

COMMUNICATIONS

L'action des cultures de *B. Subtilis* sur la bactériémie explique maintenant certains incidents survenus jadis dans la pratique de la vaccination charbonneuse

par G. RAMON et R. RICHOU

La mémorable expérience de Pouilly-le-Fort en mai et juin 1881, ayant abouti à un succès complet, la vaccination charbonneuse entraîna immédiatement dans la pratique vétérinaire.

Cependant, à la suite des vaccinations effectuées dans différentes régions, des incidents survenaient bientôt qui ne furent pas sans causer de sérieux soucis à PASTEUR et à ses Collaborateurs CHAMBERLAND et ROUX. Nous en avons trouvé, tout récemment encore, l'expression dans la correspondance de ce dernier qui est entre nos mains.

Dès le mois de juin 1882, un an à peine après la démonstration de Pouilly-le-Fort, WEBER présentait devant la Société Centrale de Médecine Vétérinaire, qui est à l'origine de votre Compagnie, une communication intitulée : « *Sur certains accidents consécutifs à la vaccination charbonneuse* » (1).

PASTEUR répondit immédiatement à WEBER, en confirmant les faits et en les commentant (2) : « J'ai eu connaissance — dit-il — des faits cités par WEBER et d'autres, plus nombreux, observés un peu partout à partir du moment où la pratique de la vaccination charbonneuse a commencé à se généraliser dans les départements. »

« Les faits de la pratique — poursuit PASTEUR — ont montré que les vaccins s'étaient affaiblis et alors se sont produits des acci-

(1) WEBER, *Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 1882, 6^e série, p. 705.

(2) PASTEUR, *Société Centrale de Médecine Vétérinaire*, 1882, 6^e série, p. 707.

dents de natures diverses. Dans certains cas, le premier vaccin se montrant trop faible relativement au second, on observait des cas de mort dans les troupeaux, immédiatement après la seconde vaccination qui, au lieu d'être une vaccination, se trouvait être une inoculation virulente. Dans d'autres cas, le premier et le second vaccins affaiblis tous deux ne constituaient plus un préservatif suffisant et l'on voyait le sang de rate amener la mort des moutons vaccinés depuis un ou deux mois. » Et PASTEUR de tirer de ces faits la conclusion : « que les virus — et par là il faut entendre les virus proprement dits et les virus-vaccins — au lieu d'être, comme on le supposait, et comme il l'avait formellement déclaré lui-même, quelque chose de fixe et d'immuable, des entités, sont au contraire quelque chose de variable se modifiant sous l'action du temps, des circonstances climatériques, etc. ».

Tels étaient les faits exposés ici même en 1882.

Or, d'une part, des documents de l'époque, inédits ou peu connus, qui sont en notre possession et, d'autre part, les recherches que nous avons poursuivies au cours de ces dernières années sur le *B. Subtilis* et sur les propriétés antibiotiques, antido-tiques, etc. (1), des substances que ce germe est apte à élaborer en végétant, nous permettent d'apporter aujourd'hui une explication des accidents de vaccination charbonneuse exposés par WEBER et par PASTEUR devant nos collègues d'alors.

Le hasard nous a en effet appris, à l'occasion d'investigations bibliographiques entreprises sur les travaux pastoriens de la période qui s'étend de 1880 à 1885 (2) qu'au laboratoire Pasteur, ceux qui étaient chargés, en ce temps-là, de la préparation et de la répartition du vaccin charbonneux ajoutaient dans les tubes de vaccin, avant leur expédition aux vétérinaires, une suspension de *B. Subtilis* (3) dans le but de faire absorber par la culture

(1) Voir G. RAMON et R. RICHOU, *Bullet. de l'Acad. Vét.*, 1945, 18, N° 6 et *Revue d'Immunologie* 1944-1945, 9 p. 161-218. On trouvera dans ces recueils et principalement dans le second la bibliographie se rapportant à cette question.

(2) Avec DELAUNAY nous avons fait l'historique de la mission pastorienne composée de NOCARD, ROUX, STRAUS et THULLIER et envoyée pour étudier le choléra en Égypte (1883) où THULLIER succomba à cette infection. Cette étude avec ses développements doit paraître incessamment dans le *Progress Médical*.

(3) Nous avons trouvé confirmation de cette pratique de l'addition de *B. Subtilis* au vaccin charbonneux dans l'ouvrage intitulé « A l'ombre de Pasteur » dont l'auteur est A. LOIR, neveu et jadis assistant de Pasteur à l'École Normale Supérieure (A. LOIR. « A l'ombre de Pasteur ». *Le Mouvement sanitaire*, 1937).

LOIR était chargé de mettre en tubes le vaccin charbonneux destiné à être expédié aux Vétérinaires. Dans chaque tube de vaccin il ajoutait, selon les instructions de CHAMBERLAND, 1 cmc. de culture de *B. Subtilis*. Un jour que Pasteur assistait à cette opération, il expliqua à son neveu le pourquoi de cette précaution :

de ce dernier, très aérobique comme l'on sait, l'oxygène de l'air, lequel, selon la conception pastorienne, aurait accru l'atténuation du virus-vaccin et aurait par conséquent diminué le pouvoir vaccinant de celui-ci (1).

Mais, comme nous l'avons établi, la culture ou même simplement le filtrat de culture du *B. Subtilis* exerce une action bactéricide et aussi bactériolytique sur la bactériodie charbonneuse, sur le bacille diphtérique et sur d'autres microbes encore. Lorsqu'on introduit, par exemple, une petite quantité de filtrat de culture de *B. Subtilis* dans un tube contenant une suspension de bactériodies, qu'il s'agisse de bactériodies pleinement virulentes ou atténuées (correspondant au premier ou au deuxième vaccin pastorien), celles-ci perdent leur vitalité, elles sont bientôt altérées puis réduites à l'état de stromas granuleux et les réensemencements effectués montrent qu'au bout d'un certain temps, il n'y a plus d'éléments bactériadiens vivants.

On comprend que, dans ces conditions, la culture du *B. Subtilis* ajoutée dans le laboratoire de PASTEUR aux virus-vaccins charbonneux, non seulement pouvait les atténuer davantage mais, en outre, était capable de les annihiler dans leur vitalité et dans leur pouvoir vaccinant si bien qu'ils perdaient leur efficacité et que, comme le constataient WEBER et PASTEUR, ils ne constituaient plus un préservatif suffisant, l'infection charbonneuse naturelle provoquant alors la mort des animaux vaccinés mais non immunisés. On sait, en effet, que pour conférer l'état réfractaire, les virus-vaccins doivent, d'après le principe fondamental posé par PASTEUR, être vivants et avoir conservé un certain degré de virulence.

Il faut faire encore une remarque importante du point de vue

« Le *bacillus subtilis* en faisant un voile à la surface du liquide, absorbe l'oxygène qui aurait pu agir sur la virulence du vaccin pour l'affaiblir ». Certains auteurs ont prétendu que si du subtilis était ajouté sur l'ordre de Chamberland au vaccin charbonneux, c'était dans le but d'empêcher la reproduction par subcultures des vaccins pastoriens dans d'autres laboratoires et afin d'éviter ainsi la concurrence commerciale.

Quoi qu'il en soit, en dehors de l'inconvénient majeur que nous examinons dans le corps de notre exposé, l'addition de *subtilis* en avait un autre. Elle risquait de jeter, principalement à l'étranger, la suspicion et le discrédit sur le laboratoire de Pasteur que l'on accusait d'être incapable de faire des cultures pures. Voici d'ailleurs comment LOIR s'exprime à cet égard : « Quelques-uns de ces tubes de vaccin charbonneux — additionné de subtilis — avaient probablement été envoyés dans un laboratoire étranger, des isollements de microbes y avaient été faits et bientôt était publié un travail provenant d'un laboratoire allemand disant qu'au laboratoire Pasteur on ne savait pas faire de cultures pures. Le subtilis avait été repéré » (A. LOIR).

(1) Le *B. subtilis* semblait en grande vogue à cette époque au laboratoire de Pasteur. M. Roux signalait de son côté en 1884 ce fait « qu'on peut mettre à profit la propriété d'absorber l'oxygène de l'air qu'ont certains microbes, le *bacillus subtilis* par exemple » (cité par L. DEBRAUD, *Annales Institut Pasteur* 1900, 14 p. 758)

qui nous intéresse spécialement et du point de vue également de l'évolution des idées en microbiologie.

Ainsi que nous l'avons rappelé dans une communication antérieure (1) et dans diverses publications, c'est PASTEUR, assisté de JOUBERT, qui, en 1877 (2), observa et décrivit le premier phénomène d'antagonisme microbien en utilisant précisément la bactériodie et un germe « commun » qu'il ne cite pas mais qui était, il y a tout lieu de le croire, le *B. Subtilis* ou un microbe analogue.

« L'urine — écrivaient PASTEUR et JOUBERT — neutre ou légèrement alcaline, est un excellent terrain de culture pour la bactériodie; que l'urine soit pure et la bactériodie pure, et dans l'intervalle de quelques heures celle-ci est tellement multipliée que les longs filaments qui la composent remplissent le liquide d'un feutrage d'aspect cotonneux; mais si au moment de déposer dans l'urine les bactériodies à titre de semence, on sème, en outre, un aérobie, par exemple une des bactéries communes, la bactériodie charbonneuse ne se développe pas ou très peu, et elle périt entièrement après un temps plus ou moins long. »

Comment PASTEUR, qui avait écrit ces lignes en 1877, n'a-t-il pas songé quelques années plus tard que le *B. Subtilis* qu'il faisait ou laissait ajouter dans son laboratoire au virus-vaccin charbonneux pouvait « faire périr » ce dernier et lui enlever son pouvoir immunisant ?

A vrai dire, PASTEUR était, depuis 1880, tout entier à son idée maîtresse du rôle essentiel joué dans l'atténuation des virus et leur transformation en virus vaccin, par l'action prolongée de l'oxygène de l'air et de la température, et c'est pour éviter une atténuation trop grande du vaccin charbonneux après sa préparation et, par conséquent, une perte d'activité, que l'on ajoutait du *B. Subtilis* qui, par sa végétation, devait raréfier l'oxygène contenu dans le tube de vaccin. PASTEUR ne se doutait pas que ce faisant il détruisait son vaccin, et cela par le même mécanisme que ses propres travaux de 1877 avaient mis en évidence pour ce qui regarde précisément la bactériodie.

Telle est l'explication que nous pouvons fournir aujourd'hui, grâce à nos recherches, d'incidents survenus il y a plus d'un demi-siècle, lors des premières applications de la vaccination

(1) G. RAMON et R. RICHOU, *Bull. de l'Acad. Vét.* 1947, 48, n° 6.

(2) L. PASTEUR et J. JOUBERT. « Charbon et septicémie », *C. R. de l'Acad. des Sciences* 1877, 85, p. 101 et *Bulletin Acad. de Médecine*, 1877, 2^e série, 6, p. 781.

charbonneuse, incidents dus au manque d'efficacité des vaccins employés (1).

Telles sont également les réflexions qui nous sont suggérées à la lueur de nos connaissances actuelles par l'étude de certains faits très anciens. Ainsi, sont peu à peu mis en lumière par le progrès scientifique, des champs restés jusque-là obscurs, malgré le génie de PASTEUR et sa remarquable prescience dont il a donné tant de preuves et que nous avons exaltés, nous-mêmes, à maintes reprises (2).



(1) Quant à certains autres accidents observés plus tard, par exemple la mort des animaux survenant tout de suite après l'inoculation du vaccin, ils étaient dus à la trop grande virulence de ce dernier, soit du fait d'un défaut de préparation, soit du fait d'un retour à la virulence lors de la vaccination, retour que Pasteur a reconnu lui-même à différentes reprises, en particulier dans sa lettre à DUCLAUX sur la rage (*Annales Institut Pasteur*, 1887, 4, p. 10). Il s'exprime ainsi : « On peut objecter à l'hypothèse que j'expose — relative à la rage — que le vaccin du charbon reprend sa virulence lorsque accidentellement, il amène la mort d'un mouton ou d'une vache ».

(2) Voir par exemple G. RAMON. « La prescience de Pasteur », *Presse Médicale*, 1945, n° 52, p. 717.