
Membres de l'Académie des sciences depuis sa création : Louis Pasteur

Note de L. Pasteur - De l'atténuation du virus du choléra des poules

C. R. T.91 (1880) 673-680



INSTITUT DE FRANCE
Académie des sciences



COMPTES RENDUS

DES SÉANCES

DE L'ACADÉMIE DES SCIENCES.

SÉANCE DU MARDI 26 OCTOBRE 1880.

PRÉSIDENCE DE M. WURTZ.

MÉMOIRES ET COMMUNICATIONS

DES MEMBRES ET DES CORRESPONDANTS DE L'ACADÉMIE.

CHIMIE PHYSIOLOGIQUE. — *De l'atténuation du virus du choléra des poules ;*
par M. L. PASTEUR.

« Des divers résultats que j'ai eu l'honneur de communiquer à l'Académie sur l'affection vulgairement appelée *choléra des poules*, je prends la liberté de rappeler les suivants :

» 1^o Le choléra des poules est une maladie virulente au premier chef.

» 2^o Le virus est constitué par un parasite microscopique qu'on multiplie aisément par la culture, en dehors du corps des animaux que le mal peut frapper. De là la possibilité d'obtenir le virus à l'état de pureté parfaite et la démonstration irréfutable qu'il est seul agent de maladie et de mort.

» 3^o Le virus offre des virulences variables. Tantôt la maladie est suivie de la mort; tantôt, après avoir provoqué des symptômes morbides d'une intensité variable, elle est suivie de guérison.

» 4^o Les différences que l'on constate dans la puissance du virus ne sont pas seulement le résultat d'observations empruntées à des faits naturels : l'expérimentateur peut les provoquer à son gré.

» 5° Comme cela arrive, en général, pour toutes les maladies virulentes, le choléra des poules ne récidive pas, ou plutôt la récidive se montre à des degrés qui sont en sens inverse de l'intensité plus ou moins grande des premières atteintes de l'affection, et il est toujours possible de pousser la préservation assez loin pour que l'inoculation du virus le plus virulent ne produise plus du tout d'effet.

» 6° Sans vouloir rien affirmer présentement sur les rapports des virus varioleux et vaccinal humains, il est sensible par les faits précédents que, dans le choléra des poules, il existe des états du virus qui, relativement au virus le plus virulent, font l'office du vaccin humain relativement au virus varioleux. Le virus vaccin proprement dit donne une maladie bénigne, la vaccine, qui préserve d'une maladie plus grave, la variole. Pareillement, le virus du choléra des poules présente des états de virulence atténuée qui donnent la maladie et non la mort, et dans de telles conditions que, après guérison, l'animal peut braver l'inoculation d'un virus très virulent. La différence est grande cependant, à certains égards, entre les deux ordres de faits, et il n'est pas inutile de remarquer que, sous le rapport des connaissances et des principes, l'avantage est du côté des études sur le choléra des poules : tandis qu'on discute encore sur les relations de la variole et de la vaccine, nous avons la certitude que le virus atténué du choléra dérive du virus très virulent propre à cette maladie, qu'on passe directement du premier de ces virus au second, en un mot, que leur nature fondamentale est la même.

» Le moment est venu de m'expliquer sur l'assertion capitale qui fait le fond de la plupart des propositions précédentes, à savoir qu'il existe des états variables de virulence dans le choléra des poules : étrange résultat assurément, quand on songe que le virus de cette affection est un organisme microscopique qu'on peut manier à l'état de pureté parfaite, comme on manie la levûre de bière ou le mycoderme du vinaigre. Et pourtant, si l'on considère de sang-froid cette donnée mystérieuse de la virulence variable, on ne tarde pas à reconnaître qu'elle est probablement commune aux diverses espèces de ce groupe des maladies virulentes. Où donc est l'unicité dans l'un ou l'autre des fléaux qui composent ce groupe? Pour ne citer qu'un exemple, ne voit-on pas des épidémies de variole très graves à côté d'autres presque bénignes, sans que les différences puissent être attribuées à des conditions extérieures, de climat ou de constitution des individus atteints? Ne voit-on pas également les grandes contagions s'éteindre peu à peu pour reparaitre plus tard et s'éteindre de nouveau?

» La notion de l'existence d'intensités variables d'un même virus n'est donc pas faite, à la rigueur, pour surprendre le médecin ou l'homme du monde, quoiqu'il y ait un immense intérêt à ce qu'elle soit scientifiquement établie. Dans le cas particulier qui nous occupe, le mystère apparaît surtout dans cette circonstance que, le virus étant un parasite microscopique, les variations dans sa virulence sont à la merci de l'observateur. C'est ce que je dois établir avec rigueur.

» Prenons pour point de départ le virus du choléra dans un état très virulent, le plus virulent possible, si l'on peut ainsi dire. Antérieurement, j'ai fait connaître un curieux moyen de l'obtenir avec cette propriété. Il consiste à aller recueillir le virus dans une poule qui vient de mourir, non de la maladie aiguë, mais de la maladie chronique. J'ai fait observer que le choléra se présente quelquefois sous cette dernière forme. Les cas en sont rares, quoiqu'il ne soit pas très difficile d'en rencontrer des exemples. Dans ces conditions, la poule, après avoir été très malade, maigrit de plus en plus et résiste à la mort pendant des semaines et des mois. Lorsqu'elle périt, ce qui a lieu peu de temps après que le parasite, localisé jusque-là dans certains organes, a passé dans le sang et s'y cultive, on observe que, quelle qu'ait été la virulence originelle du virus au moment de l'inoculation, celui qu'on extrait du sang de l'animal qui a mis un si long temps à mourir est d'une virulence considérable, qui tue ordinairement dix fois sur dix, vingt fois sur vingt.

» Cela posé, faisons des cultures successives de ce virus, à l'état de pureté, dans du bouillon de muscles de poule, en prenant chaque fois la semence d'une culture dans la culture précédente, et essayons la virulence de ces cultures diverses. L'observation démontre que cette virulence ne change pas d'une manière sensible. En d'autres termes, si nous convenons que deux virulences sont identiques lorsque, en opérant dans les mêmes conditions sur un même nombre d'animaux de même espèce, la proportion de la mortalité est la même dans le même temps, nous constaterons que pour nos cultures successives la virulence est la même (1).

(1) L'égalité dans la virulence, étant ainsi définie, ne doit pas être considérée comme une donnée absolue, parce qu'elle se trouve fonction du nombre des animaux inoculés. Que la mortalité soit la même dans deux séries de dix animaux, notre convention nous invite à dire que la virulence est la même pour les deux virus inoculés; une différence aurait pu s'accuser si l'on eût opéré, non sur deux séries de dix animaux, mais sur deux séries de cent. Que deux virus, inoculés chacun séparément à cent poules, fournissent des mortalités de soixante sujets dans un cas et de cent dans l'autre : l'épreuve, reprise sur dix, et dix

» Dans ce que je viens de dire, j'ai passé sous silence la durée de l'intervalle d'une culture à la culture voisine, ou, si l'on veut, la durée de l'intervalle d'un ensemencement à l'ensemencement suivant, et son influence possible sur les virulences successives. Portons notre attention sur ce point, quelque minime que paraisse son importance. Pour un intervalle d'un à huit jours, les virulences successives n'ont pas changé. Pour un intervalle de quinze jours, même résultat. Pour un intervalle d'un mois, de six semaines, de deux mois, on n'observe pas davantage de changement dans les virulences. Toutefois, à mesure que l'intervalle grandit, on croit saisir parfois, à certains signes de peu de valeur apparente, comme un affaiblissement du virus inoculé. Par exemple, la rapidité de la mort, sinon la proportion dans la mortalité, subit des retards. Dans les diverses séries inoculées, on voit des poules qui languissent, très malades, souvent très boîteuses, parce que le parasite, dans sa propagation à travers les muscles, a atteint ceux de la cuisse ; les péricardites traînent en longueur ; des abcès apparaissent autour des yeux ; enfin le virus a perdu, pour ainsi dire, de son caractère foudroyant. Allons donc encore au delà des intervalles précités, avant la reprise et le renouvellement des cultures. Portons leurs durées à trois, à quatre, à cinq, à huit mois et plus, avant d'étudier la virulence des développements du nouvel être microscopique. Cette fois, la scène change du tout au tout. Les différences dans les virulences successives, qui jusque-là ne s'accusaient pas ou qui s'accusaient d'une manière douteuse, vont se traduire maintenant par des effets considérables.

» Avec de tels intervalles dans les ensemencements, il arrive que, à la reprise des cultures, au lieu de virulences identiques, c'est-à-dire de mortalité de dix poules sur dix poules inoculées, on tombe sur des mortalités descendantes de neuf, huit, sept, six, cinq, quatre, trois, deux, une sur dix, et quelquefois même la mortalité est absente, c'est-à-dire que la maladie se manifeste sur tous les sujets inoculés et que tous guérissent. En d'autres termes, dans un simple changement du mode de culture du parasite, dans le seul fait d'éloigner les époques des ensemencements, nous avons une

poules seulement, pourra conduire, même dans plusieurs expériences successives, à l'égalité des virulences, si l'on s'en tient à notre convention sur la manière d'évaluer cette égalité. Or, nous voyons qu'en réalité elles différeraient dans les rapports de 60 à 100.

Toutefois, il faut adopter une convention, parce que, dans ce genre d'études, on est forcément limité par la convenance de ne pas pousser trop loin le nombre des victimes et de ne pas exagérer outre mesure la dépense toujours très grande de ces expériences.

méthode pour obtenir des virulences progressivement décroissantes, et finalement un vrai virus vaccinal, qui ne tue pas, donne la maladie bénigne et préserve de la maladie mortelle.

» Il ne faudrait pas croire que pour toutes ces atténuations les choses se passent avec une fixité et une régularité mathématiques. Telle culture qui attend depuis cinq ou six mois son renouvellement peut montrer une virulence toujours considérable, tandis que d'autres de même origine seront déjà très atténuées après trois ou quatre mois d'attente. Nous aurons bientôt l'explication de ces anomalies, qui ne sont qu'apparentes. Souvent même il y a comme un saut brusque d'une virulence encore fort grande à la mort du parasite microscopique et pour un intervalle de peu de durée : en passant d'une culture à la suivante, on est surpris par l'impossibilité de tout développement ; le parasite est mort. La mort du parasite est d'ailleurs une circonstance habituelle et constante toutes les fois qu'avant la reprise des cultures on laisse s'écouler un temps suffisant.

» Et maintenant, l'Académie connaît le véritable motif du silence dans lequel je me suis renfermé et pourquoi j'ai réclamé la liberté d'un délai avant de l'informer de ma méthode d'atténuation. Le temps était un élément de ma recherche.

» Au cours des phénomènes, que devient donc l'organisme microscopique ? Change-t-il de forme, d'aspect, en changeant de virulence d'une manière aussi profonde ? Je n'oserais pas affirmer qu'il n'existe pas certaines correspondances morphologiques entre le parasite et les virulences diverses qu'il accuse, mais je dois avouer qu'il m'a été jusqu'ici impossible de les saisir et que, si elles se montrent réellement, elles disparaissent, pour l'œil armé du microscope, devant la petitesse si grande du virus. Les cultures sont pareilles pour toutes les virulences. Si l'on croit parfois apercevoir de faibles changements, ils semblent bientôt n'être qu'accidentels, car ils s'effacent ou se produisent en sens inverse dans des cultures nouvelles.

» Ce qui est digne de remarque, c'est que, si l'on prend chaque variété de virulence comme point de départ de nouvelles cultures successives faites à intervalles rapprochés, la variété de virulence se conserve avec son intensité propre. S'agit-il, par exemple, d'un virus atténué qui ne tue plus qu'une fois sur dix, il garde cette virulence dans ses cultures si les intervalles desensemencements ne sont pas exagérés. Chose également intéressante, quoiqu'elle soit dans le sens général des observations précédentes,

un intervalle d'ensemencement qui suffit pour faire périr un virus atténué respecte un virus plus virulent qui peut bien en être atténué de nouveau, mais qui n'en meurt pas nécessairement.

» Au point où nous sommes arrivés, une importante question se présente, celle de la cause de la diminution de la virulence.

» Les cultures du parasite se font nécessairement au contact de l'air, parce que notre virus est un être aérobic et qu'à l'abri de l'air son développement n'est pas possible. Il est donc naturel de se demander tout d'abord si ce ne serait pas dans le contact de l'oxygène de l'air que réside l'influence affaiblissante de la propriété de virulence. Ne se pourrait-il pas que le petit organisme qui constitue le virus, restant abandonné en présence de l'oxygène de l'air pur, dans le milieu de culture où il vient de se multiplier, subisse quelques modifications qui se montreraient permanentes quand on soustrairait l'organisme à l'influence modificatrice. On peut, il est vrai, se demander en outre si quelque principe de l'air atmosphérique, autre que l'oxygène, principe chimique ou fluide, n'interviendrait pas dans l'accomplissement du phénomène, dont l'incomparable étrangeté autorise toutes les suppositions.

» Il est aisé de comprendre que la solution de ce problème, au cas où elle relèverait de notre première hypothèse, celle d'une influence de l'oxygène de l'air, est assez facilement accessible à l'expérience : si l'oxygène de l'air, en effet, est l'agent modificateur de la virulence, nous pourrions vraisemblablement en avoir la preuve par les effets de la suppression de sa présence.

» A cette fin, pratiquons nos cultures de la manière suivante. Une quantité convenable de bouillon de poule étantensemencée par notre virus très virulent, remplissons-en des tubes de verre aux deux tiers, aux trois quarts, etc., de leur volume; puis fermons ces tubes à la lampe d'émailleur. A la faveur de la petite quantité d'air restée dans le tube, le développement du virus va commencer, circonstance qui se traduit pour l'œil par un trouble croissant du liquide; le progrès de la culture fait peu à peu disparaître tout l'oxygène contenu dans le tube. Alors le trouble tombe, le virus se dépose sur les parois et le liquide de culture s'éclaircit. Il faut deux ou trois jours pour que cet effet se produise. Le petit organisme est désormais à l'abri du contact de l'oxygène et il restera dans cet état aussi longtemps que le tube ne sera pas ouvert (1). Que va-t-il advenir cette fois de sa viru-

(1) Avec le temps l'aspect des tubes fermés change beaucoup, en ce sens qu'après leur

lence ? Pour plus de sûreté dans notre étude, nous aurons préparé un grand nombre de tubes pareils, et simultanément un nombre égal de flacons de la même culture, mais librement exposés au contact de l'air pur. Nous avons dit ce qu'il advient de ces cultures exposées au contact de l'air; nous savons qu'elles éprouvent une atténuation progressive de leur virulence : nous n'y reviendrons pas. Parlons seulement des cultures en tubes fermés, à l'abri de l'air. Ouvrons-les, l'un, après un intervalle d'un mois, et après avoir fait une culture par ensemencement d'une portion de son contenu essayons-en la virulence, l'autre après un intervalle de deux mois, et ainsi de suite pour un troisième, un quatrième, etc., tube, après des intervalles de trois, de quatre, de cinq, de six, de sept, de huit, de neuf, de dix mois. C'est là que je me suis arrêté pour le moment. Il est remarquable, l'expérience le prouve, que les virulences sont toujours semblables à celle du début, à celle du virus qui a servi à préparer les tubes fermés. Quant aux cultures exposées à l'air, on les trouve mortes ou en possession des plus faibles virulences.

» La question qui nous occupe est donc résolue : c'est l'oxygène de l'air qui affaiblit et éteint la virulence (1).

» Vraisemblablement, il y a ici plus qu'un fait isolé : nous devons être en possession d'un principe. On doit espérer qu'une action inhérente à

agitation ils deviennent presque limpides. Les granulations dans lesquelles se résolvent les premiers articles du développement initial prennent une réfringence pareille à celle de l'eau et ne troublent le liquide que d'une manière insensible. Sont-ce de véritables germes qu'on puisse comparer, par exemple, aux corpuscules germes de la bactériidie charbonneuse? Je ne le crois pas. Il n'est pas probable que notre parasite donne lieu à de véritables germes. S'il était suivi de germes, on comprendrait difficilement que, soit au contact de l'air, soit en tubes fermés, il perdît à la longue toute vitalité, toute faculté de reproduction. En outre, lorsqu'il y a germes véritables, ceux-ci supportent une température plus élevée que l'organisme en voie de développement, sous sa forme d'articles. Rien de pareil n'a lieu pour le microbe du choléra des poules. Les vieilles cultures conservées au contact de l'air (je n'ai pas éprouvé encore les autres) périssent même à des températures inférieures à celles qui atteignent les cultures récentes. C'est un caractère habituel du groupe des microcoques.

(1) Puisque, à l'abri de l'air, l'atténuation n'a pas lieu, on conçoit que, si dans une culture au libre contact de l'air (pur) il se fait un dépôt du parasite en quelque épaisseur, les couches profondes soient à l'abri de l'air, tandis que les superficielles se trouvent dans de tout autres conditions. Cette seule circonstance, jointe à l'intensité de la virulence, quelle que soit, pour ainsi dire, la quantité du virus employé, permet de comprendre que l'atténuation d'un vase ne doit pas nécessairement varier proportionnellement au temps d'exposition à l'air.

l'oxygène atmosphérique, force naturelle partout présente, se montrera efficace sur les autres virus. C'est, dans tous les cas, une circonstance digne d'intérêt que la grande généralité possible de cette méthode d'atténuation de la virulence, qui emprunte sa vertu à une influence d'ordre cosmique, en quelque sorte (1). Ne peut-on pas présumer dès aujourd'hui que c'est à cette influence qu'il faut attribuer, dans le présent comme dans le passé, la limitation des grandes épidémies?

» Les faits que je viens d'avoir l'honneur de communiquer à l'Académie suggèrent des inductions nombreuses, prochaines ou éloignées. Sur les unes et les autres, je suis tenu à une grande réserve. Je ne me croirai autorisé à les présenter au public que si je parviens à les faire passer à l'état de vérités démontrées. »