayes : 78/93 sous la peau, et 22/11 dans le péritoine. 78/93 présentera une lésion cutanée au point d'inoculation, mais survivra. 22/11 meurt le 7/2 (24 heures) : ballonnement du ventre, congestion des viscères, enduit sur le foie et la rate, celle-ci non augmentée de volume. Frottis rate : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/10<sup>e</sup> broyat rate sous la peau du cobaye 22/12, qui présentera une lésion cutanée au point d'inoculation, mais survivra.

*Souche L* (origine lapin). Un cobaye : 89/46, est inoculé le 4/2 sous la peau avec 1/5<sup>e</sup> de l'émulsion d'une culture sur gélose de 24 heures. Mort le 6/2 (2 jours) : gros placard sous-cutané ; rate un peu grosse avec quelques abcès, poumons avec nombreux infarctus et quelques nodules. Frottis rate et sérosité placard : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/5<sup>e</sup> broyat rate à chacun des cobayes : 79/2 sous la peau, et 78/84 dans le péritoine. Tous deux survivront, 79/2 avec lésion cutanée.

*Souche H* (origine cobaye). Un cobaye : 89/30, est inoculé le 13/2 sous la peau avec 1/5<sup>e</sup> de l'émulsion d'une culture sur gélose de 3 jours. Mort le 15/2 (2 jours) : gros placard sous-cutané ; rate

grosse sans abcès ; poumons avec quelques infarctus. Frottis rate : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/5<sup>e</sup> broyat rate à chacun des cobayes : 89/65 dans le péritoine et 22/6 sous la peau. 89/65 ne présentera aucun signe d'infection et survivra. 22/6 meurt le 17/2 (2 jours) ; très gros placard sous-cutané ; rate de volume subnormal sans abcès ; poumons avec quelques infarctus. Frottis rate et placard ; très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/3 broyat rate à chacun des cobayes : 89/7 sous la peau, et 79/10 dans le péritoine. 89/7 présentera une lésion cutanée au point d'inoculation, mais survivra. 79/10 meurt le 18/2 (36 heures) : exsudat péritonéal, enduit sur le foie et la rate, celle-ci non augmentée de volume ; poumons avec quelques infarctus. Frottis rate : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/3 broyat rate à chacun des cobayes : 89/49 sous la peau, et 89/47 dans le péritoine. 89/49 survit, 89/47 meurt le 19/2 (24 heures) : exsudat péritonéal, enduit sur le foie et la rate ; rate assez grosse sans abcès. Frottis rate : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/5<sup>e</sup> broyat rate à chacun des cobayes : 89/48 dans le péritoine, et 22/16 sous la peau. 89/48 ne présentera aucun signe d'infection et survivra. 22/16 meurt le 21/2 (2 jours) : très gros placard sous-cutané ; rate de volume subnormal, sans abcès ; poumon avec quelques infarctus. Frottis rate et placard : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/5<sup>e</sup> broyat rate à chacun des cobayes : 89/53 sous la peau, et 22/17 dans le péritoine. 89/53 fera une réaction cutanée au point d'inoculation, 22/17 ne présentera aucun signe d'infection, tous deux survivront.

*Souche F.* Un cobaye : 22/29, est inoculé le 27/5 sous la peau avec 1/5<sup>e</sup> de l'émulsion d'une culture sur gélose de 7 jours. Mort le 29/5 (2 jours) : gros placard sous-cutané, rate grosse avec nombreux petits abcès, poumons avec quelques infarctus ; Frottis rate et placard : très nombreux bacilles. Culture rate : positive.

Passage 1/2 broyat rate dans le péritoine du cobaye 22/30, qui demeurera indemne. Ce cobaye, réinoculé le 2/6 avec une culture virulente sous la peau, se montrera immun.

Voici le détail des expériences faites sur la transmission d'une souche de pyocyanique (Souche F) par la puce *Xenopsylla cheopis*.

## EXPÉRIENCE 1

27/10/41	Plusieurs milliers de <i>xenopsylla</i> adultes d'élevage déjà nourries sur cobaye, sont mises dans une cuve avec un cobaye inoculé quelques instants auparavant avec culture souche F .....	87/71
28/10	87/71 trouvé mort. Passage rate broyée à un cobaye mis aussitôt dans la cuve .....	89/68
30/10	87/68 toujours vivant ; ajouté dans la cuve un cobaye inoculé quelques instants auparavant avec culture souche F .....	89/9
31/10	89/9 trouvé mort. Passage rate broyée à un cobaye mis aussitôt dans la cuve .....	89/10
3/11	87/68 et 89/10, qui ne font aucune réaction, sont débarrassés de leurs puces, sortis de la cuve et mis en observation. Tous deux demeureront indemnes. Mis dans la cuve un cobaye inoculé quelques instants auparavant avec culture souche F .....	89/11
4/11	89/11 trouvé mort. Mis dans la cuve un cobaye neuf.	78/3
5/11	150 puces sont prélevées dans la cuve (1 jour après la fin des repas infectants), broyées et inoculées sous la peau du cobaye .....	78/4
26/11	150 puces sont prélevées dans la cuve (22 jours après la fin des repas infectants), broyées et inoculées sous la peau du cobaye .....	78/53
12/12	60 puces sont prélevées dans la cuve (38 jours après la fin des repas infectants), broyées et inoculées sous la peau du cobaye .....	78/68
31/12	Les 50 dernières puces de la cuve sont prélevées (58 jours après la fin des repas infectants), broyées et inoculées sous la peau des cobayes .....	78/86 78/75

## RÉSULTATS

- 78/3 — Habitant de la cuve. Demeuré indemne. Epruvé dans la suite avec culture : mort.
- 78/4 — Grosse réaction cutanée, collectée en abcès. Ponction le 24/11. Culture pus : positive.
- 78/53 — Grosse réaction cutanée. Collectée en abcès. Ponction le 1/12. Culture pus : positive.

- 78/68 — Grosse réaction cutanée, collectée en abcès.  
Ponction le 15/12. Culture pus : positive.
- 78/86 — Pas de réaction cutanée.  
Epruvé dans la suite avec culture : mort.
- 78/75 — Pas de réaction cutanée.  
Epruvé dans la suite avec culture : mort.

Trois cobayes infectés sont passés dans la cuve en 8 jours, les deux autres n'étaient pas infectés. Chacun des trois cobayes infectés n'a vécu dans la cuve que moins de 24 heures.

Le virus a pu être retrouvé chez les puces 38 jours après la fin des repas infectants. Le cobaye qui a séjourné 57 jours dans la cuve, n'a fait aucune infection.

#### EXPÉRIENCE 2

- 15/11/41 Plusieurs centaines de *xenopsylla* adultes, d'élevage déjà nourries sur cobaye, sont mises dans une cuve avec un cobaye inoculé quelques instants auparavant avec culture souche F ..... 77/89
- 16/11 77/89 trouvé mort.
- 17/11 Mis dans la cuve un cobaye inoculé avec broyat d'organes de cobaye infecté ..... 90/4
- 18/11 90/4 trouvé mort. Remplacé par un cobaye inoculé avec broyat d'organes de cobaye infecté ..... 22/5
- 25/11 22/5 trouvé mort.
- 26/11 Mis dans la cuve un cobaye neuf. .... 78/52
- 28/11 200 puces sont prélevées dans la cuve (3 jours après la fin des repas infectants), broyées et inoculées sous la peau du cobaye ..... 78/56
- 6/12 78/52 trouvé mort. Remplacé par un autre cobaye neuf ..... 78/63
- 13/12 Les 100 dernières puces de la cuve sont prélevées (18 jours après la fin des repas infectants), broyées et inoculées sous la peau du cobaye ..... 78/70

#### RÉSULTATS

- 78/52 — Trouvé mort le 6/12.  
Aucune lésion viscérale ni autre.  
Culture rate : négative.

- 78/56 — Grosse réaction cutanée, collectée en abcès.  
Ponction le 1/12. Culture pus : positive.
- 78/70 — Grosse réaction cutanée, collectée en abcès.  
Ponction le 19/12. Culture pus : positive.

Le virus a pu être retrouvé chez les puces 18 jours après la fin des repas infectants. Les deux cobayes qui ont séjourné respectivement 10 et 7 jours dans la cuve n'ont fait aucune infection.

La non-infection des cobayes piqués par les puces ne pouvait prouver la non-transmission par piqûre, puisque nous savons que le bacille pyocyaneux inoculé à petites doses sous la peau du cobaye, ne donne aucune réaction locale ni générale.

Aussi avons-nous imaginé la technique suivante : Les puces infectées, mises en tube Borrel, fermé par une soie à bluter très fine retenant les déjections, piquent la peau épilée de l'abdomen d'un cobaye neuf. Après une ou plusieurs séances de piqûres le cobaye est sacrifié. La paroi abdominale est soigneusement lavée, puis on découpe le carré de peau correspondant au point d'application du tube. Ce carré est saisi entre quatre pinces de Kocher et retourné. On prélève aseptiquement plusieurs fragments de tissu cellulaire sous-cutané, aussitôt ensemençé en bouillon.

#### EXPÉRIENCE 3

- 17/5/42 Plusieurs milliers de *xenopsylla* nouvelles écloses sont mises dans une cuve avec un cobaye inoculé la veille avec culture souche F, agonisant ..... 22/24
- 18/5 22/24 trouvé mort le matin. Remplacé le soir par un cobaye inoculé le matin avec culture souche 7. .... 22/25
- 19/5 22/25 trouvé mort le soir. Remplacé par un cobaye neuf ..... 93/3
- 20/5 150 puces sont prélevées dans la cuve, broyées et inoculées dans le péritoine du cobaye et sous la peau du cobaye.  
500 puces environ sont prélevées dans la cuve, mises en un tube Borrel soie à bluter, porté sur un cobaye neuf ..... 93/7
- Soir : Piqûre 1
- 21/5 M. 2  
S. 3

22/5	M.	Piqûre 4	
		Aussitôt après la piqûre, sacrifié le 93/7 pour ensemencement de peau.	
		Broyé 10 puces du tube également pour ensemencement.	
		Le tube est porté sur un autre cobaye neuf.....	93/8
	S.	1	
23/5	M.	2	
	S.	3	
		Broyé 10 puces du tube pour ensemencement.	
24/5	M.	4	
25/5	M.	5	
26/5	M.	6	
	S.	7	
27/5		Sacrifié le 93/8 pour ensemencement de peau. Les 200 puces qui restent vivantes dans le tube Borrel (8 jours après la fin des repas infectants), sont broyées et inoculées sous la peau du cobaye.....	93/10
4/6		10 puces sont prélevées dans la cuve (16 jours après la fin des repas infectants) et broyées pour ensemencement.	
8/6		10 puces sont prélevées dans la cuve (20 jours après la fin des repas infectants) et broyées pour ensemencement.	
18/6		15 puces sont prélevées dans la cuve (30 jours après la fin des repas infectants) et broyées pour ensemencement. III gouttes du broyat sont ensemencées en bouillon, le reste est inoculé sous la peau du cobaye .....	93/21

## RÉSULTATS

- 93/5 — Demeure indemne.
- 93/3 — Trouvé mort le 21/5.  
Autopsie : exsudat péritonéal, enduit sur le foie et la rate qui est de volume subnormal.  
Frottis rate : très nombreux bacilles.  
Culture rate : positive.
- 93/4 — Sacrifié agonisant le 22/5.  
Autopsie : très gros placard sous-cutané. Rate grosse avec nombreux petits abcès.  
Frottis rate et placard : très nombreux bacilles.  
Culture rate : positive.

- 93/7 — Sacrifié le 22/5.  
Aucune lésion viscérale ni autre.  
Frottis peau et rate : négatifs.  
Culture rate : négative.  
Culture tissu cellulaire sous-cutané : positive.  
Broyat de 10 puces du 22/5.  
Frottis : bacilles rares.  
Culture : positive.  
Broyat de 10 puces du 23/5.  
Frottis : bacilles rares.  
Culture : positive.
- 93/8 — Sacrifié le 27/5.  
Aucune lésion viscérale ni autre.  
Frottis peau et rate : négatifs.  
Culture rate et foie : négative.  
Culture tissu cellulaire sous-cutané : positive.
- 93/10 — Grosse réaction locale, collectée en abcès.  
Ponction le 4/6.  
Culture pus : positive.  
Broyat de 10 puces du 4/6.  
Frottis : bacilles rares.  
Culture : positive.  
Broyat de 10 puces du 8/6.  
Frottis : négatif.  
Culture : négative.  
Broyat de 15 puces du 18/6.  
Frottis : négatif.  
Culture : négative.
- 93/21 — Aucune réaction locale. Demeurera indemne.

Le virus a été retrouvé chez les puces 16 jours après la fin des repas infectants. L'ensemencement du tissu cellulaire sous-cutané de deux cobayes a été positif, dans un cas immédiatement après la piqûre, dans l'autre cas 15 heures après la piqûre.

## EXPÉRIENCE 4

- 28/5/42 500 *renopsylla* environ, nouvelles écloses, en un tube soie à bluter, piquent le cobaye inoculé la veille avec culture souche F .....
- 22/29 Soir : Piqûre unique.
- 29/5 22/9 trouvé mort. Porté le tube sur un cobaye neuf. . . . . 22/30
- Soir : Piqûre 1

30/5	Matin : Piqûre 2 S. 3	
31/5	M. 5	
1/6	M. 6 S. 7	
2/6	Sacrifié le 22/30 pour ensemencement peau. Le tube est porté sur un cobaye inoculé le matin avec culture souche F ..... Soir : Piqûre unique.	22/33
4/6	Les puces sont mises dans un autre tube Borrel. 1 mmgr. environ de déjections est récolté dans le premier tube, dilué et ensemencé en bouillon.	
8/6	Le tube est mis sur un cobaye inoculé le matin avec culture souche F ..... Soir : Piqûre unique.	22/37
9/6	22/37 trouvé mort. Porté le tube sur un cobaye inoculé le matin avec culture souche F ..... Soir : Piqûre 1	22/38
10/6	Matin : Piqûre 2 Soir : 14 heures, Piqûre 3 19 heures, Piqûre 4	
11/6	22/38 trouvé mort. Porté le tube sur un cobaye neuf sacrifié aussitôt après pour ensemencement peau..	93/16
13/6	Le tube est mis sur un cobaye inoculé le matin avec culture souche F ..... Soir : Piqûre 1	91/31
14/6	M. 2	
15/6	91/31 trouvé mort. Porté le tube sur un autre cobaye inoculé le matin avec culture ..... S. 1	92/19
16/6	M. 2 S. 3	
17/6	92/19 trouvé mort. Porté le tube sur un autre cobaye inoculé le matin avec culture ..... Soir : Piqûre unique. Les puces sont mises dans un autre tube Borrel. 1 mmgr. environ de déjections est récolté dans le tube précédent, dilué et ensemencé en bouillon.	91/27
18/6	Le tube est mis sur un cobaye neuf pendant 5 minutes puis le cobaye est aussitôt sacrifié pour ensemencement peau .....	93/20
24/6	Les puces qui sont restées à jeun pendant 5 jours piquent un cobaye neuf. .... Soir : Piqûre 1	93/25

25/6	M. Piqûre 2 S. 3
26/6	M. 4 S. 5
27/6	M. 6 S. 7
28/6	M. 8
29/6	M. 9

Aussitôt après la piqûre, le cobaye 93/25 est sacrifié pour ensemencement peau.

## RÉSULTATS

- 22/30 — Sacrifié le 2/6.  
Aucune lésion viscérale ni autre.  
Frottis peau et rate : négatifs.  
Culture rate : négative.  
Culture tissu cellulaire sous-cutané : positive.  
Dilution déjections du 4/6.  
\* Culture bouillon : positive.
- 93/16 — Sacrifié le 11/6.  
Frottis peau : négatif.  
Culture sang cœur : négative.  
Culture tissu cellulaire sous-cutané : positive.  
Dilution déjections du 17/6.  
Culture bouillon : positive.
- 93/20 — Sacrifié le 18/6.  
Frottis peau : très rares bacilles.  
Culture tissu cellulaire sous-cutané : positive.
- 93/25 — Sacrifié le 29/6.  
Frottis peau : négatif.  
Culture tissu cellulaire sous-cutané : positive.

Le bacille a pu être retrouvé dans le tissu cellulaire sous-cutané de tous les cobayes piqués par les puces. Les déjections des puces infectées sont virulentes. Le jeûne ne modifie pas le pouvoir de transmission par piqûre.

## CONCLUSIONS

Le bacille pyocyanique se comporte chez la puce *Xenopsylla cheopis*, exactement comme tous les microbes pathogènes évoluant

chez cet insecte, tel spécialement le bacille de Whitmore, dont d'autres caractères le rapprochaient déjà (1).

Même infection et conservation chez la puce, même passage dans les déjections, même transmission par piqûre.

#### BACILLE DE LA TULARÉMIE

Dès 1912, Mc Coy et Ch. W. Chopin (2) ont montré qu'il était possible d'infecter *Ceratophyllus acutus*, puce du spermophile (*Citellus beecheyi*) et la puce du rat *C. fasciatus* avec ce germe, et en ont obtenu la transmission par piqûre. En 1943 G. Olin (3) trouve sur des lemmings en Suède, des *Ceratophyllus rectangulatus* infectés.

Avec une souche due à l'amabilité du Professeur Parker de Hamilton, nous avons repris quelques essais de transmission par la puce du rat *Xenopsylla cheopis*, essais malheureusement très vite interrompus par la perte accidentelle de la souche.

#### EXPÉRIENCE

1/5/44	Plusieurs centaines de <i>xenopsylla</i> nouvelles écloses sont mises dans une cuve avec un cobaye inoculé quelques instants auparavant avec culture.....	95/78
4/5	95/78 sacrifié agonisant. Passage organes broyés à un cobaye mis aussitôt dans la cuve .....	28/80
6/5	28/80 trouvé mort. Passage organes broyés à un rat blanc mis aussitôt dans la cuve .....	Rat 2
8/5	Rat 2 trouvé mort. Passage organes broyés à un cobaye mis aussitôt dans la cuve .....	28/71
10/5	28/71 trouvé mort. Passage organes broyés à un rat blanc mis aussitôt dans la cuve .....	Rat 3
15/5	Rat 3 trouvé mort. Mis dans la cuve un cobaye neuf..	95/72
29/5	95/72 sacrifié en hypothermie (36°5), cuve abandonnée.	

(1) Voir ces Archives, tome 3, cahier 9 (à paraître).

(2) Mc. COY et CHOPIN Ch. W., *J. Inf. Dis.*, 1912, 10, 61.

(3) OLIN G., *Acta patho. micr. Scand.*, 1943, 19, 220.

#### RÉSULTATS

- 95/72 — Sacrifié agonisant le 29/5.  
Autopsie : pas de lésions externes, pas de ganglions, rate grosse avec nombreux abcès, foie avec abcès, poumons avec nodules.  
Frottis foie : très nombreux bacilles.

Comme nos prédécesseurs, nous avons donc pu obtenir la transmission de l'infection par piqûre. Cette évolution du germe chez la puce, jointe à l'aspect des lésions anatomo-pathologiques constatées chez les animaux inoculés avec ce bacille, nous semble écarter le *B. tularensis* du genre *Pasteurella* dans lequel il a été placé.