

## ARTICLES ORIGINAUX

# Transmission expérimentale de l'encéphalo-myélite enzootique des porcs par inoculation sous-cutanée

par H. JACOTOT, B. VIRAT, A. VALLÉE, J. LEVADITI et J. C. GUILLON

Il est admis que, dans les conditions naturelles, la transmission de la maladie de Teschen se fait par voie digestive ou par voie nasale. Expérimentalement, l'inoculation intracérébrale assure cette transmission dans à peu près 100 pour 100 des cas ; les inoculations dans la chambre antérieure de l'œil et dans le canal rachidien donnent des résultats analogues ; les instillations nasales et l'administration « per os » sont moins régulièrement efficaces ; les injections du virus par d'autres voies et notamment par voie hypodermique ne se montrent qu'exceptionnellement capables de déclencher la maladie. Encore convient-il d'ajouter que les meilleurs de ces procédés ne donnent des résultats constants que chez les porcelets ; ils sont d'autant moins fidèles que les animaux sont moins jeunes et sont généralement inopérants chez les adultes (1).

En incorporant le virus de cette encéphalo-myélite à un excipient gras, nous avons réussi à exalter son pouvoir pathogène par voie hypodermique dans une mesure telle qu'il provoque l'éclosion d'une maladie à tous égards comparable à celle qui fait suite à l'inoculation intracérébrale.

L'observation suivante est parfaitement démonstrative ; elle a été conduite, comme toutes celles que nous rapporterons ici, sur des porcs de race Large-White.

— Des fragments d'encéphales de 3 porcs atteints d'encéphalo-myélite sont broyés mécaniquement ; on incorpore 20 grammes de la pulpe obtenue à 20 grammes de lanoline stérile, puis on dilue dans 135 ml d'huile de vaseline, ajoute 1,5 ml de formol au 1/10 et agite mécaniquement.

La suspension grasse est alors déposée dans une étuve à 37° ; 24 h après, on la transporte dans un réfrigérateur à 6°. On inoculera successivement 2 groupes de jeunes porcs âgés de 7 mois et pesant de 60 à 70 kilos.

1° Après 24 h d'étuvage et 3 jours en glacière, le mélange gras est injecté aux porcs 269-279 et 271, qui en reçoivent chacun sous la peau de la face interne des cuisses 10 ml en 2 injections de 5 ml. Le matin du 9<sup>e</sup> jour des troubles apparaissent chez les 2 premiers ; 269 est en décubitus latéral et 279 est paraplégique ; le soir leurs températures atteignent 41°3 et 41°4 ; on les sacrifie *in extremis* le lendemain ; quant à 279, le matin du 10<sup>e</sup> jour il est chancelant et cesse de manger ; le lendemain la paralysie s'installe et la température est de 41°5 ; l'animal meurt 12 jours 1/2 après l'inoculation.

2° Après 24 h d'étuvage et 11 jours en glacière, le même mélange gras est injecté aux porcs 280 et 281 qui en reçoivent chacun 20 ml sous la peau des cuisses, en 2 injections de 10 ml. Six jours après on enregistre les premiers troubles locomoteurs accompagnés d'une légère hyperthermie ; après 48 h l'état des animaux paraît s'améliorer, mais il y a reprise de l'évolution et ils meurent paralysés, le premier, 15 jours, le deuxième, 12 jours après l'inoculation.

Les examens histologiques de l'encéphale et de la moelle lombaire ont révélé des lésions intenses et bien caractérisées chez tous ces animaux, à l'exception du 280 dont l'infection a évolué plus lentement ; d'une manière générale les images cytologiques traduisent un état fluxionnaire plutôt qu'une action destructrice ; voici deux extraits des observations faites sur les coupes :

\* Reçu pour publication : Décembre 1960.  
Rev. Elev. Méd. vét. Pays trop. 1961, 14, n° 1.

**Porc 269**, méningo-encéphalo-myélite aiguë intéressant surtout les cellules avec d'énormes manchons périvasculaires histio-lymphocytaires disséminés ; en outre, dans la moelle, involution de neurones moteurs (Fig. 1).

de la même proportion de formol. D'autre part, on prépare une suspension aqueuse au 1/8 de la même pulpe, non additionnée de formol.

1° Immédiatement après ces manipulations on inocule 2 porcelets de 3 mois : l'un n° 307

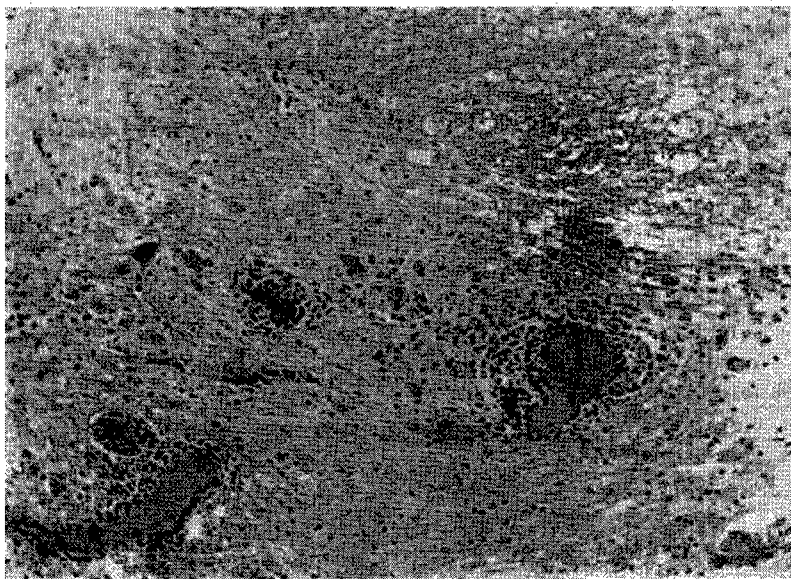


Fig. 1. — Lésions de poliomyélite dans la moelle épinière du porc 269. Ex. Z 1418. Lésions exclusivement dans la substance grise de la moelle épinière. Volumineux infiltrats périvasculaires, figures de neurophagie, gliose diffuse. Coloration H. E. S. Oc. 6, Ob. 12, Gdl 135. Ecran W atten 15. (Préparation de Mme NAZIMOFF, Photomicrographie de M. J. GRZELAK).

**Porc 271**, méningo-encéphalo-myélite aiguë et chronique de même intensité ; les plages d'œdème et les îlots de rassemblement avec involution de toutes les cellules de la corne d'Ammon, les destructions vasculaires, la fibrose et la disparition progressive des neurones témoignent d'un certain état de chronicité.

Les constatations faites au cours de cette expérience se trouvent confirmées par l'observation suivante, et même étendues en ce sens qu'en appliquant la même technique on a vu la maladie de Teschen évoluer chez des porcs adultes, sujets notoirement résistants à l'infection et souvent réfractaires même à l'inoculation intracérébrale du virus :

Des fragments d'encéphales de 2 porcs atteints d'encéphalo-myélite sont broyés ; une partie de la pulpe obtenue est incorporée à l'excipient lanoline-huile de vaseline selon la technique exposée précédemment, avec addition au mélange

reçoit par voie intra-cérébrale, en 2 points, 0,50 ml de virus en suspension aqueuse ; il présente les premiers symptômes de maladie de Teschen 6 jours après ; on le sacrifie *in extremis* 4 jours plus tard ; l'autre n° 308 reçoit sous la peau de la face interne des cuisses 10 ml au total de virus en excipient gras formolé ; il présente les premiers troubles 8 jours après ; on le sacrifie *in extremis* le lendemain.

2° La suspension grasse a été déposée dans l'étuve à 37°. Après 18 h d'étuvage on l'injecte à 3 animaux, toujours sous la peau des cuisses ; le porcelet 309 âgé de 3 mois reçoit 10 ml ; il présente les premières manifestations le 7<sup>e</sup> jour et meurt le 10<sup>e</sup> jour. Le jeune porc 291 de 5 mois reçoit 15 ml ; il présente les premiers troubles le 6<sup>e</sup> jour et meurt le 9<sup>e</sup> jour. Enfin, un porc n° 283 de 1 an reçoit 20 ml ; il manifeste les premiers troubles thermiques et locomoteurs le 10<sup>e</sup> jour et meurt le 17<sup>e</sup> jour.

TABLEAU 1 - Liste récapitulative des essais.

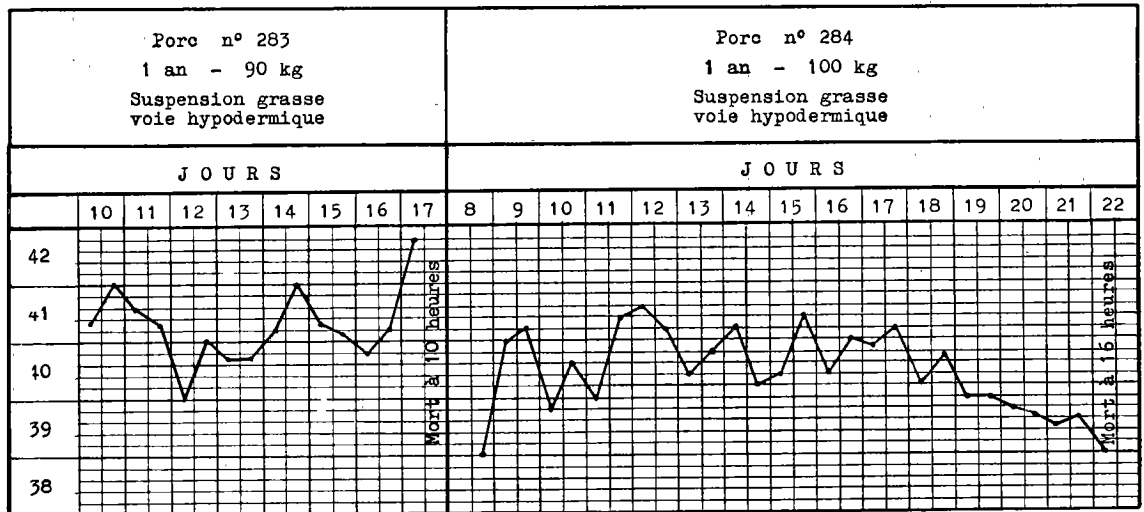
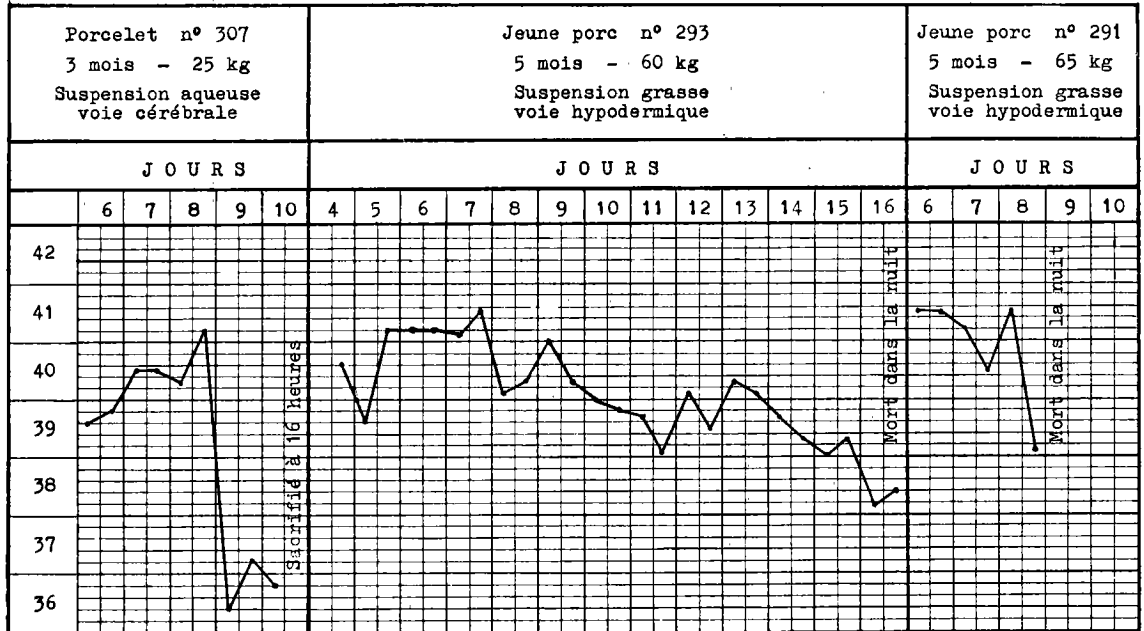
| Matériel inoculé   | Age des porcs  | Dose             | Voie                   | N° des porcs           | Nombre de jours |                           | Histologie |   |
|--|--|------------------|------------------------|------------------------|-----------------|---------------------------|------------|---|
|  |  |                  |                        |                        | d'incubation    | entre inoculation et mort |            |   |
| I<br>Mélange gras après 24h à 37° et 3 jours à 6°<br><br>Même mélange après 24h à 37° et 11 jours à 6°   | 7 mois   | 10ml             | sous-cutanée           | 269                    | 9               | 10                        | +++        |   |
|  |  | "                | " "                    | 279                    | 9               | 10                        | +++        |   |
|  |  | "                | " "                    | 271                    | 10              | 12                        | +++        |   |
|  | 7 mois   | 20ml             | sous-cutanée           | 280                    | 6               | 15                        | ±          |   |
|  |  |                  |                        | 281                    | 6               | 12                        | ++         |   |
| II<br>Suspension aqueuse d'encéphale<br><br>Mélange gras extemporané<br><br>Même mélange après 18h à 37°<br><br>Même mélange après 24h à 37° et 3 jours à 6° | 3 mois   | 0,5ml            | intra-cranien          | 307                    | 6               | 10                        | +++        |   |
|  |  | 10ml             | sous-cutanée           | 308                    | 8               | 9                         | +++        |   |
|  | 3 mois<br>5 mois<br>1 an   | 10ml             | sous-cutanée           | 309                    | 7               | 10                        | +++        |   |
|  |  | 15ml             | " "                    | 291                    | 6               | 9                         | +++        |   |
|  |  | 20ml             | " "                    | 283                    | 10              | 18                        |            |   |
|  | 3 mois<br>5 mois<br>1 an   | 10ml             | sous-cutanée           | 310                    | 6               | 10                        |            |   |
|  |  | 15ml             | " "                    | 293                    | 4               | 17                        |            |   |
|  |  | 20ml             | " "                    | 284                    | 8               | 21                        | ±          |   |
|  | III<br>Suspension aqueuse d'encéphale<br><br>Même suspension additionnée de formol<br><br>Mélange gras formolé, après 14 jours à 6°<br><br>Même mélange gras non formolé | 3 mois           | 10 <sup>-3</sup>       | 0,5ml<br>intra-cranien | 349             | 8                         | 12         | + |
|  |  |                  | 10 <sup>-4</sup>       |                        | 361             | 8                         | 14         |   |
| 10 <sup>-5</sup>   |  |                  | 359                    |                        | 8               |                           |            |   |
| 3 mois   |  | 10ml             | sous-cutanée           | 357                    | 0               | 0                         | douteux    |   |
|  |  |                  |                        | 360                    | 0               | 0                         | 0          |   |
|  |  |                  |                        | 328                    | 0               | 0                         | 0          |   |
| 3 mois   |  | 10ml             | sous-cutanée           | 367                    | 8               | 10                        | +++        |   |
|  |  |                  |                        | 347                    | 10              | 15                        | +++        |   |
|  |  |                  |                        | 352                    | 10              | 14                        | ++         |   |
| 3 mois   |  | 10ml             | sous-cutanée           | 368                    | 8               | 13                        | +++        |   |
|  |  |                  |                        | 346                    | 8               | 10                        | +++        |   |
|  |  |                  |                        | 356                    | 8               | 10                        | +++        |   |
| IV<br>Suspension aqueuse d'encéphale<br><br>Mélange gras formolé, après 4h à 37°   | 3 mois   | 10 <sup>-3</sup> | 0,5ml<br>intra-cranien | 314                    | 9               | 10                        | +++        |   |
|  |  | 10 <sup>-3</sup> |                        | 315                    | 10              | 15                        | +++        |   |
|  |  | 10 <sup>-4</sup> |                        | 318                    | 10              | 13                        | +++        |   |
|  |  | 10 <sup>-4</sup> |                        | 319                    | 10              | 11                        | +++        |   |
|  |  | 10 <sup>-5</sup> |                        | 325                    | 18              | 23                        | +++        |   |
|  |  | 10 <sup>-5</sup> |                        | 324                    | 23              |                           |            |   |
|  |  | 3 mois           |                        | 8ml                    | sous-cutanée    | 312                       | 8          | 9 |
|  | 4ml  |                  | " "                    | 317                    | 15              | 15                        | +          |   |
|  | 2ml  |                  | " "                    | 329                    | 23              | 25                        | +++        |   |

3° Après un séjour de 24 h à l'étuve le mélange gras a été mis au réfrigérateur à 6°. Trois jours après on le reprend pour inoculer une série de 3 porcs composée comme la précédente et selon la même posologie. Le porcelet 310, le jeune porc

293 et le porc adulte 284 présentent les premiers troubles 6 jours, 4 jours et 8 jours après respectivement ; ils meurent 10 jours, 17 jours et 21 jours après l'inoculation.

On a effectué les examens histopathologiques

TABLEAU II - Courbes thermiques de sujets de l'expérience II.



de l'encéphale et de la moelle lombaire de 5 de ces animaux ; les prélèvements des porcelets 307 (témoin : inoculation intra-cérébrale de virus), 308, 309 et 291 (injection hypodermique du

mélange gras extemporanément et après étuvage de 18 h) offraient les mêmes images d'encéphalo-myélite, et également accusées ; l'observation concernant le porc adulte mort 21 jours

après l'inoculation se résumait ainsi : congestion intense de la substance grise de la moelle épinière et de tout l'encéphale, avec parfois formation de micro-hémorragies ; la réaction gliale et les processus dégénératifs sont très discrets.

De toutes ces constatations expérimentales il découle que même après un temps de contact assez long : 24 h à la température de 37°, et plusieurs jours à celle de 6° (3 jours et 11 jours), la propriété que possède le virus, en excipient gras, de déterminer la maladie n'est pas effectuée par la présence de formol à la concentration indiquée. Nous nous sommes posé la question de savoir si cette présence conditionnait l'exaltation du pouvoir pathogène ; la réponse est apportée par l'expérience suivante :

Des fragments d'encéphales de 2 porcs atteints d'encéphalo-myélite sont soumis au broyage. Le titrage de la pulpe nerveuse est effectué immédiatement ; 3 porcelets n° 349-361 et 359 reçoivent par inoculations intra-cérébrales 0,5 ml des dilutions  $10^{-3}$   $10^{-4}$   $10^{-5}$  respectivement. Les 2 premiers commencent à présenter des troubles 8 jours après et meurent respectivement 12 et 14 jours après l'inoculation ; le 3<sup>e</sup> présente des signes discrets et fugaces, sans plus.

D'autre part, une partie de la suspension aqueuse au 1/8 qui a servi à la préparation des dilutions pour titrage est additionnée de formol dans la proportion de 4 pour 1.000 et on l'injecte sans tarder à 3 porcelets, chacun en recevant 10 ml en 2 points sous la peau de la face interne des cuisses. Aucun d'eux ne présentera le moindre trouble.

Enfin, la pulpe cérébrale elle-même est incorporée à l'excipient lanoline + huile de vaseline, mais du mélange gras on fait 2 parts, l'une à laquelle on ajoute du formol comme dans les essais antérieurs, l'autre qui ne contiendra pas de formol. Ces 2 préparations sont maintenues pendant 4 h à la température du laboratoire, puis déposées au réfrigérateur à 6°. Deux semaines plus tard on procède aux inoculations après avoir laissé les mélanges se fluidifier à la température ordinaire.

1° 3 porcelets n° 367-347 et 352 reçoivent à la dose de 10 ml sous la peau des cuisses le virus en excipient gras formolé ; ils commencent à présenter des troubles 8, 10 et 10 jours après respectivement ; la mort se produit 10 et 14 jours

après l'inoculation chez 367 et 352 ; on sacrifie 347 *in extremis* 14 jours après l'inoculation.

2° 3 porcelets n° 368-346 et 356 reçoivent de la même façon 10 ml du virus en excipient gras non formolé ; ils présentent les premiers symptômes 8 jours après tous les 3 ; les 2 derniers sont sacrifiés *in extremis* 2 jours plus tard, le premier meurt 13 jours après l'inoculation.

Les examens histo-pathologiques de l'encéphale et de la moelle lombaire ont montré de très belles lésions d'encéphalo-myélite chez tous ces animaux, moins importantes cependant chez 352.

De ces constatations il est permis de conclure que la présence du formol n'est ni suffisante, ni nécessaire pour conférer au virus l'aptitude à provoquer la maladie après inoculation sous-cutanée. Mais nous inclinons à penser qu'elle favorise le phénomène parce que dans d'autres essais comparatifs nous avons vu les sujets inoculés avec le mélange gras formolé succomber, tandis que les autres résistaient ou restaient indifférents.

Les mélanges gras de pulpe cérébrale employés dans ces diverses expériences contenaient, approximativement, en ml, mille unités létales par voie intra-cérébrale ; chaque sujet recevait donc sous la peau 10.000 doses environ ; on ne saurait douter, si l'on tient compte de la faible résorbabilité du mélange et de la brièveté de la période d'incubation dans la plupart des cas, qu'une petite partie seulement de ce virus entre en jeu pour déclencher le processus pathologique, celle, sans doute, qui, autour du point d'inoculation, se trouve au contact direct des tissus dans les heures qui suivent l'injection ; l'expérience suivante apporte quelques éclaircissements sur ce point :

Le broyat de 2 encéphales de porcs atteints d'encéphalo-myélite est d'abord titré par inoculation à des porcelets : les dilutions  $10^{-3}$   $10^{-4}$  et  $10^{-5}$  sont injectées à 2 animaux chacune, par voie cérébrale, sous le volume de 0,25 ml de chaque côté du crâne ; les 2 porcelets qui ont reçu la dilution  $10^{-3}$  (n° 314 et 315) présentent les premiers signes 9 et 10 jours après l'inoculation ; ceux qui ont reçu la dilution  $10^{-4}$  (n° 318 et 319) manifestent les premiers troubles 10 jours après ; on les sacrifie *in extremis* 11 et 13 jours après l'inoculation ; enfin des deux qui ont reçu



la dilution  $10^{-5}$  (n° 325 et 324), l'un présente les premiers troubles 18 jours et meurt 23 jours après l'inoculation, l'autre présente des troubles locomoteurs discrets et guérit.

Le même broyat est employé à préparer une suspension grasse formolée selon la formule indiquée plus haut et ce mélange gras est immédiatement injecté par voie hypodermique à 3 porcelets aux doses respectives de 8 ml, 4 ml et 2 ml, réparties en 2 points ; le premier (n° 312) est trouvé en décubitus latéral 8 jours après et meurt le lendemain ; le deuxième (n° 317) meurt subitement dans le délai de 15 jours ; le troisième (n° 329) est trouvé en décubitus latéral le 23<sup>e</sup> jour ; on le sacrifie *in extremis* le 25<sup>e</sup> jour.

Les résultats des examens histo-pathologiques ont été tout à fait comparables chez ces divers sujets : encéphalo-myélite avec réaction encéphalitique intense ; une exception doit être faite pour le porc 317, mort subitement, chez lequel la lésion dominante consistait en infiltrats péri-vasculaires, la réaction encéphalitique restant dans l'ensemble très discrète.

Il se pourrait donc qu'il y ait une certaine corrélation entre la dose inoculée et la durée d'évolution, après inoculation hypodermique, comme après inoculation intracérébrale. Quoi qu'il en soit, en raison même de la faible proportion de virus qui intervient dans le processus, il est nécessaire que le mélange gras contienne un certain nombre d'unités virulentes ; dans des essais comportant l'emploi de substance cérébrale d'un titre inférieur à  $10^{-2}$  nous n'avons pas observé l'évolution si nettement caractérisée et souvent brutale de la maladie. Chez certains sujets aucune manifestation n'était décelable ; chez d'autres on enregistrait des troubles seulement ébauchés : modifications de l'habitus, hyperthermie légère, parésie.

Nous avons réussi, mais dans quelques cas seulement, à provoquer la maladie en injectant, sous la peau, de la pulpe virulente mise en suspension dans l'excipient huileux mayoline + arlacel, additionné de formol. Il est possible que dans ce mélange très fluide le formol exerce son action virulicide plus rapidement que dans l'excipient à base de lanoline. L'expérience suivante, la première en date dans nos essais, était instructive.

Le 22.10.57, 3 jeunes porcs de 7 mois n° 43-

45 et 46 reçoivent respectivement sous la peau des cuisses 3 ml au total, 6 ml et 9 ml du matériel virulent incorporé à l'excipient huileux formolé préparé 11 jours avant et qui a été conservé à 6° après avoir subi un étuvage de 24 h. Le n° 45 commence à présenter des troubles le 11<sup>e</sup> jour et meurt le 12<sup>e</sup> ; le n° 43 présente des troubles de l'équilibre avec chute le 12<sup>e</sup> jour ; on lui fait une injection de cortisone et son état s'améliore ; 3 semaines après, il fait une poussée fébrile de 3 jours, puis se rétablit. Quant au n° 46, il est trouvé en décubitus latéral 95 jours après l'injection ; il présente une violente congestion du tégument d'apparence érythémateuse et une dyspnée très accusée ; celle-ci allant croissant, on le sacrifie le 100<sup>e</sup> jour ; sa température s'est élevée jusqu'à 41°9.

Voici d'abord le résultat des examens histopathologiques concernant le n° 45 mort le 12<sup>e</sup> jour : à trois niveaux espacés de la moelle, lésions de poliomyélite débordant les cornes antérieures et postérieures avec neuronophagie et satellitose ; manchons péri-vasculaires dans la substance blanche ; un petit ramollissement hémorragique dans la substance grise. Et voici les résultats concernant le n° 46 sacrifié le 100<sup>e</sup> jour : méningo-encéphalo-myélite extrêmement intense et diffuse, intéressant tous les étages du névraxe avec une égale intensité et tous les petits vaisseaux qui sont entourés de cellules inflammatoires où prédominent les polynucléaires et les monocytes ; des neurones sont altérés, mais moins dans la corne d'Ammon, le cervelet et le bulbe que dans la moelle où l'aspect de poliomyélite est typique. Ce qui frappe, ce sont les lésions anciennes des méninges et surtout des plexus choroïdes des ventricules ; ceux-ci sont fibrino-inflammatoires ; la sclérose rémanée y est intimement liée à des plages infectieuses qui altèrent les cellules choroïdes et les vaisseaux.

Chez ce dernier animal, nous avons pensé à un réveil de la poliomyélite par une infection grippale, mais les examens pratiqués n'ont pas permis d'établir le bien-fondé de cette hypothèse ; il s'agissait d'une encéphalo-myélite à incubation exceptionnellement longue.

D'une manière générale, nous le rappelons ici, dans le processus pathologique faisant suite à l'injection de virus en excipient gras, la symptomatologie est tout à fait classique avec incubation

souvent courte, prodromes assez brefs, phénomènes d'excitation et paralysies diversement associés, traduisant l'atteinte des méninges et des centres nerveux aux différents étages. La maladie évolue sous forme aiguë ou subaiguë le plus souvent ; les cas de mort foudroyante ne sont pas rares ; au contraire, le passage à la chronicité ne s'observe guère. La température s'élève fréquemment jusqu'à 41°, 41°5 et l'on a pu noter 42°8 chez le porc 283 âgé de 1 an ; l'hypothermie finale est presque de règle en dehors des évolutions très rapides.

### ESSAI D'INTERPRÉTATION DES FAITS

Ainsi le virus de Teschen, incorporé à un adjuvant gras et injecté dans le tissu conjonctif sous-cutané du porc, est susceptible de provoquer, dans les délais habituels, des manifestations pathologiques caractérisées : l'encéphalo-myélite ne diffère alors, ni dans son processus, ni dans sa gravité, de la maladie déterminée par l'inoculation intra-cérébrale du virus en suspension aqueuse ; on a même parfois le sentiment que l'évolution est plus brutale après l'injection sous-cutanée du virus en excipient gras. Quant aux altérations histo-pathologiques, elles sont, dans leur diversité, tout à fait classiques et le plus souvent bien caractérisées. Il est particulièrement remarquable que, par ce procédé, l'on puisse tuer le porc adulte dont la résistance à la contamination et à l'inoculation sont bien établies : il faut ajouter enfin que la présence dans le mélange gras d'une quantité de formol représentant environ 7 pour 1.000 de la substance nerveuse employée ne contrarie pas l'action du virus. Or, nous le rappelons, injecté en suspension aqueuse par voie hypodermique, le virus de Teschen ne se montre qu'exceptionnellement capable de déclencher la maladie.

Les constatations faites au cours de nos expériences sont donc en contradiction avec les faits habituellement observés ; incorporé à un excipient gras le virus de la poliomyélite infectieuse du porc voit son pouvoir létal s'exalter au sein du tissu conjonctif, il diffuse dans l'organisme et atteint les divers segments des centres nerveux ; cela dans des délais n'excédant pas ceux que comporte l'infection par voie cérébrale et qui

peuvent même leur être inférieurs dans les essais comparatifs. Il s'agit bien là d'un phénomène d'exaltation du pouvoir pathogène par action d'un adjuvant ; comment l'expliquer ?

L'encéphalo-myélite enzootique des porcs a fait l'objet d'études expérimentales sans doute nombreuses et importantes, mais encore relativement limitées ; cela tient à ce que, sous sa forme évolutive, sous la forme clinique, la maladie ne sévit qu'en un petit nombre de pays ; cela tient aussi à ce que, le porc étant le seul animal réceptif au virus, les recherches n'ont pu prendre en cette matière l'ampleur que permettrait son inoculation aux petites espèces de laboratoire. Aussi bien ne trouve-t-on pas dans la littérature spécialisée de documents propres à éclairer la question. En revanche, la pathogénie de la poliomyélite humaine a retenu l'attention de nombreux expérimentateurs et de nombreux cliniciens depuis le début du siècle ; or maladie de Heine-Medin et maladie de Teschen offrent de très grandes ressemblances ; leurs agents respectifs ont assez d'analogies pour que, récemment, PATOCKA, KUBELKA et KORYCH aient cru pouvoir tirer de la comparaison de leurs propriétés biologiques et pathologiques la conclusion qu'ils forment un groupe commun (2) ; il était indiqué de rechercher de ce côté les éclaircissements désirables.

Dans l'exposé qu'il a consacré à la poliomyélite infectieuse épidémique dans *Ultravirus des maladies humaines* (3), C. LEVADITI aborde les problèmes qui nous intéressent ici, discute les arguments en présence et propose les déductions que lui suggère sa parfaite connaissance du sujet. Nous en retiendrons deux notions essentielles pour ce qui nous concerne : premièrement, il est exceptionnel que la dispersion du virus s'effectue lorsqu'il a été introduit dans le système vasculaire périphérique ; d'ailleurs dans les circonstances habituelles, il ne franchit pas la barrière hémato-encéphalique ; deuxièmement, le virus est nettement lymphotrope et tout traumatisme intéressant le système lymphatique (de la gorge, sa voie d'accès dans les conditions naturelles), favorise l'éclosion de la maladie. Et nous compléterons cet emprunt par la transcription des conclusions de l'auteur : « il est fort probable, sinon absolument certain, que la dispersion du virus poliomyélitique se fait le long des connexions nerveuses et cette neuroprobiose

paraît s'effectuer soit par les cylindraxes, soit, plutôt, par le système lymphatique intra- et péri-nerveux ».

En transposant ces considérations nous sommes amenés à penser, qu'à la faveur d'une effraction

tômes 11 jours après l'inoculation (excitation violente puis paralysie) et est mort le lendemain.

— Dans le tissu cellulo-adipeux sous-cutané, un granulome inflammatoire qui n'a pas encore subi l'évolution fibreuse ; les nerfs englobés dans

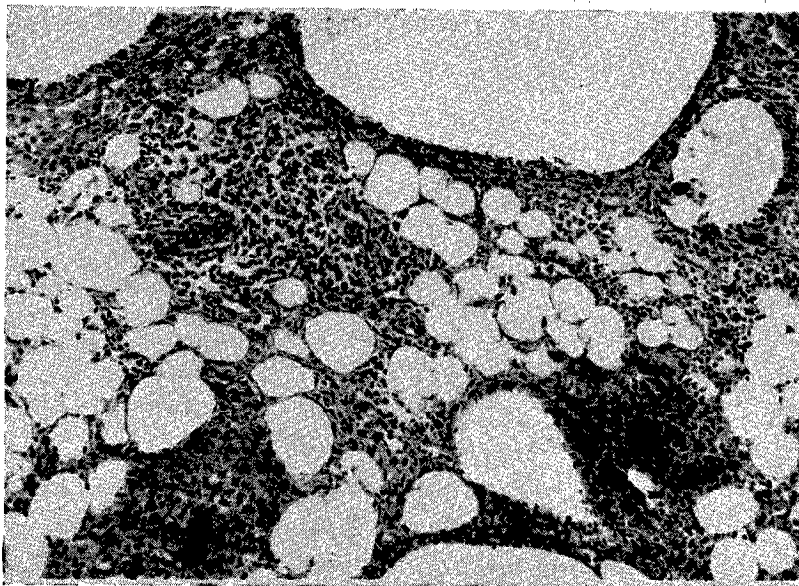


Fig. 2. — Granulome de résorption développé dans l'hypoderme du porc 341. Ex. BA 432. Au point d'injection du mélange lanoline-substance nerveuse virulente le toluène a dissout les graisses. Résorption de la graisse hypodermique et infiltrats péri-vasculaires auprès de grandes vésicules entourées de leucocytes parmi lesquels des polynucléaires éosinophiles qui donnent un caractère spécial à ce granulome. Coloration H. E. S. Ocul. 6, Obj. 12, Cdt 135. Ecran Wratten 15 (Préparation de Mme NAZIMOFF, Photomicrographie de M. J. GRZELAK).

des filets nerveux, le virus pénètre dans le réseau lymphatique qui leur est propre et se propage ensuite par voie centripète vers les centres nerveux. Or on sait que, comme la plupart des substances dites adjuvantes, les excipients gras ou huileux, à base de lanoline ou d'huile de paraffine, suscitent dans le tissu hypodermique une réaction inflammatoire qui entraîne assez habituellement la formation d'un granulome par corps étranger ; et il est à présumer que de tels désordres histologiques ne respectent pas l'intégrité du réseau nerveux. Pour en juger, nous avons examiné les coupes de lambeaux de peau prélevés, avec le tissu cellulaire sous-jacent, aux points d'injection des mélanges gras virulents et les débordant. Voici deux lectures choisies parmi les plus significatives :

**Porcelet 341**, a présenté les premiers symp-

la réaction inflammatoire sont complètement détruits ; à la périphérie du foyer principal, dans les petits troncs vasculo-nerveux aboutissant aux corpuscules tactiles de la région dermique, on observe une dégénérescence des nerfs s'accompagnant d'une réaction inflammatoire discrète (Fig. 2).

**Porcelet 351**, a présenté les premiers symptômes 8 jours après l'inoculation, (troubles nerveux divers avec hyperthermie, puis paralysie), et est mort 3 jours plus tard. — Foyer inflammatoire dans l'hypoderme à un stade assez avancé pour qu'il soit difficile d'y mettre en évidence les lésions nerveuses ; mais au sein du tissu cellulo-adipeux en zone apparemment saine, il existe, à côté d'un faisceau vasculaire, une petite masse tumorale possédant les caractères histologiques d'un névrome.



Les deux porcs dont il est question ici avaient reçu le virus incorporé à de la lanoline; de semblables examens pratiqués après injection sous-cutanée de virus mis en suspension dans la mayoline n'ont pas permis de déceler des lésions nerveuses aussi caractérisées; la réaction cellulaire à la lanoline fluidifiée dans l'huile de paraffine est plus vive que celle qui suit l'injection de cette huile seule; c'est peut-être encore une raison pour que nous ayons provoqué plus facilement la maladie en utilisant la lanoline.

Quoi qu'il en soit, ces constatations sont en faveur de l'hypothèse émise. Néanmoins, nous avons envisagé une autre éventualité, celle du transport du virus par des gouttelettes de graisse ou d'huile. Etudiant la pathogénie de l'encéphalomyélite dite « allergique » provoquée par les extraits de substances cérébrales incorporés à un excipient gras additionné de bacilles tuberculeux tués, CONSTANTINESCO (4) et Coll. ont relevé la présence de vésicules d'huile dans les placards méningés constitués par des cellules épithéloïdes et des lymphocytes; mais il s'agissait d'examens pratiqués 6 semaines au moins après l'injection, délai semble-t-il nécessaire pour que s'effectue la dispersion des lipides. De tels amas

d'huile ont été recherchés mais en vain dans les méninges de nos animaux; compte-tenu de la brièveté de la période d'incubation chez la plupart d'entre eux et de l'aspect même des méninges, nous croyons pouvoir écarter cette explication.

Il resterait à expliquer et à préciser le rôle éventuel du formol dont nous inclinerions à considérer la présence comme un facteur favorisant, tout au moins dans certaines conditions. Très rares sont les références qu'on puisse invoquer sur ce point particulier. Au cours de leurs recherches sur la diphtérie, ROUX et YERSIN avaient constaté l'apparition de paralysie des membres chez des cobayes après inoculation de faibles doses de culture; RAMON et DEBRE obtinrent plus régulièrement le même résultat et dans de courts délais en injectant de la toxine diphtérique additionnée de 4 pour 1.000 de formol et maintenue 4 ou 5 jours à l'étuve à 37°. Il est probable que l'effet irritant *in situ* du formol favorise l'action de la toxine sur les nerfs du cobaye; il se pourrait que par un mécanisme analogue, dans nos expériences, il renforce l'agression que subissent les nerfs de l'hypoderme.

*Institut Pasteur, Paris.*

## RÉSUMÉ

L'inoculation hypodermique du virus de l'encéphalo-myélite enzootique des porcs, d'ordinaire sans effets apparents, est susceptible de provoquer l'éclosion de la maladie lorsque la matière virulente est incorporée à un adjuvant puissant, tel que la lanoline diluée dans de l'huile de paraffine. L'addition de formol au mélange, dans la proportion de 7 pour 1.000 de la substance nerveuse ne contrarie pas le phénomène et semblerait plutôt le favoriser dans les conditions où nous avons expérimenté. Il apparaît d'autre part que le pouvoir pathogène du virus se trouve plus sûrement exalté, à égalité d'unités létales, lorsque la matière cérébrale est incorporée brute, qu'après dilution dans l'eau.

Les manifestations pathologiques consécutives à l'inoculation sous-cutanée du virus en mélange gras sont tout à fait comparables dans leur chronologie, leur expression clinique et histologique, leur gravité, à celles qui suivent l'inoculation du virus dans l'encéphale.

## SUMMARY

### **Experimental Transmission of Enzootic Encephalomyelites of Pigs by Subcutaneous Inoculation.**

Subcutaneous injection of the virus of Teschen Disease is ordinarily without apparent effect, but if infected material is incorporated with an adjuvant such as lanoline diluted in liquid paraffin, it will more than likely set up a clinical infection. The addition of formol to the mixture in the proportion of 7 to 1.000 of the nervous tissue used does not invalidate the phenomenon but under the

conditions of the experiments described rather appears to enhance the result. Further, in terms of infective units, the pathogenic property of the virus, is much greater, if the pure infected nervous tissue is used rather than being diluted with water.

The pathological manifestations which follow subcutaneous injection of this mixture, are exactly comparable to those when the virus is administered intra-cerebrally, in timing, clinical signs, histology, and gravity of syndrome.

## RESUMEN

### Transmisión experimental de la encefalomielitis enzootica de los cerdos por inoculación subcutánea.

La inoculación subcutánea del virus de la encefalomielitis enzootica de los cerdos, de ordinario sin efectos aparentes, es susceptible de provocar la eclosión de la enfermedad cuando el material virulento es incorporado a un coadyuvante potente, tal como la lanolina diluída en aceite de parafina. La adición de formol a la mezcla, en la proporción de 7 ‰ de la sustancia nerviosa no afecta al fenómeno y más bien parece favorecerlo en las condiciones en que nosotros hemos realizado las experiencias. Por otra parte parece que el poder patógeno del virus se encuentra más firmemente exaltado, a igualdad de unidades letales, cuando la materia cerebral es incorporada bruta, que tras su dilución en el agua.

Las manifestaciones patológicas consecutivas a la inoculación subcutánea del virus en solución oleosa son completamente comparables en su cronología, su expresión clínica e histológica, su gravedad, a aquellas que siguen a la inoculación del virus en el encéfalo.

## BIBLIOGRAPHIE

1. PILET (Ed.) et VERGE (J.). — *Bull. Off. intern. Epiz.*, 1951, **35** : 337, et PILET (Ed.). — *Bull. Off. intern. Epiz.*, 1952, **38** : 61.
2. PATOCKA (F.), KUBELKA (V. L.) et KORYCH (B.). — *J. Hyg. Epid. Microb. and Immunol. Prague*, 1959, **3** : 1.
3. LEVADITI (C.) et LÉPINE (P.). — *Les ultravirus des maladies humaines*. 2<sup>e</sup> édition. Maloine édit. Paris 1945, p. 651.
4. CONSTANTINESCO (N.), HORNET (Th.), BIRZU (N.), ZAVATE (O.), PENCEA (I.) et RUSAN (S.). — *Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **96** : 79.