

Recherches sur le choléra / par W. Nicati et M. Rietsch.

Contributors

Nicati, William.
Rietsch, Maximilien.
Royal College of Surgeons of England

Publication/Creation

Paris : Félix Alcan, 1886.

Persistent URL

<https://wellcomecollection.org/works/rxrfckrd>

Provider

Royal College of Surgeons

License and attribution

This material has been provided by This material has been provided by The Royal College of Surgeons of England. The original may be consulted at The Royal College of Surgeons of England. where the originals may be consulted. This work has been identified as being free of known restrictions under copyright law, including all related and neighbouring rights and is being made available under the Creative Commons, Public Domain Mark.

You can copy, modify, distribute and perform the work, even for commercial purposes, without asking permission.



Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
<https://wellcomecollection.org>

219
41

RECHERCHES
SUR
LE CHOLÉRA



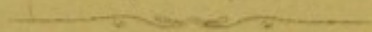
RECHERCHES

sur

LE CHOLÉRA

MARSEILLE. — TYPOGRAPHIE ET LITHOGRAPHIE BARLATIER-FEISSAT.

W. NICATI ET M. RIETSCH



PARIS

ACHILLE BARLATIER, LITHOGRAPHE, RUE DE LA HARPE, 108

FRANÇOIS ALBAN, LITHOGRAPHE

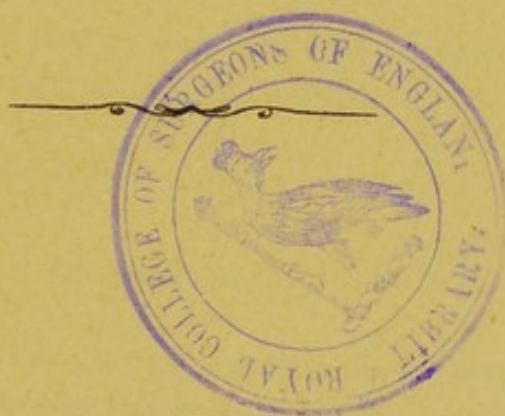
108, Boulevard Saint-Germain, 108

1880

RECHERCHES
SUR
LE CHOLÉRA

PAR

W. NICATI ET M. RIETSCH



PARIS

ANCIENNE LIBRAIRIE GERMER BAILLIÈRE ET C^e

FÉLIX ALCAN, ÉDITEUR

108, Boulevard Saint-Germain, 108

—
1886

SOMMAIRE

Pages

AVANT-PROPOS

CHAPITRE I

CARACTÈRES DU BACILLE-VIRGULE CHOLÉRIQUE

A. Procédés de culture

B. Cultures pures et caractères des colonies

Préparation des milieux de culture liquides

solides

Procédés pour obtenir des cultures pures

C. Caractères des colonies

Cultures en tubes

E. Caractères morphologiques

Altopores de Hucp

F. Bacilles ressemblant plus ou moins au bacille-virgule

Bacilles de la fermentation des dents, etc

Bacilles de Hirsch

Bacilles de Krich et Prou

CHAPITRE II

PRESSENCE ET DISTRIBUTION DU BACILLE-VIRGULE DANS L'INTESTIN

ET DANS LES ORGANES DES ENCEPHALITES — AUTRES BACTÉRIES

QUE L'ON Y TROUVE

A. Dans l'intestin

Infestions

Source et contenu de l'intestin

Premier tableau bactériologique des autopsies

Observations de Koch, etc

Koch

SOMMAIRE

	Pages
AVANT-PROPOS	1

CHAPITRE I.

CARACTÈRES DU BACILLE-VIRGULE CHOLÉRIQUE.	3
A. <i>Procédés de recherche.</i>	3
B. <i>Cultures pures et caractères des colonies.</i>	7
Préparation des milieux de culture liquides.	9
» » » solides.	11
Procédé pour obtenir des cultures pures.	13
Caractères des colonies.	15
Cultures en tubes.	18
C. <i>Caractères morphologiques.</i>	22
Athrospores de Hueppe.	25
D. <i>Bacilles ressemblant plus ou moins au bacille-virgule.</i> . .	27
Bacilles de la leucorrhée, des dents, etc.	28
Bacilles de Héricourt.	30
Bacilles de Finkler et Prior.	31

CHAPITRE II.

PRÉSENCE ET DISTRIBUTION DU BACILLE-VIRGULE DANS L'INTESTIN ET DANS LES ORGANES DES CHOLÉRIQUES. — AUTRES BACTÉRIES QUE L'ON Y TROUVE.	35
A. <i>Dans l'intestin.</i>	35
Déjections.	35
Surface et contenu de l'intestin.	36
Premier tableau bactériologique des autopsies.	38-39
Observations de Koch, etc.	41
» Klein.	42

	Pages
B. <i>Dans les tissus et les organes.</i>	43
Paroi intestinale.	43
Voies biliaires, foie.	44
Sang.	45
Rate, Reins, Muscles, Cerveau.	45
C. <i>Autres bactéries trouvées dans les cadavres des cholériques.</i>	48
Deuxième tableau bactériologique des autopsies.	50-52

CHAPITRE III.

EXPÉRIENCES D'INOCULATION.	53
A. <i>Essais divers pratiqués sur des animaux autres que les cobayes avec les matières empruntées aux sujets cholériques.</i>	53
Expériences avec le sang des cholériques.	53
» » contenu intestinal des cholériques.	54
» » d'inoculation avec la bile des cholériques.	56
B. <i>Essais divers avec les cultures du bacille-virgule.</i>	58
Injection sous-cutanée.	58
» intra-vasculaire sur des chiens.	63
» dans le tube digestif à des animaux autres que les cobayes.	64
Inoculation duodénale après ligature du cholédoque	65
» dans le cholédoque.	65
Conclusions.	66
C. <i>Inoculation des cobayes.</i>	67
1 ^{re} Inoculation duodénale.	71
2 ^{me} Neutralisation du suc gastrique.	71
3 ^{me} Jeûne avant et après l'inoculation, alimentation.	73
4 ^{me} Influence de la température ambiante.	74
5 ^{me} » l'opium.	75
6 ^{me} » l'alcool.	76
7 ^{me} » des inoculations préventives.	76
8 ^{me} Virus atténué.	77
Conclusions.	78

CHAPITRE IV.

	Pages
PTOMAÏNE DU CHOLÉRA	79
<i>Ptomaïne des cultures.</i>	85
» » <i>cholériques.</i>	93
Conclusion.	97

CHAPITRE V.

VITALITÉ DU BACILLE-VIRGULE.	100
A. <i>Vitalité dans le corps de l'homme, dans les selles, le linge</i> <i>et la terre humide. Influence de la putréfaction.</i>	100
Moment de la disparition des bacilles dans le corps de l'homme	100
Matières en chambre humide ou en flacons bouchés . . .	102
Matières cholériques renfermées dans le linge emballé ou dans la terre humide	106
B. <i>Vitalité dans les eaux.</i>	109
Eau de nos ports.	114
Eau de cale des navires.	115
C. <i>Vitalité dans d'autres milieux, notamment dans les milieux</i> <i>artificiels.</i>	116
Agents désinfectants	117
Tableau des désinfectants.	121-122
Influence de la dessiccation	126
» température.	134
l'oxygène	140

CHAPITRE VI.

MODE D'ACTION DU BACILLE-VIRGULE SUR L'ORGANISME.	142
<i>Mort rapide.</i>	144
<i>Mort tardive</i>	149

	Pages
Tableau des altérations anatomiques observées dans quel-	
ques autopsies	152
Diverses septicémies	154
Empoisonnement putride	156
Conclusion	156

CHAPITRE VII.

APPLICATIONS PROPHYLACTIQUES.	157
<i>Modes d'importation et de propagation.</i>	157
<i>Quarantaines.</i>	162
<i>Système de vidanges, égouts, conduites d'eau.</i>	163
<i>Désinfection.</i>	164
<i>Eau potable, alimentation.</i>	167
EXPLICATION DES FIGURES.	171



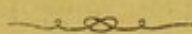
RECHERCHES

SUR

LE CHOLÉRA

PAR

W. NICATI et M. RIETSCH.



AVANT-PROPOS

Les pages qui suivent contiennent l'exposé de nos recherches sur le choléra pendant les deux épidémies de 1884 et 1885 ; elles ont été exécutées en majeure partie au laboratoire du Pharo, où l'administration des Hospices de Marseille avait bien voulu nous autoriser à nous installer, en juillet 1884.

La municipalité se chargea de la mise en état de ce laboratoire improvisé, qui reçut bientôt une subvention du Gouvernement. De nombreux emprunts ont pu être faits à la Faculté des Sciences et plus particulièrement à la station zoologique, ainsi qu'aux laboratoires de chimie et de pharmacie de l'École de plein exercice. Plus tard, une partie de notre travail a été poursuivie, malgré bien des obstacles, à cette École où l'un de nous a pu utiliser les locaux très-généreusement mis à sa disposition par MM. les professeurs Rousset et Roustan.

Pendant l'épidémie de 1885, de nouveaux crédits nous ont été ouverts par la Municipalité de Marseille, par le Conseil Général des Bouches-du-Rhône et par le Gouvernement.

Enfin, la Société Scientifique et Industrielle de Marseille a bien voulu se charger de l'impression de notre travail.

Qu'il nous soit permis d'exprimer ici tous nos remerciements à ceux qui nous ont facilité notre tâche, et nous ont prêté leur concours et leur appui.

Notre installation n'était pas faite et nous n'avions pas pu encore commencer nos recherches, lorsque M. Koch s'arrêta à Marseille à son retour de Toulon. Nous remercions le célèbre bactériologiste de l'obligeance avec laquelle il nous démontra son bacille en virgule et nous donna des explications verbales qui ne furent publiées que quelques semaines plus tard ; à ce moment, en effet, le bacille en virgule n'était connu que par les courts rapports de l'Égypte et de l'Inde.

Pour nos publications antérieures voyez :

Sur l'inoculation du bacille-virgule du choléra (*Sem. médic.* 18 Sept. 1884);

Vitalité du bacille-virgule (*Revue scientifique*, 22 Nov. 1884);

Effets toxiques des produits de la fermentation du bacille-virgule, (*Comptes-Rendus*, 24 Nov. 1884);

Caractères des colonies du bacille-virgule, (*Comptes-Rendus de l'Académie des Sciences*, 26 Janvier 1885);

Vitalité du bacille-virgule (*Revue scientifique*, 28 Février 1885);

Expériences d'inoculation sur le choléra (*Revue de Médecine*, Juin 1885);

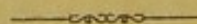
Vitalité du bacille-virgule (*Revue d'hygiène*, 1885, t. VII, n° 5);

Recherches sur le choléra (*Archives de physiologie*, 30 Juin 1885);

Atténuation du virus cholérique (*Comptes-rendus*, 13 Juillet 1885);

Ptomaïne du choléra (*Journal de pharmacie et chimie*, 1^{er} Octobre 1885);

»	»	»	»	»	1 ^{er} Novembre 1885);
»	»	»	»	»	15 Novembre 1885).



CHAPITRE PREMIER

Caractères du bacille-virgule cholérique.

A. — *Procédés de recherche.*

Il est indispensable de disposer d'objectifs à immersion d'eau et à immersion homogène; il y a aussi grand avantage à se servir d'un appareil d'éclairage.

Les préparations sur lamelle se font d'après le mode connu (1). Comme colorant, nous nous sommes presque constamment servis du violet de méthyle; la teinture était préparée en ajoutant à 100 centimètres cubes d'eau saturée d'aniline 10 centimètres cubes d'une solution alcoolique saturée de violet de méthyle (fuchsine de Bâle), ou bien en dissolvant directement 1 à 2 grammes de ce dernier (un excès ne nuit pas) dans 100 centimètres cubes de la même eau; puis on filtre.

La coloration se fait en quelques instants; si la solution est très-froide, il est bon de chauffer légèrement la lamelle chargée de la teinture, ou d'attendre plus longtemps.

(1) Voyez Weigert, Ehrlich, Rindfleisch et Koch. Ce dernier auteur a discuté les différents procédés dans *Mitth. aus d. kais. Gesundheits.*, t. II, p. 5 et 6, et résumé celui qu'il employait pour le choléra dans *Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage*, p. 1: On étend une parcelle de matière sur la lamelle, laisse sécher, passe dans la flamme trois fois, quelques secondes dans une solution de fuchsine ou de bleu de méthylène; on lave et on examine immédiatement.

L'expérience nous a montré qu'on obtient une coloration plus intense par l'emploi de mordants tels que le sublimé corrosif au 1/1,000°, et surtout l'acide osmique à 1/100°. Ces solutions sont versées sur la lamelle qu'on lave ensuite avant d'appliquer le colorant; on peut aussi y laisser séjourner quelques instants le flocon tout entier.

Les préparations que l'on veut conserver sont bien desséchées à l'air, et montées dans le baume du Canada fluidifié par l'essence de térébenthine. Pour éviter la décoloration, il ne faut ni déshydrater par l'alcool, ni conserver dans la glycérine, ni additionner le baume de chloroforme ou d'essence de girofle.

Les préparations sur lamelle ne renseignent que sur les caractères morphologiques de la virgule. Son observation à l'état vivant se fera en goutte suspendue ou entre lame et lamelle; après s'être rendu compte de ses mouvements, on pourra ajouter une goutte de teinture pour avoir le bacille coloré et flottant dans le liquide. Ainsi on ne désagrège pas les spires, comme cela arrive fréquemment dans les préparations sur lamelle; nous avons pu constater par ce procédé la présence fréquente des spires là où d'habitude les préparations sèches n'en montrent pas (muqueuse intestinale).

Les spires sont cependant plus nombreuses et plus longues dans les milieux de culture liquides, surtout quand la végétation n'a pas eu lieu à une température trop élevée (20 à 25°), elles se composent, en effet, de plusieurs individus recourbés, faiblement agrégés bout à bout, et la résistance des milieux gélatineux semble suffire pour produire la désagrégation en virgules composantes; le même effet est déterminé par les mouvements rapides que possèdent ces agrégats à des températures supérieures à 25°, surtout entre 30 et 40°.

Lorsqu'on les observe, en effet, dans ces conditions, les virgules vivantes se montrent très-mobiles; tantôt elles traversent rapidement le champ du microscope, tantôt elles tour-

nent sur elles-mêmes en restant en place. Les spires avancent par un mouvement de vrille, quand elles ne sont pas trop longues ; dans ce dernier cas, elles paraissent gênées par leur longueur même et se meuvent avec lenteur. Les bacilles isolés et les courtes spires vont s'accumuler sur les bords de la goutte où bientôt ils restent immobiles.

L'observation devient encore plus facile si, à une goutte de culture ou à un flocon muqueux, on ajoute une goutte de solution de violet de méthyle faite non plus dans l'eau saturée d'aniline, mais simplement dans l'eau distillée. Les bacilles se colorent alors et deviennent plus visibles, tout en conservant pendant quelque temps leurs mouvements ; ils sont aussi un peu plus volumineux, n'étant pas contractés comme dans les préparations sèches.

Les caractères morphologiques permettent souvent à eux seuls de porter un diagnostic à peu près certain ; en effet, dans les selles émises, au début des attaques de choléra, dans le contenu intestinal et sur la muqueuse intestinale des cas rapides, on trouve, le plus souvent, des virgules nombreuses et presque sans mélange, et l'on obtient des préparations très-probantes. En cas de mort tardive, et dans les selles émises après plusieurs jours de maladie, les virgules deviennent plus rares et sont mélangées d'un nombre bien plus considérable de bactéries différentes ; le diagnostic devient douteux ; on sera fixé alors par le procédé des cultures, qui donne toujours des résultats plus certains et dont il va être question tout à l'heure. Cependant, dans bien des cas on simplifiera le problème, en ayant recours d'abord à l'un des *procédés de multiplication*.

Koch a montré, en effet, qu'une selle ne renfermant qu'un nombre relativement faible de virgules, se transforme en une culture pure, en une véritable purée de virgules, si on l'expose 24 à 36 heures à une température de 30 à 40° sur un linge ou sur de la terre humide, soit entre deux assiettes, soit sous une cloche de verre.

Un morceau d'intestin fendu longitudinalement et placé dans des conditions analogues fournira les mêmes résultats.

On pourra encore y arriver en faisant une culture avec des fragments d'intestin grêle de mouton, de veau, de bœuf, de cobaye. On prend un morceau d'intestin aussi frais que possible, de préférence dans la partie supérieure moins riche en bactéries, on l'ouvre longitudinalement et on le lave à l'eau stérilisée; on promène alors sur la surface interne une tige de platine flambée d'abord, puis trempée dans la matière suspecte, et on expose en chambre humide, comme précédemment. Nous avons ainsi obtenu de très-belles cultures, surtout avec les intestins de veau et de mouton.

Nous devons dire cependant que quelquefois, quand dans la substance initiale il y avait peu de virgules et, au contraire, beaucoup de bactéries différentes, nous n'avons pas réussi par ces moyens à obtenir des cultures riches en virgules.

On réussira souvent, même alors, en délayant la selle, le contenu intestinal ou la muqueuse intestinale râclée dans du bouillon, et en plaçant le liquide à l'étuve (30-36°) dans un verre à précipité ou dans un vase rétréci à sa partie supérieure, ou dans un matras rempli jusqu'au col, etc. Il y a chance de retrouver alors à la surface du liquide le bacille-virgule, même si à l'origine il était relativement très-rare (1).

Ce procédé peut s'appliquer à des recherches sur l'eau à laquelle on ajoutera une solution concentrée et neutralisée de peptones.

On pourra encore le pratiquer en petit, en ajoutant une parcelle de matière ou une gouttelette de liquide, à une goutte de bouillon suspendue à la face inférieure d'une lamelle; on cherchera directement les virgules au microscope sur les bords de cette goutte.

Ces différents modes opératoires ont l'avantage d'être applicables à des quantités relativement considérables de matière suspecte;

(1) Voyez : Schottelius, *Deutsche Medic. Wochenschr.*, 1885, n° 14.

ils conduisent souvent à des préparations très-probantes. Cependant, il ne faut, en réalité, les considérer que comme des artifices destinés à rendre plus facile et plus rapide le procédé des cultures en gélatine et sur plaques qui devra toujours leur servir de contrôle et de complément.

B. — *Cultures pures et caractères des colonies.*

On sait que pour démontrer les propriétés pathogènes des micro-organismes, M. Pasteur eut le premier l'idée d'ensemencer dans un liquide nutritif et stérilisé une très-faible parcelle de matière contaminée. Les poisons chimiques pouvant exister dans cette dernière se trouvent ainsi considérablement dilués et affaiblis, car ils ne peuvent se reproduire par eux-mêmes; mais les êtres vivants qu'on ensemence se multiplient, au contraire, rapidement si le milieu leur est favorable, et bientôt il sera impossible de prélever une goutte de liquide qui ne contienne des micro-organismes. Si l'on sème cette goutte dans un second liquide analogue au premier, le poison chimique primitif se trouvera déjà affaibli à l'infini, tandis que les êtres vivants se multiplieront à nouveau; si ce sont ces derniers qui produisent l'effet toxique, le second liquide sera bientôt aussi virulent que la matière contagieuse ayant servi de point de départ; il sera à peu près inoffensif dans le cas contraire. Ce sera encore plus vrai pour les 3^e, 4^e culture, etc.

Par ce procédé, on sépare complètement les micro-organismes et leurs produits de sécrétion de tout ce qui les accompagne dans les matières contagieuses; on réussit moins sûrement à isoler ces micro-organismes les uns des autres. Mais ce résultat se trouve atteint rapidement en remplaçant le liquide par un milieu solide, d'après la méthode de M. Koch.

Si, dans du bouillon neutralisé, on fait dissoudre à chaud de la gélatine, on obtient un liquide qui se fige par refroidissement vers 20°. Si, à ce mélange en partie refroidi, mais non encore figé, on ajoute une faible portion de la matière contagieuse ne contenant qu'un nombre restreint d'êtres vivants, et si on agite le tout, les bactéries seront réparties dans toute la masse; que celle-ci soit alors solidifiée par refroidissement, et les bactéries se trouveront isolées les unes des autres. Elles se multiplieront bientôt dans ce milieu nutritif, et à la place de chaque bactérie on ne tardera pas à trouver une petite colonie, une accumulation de microbes. Chacune ne sera composée que d'une seule espèce de bacilles, ou microbes, etc., car elle proviendra tout entière d'un individu unique; chacune aura des caractères propres, spécifiques, qui, joints aux propriétés morphologiques du microbe composant, permettront une distinction plus sûre et plus rapide des différentes espèces. Enfin, en prélevant une fraction d'une de ces colonies pour l'ensemencer dans un nouveau milieu, on n'aura plus cette fois qu'une seule espèce d'êtres vivants.

La modification introduite par M. Koch offre donc deux avantages essentiels; elle permet d'arriver rapidement et sûrement à la culture pure et fournit de nouveaux caractères distinctifs, ce qui est bien précieux dans une classe d'êtres si peu différenciés morphologiquement.

Pour obtenir et conserver des cultures pures, il est nécessaire d'avoir une provision de récipients contenant des milieux nutritifs liquides et solides. Ces récipients sont ordinairement des tubes à essai tels qu'on les emploie dans les laboratoires de chimie; il faut qu'ils soient parfaitement nettoyés; on les munit de bouchons de coton (Pasteur) un peu fermes, longs à peu près de 2 centimètres. On les stérilise en les portant pendant 1 h. à 2 h. à une température de 160-170° (Pasteur), ou même 200°; il vaut mieux éviter de roussir ou brunir le coton. Dans une étuve de Wisneg, il est facile de sté-

stériliser simultanément une centaine de tubes, en les plaçant directement sur les tablettes, ou bien en les enfermant dans des paniers en fil de fer. Pour des quantités plus considérables de milieu de culture, on peut se servir de matras en verre à fond plat, de différentes dimensions, que l'on bouche au coton et stérilise de même.

Milieus liquides : 1° Pour préparer le bouillon, on prend de la chair musculaire de bœuf, veau, mouton, porc ou poulet, dépourvue de graisse, de tendons et d'os, on la hache finement, on l'additionne de son volume d'eau ordinaire et on porte le tout à l'ébullition dans une capsule ; on fait bouillir 1 à 2 heures, en remplaçant l'eau qui s'évapore. On peut encore introduire le mélange dans des matras que l'on maintient quelques heures au bain-marie, ou que l'on suspend 1 à 2 heures dans un courant de vapeur d'eau. Finalement, on passe avec expression, on filtre, on neutralise par le bi-carbonate de soude ou un mélange à parties égales de phosphate et carbonate de soude, on ajoute 1/2 pour cent de sel marin et on porte de nouveau à 100° pendant une 1/2 heure, en s'assurant que la réaction est toujours neutre ou un peu alcaline ; au besoin on ajoute de nouveau du carbonate de soude ; on filtre à froid et on transvase soit directement, soit mieux à l'aide d'une pipette, le liquide clair dans les tubes à essai stérilisés dont nous avons parlé plus haut. On ne remplit ces tubes qu'au tiers environ. On pourra remplir presque entièrement ou à moitié des matras de différentes dimensions.

Il faut maintenant stériliser les tubes avec leur contenu. On peut pour cela les faire plonger dans un bain-marie d'eau bouillante dont émerge seulement leur partie supérieure ; on les maintient ainsi pendant 1/2 heure à 1 heure, et l'on recommence trois fois l'opération à 24 heures d'intervalle. Il est préférable de recouvrir le bain-marie avec une cloche ouverte à sa partie supérieure, ou avec un entonnoir. Il vaut mieux encore, quand on dispose d'un appareil à courant de vapeur d'eau, remplir de ces tubes des paniers

en fer blanc que l'on suspend dans le courant pendant une heure ; une seule opération est presque toujours suffisante pour les tubes ; pour les matras, il sera prudent de recommencer deux fois à 24 h. d'intervalle.

Quel que soit le procédé employé, on ne fera jamais usage du milieu nutritif qu'après s'être assuré qu'il est bien réellement stérilisé, et pour cela, on conserve les récipients 10 à 15 jours à une température de 25 à 30° ; on n'emploiera que les vases dont le contenu ne montre, dans ces conditions, aucune trace de végétation, ni aucun trouble.

Avec 1 kilog. de viande maigre hachée, nous préparions ordinairement deux litres de bouillon. On peut soumettre la viande à deux ou trois ébullitions successives, réunir les colatures et les traiter comme ci-devant. On peut aussi faire une pâte avec la viande hachée et l'eau, laisser macérer 12 à 24 heures à basse température, exprimer le tout et porter à l'ébullition pour coaguler l'albumine dissoute.

2° On obtient un liquide plus nutritif en ajoutant au bouillon des peptones sèches dans les proportions de 1 ou 2 pour cent et même davantage ; nous sommes allés souvent jusqu'à 5 0/0. On fait dissoudre les peptones dans le bouillon avant de le neutraliser, car elles sont toujours acides, puis on achève l'opération comme il a été dit.

3° Mais on peut aussi très-bien se dispenser de préparer du bouillon et faire une simple solution de peptones dans l'eau distillée ; on neutralise à chaud comme pour le bouillon ; on peut ajouter 1/2 0/0 de phosphate disodique, et 1/2 à 1 0/0 de sel marin ; mais ces additions même ne sont pas nécessaires (du moins quand il s'agit du bacille-virgule). La préparation de ce troisième liquide nutritif est beaucoup plus simple et plus rapide, et aussi notablement plus économique ; il a l'avantage de ne pas se troubler pendant la stérilisation.

Milieux solides. (Koch). — 1° Gélatine. On prépare un des trois liquides nutritifs que nous venons d'indiquer. Le bouillon simple devra être très-concentré; mais il sera toujours préférable de l'additionner de 1 0/0 de peptones; on pourra aussi avoir recours à une solution aqueuse à 2 0/0 de peptones. Avant de neutraliser on fait dissoudre dans ce liquide, à une chaleur modérée, de la gélatine très-blanche dans la proportion de 10 0/0 en été, et 5 ou 6 à 8 0/0 en hiver, suivant le climat. On neutralise ensuite comme il a été dit plus haut; on peut alors laisser refroidir en partie cette solution et ajouter du blanc d'œuf pour la clarifier; cette addition est inutile si on fait dissoudre la gélatine dans le macéré de viande obtenu à froid. Dans les deux cas, il faut avoir bien soin de maintenir ensuite le liquide au bain-marie ou dans le courant de vapeur jusqu'à coagulation complète de l'albumine, autrement des flocons se forment encore pendant la stérilisation. On passe ensuite sur du feutre ou de la flanelle dans un entonnoir à double fond maintenu à 100°.

On peut aussi clarifier la solution de gélatine par filtration au papier dans un pareil entonnoir, en ayant soin de verser sur le filtre jusqu'à ce que le liquide passe clair. Cette filtration est assez longue.

Dans l'un et l'autre cas, on reçoit le liquide dans des matras stérilisés dans lesquels on peut le conserver; une partie sera transvasée encore chaude dans des tubes à essai soit directement, soit mieux à l'aide d'une pipette. On stérilise encore une fois les tubes et les matras garnis comme il a été dit plus haut. Pour la gélatine, il y aurait inconvénient à chauffer trop souvent et trop longtemps; elle se figerait moins bien. Pour s'assurer que la stérilisation est complète on conserve encore ces tubes une quinzaine de jours avant de les employer; mais il ne faut pas que pendant ce temps la température dépasse beaucoup 20°, la gélatine se liquéfiant vers 25-26°.

2° Agar-agar. — On trouve cette algue dans le commerce sous forme de longs filaments desséchés ; on les coupe transversalement en petits fragments que l'on recouvre d'eau renouvelée 5 ou 6 fois dans l'espace de 24 à 48 heures. On fait écouler l'eau autant que possible, et l'on ajoute au liquide nutritif l'agar-agar dans la proportion de 1 0/0 calculé sec ; on maintient deux heures au bain-marie ou une heure dans le courant de vapeur ; il ne faut pas chercher à faire dissoudre complètement l'agar. On passe sur un linge, on neutralise et clarifie. La filtration au papier est longue ; on perd aussi toujours une forte proportion du mélange. On peut placer tout l'appareil de filtration dans le cylindre traversé par le courant de vapeur d'eau.

L'agar-agar a l'avantage de pouvoir être porté sans fondre à des températures plus élevées que la gélatine (40° et plus, d'après la proportion d'agar et la durée de la digestion).

On peut aussi se servir de sérum de sang coagulé (Koch), quoique son emploi dans le cas actuel ne soit pas indispensable.

Quand les tubes ou matras des milieux liquides ou solides devront être conservés longtemps, on fera bien de recouvrir le bouchon de un ou plusieurs doubles de papier buvard fixé par une bandelette de caoutchouc sur le tube ; on évite l'accumulation de la poussière sur le coton et on retarde aussi l'évaporation.

Les milieux liquides peuvent être conservés presque indéfiniment, sans autre inconvénient que celui de se concentrer ; mais la gélatine se dessèche plus ou moins à la surface et quand on la pique ensuite avec la tige de platine, elle se fend et l'on n'a plus l'aspect caractéristique des cultures en tube. On peut remédier à cet inconvénient en faisant fondre par la chaleur la gélatine ainsi desséchée dans les tubes dont on a besoin et en la laissant se solidifier à nouveau ; mais il y a là évidemment une limite, le milieu solide s'appauvrissant toujours en eau et s'enrichissant en gélatine.

Il ne faut pas chercher à empêcher complètement l'évaporation en couvrant, par exemple, les bouchons de coton avec des capsules en caoutchouc ; dans ce cas, en effet, les spores de champignons tombés à la surface du coton ou adhérents au caoutchouc, se trouvant placés dans une atmosphère très-humide, forment des filaments qui traversent le coton, et l'on voit apparaître une végétation à la face inférieure du bouchon ; la gélatine, par suite, se trouve forcément contaminée ; c'est ce qui nous est arrivé pour la plupart des tubes ainsi recouverts de caoutchouc. Les bactéries, au contraire, ne semblent pas, dans ces conditions, pouvoir traverser le coton. M. Galippe a déjà signalé une contamination tout à fait analogue pour les tubes conservés dans une atmosphère très-humide (voyez : *Société de Biologie*, 17 octobre 1885 et *Semaine médicale*, 21 octobre 1885) ⁽¹⁾.

Procédé pour obtenir des cultures pures. — On emploie de préférence une selle du début de l'accès cholérique ou le contenu intestinal d'un cas rapide, ou encore la muqueuse intestinale. Si les préparations directes ne montrent que peu de virgules dans les matières cholériques que l'on a à sa disposition, on pourra, avant de semer en gélatine, avoir recours d'abord à un des procédés de multiplication indiqués plus haut.

Avec une tige de platine flambée et refroidie, on enlève une parcelle de la matière (flocon, muqueuse ou purée de virgules) et on la délaie dans un tube de gélatine fondue et refroidie vers 30° ; on agite de façon à avoir un mélange homogène autant que possible. Avec une tige de verre flambée, on prélève trois ou quatre gouttes de cette gélatine pour ensemer de même un second tube ; avec le second enfin, on enseme un troisième. Puis, on coule

(1) Voyez aussi : Hueppe, *Die Methoden der Bacterien-Forschung*. Wiesbaden, 3^e édition, 1886.

séparément la gélatine des trois tubes, soit dans des godets de verre, soit sur les lames de verre.

On peut encore délayer la matière première dans quelques centimètres cubes soit d'eau distillée, soit de bouillon, stérilisés bien entendu, et avec une ou quelques gouttes de ce liquide, ensemençer un tube de gélatine. Mais avec les trois cultures simultanées et de concentration différente, on est plus certain de trouver du premier coup, dans l'une des trois, des colonies assez isolées pour pouvoir être employées à des cultures en tube.

Les godets sont des vases cylindriques de trois à cinq centimètres de diamètre, à fond plat, à rebords peu élevés (à peu près un à deux centimètres pour permettre l'examen à la loupe et au microscope); d'autres vases de même forme, mais un peu plus larges, et à rebords un peu plus bas, leur servent de couvercles. Ces deux godets s'emboîtent l'un sur l'autre comme les deux parties d'une boîte à pilules. Ces doubles vases sont stérilisés à l'étuve ou par flambage; on ne soulève le couvercle que pour couler la gélatine et on le replace aussitôt. Comme lames de verre, on peut prendre les porte-objets ordinaires servant aux préparations microscopiques ou des lames plus grandes; on les stérilise et on coule la gélatine contaminée à leur surface en l'étendant avec une baguette de verre flambée. La couche de gélatine ne devra pas avoir plus de quelques millimètres d'épaisseur. On hâtera la solidification en été par refroidissement artificiel. Les godets seront placés en chambre humide ou directement dans une étuve chauffée à 18-22°; les lames seront introduites préalablement dans une chambre humide ordinaire à préparations microscopiques.

Au bout de 24 à 48 heures les colonies sont visibles à l'œil nu dans la gélatine; on voit alors que la transparence de celle-ci est troublée par de petits points plus ou moins rapprochés suivant la quantités de bactéries ensemençées. Ce sont toujours dans la première culture des colonies très-diverses. Celles du bacille-virgule

ont été déjà décrites par M. Koch; néanmoins, il ne sera pas superflu de revenir ici sur leurs caractères, en ajoutant quelques détails propres à les faire reconnaître plus facilement ⁽¹⁾.

Caractères des colonies. — Les plus jeunes colonies de bacilles-virgules se présentent comme de très-fines gouttelettes incolores, réfringentes et transparentes; elles sont tout d'abord homogènes, mais elles ne tardent pas à perdre ce caractère. Examinées à la loupe montée ou au microscope (planche I, fig. 4) à un faible grossissement ⁽²⁾ elles se montrent découpées en fragments irréguliers par de fines stries d'apparence un peu plus foncée; la petite tache prend un aspect craquelé, rappelant, comme l'a dit M. Koch, un amas de petits fragments de verre. Par réflexion ces colonies sont très-pâles, blanchâtres, un peu chatoyantes; leurs contours ne sont pas réguliers, mais présentent de petites saillies et anfractuosités. La colonie grandissant et devenant plus épaisse, reste toujours fort pâle, mais laisse reconnaître néanmoins une teinte grisâtre faiblement nuancée de jaune; la ressemblance avec des fragments de verre devient plus grande; les contours sont fréquemment déchiquetés.

Si l'on aensemencé d'une façon trop abondante, si des colonies de bactéries diverses sont très-rapprochées les unes des autres, ce stade peut n'être pas dépassé et la gélatine se liquéfie en masse avant que les colonies du bacille-virgule aient pris des caractères plus accentués. Elles pourront donc passer inaperçues, d'autant plus que les autres colonies sont ordinairement plus colorées, moins transparentes, et frappent davantage la vue. La recherche sera facilitée en examinant par réflexion à la loupe ou en se servant de la

(1) Voyez notre note dans *Comptes-rendus de l'Ac. des Sc.*, 26 janvier 1885.

(2) Nous les cherchions ordinairement avec l'objectif 0 de Verick, oculaire 3; puis nous passions à l'objectif 2 en tournant le revolver.

lumière oblique, et avec un peu d'habitude on évitera cet écueil que nous avons cru devoir signaler aux commençants.

Les figures 1 à 8 de la planche I représentent des colonies plus âgées telles qu'elles apparaissent quand elles sont parfaitement isolées. La figure 1 est une lame portant quatre colonies vues dans leur grandeur naturelle. Ce sont tout autant d'ulcérations creusées à la surface de la gélatine, ayant à leur centre une excavation (cavité nucléaire) plus profonde dans laquelle on reconnaît un noyau blanchâtre. La figure 2 représente une coupe schématique des mêmes colonies, destinée à bien montrer la petite cupule au fond de l'excavation générale. La figure 3 est une colonie dans un tube, vue par dessous, de façon à bien montrer également la même disposition.

Si l'on examine ces mêmes colonies au microscope (fig. 5), on y distingue des détails nouveaux. C'est d'abord au fond de la *cavité nucléaire* et au centre de la colonie le *noyau* (*d*) rappelant la colonie plus jeune précédemment décrite ; il est d'une faible teinte grise tirant un peu sur le jaune, paraît grossièrement granuleux et souvent comme craquelé à la manière des jeunes colonies. Autour de lui est une *zone intermédiaire* (*c*) aux bords déchiquetés, laissant presque libre des espaces irréguliers qui font l'effet de *lacunes* (*l*) (zone lacunaire de notre précédent travail). Enfin il y a la *zone périphérique* (*b*) marquée seulement de très petites granulations espacées et dont le bord extérieur, qui forme la limite de toute la colonie, se présente comme un *liséré* (*a*) un peu plus foncé et finement dentelé. La figure 6 est une coupe idéale à travers la même colonie.

Dans les colonies plus grandes (fig. 7) il est facile encore de distinguer les mêmes zones.

Quand les cultures sont maintenues à basse température (16-17° environ), le développement en largeur est relativement plus lent et la végétation semble se passer tout entière au voisinage immé-

diat du noyau qui va creusant devant lui en profondeur. La zone externe n'est plus représentée que par un espace uniforme à peine ponctué dont le liséré n'est plus dentelé, mais forme une ligne continue. Des lignes concentriques apparaissent dans la zone moyenne indiquant autant d'étages dans la cavité nucléaire qui devient extraordinairement profonde (*fig. 8 et 9*).

L'excavation creusée par la colonie à la surface de la gélatine donnerait presque à croire, comme l'a dit M. Koch, que le bacille-virgule détermine l'évaporation de l'eau.

Le bacille-virgule fluidifie la gélatine ; mais ce n'est pas là un caractère qui lui est propre. Cette fluidification ne se fait pas à distance : partout, en effet, où la gélatine est liquéfiée on trouve des bacilles-virgules disséminés.

Le développement continuant, les colonies arrivent à se toucher, puis à se confondre ; la gélatine est liquéfiée peu à peu dans toute sa masse, et il ne reste bientôt plus que des noyaux ou des débris de noyau nageant dans ce fluide.

Il ne faut pas attendre aussi longtemps pour employer cette première culture à en faire de nouvelles ; le premier ensemencement fait avec les matières cholériques donne, en effet, toujours naissance à des colonies diverses. Si on n'a semé que très-peu de matière, elles pourront être assez espacées pour qu'il soit aisé de toucher l'une d'elles seulement avec une tige de platine, sans effleurer aucunement les autres, et on pourra alors transporter directement cette deuxième semence dans la gélatine solide contenue dans un tube.

Si ces conditions ne se trouvaient pas réalisées dans la culture, ou dans une des trois cultures dont nous avons parlé plus haut, il faudrait recommencer tout le procédé en prenant pour point de départ cette fois une des colonies que l'on touche avec une tige de platine ou même avec une fine aiguille flambée, en s'aidant de la loupe ou du microscope, et ce seront alors les nouvelles colonies du deuxième semis qui serviront à inoculer des tubes.

Cultures en tube. — La conservation des cultures serait difficile dans des plaques ou dans des godets; de là, la nécessité de les continuer dans des tubes à essai garnis de gélatine ou d'un autre milieu solide ou liquide.

Pour être sûr du succès, on fera bien d'inoculer la première fois dix à douze tubes avec les colonies sur plaques (ou sur godets); souvent, en effet, un certain nombre de ces tubes seront encore des cultures impures. On touche une colonie avec la tige flambée que l'on fait pénétrer ensuite dans un tube de gélatine (ou autre milieu solide) que l'on tient renversé dans la main et dont on n'enlève le bouchon qu'au moment même. S'agit-il d'un milieu liquide, il faut tenir le tube aussi incliné que possible. On touche la surface du milieu avec la tige, ou bien on fait pénétrer profondément celle-ci; puis on retire la tige et on rebouche aussitôt. Il importe de faire ces opérations le plus rapidement possible, à l'abri des poussières de l'air, et d'éviter dans le laboratoire tout mouvement inutile.

Si on s'est contenté de toucher la surface de la gélatine, on obtient bientôt une colonie semblable à celle précédemment décrite; on voit encore mieux ici qu'elle correspond à une excavation dont le noyau occupe le fond (*fig. 3, Pl. I*); la colonie grandissant, la coupe se creuse davantage et on a alors, comme l'a dit M. Koch, l'apparence d'une bulle d'air suspendue au-dessus de la colonie. Le fait de cette bulle d'air n'est pas spécial au bacille-virgule; il se rencontre encore pour d'autres bactéries.

Si l'on a plongé l'aiguille profondément dans la gélatine (*fig. 10, 11 et 12*), on voit apparaître sur tout le trajet qu'elle a parcouru, au bout de 24 à 48 heures, une légère opalescence qui se transforme successivement en une colonne irrégulière composée de grumeaux opaques, d'un blanc sale tirant un peu sur le jaune. A la partie supérieure, cette colonne se termine en entonnoir dont le fond est occupé par de la gélatine liquéfiée, opalescente ou grumeleuse; ce liquide est surmonté par la bulle d'air (*fig. 10 et 11 a*). La gélatine se

liquéfiée ensuite autour de la colonne dans toute la profondeur, et l'on voit alors un axe central blanchâtre et grumeleux (*b*, fig. 11), placé au milieu d'un cylindre beaucoup plus hyalin (gélatine liquéfiée) et opalescent (*fig. 11, c*). La liquéfaction marche plus vite à la surface, où elle atteint bientôt les bords du tube, et alors évidemment on n'a plus l'aspect de la bulle d'air (*fig. 12*).

Il va sans dire que la composition des colonies et la pureté des cultures devront être contrôlées par l'examen microscopique.

Une culture pure en tube, une fois obtenue, rien n'est plus facile que de la conserver et de la transplanter dans de nouveaux tubes en opérant d'une façon tout à fait analogue à celle que nous venons d'indiquer pour l'obtention de la première culture. Avec quelque habitude, ce transport se fait presque toujours sans contamination par l'air.

Dans les tubes à gélatine les bacilles fluidifient peu à peu toute la masse dans la partie supérieure; on voit alors sur la gélatine non liquéfiée une couche opaque, blanche, plus ou moins épaisse, formée de bacilles vivants et de débris de bacilles (*fig. 12, d*); la gélatine liquide et louche placée au-dessus (*fig. 12, e*) en renferme beaucoup moins; ils sont de nouveau plus abondants vers la surface du liquide. La culture s'avance ensuite en profondeur liquéfiant la gélatine au fur et à mesure; mais ses progrès deviennent de plus en plus lents. L'accumulation dans le liquide des produits d'excrétion est sans doute pour beaucoup dans ce ralentissement; la rareté de l'oxygène agit probablement dans le même sens. Dans une culture âgée de 15 jours, nous avons trouvé dans l'atmosphère du tube 3 0/0 d'acide carbonique; ce gaz plus lourd que l'air s'accumule nécessairement à la surface du liquide dans une atmosphère aussi calme et ne communiquant avec l'extérieur qu'à travers un épais bouchon de coton. Cette couche d'acide carbonique contribue avec la couche de gélatine liquide à rendre difficile l'accès de l'oxygène dans la zone où s'accumulent les bacilles. Au bout de quelques

semaines (6 à 8 ordinairement), on ne trouve plus de virgules vivantes dans les tubes ; les inoculations avortent et les préparations montrent des débris de bacilles et des bacilles se colorant mal, parfois des spires plus épaisses qu'à l'état normal. A ce moment toute la gélatine est ordinairement fluidifiée ; néanmoins, nous avons aussi eu quelques tubes semblables montrant encore au fond de la gélatine solide et intacte.

La rapidité avec laquelle les colonies se développent et liquéfient la gélatine est très-variable avec la température ; au-dessous de 17° le développement est extrêmement lent et au-dessus de 25° la gélatine est liquéfiée par la chaleur. Néanmoins, même au-dessous de 17°, le développement n'est pas nul ; nous avons maintenu des tubes pendant un mois à une température comprise entre 8° et 11° en les renfermant dans un récipient clos qui plongeait dans l'eau du port ; il y a eu un certain développement autour des piqûres, très-faible, il est vrai.

Dans ces conditions, le bacille-virgule peut même être conservé vivant dans le même tube plus longtemps qu'à une température plus élevée où les colonies s'accroissent rapidement en liquéfiant la gélatine.

Dans l'agar-agar les cultures n'offrent pas d'aspect caractéristique ; ce milieu n'est pas liquéfié par le bacille-virgule. Comme il ne fond qu'à une température de 40° ou même plus (d'après la proportion et la durée de la digestion de l'agar), il permet de continuer les cultures en milieu solide à une plus haute température qu'avec la gélatine. Le développement est ici plus lent, toutes choses égales d'ailleurs, que dans la gélatine, ce qui tient, sans doute, à la consistance plus ferme. Par contre, le bacille-virgule se conserve vivant plus longtemps ; il résulte des expériences de M. Koch, faites avec l'assistance de MM. Frank et Weisser, qu'il était encore vivant après 144 jours ; après 175 jours les cultures d'agar étaient devenues stériles (2^e conférence, p. 10).

Dans des conditions analogues, Babès a trouvé le bacille encore vivant après plus de six mois (*Communication de M. Virchow à la même Conférence*, p. 20), Hueppe (*Fortschritte der Medicin*, 1^{er} octobre 1885), après plus de dix mois (16 novembre au 4 septembre)

Les cultures faites dans des milieux nutritifs liquides n'offrent rien de bien caractéristique; ces milieux sont plus favorables encore qu'un terrain solide au développement rapide du bacille-virgule; mais on fera bien de ne les ensemençer qu'en partant de tubes à gélatine dans lesquels on aura déjà constaté la pureté parfaite de la culture par les caractères des colonies et par l'examen microscopique. Les tubes à essai garnis de bouillon sont louches jusqu'au fond en moins de 48 heures à la température de 22 à 25°; le bouillon additionné de peptones est un milieu encore plus propice. Au bout de trois à cinq jours, on voit apparaître à la surface du liquide une pellicule mince, d'un blanc sale, qui se brise facilement et dont les fragments tombent alors au fond. La même pellicule se montre en moins de 24 heures dans le bouillon à peptones chauffé à 35-40°.

Quand le vase demeure immobile, cette pellicule peut devenir plus épaisse et plus consistante. Les bacilles ne semblent pas rester longtemps vivants dans ces colonies, dont les préparations ne montrent alors que des virgules mal colorées, et les fragments de pellicules semés dans la gélatine nutritive ne deviennent plus le centre de nouvelles colonies.

Pour conserver des cultures vivantes, il est nécessaire d'inoculer de nouveaux tubes à des intervalles plus ou moins rapprochés; en été, on fera bien de ne pas attendre beaucoup plus de quinze jours pour les cultures en gélatine. Dans la saison froide, on pourra attendre quelques mois au besoin avec des cultures sur agar ou avec des tubes de gélatine maintenus à basse température.

Les cultures faites dans des milieux parfaitement neutres prennent constamment une réaction alcaline. Quelques auteurs ont prétendu avoir constaté une réaction acide; pour les cultures pures, nous n'avons jamais pu vérifier cette assertion.

Elles présentent aussi une odeur particulière, peu forte, un peu fade, mais n'ayant rien de putride, ni même de désagréable; on pourrait plutôt l'appeler une odeur éthérée, aromatique. Les cultures en masse (matras de un litre et plus) et anciennes possèdent une odeur analogue, mais beaucoup plus forte.

C. — Caractères morphologiques.

Dans les préparations faites soit avec les selles ou l'intestin des cholériques, soit avec les cultures, les bacilles-virgules se montrent sous forme de bâtonnets légèrement recourbés (Pl. II, *fig.* 1) (comme une virgule, M. Koch); cette courbure est d'ailleurs assez variable suivant les individus: on en trouve qui ne sont que faiblement arqués, et d'autres formant un demi-cercle. La longueur est aussi très variable; dans les cultures, on trouve fréquemment des individus très courts, ne dépassant pas $0\ \mu\ 5$ à $0\ \mu\ 7$; on serait presque tenté de les prendre pour des *coccus*, n'était leur courbure ordinairement bien marquée. Chez d'autres individus, tout aussi ou même plus courts, cette courbure est plus ou moins effacée; on en trouve enfin, surtout dans les milieux épuisés, qu'il nous a paru impossible de distinguer des *coccus*.

La longueur moyenne des bâtonnets est d'environ $1\ \mu\ 50$; dans les préparations avec selles et intestin elle ne descend guère au-dessous de $1\ \mu$. Mais il est plus difficile d'indiquer une limite supérieure; les individus, en effet, restent facilement agrégés, surtout dans les milieux liquides, sans qu'il soit possible de distinguer les

cloisons de séparation ni à l'état vivant, ni dans les préparations colorées ; le plus souvent ils se disposent alors en spirale ; mais des individus peu nombreux (2 surtout) peuvent aussi être réunis en un simple arc ou fer à cheval. Cette réserve faite, on trouve fréquemment des bacilles approchant ou atteignant $2\ \mu$ ou les dépassant même.

L'épaisseur est plus constante ; elle nous semble cependant un peu variable : les bacilles conservés depuis quelques semaines dans l'eau salée nous ont paru, en effet, plus fluets en général ; dans l'intestin des cholériques on les trouve aussi parfois un peu plus gros que d'habitude.

Dans l'intestin et la gélatine, on ne rencontre que des spires rares et très courtes ; il faut dire cependant qu'elles paraissent toujours plus nombreuses en examinant ces matières à l'état vivant, les spires semblent donc se désagréger, en partie au moins, par le fait même de la préparation.

Les mouvements rapides que possèdent les bacilles-virgules ou leurs agrégats à de hautes températures (28 à 35° et au-delà) paraissent suffire aussi pour produire cette même désagrégation. Les cultures dans le bouillon, mieux encore, dans le bouillon à peptones, ou une simple solution de peptones, montrent de nombreuses spires d'une grande longueur, souvent de véritables touffes de spires, quand elles ont été faites à des températures relativement basses (18 à 22°) où la croissance est encore marquée et où les mouvements se trouvent déjà très ralentis (Pl. II, fig. 2). Dans les mêmes milieux, maintenus à des températures plus élevées (30-35°) les spires sont, au contraire, bien plus rares et plus courtes. Les tours de spire peuvent être fort rapprochés, et les ondulations sont alors brusques ; mais ils peuvent aussi s'allonger de façon à donner à la spire entière l'apparence d'une ligne presque droite. On obtient fréquemment des figures fort caractéristiques et dues, sans doute, à des spires désagrégées pendant la préparation ; ce sont des vir-

gules disposées en une rangée, très rapprochées, mais isolées néanmoins et séparées par des intervalles très courts ; le plus souvent elles sont alors concaves toutes, ou presque toutes, dans le même sens.

En somme, le bacille-virgule se multiplie par scissiparité, et les cellules filles peuvent rester agrégées en forme de spire ; mais cette soudure est peu résistante, et malgré les variations morphologiques dont nous avons parlé, la forme fondamentale est toujours le bâtonnet recourbé.

M. Babès a montré que les couleurs d'aniline se fixent souvent d'une façon plus intense aux deux extrémités du bacille vivant dont la partie médiane apparaît alors moins fortement colorée, ce qui a pu faire croire à l'existence de spores. « Mais ces parties foncées sont mal limitées ; elles sont mobiles, se rapprochent du centre et s'y fusionnent à mesure que le bacille grandit ; puis elles se séparent en laissant entre elles une raie claire qui indique le commencement de la division » (*Cornil et Babès*, p. 476). Dans les préparations sèches de jeunes colonies, nous avons aussi rencontré fréquemment une partie des bacilles colorés de cette façon particulière ; mais, évidemment, cela ne tient pas à la présence de spores endogènes ; car dans les virgules non colorées, vivantes ou non, on ne trouve jamais de sphères réfringentes, et les cultures d'où provenaient ces préparations ne résistaient pas plus que d'autres à la dessication ou à une température de 60°, etc.

Dans les cultures anciennes, les virgules ou leurs agrégats, en voie de dépérissement, prennent souvent des aspects particuliers ; il arrive, par exemple, que la spire se renfle en un de ses points. De pareils bacilles déformés absorbent moins fortement les matières colorantes et se montrent stériles.

Certains auteurs ont donné une importance tout à fait exagérée à ces formes d'involution que l'on a décrites avec beaucoup de détails et considérées comme les représentants de diverses géné-

rations alternantes. Il ne s'agit, en réalité, que de déformations pathologiques qui ne peuvent guère se rencontrer que dans les conditions artificielles des cultures, et qui n'ont pas d'importance pour l'histoire naturelle du bacille en virgule.

Il n'en serait pas de même de la découverte d'arthrospores faite par Hueppe (1), si elle se confirmait. On sait qu'à côté des endospores qui se forment avec leur membrane dans l'intérieur d'une cellule mère (bactérie) et aux dépens du protoplasma de celle-ci, on a distingué (de Bary) des arthrospores ou gonidies qui résultent de la transformation d'une cellule (bactérie) tout entière ou après division, la membrane de la cellule devenant la membrane de l'arthrospore; celles-ci peuvent se distinguer des cellules végétatives par une membrane plus épaisse, un contenu plus réfringent, une résistance plus grande aux agents de destruction, et aussi par leur forme arrondie, quand ce n'est pas là la forme ordinaire de la bactérie.

Hueppe a observé qu'à une température de 22 à 37°, mais surtout de 34-37° (dans des chambres de Geissler et dans l'agar) les spires de la bactérie cholérique, quand le terrain commence à s'épuiser, deviennent d'abord plus lentes dans leurs mouvements, puis se fragmentent en corpuscules arrondis que Hueppe considère comme des arthrospores, à cause de leur réfringence qui serait plus grande, et à cause de la gélification de leur membrane; ces arthrospores ne se multiplient pas comme telles, mais s'allongent avant de se multiplier et donnent alors de nouveau naissance à des virgules plus ou moins longues; elles résisteraient aussi mieux à la dessiccation, sans que Hueppe indique cependant à ce sujet aucune expérience précise. Hueppe semble attribuer à ces arthrospores la longue vitalité des cultures dans l'agar-agar, *les états purement végétatifs ne suffisant plus pour expliquer cette résistance.*

(1) Hueppe, *Fortschritte der Medecin*, 1^{re} Oct. 1885.

Il y a lieu, certainement, de tenir le plus grand compte des indications d'un observateur aussi expérimenté que Hueppe. Nous ne pouvons cependant nous empêcher de faire remarquer :

Que dans les cultures où l'on trouve des virgules très courtes, à forme ou à apparence de *coccus*, on rencontre ordinairement aussi tous les états intermédiaires entre cette forme et les virgules ordinaires, et qu'il serait bien difficile de dire où finit le bacille et où commence l'arthrospore ;

Que Koch attribue une résistance plus grande aux spires qui représenteraient comme un état durable de la virgule ;

Que Babès a considéré comme douée d'une vitalité plus longue une forme de virgule un peu plus grande que la forme ordinaire ;

Que, d'un autre côté, les cultures restent bien plus longtemps vivantes, toutes choses égales d'ailleurs, quand on les maintient à basse température, c'est-à-dire dans des conditions où, d'après Hueppe, les arthropores ne peuvent prendre naissance et où la multiplication se trouve notablement ralentie ;

Que cette vitalité, dans les mêmes conditions, est plus longue dans la gélatine que dans le bouillon, dans l'agar que dans la gélatine, c'est-à-dire que la vitalité augmente à mesure que la consistance du terrain est moins favorable au développement rapide.

Il nous semble que tous les faits observés sont susceptibles d'une autre interprétation que celle de Hueppe : la bactérie cholérigène, qu'elle soit sous forme de spire, de virgule ordinaire ou de virgule très courte semblable à un *coccus*, peut passer à l'état de vie (multiplication) très ralentie, ou même de vie latente, et se conserver longtemps dans ces conditions. Ces propriétés sont plus frappantes dans l'agar-agar dont la consistance déjà empêche un développement rapide, et par conséquent l'épuisement nutritif, et qui dessèche aussi très difficilement. Si les athrospores de Hueppe ont montré une plus grande résistance à la dessication, c'est peut-être

uniquement parce que la culture était faite dans l'agar. Nous avons installé un certain nombre d'expériences dans ce sens et essayé la résistance, à la dessiccation et à une température de 60°, des cultures maintenues depuis quelques jours à 34-35°, c'est-à-dire placées dans des conditions où les arthrospores auraient dû se former ; tous les résultats obtenus jusqu'à présent, plaident dans le sens de notre interprétation (Voir au chapitre *Vitalité*), c'est-à-dire qu'avec la dessiccation, la bactérie cholérigène est toujours morte.

Quant à la non multiplication des athrospores de Hueppe, il ne nous semble pas que ce soit là un caractère bien probant. On conçoit que pour les formes courtes de bacille-virgule il y ait une limite où leur division devient impossible, et dans un milieu épuisé elles ne pourront s'allonger ; un changement dans les conditions nutritives produira tout d'abord un allongement, puis la multiplication.

Nous ne concluons pas à l'absence d'athrospores dans la bactérie cholérigène ; mais nous estimons que leur existence n'est pas démontrée jusqu'à présent.

D. — *Bacilles ressemblant plus ou moins au bacille-virgule.*

Le bacille-virgule peut donc être caractérisé par sa morphologie et par ses colonies ; mais n'existe-t-il pas, en dehors du choléra, chez l'homme sain ou affecté de diverses maladies, d'autres bactéries offrant avec lui des traits de ressemblance ou pouvant même être confondues avec lui ? De nombreuses investigations ont été dirigées dans ce sens dans ces deux dernières années ; nous allons en exposer rapidement les résultats.

Nous avons mentionné précédemment quelques recherches que nous avons entreprises sur l'intestin de trois suicidés et sur les

selles de douze cas de diarrhée; nous n'avons pas trouvé de bacille pouvant, même par sa forme et ses dimensions, être confondu avec la virgule.

Des recherches bien plus nombreuses ont été faites par plusieurs autres auteurs; ainsi, déjà, pendant son expédition dans l'Inde, Koch avait examiné (*Première Conférence*, p. 24) de nombreuses selles dysentériques et l'intestin de 31 individus ayant succombé pour la plupart à des affections intestinales; plus tard, il continua ces essais avec Sthal, en s'adressant surtout aux diarrhées infantiles et d'adultes, à la salive, au mucus buccal.

Dans sa *Deuxième Conférence*, p. 4, Koch parle encore de quelques centaines d'examen de salive, fèces, etc., entrepris dans le même sens. Jamais on ne trouva le bacille-virgule.

Strauss (*An. Méd.*, 5 août 1884) signala dans les écoulements leucorrhéiques des bacilles recourbés, faciles à confondre sous le microscope avec ceux du choléra; il en avait seulement conclu que la forme en virgule n'est pas caractéristique par elle-même, et qu'il faut y joindre d'autres indices, tels que l'aspect des colonies. Malgré cela on s'est souvent appuyé sur ces indications de Strauss pour refuser toute spécificité à la virgule, et identifier même les deux bacilles que par l'examen microscopique seul on arrive cependant à distinguer une fois qu'on a pris l'habitude du microbe du choléra.

Lewis (*The Lancet*, 20 décembre 1884) considéra comme identique à la virgule du choléra, un bacille courbe qu'il trouva dans la salive, et qui avait été, du reste, déjà observé avant lui. Mais ce microbe ne peut se cultiver dans la gélatine (Miller, Koch, Frœnkel); il se distingue, du reste, même par sa forme, étant plus grand, plus effilé aux deux extrémités, comme on peut s'en assurer par l'examen de la *fig. 3* pl. II qui représente un bacille pris dans une dent cariée.

Nous avons trouvé aussi un bacille courbe présentant une certaine ressemblance avec la virgule dans les matières intestinales

de l'homme sain et de divers animaux ⁽¹⁾. Dans nos cultures sur lame, nous avons trouvé, à diverses reprises, des colonies ayant, à première vue, un aspect assez semblable à celui des colonies du bacille cholérigène; elles étaient constituées par un bacille ayant tout à fait la même forme que celui que nous venons de mentionner. Il semble donc que ce soit là une bactérie très répandue et dont les spores existent probablement dans l'air. Les colonies ont un aspect hyalin; mais elles sont plus grises, plus foncées que celles de la virgule; elles sont aussi plus uniformément granuleuses, et la limite externe ondulée est marquée de nombreuses stries rayonnantes, ce qu'on ne voit jamais dans les colonies de virgules (*fig. 10 pl. II*). A la périphérie, ces stries sont isolées et très nettes; plus à l'intérieur elles deviennent moins distinctes; enfin au centre se trouve un noyau gris et finement granuleux. Plus tard, on voit apparaître en dehors une zone de liquéfaction sous forme de ruban festonné (*fig. 11*) dont les ondulations correspondent à celles de la zone moyenne, laquelle présente toujours à sa limite externe une striation radiée bien nette; mais elle ne devient jamais lacunaire comme dans les colonies de virgules, et son aspect est toujours plus uniforme. En même temps, le noyau se désagrège ordinairement en fragments irréguliers. Les colonies s'étendent beaucoup plus rapidement à la surface de la gélatine qu'elles liquéfient aussi bien plus vite; elles peuvent acquérir un grand diamètre.

Si, pour les bacilles isolés, la confusion est possible, il n'en est plus de même des préparations qui en contiennent beaucoup, surtout de celles faites avec les colonies. On voit alors facilement (*fig. 4*) que la fausse virgule est plus volumineuse, plus épaisse surtout que le microbe cholérigène; notablement moins incurvée, fréquemment même droite ou presque droite. Nous n'avons pas fait de cultures dans le bouillon; dans la gélatine nous n'avons pas

(1) *Revue Scientifique*, 25 novembre 1885, et *Revue d'Hygiène*, t. VII, n° 1, 1885.

observé de spires. On rencontre souvent deux individus soudés et formant un bâtonnet plus long, plus recourbé, mais articulé en son milieu comme en *a a* (*fig. 21*). Ce bacille ne foisonne pas dans le linge humide.

M. le docteur Héricourt a aussi signalé ⁽¹⁾, dans les eaux de la basse Deule, à Lille, un bacille courbe ayant quelque ressemblance, par sa forme, avec le microbe cholérigène. M. Héricourt a bien voulu nous envoyer de cette eau; en en semant quelques gouttes dans la gélatine, nous avons obtenu de nombreuses colonies *identiques* à celles que nous venons de décrire. Vu le nombre de ces colonies et leur présence sur *toutes* les lames couvertes par la culture, nous pensons que le bacille de ces colonies provenait bien de l'eau et n'était point dû à l'atmosphère du laboratoire. Il était certainement identique avec notre fausse virgule; nous ne pouvons, en l'absence des caractères des colonies, émettre la même affirmation pour les bacilles plus ou moins courbes contenus dans les préparations que M. Héricourt a bien voulu nous faire parvenir. Mais nous inclinons fortement dans ce sens. Il est certain que ces derniers se distinguent même morphologiquement de la virgule du choléra, quand on fait l'examen comparatif sous le même grossissement.

Klebs signala des bacilles semblables à la virgule dans les déjections d'un malade atteint de pneumonie; mais tous les essais de culture de cette bactérie ayant échoué, Klebs semble avoir renoncé à la considérer comme identique à celle du choléra. Klebs envoya une de ses préparations et une partie de ces déjections à Koch, qui ne trouva rien pouvant être confondu avec le bacille cholérigène.

(1) *Revue Scientifique*, 25 novembre 1885, et *Revue d'Hygiène*, t. VII, n° 1, 1885.

Une découverte qui fit sensation, fut celle de Finkler et Prior ⁽¹⁾. Ces auteurs trouvèrent dans les déjections de quelques malades atteints du choléra nostras un bacille qu'on ne pouvait, d'après eux, distinguer de celui du choléra, ni par sa forme, ni par son mode de végétation dans la gélatine. Des cultures de ce bacille furent envoyées, par MM. Finkler et Prior, à Koch, d'un côté, et à Van Ermengem de l'autre, qui, tous deux, reconnurent qu'elles étaient impures et constituées par un mélange de plusieurs micro-organismes. Koch ⁽²⁾ y trouva : 1° des bactéries qui ne liquéfient point la gélatine, mais la colorent en vert ; 2° des bactéries plus courtes, rectilignes, ne liquéfiant pas non plus ; 3° des bacilles rectilignes qui se développent à la surface des cultures en formant des dessins caractéristiques et qui liquéfient la gélatine ; 4° des bactéries qui liquéfient aussi la gélatine et qui ont une certaine ressemblance de forme avec celle du choléra ; ce sont ces dernières qui sont les véritables bacilles en virgules de Finkler et Prior. Elles liquéfient la gélatine beaucoup plus vite que le microbe cholérigène et végètent vigoureusement sur des tranches de pommes de terre, à une température (17-18°), où ce dernier ne se développe pas dans ces conditions ; elles forment sur ces tranches une masse muqueuse d'un gris-jaunâtre, tandis que le bacille de Koch (à une température plus élevée) forme des colonies colorées en brun-foncé.

MM. Finkler et Prior ont cherché à se défendre contre les reproches qui avaient été adressés à leurs premières publications, à justifier et à compléter celles-ci. Dans leur mémoire ⁽³⁾, ils ont fait de notables efforts pour rapprocher leur bacille de celui du choléra, et pourtant à chaque page on voit éclater l'aveu de différences très réelles qui rendent impossible la confusion pour tout bacté-

(1) *Deutsche Med. Wochenschrift*, 1884, n° 36 et 39.

(2) *Deutsche Med. Wochenschrift*, n° 45, 1884, et *Semaine Médicale*, 8 novembre 1884.

(3) *Ergänzungshefte zum Centralblatt für allgemeine Gesundheitspflege*, B. I, H. 5 et 6. Bonn 1885.— 470 pages et 7 planches.

riologiste exercé. Or, c'est là le seul point important au point de vue de l'étiologie du choléra.

Nos connaissances sur les bactéries en général sont bien trop incomplètes encore pour songer à établir une classification rationnelle dans tous ses détails; on ne peut aujourd'hui que tracer quelques règles générales pour un pareil système, qui devra tenir compte, avant tout, de la fructification et des formes constantes ou habituelles. Le bacille du choléra sera, sans doute, réuni avec celui de Finkler et Prior dans la division des spirochètes, mais cela n'implique en aucune façon une *parenté étroite*, et celle-ci même n'impliquerait pas une analogie de propriétés pathogéniques. Il ne semble pas, en effet, que d'une façon générale, ces propriétés puissent être considérées autrement que comme le résultat d'une adaptation secondaire, relativement récente et par conséquent moins fixe; elles peuvent être très différentes pour des bactéries fort rapprochées et indubitablement d'origine commune (bactéries charbonneuses virulente et atténuée). On ne peut donc se baser sur des considérations de ce genre pour établir une parenté étroite entre deux bactéries, pas plus que l'on n'invoquera la propriété de nager, ou de grimper, ou de voler pour amalgamer dans une même division tous les animaux qui en sont doués.

Il n'est nullement démontré, il est même fort douteux que le bacille de Finkler et Prior produise le choléra nostras. D'un côté, en effet, ces auteurs ne l'ont trouvé que dans cinq cas, et encore leurs recherches ont-elles eu lieu, en grande partie au moins, sur des selles déjà anciennes de quatorze jours et en état de putréfaction ⁽¹⁾; d'un autre côté, d'autres investigateurs n'ont rien pu découvrir de semblable à des bacilles courbes dans le choléra nostras, et le nombre des cas négatifs, examinés jusqu'à présent, dépasse de beaucoup celui des cas positifs de Finkler et Prior ⁽²⁾.

(1) Finkler et Prior reconnaissent eux-mêmes que la présence constante de leur bacille dans le choléra nostras n'est point démontrée l. c. p. 413.

(2) Koch, 2^e Conférence, page 2.

Mais, en admettant même pareille relation de cause à effet entre le bacille de ces Messieurs et le choléra nostras, l'analogie des symptômes entre cette maladie et le choléra asiatique ne peut, en aucune façon, impliquer, d'après ce que nous venons de dire, une parenté étroite, une communauté de souche entre deux bactéries qui n'ont d'autre lien que d'être toutes deux des spirochètes. Il existe, en effet, entre elles des différences très notables.

1° Si l'on fait des préparations avec des cultures obtenues avec le même milieu et dans les mêmes conditions, le bacille de Finkler et Prior se montrera toujours très notablement moins incurvé, plus long, mais surtout plus épais, moins fortement coloré. Il est certain que les deux bactéries présentent chacune une grande variabilité de forme et de dimensions, et que l'on pourra trouver de petits bacilles de Finkler, très rapprochés des gros bacilles du choléra; mais, si l'on tient compte de l'ensemble des individus d'une préparation, on verra que les différences indiquées sont constantes. Or, il est évident que, quand ils se montrent constants, ces caractères différentiels de forme et de dimension sont des plus importants pour la différenciation et la classification des bactéries (comparez la *fig.* 5 Pl. II avec les *fig.* 1 et 2) (1);

2° A une température où la multiplication du microbe cholérigène est presque nulle (température inférieure à 17-18°), le bacille de Finkler et Prior se développe encore très vite, et à des températures supérieures à 17-18°, l'accroissement de ce dernier est beaucoup plus notable.

Nous arrivons maintenant à des différences qui ne se manifestent que dans des conditions créées artificiellement et dont il est impossible, par conséquent, de connaître encore la valeur au point de vue d'une classification naturelle, mais qui n'en sont pas moins

(1) Nous devons à l'obligeance de M. le docteur Frank, assistant de M. Koch, l'envoi d'une culture du bacille de Finkler et Prior.

très précieuses pour distinguer entre elles les différentes bactéries ;

3° Les colonies du bacille de Finkler et Prior, à l'état jeune, sont bien aussi hyalines, mais leurs contours sont beaucoup plus réguliers que ceux du choléra asiatica; dans la plupart des cas même ils sont exactement circulaires. Leur aspect est beaucoup plus uniforme, plus finement granuleux ; on n'a point l'apparence d'une accumulation de fragments de verre (comparez *fig. 7* et 9 PL. II avec *fig. 5* et 8 PL. I).

Plus tard, quand la gélatine est liquéfiée et que la cupule a apparu, on voit le noyau faire une forte saillie dans le fond (PL. II, *fig. 8*) et ne point creuser, comme le bacille-virgule, une cavité nucléaire. On observe ici aussi des figures de plusieurs cercles concentriques ; l'une que nous avons dessinée (PL. II, *fig. 7*), nous a paru être produite par un noyau réfringent solide plongeant à demi dans une zone moyenne, moins réfringente, liquide. Cette zone moyenne offrait toujours un aspect presque uniforme et des contours moins déchiquetés ; nous n'avons pas retrouvé l'apparence lacunaire que nous avons signalée dans la description des colonies de virgule. L'ensemble de la colonie est plus coloré, moins hyalin ;

4° Le bacille de Finkler et Prior liquéfie la gélatine beaucoup plus rapidement, et les cultures en tube par piqûre affectent ainsi une apparence très-différente de celle du choléra ;

5° Les cultures sur pommes de terre sont tout aussi dissemblables (*Voir plus haut*) ;

6° Les propriétés pathogéniques sont notablement inférieures à celles du bacille de Koch, comme Finkler et Prior le reconnaissent eux-mêmes après de nombreux essais d'infection comparatifs sur les animaux (Finkler et Prior, l. c., p. 415 et 431).

Nous pouvons donc affirmer que jusqu'à présent, et malgré de nombreuses recherches faites dans ce sens, on n'a pu trouver, en dehors des épidémies de choléra, aucun bacille pouvant être confondu avec celui de Koch.

CHAPITRE II

Présence et distribution du bacille-virgule dans l'intestin et dans les organes des cholériques. Autres bactéries que l'on y trouve.

A. — Dans l'intestin.

Déjections. — Pour l'examen des selles, il faut autant que possible se servir des flocons riziformes qu'elles peuvent contenir.

Nous avons essayé par des préparations microscopiques (sans épreuve de culture) des selles provenant d'un très grand nombre de cholériques; celles qui avaient l'aspect caractéristique (peu colorées, riziformes) ont donné ordinairement des préparations non douteuses.

Pour 31 malades nous avons pu examiner des selles émises successivement dès le début ou presque dès le début, et nous avons, dans tous ces cas (mais non dans toutes les selles), trouvé la virgule; ce fait confirme le dire de M. Koch, en ce qui concerne la présence régulière de la virgule au début du choléra.

Nous parlerons plus loin à propos du résultat général des autopsies du moment de la disparition du bacille.

Dans les matières vomies, la présence de la virgule est beaucoup moins régulière, exceptionnelle même, et les individus sont plus

rares. On ne peut avoir recours à la chambre humide, car le foisonnement n'a pas lieu dans des milieux acides. Les virgules n'ayant pu se développer dans l'estomac, il faut admettre qu'elles y ont été amenées de l'intestin par les efforts mêmes de vomissement.

Sur 8 vomissement, tous à réaction acide, nous avons trouvé des virgules assez rares, du reste, dans trois cas.

Surface et contenu de l'intestin. — La couche épithéliale de l'intestin peut être raclée et examinée par les procédés ordinaires.

Nous avons signalé ⁽¹⁾ comme lésion initiale le gonflement de la couche épithéliale.

Dans les cas de mort très rapide, on trouve, en effet, la muqueuse tout entière revêtue, non plus de son épithélium ordinaire résistant et lisse, mais d'une couche épaisse, molle, de couleur blanche, vraie purée farineuse épaisse, c'est en vain que l'on cherche alors la moindre injection.

L'enduit épithélial est très considérable dans tout l'intestin grêle, à partir du duodenum; il va diminuant dans le gros intestin.

La psorentérie, c'est-à-dire le gonflement des follicules clos et des plaques de Peyer peut coïncider avec le simple gonflement de la couche épithéliale; elle manque parfois dans les cas absolument rapides. Nous en concluons qu'elle est postérieure.

Postérieure encore est la desquamation de l'épithélium qui fait apparaître l'injection autour des plaques de Peyer et des follicules clos, ainsi que l'injection étendue de la valvule iléocœcale. En ces

(1) Archives de physiol., loc. cit.

points l'enduit épithélial a disparu ou a été considérablement aminci par le travail de desquamation.

Plus tard encore, l'injection s'étend de la valvule vers le bas et vers le haut.

Dans les cas de mort tardive, on trouve des ecchymoses sous-épithéliales répandues sur toute l'étendue du tube intestinal.

En examinant le revêtement épithélial obtenu par le raclage, nous avons constaté les faits suivants :

1° Le microbe n'a pas été trouvé dans l'estomac, non plus que dans la partie du duodenum avoisinante du pylore ;

2° Dans les cas rapides, il a été trouvé sur toute l'étendue du reste de l'intestin.

L'enduit épithélial, mentionné plus haut, se compose surtout de cellules épithéliales et de virgules ; si on étale la muqueuse en chambre humide, celles-ci se multiplient et les cellules épithéliales disparaissent ; il n'est pas rare de ne plus trouver après 48 heures, à la place de la muqueuse, qu'une purée presque exclusivement composée de virgules.

3° Si des préparations également riches ont été obtenues et du duodénum et du gros intestin dans les cas rapides, il n'en a plus été de même quand la maladie a duré quelques jours. Les endroits favorables sont alors ceux où l'enduit épithélial est demeuré le plus caractéristique ; on en trouve généralement de belles plaques à une certaine distance au-dessus de la valvule iléocœcale.

Nous donnons dans le tableau qui suit le relevé de 31 autopsies que nous avons faites dans la première épidémie de Marseille, en 1884, pour ce qui concerne l'examen des matières intestinales,

Ces résultats sont pleinement confirmés par nos autopsies de 1885, faites surtout en vue de recherches bactériologiques en dehors de l'intestin, qui seront relevées à ce propos.

PREMIER TABLEAU DES AUTOPSIES.

Épidémie de 1884. — Recherche de la virgule dans l'intestin.

+ signifie la présence des virgules en très grande abondance.
 +* » » en moindre abondance.
 +** » » rares.
 — signifie l'absence.

Plusieurs signes se suivant indiquent les résultats de préparations faites consécutivement avec l'intestin de haut en bas, à des intervalles à peu près réguliers.

N°	SEXE ET AGE	DURÉE de la maladie	MORT en	PRÉPARATIONS. avec l'intestin au moment de l'autopsie.	PRÉPARATIONS après séjour en chambre humide
1	Femme.....	?	Algidité.	»	Int ^e grêle +
2	Homme.....	?	Algidité.	Intestin grêle +, +, +, +, +, +, +, Gros int ^e + (impur) Contenu intest ^l +**	+ + +
3	Homme....	»	Réaction.	Contenu intestin ^l —	—
4	Homme de 20 à 25 ans.....	13 heures	Algidité.	Selles +*, + Contenu intest ^l + Intestin grêle	+(cult ^{re} pure) +(cult ^{re} pure) +, +, + (c.p ^{re})
5	Femme, 28 ans.	15 jours	Algidité apr. réaction de plus ^{rs} jours.	Coupes de l'intestin —	»
6	Homme, 29 ans.	6 jours	Algidité.	Selles, 13 août + » 14 août +** » 15 août ? Intestin grêle —	+ —
7	Homme.....	3 jours	Algidité.	Selle du 17 août + Contenu intest ^l +* Int ^e gr ^{le} + (tr ^s imp ^r)	»
8	Femme, 38 ans.	2 jours	Algidité.	Contenu intestin ^l — Intestin grêle +** Gros intestin	+ + +
9	Homme, 62 ans.	3 jours	En réaction depuis qq ^e heures.	Selle du 18 août +* Contenu intestinal Intestin grêle +**	+ +
10	Homme, 32 ans.	Moins de 24 heures	Algidité.	Contenu intestinal Intestin grêle +** Gros intestin +**	+(cult ^{re} pure) +(cult ^{re} pure)
11	Femme, 39 ans.	48 heures	Algidité.	Contenu intestinal Intestin grêle — Gros intestin +***	+ +
12	Homme, 57 ans.	Entre 4 et 5 jours	Algidité.	Cont. intestin ^l +**	—
13	Homme, 40 ans.	»	»	Contenu intest ^l +*	+(cult ^{re} pure)
14	Homme, 34 ans.	6 jours	Réaction.	Intestin grêle +**	+*

N°	SEXE ET AGE	DURÉE de la maladie	MORT en	PRÉPARATIONS avec l'intestin au moment de l'autopsie.	PRÉPARATIONS après séjour en chambre humide
15	Homme, 64 ans.	19 jours	Pas de fran- che réact ⁿ , adynamie	Intestin grêle —	—
16	Homme,	4 jours.	Algidité.	Intestin +	+ (cult ^{re} pure)
17	Femme, 61 ans.	11 jours	Réaction.	Intestin	+ (cult ^{re} pure)
18	Homme, 26 ans.	1 jour.	Algidité.	Contenu intestin ¹ — Intest ⁿ grêle — +*, +, +, +**	+
19	Homme, 32 ans.	1 jour.	Algidité.	Intestin grêle —, +, +, +, +, — Gros intestin —	»
20	Femme, 44 ans.	2 jours.	Algidité.	Intestin grêle —, —, —, ?, +*, +** Gros intestin ?	»
21	Femme, 47 ans.	Plus de 5 jours	»	Int ⁿ grêle —, —, —,	—
22	Homme, 30 ans.	11 jours	Réaction.	Selle émise le 19 sep- tembre +* int ⁿ gr ^{le} —, —, —, — Gros intestin +	—
23	Homme, 30 ans.	10 jours	Réaction.	Intest. grêle —, —	»
24	Homme, 26 ans.	Moins de 48 heures.	Algidité.	Contenu intest ¹ + Intestin grêle —, +*, +*, +, +, + Gros intestin +*	+ (cult ^{re} pure) + +
25	Homme, 40 ans.	12 heures	Algidité.	Intestin grêle —, +, +, +, +, +* Gros intestin +*	+ (cult ^{re} pure)
26	Homme, 56 ans.	12 heures	Algidité.	Contenu intestinal Intestin grêle —, +*, +, +, +, +* Gros intestin +*	+ + (cult ^{re} pure)
27	Homme, 30 ans.	»	En réaction dep. au m ^e 7 jours.	Intestin grêle —, —, —, —, —	—
28	Femme, 27 ans.	3 jours.	Algidité.	Contenu intestinal Intest ⁿ grêle +, +, +*, +, +, +, +	+ + (cult ^{re} pure)
29	Homme, 53 ans.	6 jours.	Réaction.	Intest ⁿ grêle —, +*, +*, +*, +*, +**	»
30	Homme, 34 ans.	12 heures	Algidité.	Int ⁿ gr ^{le} +*, +*, +* +, +, +, +, +, +	+
31	Homme, 30 ans.	2 jours.	Algidité.	Intest ⁿ gr ^{le} +*, +, +, +, +, +, +, +** Gros intestin —	»

Sur 31 autopsies, la virgule a donc été trouvée dans 25 cas. Le résultat négatif des six autres n'est appuyé que sur un nombre relativement faible de préparations et ne démontre pas l'absence de la virgule; des préparations même beaucoup plus nombreuses ne seraient pas encore absolument probantes dans ce sens.

Voici des renseignements importants sur les six cas à résultat négatif: dans l'autopsie 3, nous n'avons pu savoir la durée de la maladie; dans les cinq autres cas, la mort est survenue après 5, 7, 10, 15 et 19 jours (autopsie 21, 27, 23, 5 et 15). Elle a eu lieu quatre fois en réaction (3, 15, 23, 27), une fois en algidité, mais après réaction (5); dans le dernier cas (21), l'état symptomatique qui a précédé la mort n'a pas été noté.

Nous n'avons pas compté, parmi les autopsies à résultat négatif, le n° 6, quoique l'examen immédiat n'ait rien donné. Mais les préparations ont été peu nombreuses, et les selles examinées pendant la maladie avaient donné des résultats positifs; en tous cas, les virgules étaient au moins rares à l'autopsie (algidité, 6^e jour).

Dans les cas de mort rapide, la virgule se montre très abondante; vers le 3^e ou 4^e jour, il semble y avoir tendance à la disparition ou au moins à la diminution; néanmoins, l'autopsie 17 où l'intestin a encore donné une culture pure en chambre humide (11^e jour réaction), montre qu'on ne saurait généraliser ces observations obtenues d'ailleurs sur un nombre restreint de cas.

Le tableau n'indique pas non plus de relations bien évidentes entre la disparition de la virgule et l'entrée en réaction. On peut dire que la virgule accompagne toujours l'état algide, mais ne disparaît pas toujours avec lui ⁽¹⁾.

Comme contre-épreuve de l'examen de l'intestin et des selles de cholériques, nous avons fait l'autopsie de trois suicidés; à diverses

(1) Nous aurons à revenir ailleurs sur ces résultats à propos de la vitalité du bacille-virgule dans les selles et dans l'intestin.

hauteurs, l'intestin a été examiné directement et mis en chambre humide. Nous n'avons jamais trouvé de bacilles-virgules. Il en a été de même de l'examen de selles diarrhéiques provenant de 12 cas différents.

On sait que M. Koch et ses élèves ne sont arrivés aussi qu'à des résultats négatifs dans des conditions analogues.

Dans sa *Première Conférence* (p. 22-23), Koch rend compte de près de 100 observations toutes à résultat positif. Dans la *Deuxième Conférence* (p. 5), il parle de 79 nouveaux cas de choléra pour lesquels des préparations sur lamelle avaient été faites à Calcutta, par M. le docteur Dissent, puis envoyées à M. Koch. Dans 5 cas seulement, les résultats furent négatifs et toutes les préparations qui s'y rapportaient, contenaient de nombreux corpuscules rouges du sang, preuve que c'étaient là des cas anciens.

Les observations ont été multipliées en France, en Italie et en Espagne pendant les deux dernières épidémies de 1884 et 1885 ; elles aboutirent presque toutes à des conclusions confirmatives de celles de Koch. Ce serait trop long de citer ici tous les auteurs ; mentionnons seulement Cornil et Babès, Doyen (observations faites à Paris) ; Van Ermengem (à Marseille et en Espagne) ; Watson Cheyne, Pfeiffer (Paris) ; Gibier, Charrin, Mendoza, Ferran, etc. (Espagne) ; Carazzi Davide, Grassi, Escherich, Armanni, Fede, Schottelius (Italie) ; qui ont tous conclu en faveur du bacille-virgule.

Petrone (*Gazz. di Ospitali*, 19 nov, 1884) a fait des préparations de 150 cas de choléra grave, 70 de cholérine et 50 de diarrhée cholérique ; il a constaté la présence de la virgule, dans les déjections, dans tous les cas graves et dans la plupart des cholérines et diarrhées.

Ceci et Klebs ne trouvèrent pas d'abord le bacille-virgule dans tous les cas de choléra ; mais Ceci s'étant muni ensuite de meilleurs objectifs, observa constamment la virgule pendant les nouvelles recherches qu'il fit tout seul, et la retrouva même dans les prépa-

rations anciennes, où elle lui avait échappé en premier lieu ; il arriva finalement à la même conclusion que tous les auteurs précédents.

Emmerich, tout en attribuant la propriété cholérigène à un bacille différent, reconnaît cependant avoir constaté la présence de la virgule dans 8 cas sur 10 autopsies.

Klein fit une expédition dans l'Inde pour contrôler les assertions de Koch, contre lesquelles il avait déjà nettement pris position avant son départ. Klein fut cependant obligé finalement de reconnaître que les bacilles-virgules se rencontrent habituellement dans les cas de choléra ; il prétendit seulement :

1° Que leur nombre est d'autant plus faible que l'examen a eu lieu plutôt après la mort ;

2° Que dans les cas rapides dont l'autopsie a été faite très peu de temps après la mort, on n'en trouve pas du tout.

Quant à la dernière assertion de Klein, nous n'avons pu la confirmer en aucune façon, ni en 1884, ni en 1885, pendant nos recherches faites au Pharo. Dans les cas très rapides, à autopsie immédiate, nous avons trouvé, au contraire, le plus souvent, une véritable culture pure.

Il y a quelque chose de vrai dans la première assertion de Klein, en ce sens, que si l'on place en chambre humide un fragment d'intestin de cholérique fendu longitudinalement, il y a une multiplication très-rapide de la virgule, de sorte qu'après 24 à 48 heures, on ne distingue plus d'éléments histologiques et que la muqueuse s'est transformée en une purée de bacilles cholérigènes. On ne les trouve jamais aussi nombreux, cela est incontestable, sur l'intestin d'un cholérique examiné peu après la mort. Leur énorme augmentation dans ces conditions semble due à l'accès libre de l'oxygène relativement rare dans l'intestin *in situ* et à l'assimilation plus facile de la muqueuse morte que de la muqueuse vivante. Cette dernière raison explique que l'on peut obtenir de très belles cul-

ture sur l'intestin d'animaux qui paraissent absolument indemnes, et elle semble aussi devoir faire admettre une certaine multiplication de la virgule dans le cadavre de l'homme pendant les premières heures après la mort. Néanmoins, dans les examens faits presque immédiatement après la mort, nous avons trouvé les virgules d'autant plus nombreuses en général que le cas avait été plus rapide.

Actuellement le choléra est une des maladies sur lesquelles on possède le plus d'observations au point de vue micro-biologique ; le nombre des cas étudiés atteint peut-être ou dépasse même mille, et le bacille-virgule s'est rencontré dans tous les cas rapides, tandis qu'il a souvent fait défaut, quand l'examen a été effectué au-delà du quatrième jour de maladie, ou quand, en l'absence d'indication à ce sujet, la présence de globules rouges dans le contenu intestinal montrait que l'on avait à faire à un cas ancien. Nous sommes donc en droit de conclure que *le bacille-virgule se rencontre, au début au moins, dans tous les cas de choléra asiatique.*

B. — Dans les tissus et les organes.

Paroi intestinale. — L'examen doit en être fait sur des coupes après durcissement à l'alcool. Nous nous sommes servis pour leur coloration du procédé de Loeffler (*Mittheilungen aus dem kaiser. Gesundheitsamt II*, p. 439). Eau à 1/10000^e de potasse caustique, 100 centimètres cubes, solution alcoolique saturée de bleu de méthylène, 30 centimètres cubes. On y laisse séjourner les coupes quelques minutes, puis successivement dans l'alcool à 60°, 90°, 100°. On éclaircit dans l'essence de cèdre, de bergamotte ou de térébenthine, et l'on monte dans le baume.

On constate la présence des virgules dans l'épaisseur de l'épithélium, au-dessous de lui, entre celui-ci et l'endothélium sous-

épithélial de Debove; enfin, quelquefois aussi dans le tissu conjonctif tout voisin.

Quelquefois on trouve avec les virgules d'autres bactéries qui ont pénétré, elles aussi, dans les glandes tubulées et dans le tissu immédiatement avoisinant, ainsi, par exemple, des bacilles grands ou petits, épais ou minces. C'est ce que l'on observe également dans toutes les altérations nécrosiques de l'intestin, la diphthérie, les ulcérations dothiésentériques, où des bactéries non pathogènes pénètrent secondairement les tissus nécrosés. (Koch, *Première Conférence*, p. 7).

Voies biliaires, foie. — Dès la première épidémie, nous signalions la présence des virgules dans le canal cholédoque et dans la vésicule biliaire. Sur cinq fois que nous l'avions recherchée dans la vésicule biliaire, nous l'avions trouvée deux fois. Nous avons même obtenu avec de la bile une série d'inoculations sur les animaux.

Nous avons multiplié, en 1885, nos investigations dans ce sens. La bile a été examinée treize fois soit directement, soit par ensemencement dans la gélatine fait de la façon suivante: Sur le cadavre, tôt après l'ouverture de l'abdomen, on pique la vésicule avec une aiguille rougie à la flamme, on la remue dans la vésicule pour la retirer tout aussitôt et en inoculer des tubes de gélatine. Sur treize autopsies, la bile a donné trois fois des virgules, dont deux fois à l'état de culture pure.

En tenant compte des résultats des deux épidémies, nous avons donc rencontré le bacille cholérigène cinq fois dans la bile sur dix-huit autopsies; ces cinq cas sont tous anciens.

Là où nous avons pu le savoir exactement, la maladie datait de cinq et de dix jours; dans deux autres cas, le malade avait séjourné à l'hôpital une fois quatre jours, et l'autre cinq; dans le dernier cas, enfin, où le malade était entré du matin, la réplétion énorme

de la vésicule, la décoloration de la bile et les autres signes indiquaient, de reste, que l'on avait affaire à une mort tardive.

Les deux fois où nous avons eu des renseignements précis sur la maladie, les malades étaient morts en réaction typhoïde.

Sur quatorze examens du foie, faits en 1885, des virgules ont été trouvées en culture impure deux fois. Ces deux cas concernent des individus morts : l'un, *après onze jours* de maladie ; l'autre, *après treize jours*. La culture a été faite à l'aide d'une aiguille piquée d'abord dans l'organe et ensuite dans la gélatine : un tronc biliaire avait donc pu être traversé. Les semis de parenchyme du foie isolé au scalpel n'ont pas donné de résultat. Nous insistons sur ce fait, parce que le foie est le seul organe dans lequel nous avons retrouvé le parasite cholérique.

Nous étudierons plus tard, à propos de la pathogénie, ce qu'il faut penser de cette coïncidence entre la virgule dans les voies biliaires et les symptômes de réaction typhoïde.

Sang. — Nous avons fait des cultures avec le sang de onze cadavres. Le procédé employé a été le même que pour la bile : piqure avec l'aiguille chauffée au rouge dans l'oreillette droite, aussitôt à l'ouverture de la poitrine. Deux fois aussi nous avonsensemencé le sang d'une veine mésentérique. Nous n'avons pas été plus heureux que Koch, que Strauss et Roux, que Ceci. Jamais nous n'avons obtenu des colonies de virgules.

Rate, reins, muscles, cerveau. — Les résultats ont été tout aussi négatifs dans l'examen de ces organes et nos expériences ici concordent encore avec celles des auteurs que nous venons de citer. Pourtant nous avons, à diverses reprises,ensemencé des quantités considérables de parenchyme pris d'après le procédé que Gaffky a décrit pour la fièvre typhoïde (*Mitth. aus dem Kais. Ges. II*), où il donne des résultats très sûrs, comme nous l'avons vérifié nous-mêmes.

L'organe enlevé à l'autopsie séjourne d'abord dans une solution à 1/1000^e de sublimé. On fait ensuite une incision longitudinale profonde en se servant d'instruments flambés ; l'une des surfaces de section devient le point de départ d'une seconde incision faite avec de nouveaux instruments stérilisés ; l'une de ces secondes surfaces de section devient, à son tour, le point de départ d'une troisième incision faite encore avec des instruments stérilisés. Sur l'une des troisièmes surfaces on racle alors l'organe avec un scalpel flambé, et on introduit rapidement la substance obtenue dans un tube dont la gélatine a été fondue, puis refroidie vers 30°. Nous avonsensemencé ainsi parfois dans un seul tube de gélatine une quantité de parenchyme de la grosseur d'une noisette ; mais ici, pas plus qu'avec le foie soumis au même traitement, nous n'avons obtenu de colonies de virgules. Les godets dans lesquels on versait le mélange, ne contenaient parfois aucune colonie bactérienne. Dans les autres cas, le nombre de celles-ci était extrêmement faible eu égard surtout à l'ensemencement tout à fait massif ; par comparaison avec la fièvre typhoïde, ce nombre était infime. Ce ne sont donc pas les colonies étrangères qui ont pu masquer la virgule.

Comment concilier ces résultats avec l'assertion, isolée du reste, de M. Doyen, qui affirme la présence constante du bacille-virgule dans tout l'organisme de l'homme atteint de choléra. M. Doyen est arrivé à cette conclusion par des procédés peu probants ; il prétend avoir obtenu dans trois cas une culture impure du bacille-virgule en inoculant dans des tubes de gélatine des fragments de foie et de rein ; M. Doyen n'a pas appuyé sur l'observation des colonies si caractéristiques, ces résultats tout à fait nouveaux et contraires à toutes les indications antérieures. M. Doyen prétend encore avoir retrouvé la virgule dans les coupes du foie et du rein dans 6 cas sur 7 autopsies qu'il a faites. Il nous paraît étonnant que M. Doyen ait obtenu constamment des résultats positifs. Mais, en

admettant même ces indications, le nombre très restreint de cas observés par M. Doyen comparé aux résultats négatifs si nombreux obtenus par tant d'autres auteurs (1), ne permet en aucune façon de comparer le choléra à la fièvre typhoïde, et de dire qu'il est, comme cette dernière, une *infection microbienne générale* de l'organisme (Doyen, *Arch. de Phys.*, 15 août 1885, p. 229).

Notre manière de voir peut s'appuyer encore sur les nombreuses injections sous-cutanées de cultures du bacille-virgule, faites en 1885 en Espagne. Leur innocuité, leur inefficacité à prévenir des atteintes de la maladie, semblent prouver que le bacille cholérigène ne trouve pas dans l'organisme humain, en dehors de l'intestin, un milieu favorable à son développement.

On a signalé, à différentes reprises, dans le choléra, des abcès dans diverses régions du corps, *des foyers de pneumonie*. Il était particulièrement intéressant de rechercher si dans ces foyers, on trouverait des virgules. Nous avons eu occasion d'examiner un semblable cas, et nous avons fait cette recherche avec grand soin dans les poumons en état d'hépatisation grise; nous n'avons rien trouvé que des *coccus* et des *diplococcus*. Il y a eu, du reste, à ce moment, dans l'hôpital, une série de cholériques atteints de pneumonie, ce qui permet de penser à une infection intercurrente.

Le bacille-virgule est localisé dans l'intestin, d'où il peut, dans les cas anciens, passer dans la vésicule et les voies biliaires. Son existence dans d'autres organes nous semble, jusqu'à présent, n'avoir été établie sûrement pour aucun cas.

(1) M. Ceci, dans plus de 100 cas, a inoculé dans des tubes de gélatine du sang, des fragments de foie, de rate, de rein, en opérant avec les précautions classiques; il n'a vu dans ces tubes aucun développement ni de virgules, ni d'autres bactéries.

C. — *Autres bactéries trouvées dans les cadavres
des cholériques.*

On sait qu'Emmerich, un élève de Pettenkofer, à Munich, a suscité un concurrent à la virgule sous la forme d'un bacille droit et petit ne liquéfiant pas la gélatine; il a signalé la présence de ce bâtonnet dans toutes les cultures prises sur neuf cadavres de cholériques et examinées ultérieurement à Munich (1). Il a été répondu à Emmerich que, dans des semis impurs, la bactérie qui offre le plus de vitalité finit par l'emporter sur les autres, et que c'est là ce qui a dû avoir lieu dans les tubes transportés de Naples à Munich. La fragile virgule a succombé rapidement pour faire place à quelque vigoureux bacille acclimaté dans nos parages (*Flügge. D. Med. Wochenschrift*, 8 janvier 1885). Nous avons voulu, néanmoins, contrôler l'assertion d'Emmerich.

La recherche de bactéries autres que la virgule était intéressante à un autre point de vue encore, qui est le suivant. Se produit-il secondairement une invasion bactérienne de l'organisme à la faveur des désordres de la paroi intestinale; en d'autres termes, les bactéries diverses qui habitent l'intestin viennent-elles à passer dans les liquides de l'organisme? Cette invasion pourrait jouer un rôle dans les phénomènes dits de réaction?

Des colonies diverses se sont développées dans les godets où l'on avait fait un ensemencement massif d'après le procédé indiqué plus haut; le nombre des colonies a été très restreint, comme nous l'avons déjà dit, à tel point qu'il nous semble impossible de songer à une infection générale de l'organisme par un microbe quelconque susceptible de végéter dans la gélatine. Nous avons

(1) *D. Med. Wochenschrift*, 11 déc. 1884.

trouvé ces colonies composées tantôt d'un petit bacille droit liquéfiant la gélatine, tantôt d'un autre semblable, mais ne liquéfiant pas, tantôt d'un très gros bacille droit, tantôt de *coccus*; une fois nous avons observé une colonie d'un bacille courbe différant nettement de la virgule ⁽¹⁾, etc. Dans le plus grand nombre de godets il n'y a eu aucun développement dans les deux ou trois premiers jours; il faut donc aussi sans doute faire une certaine part à la contamination par l'air dans ces vases à fermeture imparfaite et ouverts tous les jours pour l'examen microscopique.

Cette dernière cause d'erreur se trouve à peu près complètement éliminée dans les tubes à gélatine ensemencés par piqure. Les expériences installées de cette manière ont été faites en bien plus grand nombre que les semis en godets :

Des colonies diverses ont été obtenues aussi, quoique exceptionnellement, dans ces tubes.

Elles n'ont présenté aucune constance ni dans leur aspect et leur développement, ni dans leur composition élémentaire.

En conséquence, nous ne pouvons confirmer la découverte d'Emmerich.

Nos expériences nous paraissent cependant avoir mis hors de doute la présence, exceptionnelle il est vrai, d'autres bactéries dans les organes. Nous n'en avons trouvé en aucun cas dans le cœur, non plus que dans beaucoup des semis opérés avec d'autres organes. *Dans les cas positifs observés par nous*, le nombre des bactéries ayant envahi les organes doit être considéré comme très faible, comme minime par rapport au nombre énorme de micro-organismes que l'on trouve dans les maladies septiques (la fièvre typhoïde, par exemple). Nous verrons plus loin, à propos de la physiologie, quel rôle on est en droit de leur attribuer.

(1) Cornil et Babes (p. 487) ont obtenu aussi par inoculations sur des plaques ou dans des tubes avec de petits morceaux d'organes de cholériques « diverses espèces de bactéries dont certaines liquéfient la gélatine et présentent la forme courbée ; mais on peut les distinguer des bacilles en virgule. »

DEUXIÈME TABLEAU BACTÉRIOLOGIQUE DES AUTOPSIES.

Épidémie de 1885.

+ signifie la présence des virgules.
 — » l'absence »
 :: » la présence d'autres colonies.
 O » l'absence »

Plusieurs signes superposés signifient autant de semis dans la gélatine.
 Les signes entre accolades } } sont les cultures massives faites dans les godets.
 (Le contenu intestinal a été examiné directement soit immédiatement, soit après séjour à l'air humide, flacon ou linge.)

N°	Sexe, âge	Durée de la maladie	Autopsie après	Intestin	Bile	Foie	Sang du cœur droit	Rate	Reins	Divers
32	H. 30 ^a	12 h.	1 h.	+						
33	H. 30 ^a	Courte	1 ou 2 h.	+		— O	— O			
34	H.	8 j au m ^a		—		—		—		
35	H. 25 ^a	12 h.	18 h.	+						
36	H.	12 h.	2 h.	+		— :: :: ::		— :: :: ::		
37	F.	5 j ^{rs}		+						
38	H.	24 h.		+						
39	H.	Plus. j.		+	— O					
40	F. 40 ^a	Courte	3 h.	+						
41	H. 60 ^a	Courte	4 h.	+	—					
42	H. 38 ^a	Courte	4 h.	+	—					
43	F. 8 ^a	Au m. 2 j.	4 h.	+				— O — O	— :: (gros coccus) — :: (gros coccus)	
44	H. 17 ^a	11 j ^{rs}	64/2 h.	—		+ — :: :: (Gros coccus, grand bacille)			— :: (gros coccus) — :: (gros coccus)	
45	F. 35 ^a	Longue	4 h.	—	+ :: — :: :: (Bacille épais, court et petit bacille)	— O		— O — O	— :: :: — :: :: (Petit coc- cus et grand bacille)	

[illegible]

CHAPITRE III

Expériences d'inoculation.

Nous avons divisé ces expériences en trois catégories. Les deux premières A et B comprennent, avec les essais préliminaires, toutes les expériences faites sur des animaux autres que les cobayes, la troisième C embrasse toutes les expériences d'inoculation proprement dite faites sur les cobayes.

A — ESSAIS DIVERS PRATiquÉS SUR DES ANIMAUX AUTRES QUE LES COBAYES AVEC LES MATIÈRES EMPRUNTÉES AUX SUJETS CHOLÉRIQUES (1).

Expériences avec le sang des cholériques.

L'injection de sang de cholérique sous la peau et dans la cavité péritonéale a été pratiquée dès 1836 par Namias (2) sans résultat; d'autres auteurs n'ont pas été plus heureux. Nous-mêmes n'avons observé qu'une indisposition passagère non caractérisée.

L'injection intraveineuse du même sang pratiquée d'abord par Magendie en 1832 (3), et répétée souvent dès lors, a produit, quand elle

(1) Nous donnons ici seulement un résumé du travail que nous avons publié sur ce sujet dans la *Revue Mensuelle de médecine*, n° de juin 1885.

(2) Cité in *Dictionnaire Encyclopédique* de Dechambre, art. Choléra, p. 861.

(3) Cité in *Dict.* p. 801.

a été faite en assez grande quantité, des accidents immédiats qui ont les caractères d'un empoisonnement : l'abattement, la cyanose, l'algidité suivis de rétablissement complet après quelques heures, ou de mort également rapide. (Voir nos Expériences au chap. VI).

Expériences avec le contenu intestinal des cholériques.

L'injection de ces matières *sous la peau et dans les veines* a produit la mort quand elle a été abondante ⁽¹⁾. On a retrouvé dans le sang des bactéries de toutes sortes à foison. L'effet est une septicémie qui n'a rien de commun avec le choléra.

L'injection *dans la trachée*, faite par Legros et Goujon, n'a provoqué que des accidents douteux.

L'injection *stomacale* a provoqué exceptionnellement la mort quand elle a été pratiquée en quantités énormes ⁽²⁾. La mort a été produite alors en quelques heures et paraît être le fait d'un empoisonnement (Voir Chap. IV, *Ptomaine du choléra*). Nous ne relaterons pas à nouveau toutes les expériences de nos devanciers, depuis celles de Goujon (Varsovie, 1831), et nous devons seulement une place aux expériences de Thiersch (Munich, 1854), dans lesquelles il ne saurait être question d'empoisonnement vu la petite quantité des matières ingérées. Cet auteur a donné à des souris ⁽³⁾, mêlés à leur nourriture, de petits morceaux de papier à filtrer trempés dans le liquide intestinal de cholérique

(1) Expér. de Guttman, 1862, de Suellen et Miller, 1867, etc. ; voir aussi les nôtres in *Revue Mensuelle*.

(2) Legros et Goujon, 1867 (*Dict. Dechambre*), Richard, 1884 (cité in Koch, *1^{re} Conférence*), etc.

(3) Cité in Koch, *1^{re} Conférence*.

conservé pendant dix jours à la température de dix degrés, puis desséchés. Sur 34 souris, 30 devinrent malades et moururent. M. Koch a répété très exactement cette expérience ; ses souris à lui sont demeurées en parfaite santé.

Nous renvoyons à la *Revue Mensuelle* le lecteur désireux de suivre le détail de nos expériences personnelles, et nous bornons à rappeler qu'elles sont demeurées infructueuses sur le cochon, le chat, le chien, alors même que les quantités ingérées [ont été considérables, que nous avons alcalinisé ces matières, que nous avons soumis ces animaux à un jeûne prolongé, ou enfin, que nous leur avons administré en masse de l'huile de croton.

L'injection directe dans le duodenum et dans l'intestin grêle des mêmes animaux et des souris, n'a pas été plus efficace.

L'injection dans le duodenum accompagnée de ligature du cholédoque a provoqué la mort rapide avec multiplication des virgules dans l'intestin. Cette expérience nous a été inspirée par l'idée que l'absence de bile dans les selles de cholériques pouvait favoriser la végétation du bacille-virgule, idée qui ne s'est pas trouvée vérifiée par les faits. Nous nous étions, du reste, assurés préalablement que la seule ligature du cholédoque ne provoque pas le développement de la virgule suivant une hypothèse qui a eu cours et qui voulait voir dans la fermentation virgulienne une conséquence de la maladie.

Cette expérience nous a amenés à un dernier essai : *l'injection des matières dans le cholédoque*, par une piqûre faite très obliquement avec une seringue de Pravaz. Elle a produit enfin, comme on va le voir, des symptômes et des lésions qui peuvent être assimilés au choléra.

EXPÉRIENCE : Cinq chiens reçoivent dans le cholédoque une parcelle du contenu intestinal au deuxième jour d'un homme mort du choléra foudroyant ; cette parcelle est diluée dans une seringue d'eau distillée. — Un premier chien meurt dans la nuit. — Le second meurt après seize

heures : la vésicule biliaire est dilatée, la vessie vide. Le foie présente des plaques blanches, comme anémiques, où les lobules sont ou bien plus apparents par un reste d'injection interlobulaire, ou bien confondus. L'intestin grêle est plein, dans toute la moitié supérieure, de purée blanche. Virgules dans le cholédoque. — Le troisième chien est pris le matin du troisième jour des accidents suivants : selle abondante molle ; il semble inquiet, se tient mal sur ses jambes, titube, puis s'affaisse ; respiration fréquente, profonde ; température dans le rectum, $34^{\circ},6$. Extrémités froides, muqueuse buccale anémiée. A 11 heures, temp. $32^{\circ},5$ conserve apparemment toute son intelligence. Parfois des mouvements des membres qui simulent des crampes. Mort à midi. Autopsie : Intestin plein jusqu'au rectum de liquide purée de riz : vésicule biliaire pleine de liquide brun foncé. Sang noir, liquide ; pas de caillots fibrineux dans le cœur. — Le quatrième chien meurt au neuvième jour. Péritonite. — Le cadavre du cinquième, qui s'est échappé dans les combles, est retrouvé plus tard, rongé des vers.

Expériences d'inoculation avec la bile des cholériques.

L'injection de bile fraîche de cholérique dans le cholédoque du chien a produit, quand elle contenait des bacilles-virgules, la mort après un ou deux jours. On a noté l'algidité, l'entérite et la présence des virgules.

EXP. I. *Injection, dans le cholédoque de quatre chiens, de bile fraîche prise par aspiration avec la seringue de Pravaz dans la vésicule biliaire d'un cadavre cholérique mort en algidité.* — Un premier chien meurt après vingt-quatre heures avec température rectale = 28° . Une certaine quantité de sérosité sanguinolente est trouvée dans le péritoine. Purée blanche dans l'intestin grêle sur une longueur de $0^{\text{m}},50$ à partir du duodenum. Vésicule biliaire gorgée de bile foncée. Après deux jours d'exposition en chambre humide, la vésicule, le cholédoque, l'intestin présentent une belle culture de virgules avec odeur caractéristique. — Le second chien meurt trois heures plus tard ; tempér. = 32° . Dans le péritoine, un peu de sang. Vésicule biliaire gorgée ; purée blanche jusque près de la valvule iléocœcale. — Le troisième meurt au matin du troisième jour ; température, deux heures avant la mort = 24° , remonte un peu après la mort. Liquide purulent

dans le péritoine. Vésicule biliaire gorgée. Intestin grêle plein de sérosité bilieuse; desquamation épithéliale jusque un peu au-dessus du cæcum en un point nettement délimité. Le chien a vomi quelques instants avant la mort de cette même sérosité. Culture presque pure de virgules après vingt-quatre heures à la surface de l'intestin. — Le quatrième chien paraît rétabli; il mange le second et le troisième jour. Le quatrième jour, il est pris de vomissements, température = 37°; on le trouve mort dans la journée. Autopsie: un peu de liquide purulent et bilieux dans la cavité péritonéale, vésicule biliaire pleine, vessie absolument vide. Intestin grêle rempli dans toute sa longueur de purée blanche. Légère injection de la valvule iléocœcale. Virgules douteuses.

EXP. II. Même expérience avec de la bile d'un cadavre cholérique ne contenant *pas de bacilles-virgules* même après exposition à l'air humide, bile provenant d'un cas foudroyant et présentant les mêmes qualités physiques. Deux chiens ont été soumis à l'expérience; tous deux ont guéri sans présenter de symptômes morbides.

EXP. III. Même expérience avec de la bile analogue riche en virgules et qui a tué deux cobayes par injection duodénale. Cette fois le liquide a été stérilisé par la chaleur. Trois chiens ont été opérés. Ils ont tous guéri sans accidents.

EXP. IV. Même expérience avec la bile précédente stérilisée, puis exposée pendant vingt-quatre heures à l'air et trouvée riche en bactéries à formes de coccus. Trois chiens ainsi traités ont tous guéri sans accidents.

Les conclusions à tirer de tout ce qui précède, sont les suivantes :

1° *Des symptômes cholériques, des lésions cholériformes, la reproduction du bacille-virgule sont produits par l'inoculation, dans le Canal cholédoque des chiens, faite soit avec les matières intestinales, soit avec de la bile des cholériques, mais alors seulement qu'elles contiennent elles-mêmes des virgules ;*

2° *Les inoculations des mêmes matières dans le tissu cellulaire et dans les veines n'amènent point ce résultat ;*

3° *Le sang de cholérique injecté dans les veines agit à la manière d'un poison.*

B. — ESSAIS DIVERS AVEC LES CULTURES PURES DU BACILLE-VIRGULE.

Injection sous-cutanée.

M. Koch avait annoncé, dès ses premières publications, que de grandes quantités de cultures de bacille-virgule injectées dans la cavité péritonéale des souris les tuent en 24 ou 48 heures; il ne signalait pas dans ces expériences l'apparition de symptômes cholériformes ⁽¹⁾.

De notre côté, nous démontrions, dans notre première Conférence aux délégués de la ville de Barcelone ⁽²⁾, avec les résultats de nos inoculations duodénales, l'innocuité des injections sous-cutanées de cultures identiques. Chiens, rats ou cobayes en avaient supporté impunément des quantités relativement grandes, allant jusqu'à un centimètre cube. On n'avait noté ni symptômes généraux, ni troubles au point de la piqûre.

M. Ferran, un des membres de la mission barcelonaise, ayant repris ces expériences en Espagne, vint à tuer des cobayes par une injection sous-cutanée de 2 cent. cubes. « La partie qui reçoit l'injection s'enflamme, dit-il ⁽³⁾, devient chaude et douloureuse; la température générale monte pendant les premiers moments et ensuite baisse rapidement jusqu'à atteindre 4 et même 6 degrés

(1) Koch, 1^{re} Conferenz Berl. klin. Wochensh. 1884, n° 31 et suivants.

(2) *Sémaphore de Marseille*, du 9 septembre.

(3) *Revista de Ciencias medicas* de Barcelone, 1885, n° 1.

au-dessous de la normale. Au bout d'une heure le cobaye devient triste, reste indifférent devant la nourriture, son poil se hérissé, il gémit, surtout quand on le touche au point enflammé et qu'on l'oblige à marcher. Il a de légères selles, il répand de la salive par la bouche et, dans les derniers moments, une matière verdâtre ; enfin, il tombe sur le côté, et la mort survient sans autres symptômes que quelques légères convulsions dans les membres. »

Comme M. Koch, M. Ferran obtient de nouveau des virgules, quand il ensemence avec le sang de l'animal mort un liquide nutritif.

Les lésions qu'il observe à l'autopsie sont insignifiantes.

Dans un autre travail, il dit que la mort ou la guérison survient après un intervalle qui varie de 6 à 36 heures, suivant la quantité injectée qui a varié de 1 à 8^{cc}, et plus loin : des injections préventives sont pratiquées avec du virus faible, à la dose de 3^{cc} (1).

EXP. I. Injection sous-cutanée de 1^{cc} de culture de 13 jours dans la gélatine. Neuf cobayes. Tous survivent sans présenter de symptômes morbides. Températures rectales de deux de ces animaux :

Après 1/2 heure	38°4	38°4
1 »	38°4	38°3
2 »	38°4	37°6
18 »	38°7	38°9
36 »	39°3	39°0

EXP. II. Injection sous-cutanée de 1^{cc} de culture dans du bouillon à peptones, maintenue 48 heures à la température de 30 à 35°. 15 cobayes jeunes.

Un seul est trouvé mort après quarante-huit heures.

EXP. III. Cobayes du poids de 300 grammes chacun. Culture dans du bouillon de muqueuse intestinale digérée ; transplantation journalière pendant huit jours. Injection sous-cutanée.

(1) *Gaceta med. catalana*, mars 1885. (Rapport de la Commission).

	4 ^h	6 ^h	8 ^h
Après 10 minutes	39°4	39°4	38°8
40 »	38°6	38°4	38°4
8 heures	39°8	40°3	40°2
24 » matin	39°8	40°3	40°6
36 » (soir)	39°4	39°4	40°6
guéri	guéri	trouvé mort après	40 heures environ.
			Vessie vide, contenu intestinal non diarrhéique.

Exp. IV. Injection sous-cutanée de bouillon à peptonesensemencé huit heures auparavant et maintenu à une température de 38 degrés.

Température initiale du matin 39°2
(soir) 40°2

Après 24 heures (soir) 39°9

48 » » 39°6

72 » » 39°2

Exp. V. Cobaye jeune (150 grammes environ). Injection sous-cutanée de 1^{cc} de culture dans la gélatine.

Température initiale 38°5

Après 5 minutes 37°5 tremblement général.

15 » 38°5

25 » 38°6

1 h. 35 » 38°6

Mort après 8 heures. Trace d'œdème au point de la piqûre. Vessie pleine. Pas de microglobulie, contrairement aux assertions de Ferran.

Exp. VI. Cobaye jeune (150 grammes environ). Injection de 1/2^{cc} de culture dans la gélatine (la végétation n'a pas gagné le fond du tube, on a soin d'agiter la partie liquéfiée, de façon à atteindre la zone végétante riche en bactéries).

Température initiale 38°5

Après 5 minutes 38°3

15 » 38°0

20 » 37°6

40 » 36°4

60 » 36°4

1 h. 40 » 36°6

2 h. 15 » 35°4

3 h. 1/2 » 33°6

Mort dans la nuit. Vessie vide. Vésicule biliaire pleine. Pas de microglobulie. Virgules libres dans le sang en petit nombre; virgules attachées à la périphérie des globules. Pas de virgules dans l'intestin.

Exp. VII. Cobaye de 150 grammes environ. Injection sous-cutanée d'une goutte de la partie louche d'une culture dans la gélatine.

Température après quelques minutes	38°2
Après 15	» 38°0
30	» 37°2
7 h. (soir)	40°0
24 h. (matin)	39°6
(soir)	40°2
48 h. (matin)	39°3
72 h. (soir)	40°0

Exp. VIII. Quelques gouttes de gélatine contaminée ont étéensemencées dans 100 grammes d'eau distillée 24 heures auparavant. On en injecte 1 centimètre cube sous la peau d'un jeune cobaye.

Température initiale (matin)	39°2
Après 10 minutes	38°6
18	» 38°0
21	» 37°8
25	» 37°5
35	» 37°6
50	» 37°8
60	» 38°0
(soir)	40°0

Il résulte de ces diverses expériences qu'exceptionnellement 1 et même 1/2 centimètre cube de culture injecté sous la peau de jeunes cobayes peut provoquer la mort, et que des cobayes de 300 grammes en supportent une quantité allant jusqu'à 6 (exp. III) et même 8 centimètres cubes (autres exp.).

L'action paraît être en raison du nombre des bactéries injectées, c'est ainsi, tout au moins, que nous croyons devoir interpréter la mort rapide dans les expériences V et VI où l'on avait eu soin d'injecter autant que possible la partie louche de cultures récentes dans la gélatine.

Les symptômes observés sont :

1° Pour les cas non suivis de mort : un abaissement immédiat de la température, abaissement de 1 ou 2 degrés, qui fait place après peu d'heures, à une élévation de 1 degré ou à peu près (la température rectale du cobaye étant d'environ 39°) ; on ne note pas d'autres symptômes ;

2° Pour les cas suivis de mort, l'abaissement initial peut se continuer progressivement jusqu'à la fin. Nous avons noté une fois du tremblement musculaire, sorte de grand frisson.

A l'autopsie nous avons retrouvé, comme tous les auteurs, les virgules dans le sang, soit libres, soit adhérentes aux globules.

Nous n'avons pas retrouvé de virgules dans les matières intestinales.

Nous n'avons pas trouvé non plus de lésions qui rappellent les lésions du choléra.

De quelle façon agissent les injections sous-cutanées de cultures ? Est-ce par septicémie ? est-ce par empoisonnement ? — Pour répondre à cette question, nous avons fait diverses expériences.

Nous avons injecté de l'eau distillée contaminée de virgules depuis la veille. Rien ne permet de supposer la formation d'un poison dans l'eau distillée, où cependant les virgules vivent longtemps. Cette eau (Exp. VIII) injectée à la quantité de 1^{cc} a produit l'abaissement habituel de la température, suivi de l'élévation également faible.

Nous avons injecté sous la peau des quantités égales ou plus grandes de cultures préalablement stérilisées par un échauffement à 65 degrés, ou par l'addition d'un acide avec neutralisation ultérieure.

Exp. IX. Cobaye. Injection sous-cutanée de 1^{cc} de culture dans la gélatine, préalablement stérilisée par l'addition d'acide et neutralisée ensuite.

Température initiale	39°0
Après 25 minutes	38°6
40 »	39°0
2 h. 30 »	39°8

Exp. X. Cobaye. Injection sous-cutanée de 1^{cc} de gélatine stérilisée par la chaleur à 65°.

Température initiale	38°6
Après 5 minutes	38°4
25 »	39°0
2 h. 30 »	41°0

Il faut noter dans ces deux expériences, ainsi que dans d'autres expériences nombreuses qu'il serait oiseux de relater, une différence avec les précédentes. Le refroidissement du début est moins marqué et moins durable. Il semblerait, en conséquence, que l'hypothermie marquée du début doive être considérée, non comme le fait d'un empoisonnement, mais comme un symptôme de l'invasion de l'organisme par les virgules.

Quant à l'hypothermie qui précède immédiatement la mort, il est difficile de la distinguer de celle de l'agonie.

De l'œdème au point de la piqûre a été trouvé quand la quantité de culture injectée a été de plusieurs centimètres cubes.

Injectons intra-vasculaires sur des chiens.

M. Koch⁽¹⁾ a injecté ses cultures dans les veines du lapin, et a noté que les animaux paraissent d'abord très malades, mais se relèvent après peu de jours.

(1) 1^{re} Conferenz, p. 29.

EXP. I. Deux chiens reçoivent dans la veine crurale une injection de 5^{cc} de culture pure dans le bouillon. — Le premier meurt dans la nuit qui suit; son tube digestif est trouvé en état d'injection générale, mais dépourvu de virgules. Son sang est inoculé avec ligature du cholédoque dans le duodenum d'un cobaye qui meurt en 24 heures; l'intestin du cobaye foisonne de virgules. — Le second chien présente après 24 heures une température rectale de 40°, demeure abattu les jours suivants avec un peu de diarrhée; on le trouve mort au matin du 5^{me} jour. A l'autopsie, on note un peu d'injection à l'intestin grêle. L'injection de sang de ce chien dans le duodenum du cobaye n'y amène pas la reproduction du bacille-virgule.

EXP. II. Injection de 5^{cc} de gélatine contaminée dans la veine saphène externe d'un grand lévrier. Le chien reste blotti dans un coin, ne mange pas pendant deux jours, puis guérit.

EXP. III. Injection de bouillon contaminé en même quantité dans la veine crurale d'un chien. Abattement qui dure deux jours aussi.

EXP. IV. Injection dans l'artère crurale d'un chien. Au lendemain, température = 39°5; guérison après suppuration de la plaie.

L'injection de grandes quantités de culture pure de bacilles-virgules dans les veines peut provoquer la mort soit après quelques heures, soit après quelques jours. On a noté dans les deux cas de l'injection du tube digestif, dans le second cas un peu de diarrhée. Dans les cas de guérison les symptômes cholériformes ont fait défaut. On a recherché sans la trouver la virgule dans l'intestin.

*Injections dans le tube digestif à des animaux
autres que les cobayes.*

L'injection de cultures pures dans l'estomac, dans le duodenum, dans l'intestin grêle est restée tout aussi inefficace que l'injection de matière intestinale de cholériques. Reproduire ici nos expé-

riences serait nous répéter sans profit aucun. Il suffira de dire que la simple inoculation duodénale a été supportée impunément par plusieurs chiens, quatre chats et cinq rats, le duodenum ayant été cependant amené au-dehors, comme pour l'opération de la fistule biliaire.

Inoculation duodénale après ligature du cholédoque. Voici nos expériences :

EXP. V. Rat, trouvé mort après douze heures ; virgules. — Chat, trouvé mort le lendemain matin. Purée sur une longueur de 0^m15. — Un chien qui paraissait bien portant, après douze heures est trouvé mort le lendemain, avec traces de violente entérite. — Un autre chien, opéré de l'avant-veille, est trouvé le matin avec les extrémités froides, pas de diarrhée ; à 10 heures, il est revu déjà mort et en rigidité ; température rectale 40°1. Injection vasculaire de l'intestin jusqu'à la valvule. Purée jusqu'à 0^m30 de celle-ci. Matières encore solides dans le rectum. Virgules. — Un autre chien opéré également de l'avant-veille est trouvé mort au matin : vésicule biliaire gorgée. Intestin gonflé par de la purée liquide blanche. Injection intense de tout le tube digestif jusques et y compris le rectum. Virgules. — Un chien est mort après sept jours ; un autre même a guéri, comme on le voit exceptionnellement, par abcès enkysté autour du fil de ligature et rétablissement du courant biliaire à travers cet abcès.

Les cas de mort rapide ne s'expliquent pas par la seule ligature du cholédoque après laquelle les animaux survivent généralement pendant une durée de huit à quinze jours ou même un peu plus.

Les signes d'entérite qui ont été constatés n'appartiennent pas non plus à la ligature du cholédoque.

Inoculations dans le cholédoque. — Toutes ces expériences ont été faites sur des chiens.

EXP. I. Injection dans le cholédoque d'une gouttelette de culture vieille de 26 jours. Le chien, qui s'est apparemment rétabli de l'opération, meurt le cinquième jour. Température au moment de la mort 32°.

Pendant les deux heures qui suivent, l'animal présente des contractions, espacées de plusieurs minutes, du diaphragme et des muscles qui ouvrent la bouche, sorte d'inspiration qui n'arrive pas à effet.— Vésicule biliaire pleine de bile noire et gélatineuse. Sang, dans le cœur droit, liquide, noir. Intestin injecté fortement sur toute sa longueur. Contenu : purée blanche. Pas trace de péritonite.

EXP. II. Deux chiens inoculés simultanément sont apparemment rétablis le lendemain, ils mangent. Tandis que l'un guérit, l'autre tombe malade le surlendemain et meurt après trois fois vingt-quatre heures. Intestin plein jusqu'au rectum de purée floconneuse blanche. Plaques d'injection à diverses hauteurs; injection de la région valvulaire iléo-cœcale. Vessie totalement vide. Vésicule biliaire gorgée de bile épaisse; foie de couleur foncée uniforme. Reins fortement injectés. Dans la bile, virgules à foison, isolées et en spirales.

EXP. III. Inoculation à cinq chiens avec la bile du chien précédent. Sur les cinq, trois ont guéri, deux sont morts sans présenter trace de péritonite : le premier au deuxième jour, le second au dixième jour, et celui-là a présenté des symptômes propres aux cholériques morts tardivement: vessie pleine d'urine, vésicule biliaire pleine de liquide peu coloré et fort peu épais, bile dans l'intestin, injection de la région duodénale. Sang : rares caillots fibrineux; augmentation du nombre des globules blancs. Reins gros, substance corticale blanche, augmentée. L'augmentation des globules blancs et la lésion du rein doivent être particulièrement signalés.

EXP. IV. Levrette. Injection duodénale de culture dans la gélatine. 2^{me} jour mange, 3^{me} jour trouvée morte au matin. Pas trace de péritonite. Sang foncé, liquide, poisseux. dépourvu de caillots fibrineux. Vessie pleine, urine fortement albumineuse. Rein : néphrite interstitielle ancienne. Intestin : purée blanche dans la portion supérieure, virgules dans l'intestin et dans la vésicule biliaire qui est trouvée pleine d'un liquide visqueux, peu coloré.

EXP. V et VI. Séries de quatre chiens chacune, dont plusieurs déjà inoculés par simple voie duodénale. Tous ont guéri, les uns sans accidents apparents, les autres après quelques jours de maladie : perte d'appétit, amaigrissement rapide.

CONCLUSIONS : 1° *L'injection d'une culture de virgules dans le canal cholédoque a produit, non régulièrement, mais plusieurs*

fois, la mort après deux, cinq et même dix jours. On a retrouvé les virgules dans la bile, on a constaté après la mort la présence d'une entérite plus ou moins intense et la néphrite des cholériques : injection de la substance corticale dans les cas de mort rapide, gros rein blanc après mort tardive. La réinoculation par le même procédé a été faite avec succès.

2° L'injection intravasculaire et l'injection sous-cutanée tuent les animaux, quand elles sont faites en très grande quantité. La mort, dans ces cas, doit être considérée comme une septicémie fort distincte du choléra.

C. — INOCULATION DES COBAYES.

La réceptivité toute particulière que nous avons rencontrée dans le cobaye nous paraît nécessiter de grouper dans un seul tout les expériences d'inoculation faites sur ces animaux.

Dès notre première note, en effet (*Semaine Médicale* du 18 septembre 1884), nous annonçons des inoculations fructueuses par la seule introduction dans l'estomac de ces animaux soit des matières intestinales de cholériques riches en virgules, soit de cultures pures de ce bacille.

Voici ces premières expériences :

EXP. I. Quatre cobayes jeunes reçoivent chacun avec la sonde dans l'estomac une assez grande quantité (6 centimètres cubes et plus) de purée intestinale d'un cas de choléra foudroyant. — Un de ces animaux est trouvé mort dix heures après. L'autopsie ne révèle pas les lésions caractéristiques. — Un second, mort après vingt-huit heures, ne présente pas de résultats plus caractéristiques. — Le troisième présente, au deuxième jour, des crampes dans les membres et dans les muscles abdominaux, et meurt deux heures après l'apparition des premiers symp-

tômes. La portion supérieure de l'intestin grêle est remplie de purée blanche qui foisonne de bacilles-virgules après vingt-quatre heures d'exposition en chambre humide. — Enfin, le quatrième, qui ne présente que de la diarrhée au deuxième jour (avec virgules), est trouvé mort le troisième jour au matin. La portion supérieure de l'intestin grêle est remplie de purée blanche.

EXP. II. Deux cobayes reçoivent avec la sonde dans l'estomac une seringue (5^{cc}) de selle riziforme. Le premier est trouvé mort le matin du quatrième jour ; le second qui, le quatrième jour encore, mangeait de bon appétit, présentait cependant de la diarrhée riche en virgules ; il est trouvé mort au matin du cinquième jour.

EXP. III. Même expérience sur un cobaye. Le troisième jour apparaît de la diarrhée ; le quatrième jour, au matin, se joint à la diarrhée de la contracture dans les membres, une contracture tenace à la nuque qui lui tourne la tête à droite ; la mort suit peu après en algidité. A l'autopsie, on a noté : réplétion de la vésicule biliaire, vacuité de la vessie, contenu diarrhéique jusque dans la portion grêle du gros intestin où ne se trouvent généralement que des crottes moulées.

EXP. IV. Un cobaye a reçu dans l'estomac du contenu intestinal d'un cobaye mort après injection de selle cholérique dans le duodénum. Il présente de la diarrhée dès le troisième jour, et durant plusieurs jours, avec présence de virgules, mais sans autres symptômes.

EXP. V. Injection dans l'estomac de 10^{cc} environ de culture pure de bacilles virgules dans le bouillon. Cette culture est à la vingtième génération environ. Le cobaye meurt dans les vingt-quatre heures. La vessie est trouvée vide, le foie exsangue, la vésicule biliaire vide ; l'intestin grêle gorgé de liquide en purée jaune-clair. Virgules dans la vésicule et dans l'intestin. — Une goutte du contenu de l'intestin grêle est injectée dans le duodénum d'un autre cobaye : 3^{me} jour diarrhée, 4^{me} jour *idem*, 5^{me} jour diarrhée intense gris-verdâtre. Mange encore, mais paraît fatigué de sa diarrhée, il tient les pattes de devant sur les bords de la cage, les pattes de derrière écartées. Trouvé mort au matin du 6^{me} jour.

EXP. VI. Inoculation duodénale avec une culture vieille de 40 jours. Mort au 3^{me} jour. On note l'augmentation du nombre relatif des globules blancs. Réinoculation à deux cobayes : 1^o dans le duodénum : mort au 10^{me} jour. Vessie urinaire pleine. Reins : néphrite, gros rein blanc. Vésicule biliaire pleine de purée blanche. Estomac presque vide. Intes-

tin grêle à contenu liquide de même aussi que le gros intestin. Engorgement des plaques de Peyer et des ganglions mésentériques. 2° *dans l'estomac* : quinze centimètres cubes d'eau contenant du liquide de l'intestin grêle sont injectés dans l'estomac d'un cobaye que l'on a soin de malaxer ensuite. Mort au 3^{me} jour. Contenu diarrhéique général. Purée blanche dans la vésicule biliaire. Infarctus pulmonaires. Urine dans la vessie. Virgules dans l'intestin. On réinocule *dans l'estomac* d'un quatrième cobaye le contenu de l'intestin grêle emprunté au dernier. Cet animal est trouvé mort au matin du 3^{me} jour.

Sur onze inoculations stomacales fructueuses de cette époque (les infructueuses n'ont pas été notées et elles sont nombreuses), on n'a noté qu'une fois de la diarrhée non suivie des accidents mortels.

Sur les dix autres, la mort est survenue deux fois dans les premières 24 heures, trois fois au deuxième jour, deux fois au troisième, deux fois au quatrième, une fois enfin au cinquième. Une seule fois, nous avons vu un cobaye mourir après ce terme, c'est dans le cas de réinoculation duodénale de l'Exp. VI.

Ces premiers résultats ont été confirmés par de nombreux auteurs (voir Ermengem, Ceci, Koch, Doyen, etc.).

Nous avons encore obtenu nous-mêmes depuis sept. 1884 un grand nombre d'inoculations heureuses qu'il serait trop long de rapporter ici. Nous nous contentons donc de résumer les résultats généraux de nos expériences :

Les cobayes succombent à l'inoculation du bacille virgule.

La diarrhée est un symptôme très inconstant, on ne l'observe qu'à partir du troisième jour.

Les crampes, convulsions toniques d'un ou de quelques muscles, sont fréquentes.

La mort en algidité est constante.

Les choses se passent de la façon suivante : l'animal qui a ou n'a pas présenté de diarrhée, paraît moins vif que les autres. La température est déjà basse alors : de 39° qu'elle est normalement dans le rectum, elle descend déjà à 37° ou 36°. Peu après, l'animal

tombe sur le côté, il présente cette paresse des membres et en particulier du train postérieur signalée par M. Koch ; la température continue à baisser ; il présente des crampes dans les membres, quelquefois dans la nuque, de façon à tourner la tête sur le côté. La mort survient après une ou deux heures de cet état, par une température de 30 à 34°.

A l'autopsie, on trouve la vessie vide, les reins généralement injectés dans leur substance corticale. L'intestin grêle ne contient guère que du liquide. On a constaté plusieurs fois l'engorgement d'une plaque de Peyer située près de la valvule iléo-cœcale. Le gros intestin, qui est grêle aussi après sa sortie du cœcum et qui est occupé généralement sur toute sa longueur par des crottes moulées, ne renferme son contenu normal que si la maladie a été de courte durée ; quand elle a duré plusieurs jours, le gros intestin est presque vide ou ne contient que des matières molles. La vésicule biliaire est généralement pleine.

Très exceptionnellement nous avons observé la mort tardive avec hypertrophie des reins et réplétion de la vésicule biliaire par une matière pulpeuse décolorée, ainsi qu'il arrive dans les morts tardives de choléra.

On retrouve le bacille en virgule dans l'intestin, dans la vésicule biliaire, dans le foie. Nous ne l'avons pas retrouvé dans le sang ni dans les reins.

L'analogie avec le choléra est donc très grande ; elle existe dans les symptômes, dans les lésions et dans la distribution du bacille virgule.

Nous ne devons pas taire cependant que l'on a signalé la présence des virgules dans le sang après une inoculation duodénale (Van Ermengem), dans les reins (Doyen), dans de l'urine même qui présentait une réaction alcaline (Finkler et Prior). Ce sont là des faits exceptionnels et qui trouveraient peut-être leur explication tout accidentelle. Quelques uns même d'entre eux nous semblent demander confirmation. La comparaison avec le choléra de

l'homme doit en tous cas, à ce point de vue, se borner aux expériences d'inoculation stomacale la plus simple. En ce qui concerne l'urine, on verra plus loin qu'elle n'est alcaline qu'après l'injection d'une forte dose de matière alcaline elle-même.

Si nos essais ont souvent donné des résultats positifs, nous avons aussi rencontré fréquemment des séries infructueuses. Les causes des insuccès pouvaient être recherchées soit dans le virus lui-même dont l'activité pathogène aurait pu varier, soit dans les conditions pouvant influencer sur la réceptivité des animaux. Nous nous sommes attachés à déterminer ces causes par des expériences multiples et variées dont nous allons maintenant exposer les résultats.

1° *Inoculation duodénale.* — L'inoculation par injection directe de virus dans le duodénum paraît réussir plus souvent que la simple inoculation par l'estomac. L'opération en elle-même étant très régulièrement supportée par le cobaye, il faut donc croire qu'il y a dans ce mode opératoire des conditions particulières de réussite. Ces conditions ne se réduisent pas seulement au fait d'éviter le séjour des virgules dans le liquide acide de l'estomac, car la neutralisation du suc gastrique devrait donner un résultat analogue et nous verrons qu'il n'en est rien.

Nous invoquons parmi les conditions qui peuvent agir favorablement dans ce cas : d'une part l'inappétence qui suit l'opération et qui peut provoquer un jeûne plus ou moins prolongé (*voir plus loin*) ; d'autre part, l'influence complexe que peut exercer un traumatisme grave sur l'innervation du tube digestif, sa vascularisation et ses sécrétions.

2° *Neutralisation du suc gastrique.* — Le peu de résistance de la virgule aux acides a engagé tous les expérimentateurs à neutraliser le suc gastrique. M. Koch a employé le bicarbonate de

soude en solution aqueuse à 5 %, injectée à la dose de 5 centimètres cubes. Cette dose a été trouvée suffisante pour neutraliser le suc gastrique pendant plusieurs heures, sans incommoder les cobayes. Elle ne s'est pas trouvée suffisante à elle seule pour rendre l'inoculation fructueuse.

Tel a été le résultat entre nos mains, tel il a été entre les mains de M. Koch et de tous.

Nous avons recherché quelle est l'influence du bicarbonate de soude sur la réaction des liquides digestifs et voici nos expériences :

Exp. Six cobayes qui ont jeûné de la veille, reçoivent, par la sonde, chacun 5 centimètres cubes de la solution à cinq pour cent de bicarbonate de soude par cent grammes de poids (soit 10 à 30^{cc}), on les laisse manger ensuite à leur faim. Aucun de ces animaux n'a été incommodé ni immédiatement, ni plus tard. Au lendemain on en sacrifie un qui se trouve avoir les voies digestives gorgées d'aliments. L'estomac a un contenu très acide, l'intestin grêle alcalin, puis neutre dans la portion inférieure ; dans le cœcum, les matières redeviennent acides et le demeurent jusqu'à l'anus. L'urine est alcaline.

Un septième cobaye a reçu en même temps la même quantité de bicarbonate de soude, après un jeûne de 24 heures également. Après un nouveau jeûne de 24 heures, on trouve à l'examen les voies digestives vides et la réaction alcaline sur toute leur longueur, l'estomac y compris ; dans le rectum seulement la matière devient acide.

Il résulte de ces examens :

1° Que le bicarbonate de soude, même en dose beaucoup plus forte que celle indiquée par M. Koch, n'a d'effet durable qu'à la condition de faire jeûner l'animal ;

2° Que la dose de 5 centigrammes par 100 grammes de poids est absolument inoffensive ;

3° Que l'urine des cobayes ainsi traités est devenue alcaline ;

4° Que le contenu du cœcum peut être rendu alcalin.

Ce dernier fait est de grande importance, car le cœcum du cobaye est un diverticule aussi volumineux que l'estomac ; les

matières y sont liquides et en sortent à l'état presque solide, c'est donc qu'il y a dans le cœcum une résorption active. Il est d'après cela possible que le rôle du cœcum dans le choléra du cobaye soit considérable et celui de l'intestin grêle relativement faible. Une expérience de M. Koch établissant l'extrême rapidité de la circulation dans cette portion de l'intestin, peut être interprétée dans le même sens (Voir ci-après au paragraphe consacré à l'action de l'opium).

3° *Jeûne avant et après l'inoculation, alimentation.* — Nous venons de voir que l'action du bicarbonate de soude est plus durable lorsque l'animal jeûne.

Le jeûne seul fait disparaître l'acidité de l'estomac et du cœcum ; c'est ce que prouve l'expérience suivante :

Exp. On fait jeûner deux cobayes. Le premier est sacrifié après 24 heures. On trouve l'estomac acide, l'intestin grêle neutre ou légèrement alcalin, le cœcum neutre, le colon et le rectum acides. L'urine est acide.

Le second est sacrifié après 48 heures ; estomac, intestin grêle, cœcum, alcalins. Le colon est à réaction neutre, le rectum acide. Urine acide.

On voit, après un jeûne de 48 heures, le tube digestif tout entier à l'exception du rectum, présenter une réaction alcaline ou neutre ; l'urine, en revanche, contrairement à ce qui a eu lieu dans les expériences précédentes, demeure acide.

Ce qui précède établit l'influence favorable sur le développement du bacille-virgule du jeûne préalable. Les expériences du chapitre précédent ont démontré la nécessité d'un jeûne consécutif, puisque la présence des aliments est capable de ramener l'acidité, même après injection d'une forte dose de bicarbonate de soude.

Les cobayes nourris d'herbe fraîche nous ont paru présenter en général une réceptivité moindre ; aussi les mettions-nous quelques jours avant l'expérience au son ou au blé.

Nous avons aussi essayé sur de nombreux cobayes du son additionné d'eau alcoolisée, espérant obtenir une race chétive qui présenterait plus de réceptivité. Quelques-uns ont succombé. Les animaux ainsi nourris mangent fort peu ; il y a, par conséquence, peu de sucs acides sécrétés. C'est peut-être, avec la débilitation générale, dans ce fait qu'il faut chercher la cause du succès de ces inoculations.

4° *Influence de la température ambiante.* — Nos premières séries heureuses avaient été obtenues par des temps froids d'automne. Essayant de nouveau pendant l'été, nous fûmes absolument malheureux.

C'est, du reste, le raisonnement suivant qui a appelé notre attention sur ce point : Si les accidents cholériques sont le fait d'un empoisonnement, ils seront exagérés par toutes les influences capables de suspendre l'élimination ou la destruction du poison ; la diminution de la sécrétion rénale et la suspension de la respiration cutanée ou pulmonaire peuvent agir de la sorte.

Suspendre la sécrétion des reins n'est pas chose facile (quelques essais de compression digitale des artères et veines rénales amenèrent des accidents mortels indépendants de toute inoculation). Réduire la perspiration cutanée et pulmonaire peut s'obtenir par l'effet du froid agissant soit en diminuant l'évaporation, soit en provoquant une contraction vasculaire qui éloigne le sang de la périphérie. Quoi qu'il en soit de ce raisonnement, le fait est le suivant : des séries consécutives ont succombé tout entières par temps froid lorsque, après un jeûne de douze ou vingt-quatre heures, on a injecté la solution neutralisante de bicarbonate de soude et ensuite la culture de virgules. On peut remplacer l'air froid par l'immersion dans l'eau. Ce procédé demande à être fait avec ménagement, l'immersion seule pouvant amener des accidents chez les cobayes. L'application du froid d'une façon quel-

conque exige, du reste, des précautions, car les cobayes y sont très sensibles. Les éleveurs savent que le froid les tue aisément. Toutes ces expériences doivent être en conséquence sérieusement contrôlées.

5° *Opium*. — M. Koch est parti dans ses expériences de l'idée que l'inoculation pourrait être favorisée si l'on ralentit la progression des matières dans l'intestin grêle par un arrêt artificiel des mouvements péristaltiques et de la presse abdominale. Par diverses expériences il avait trouvé que cette progression est très rapide dans le cobaye ; après deux heures et demie il avait retrouvé dans le cœcum les matières ingérées. Il avait été confirmé dans cette idée par une inoculation heureuse survenant isolée dans une série nombreuse et frappant une femelle qui, dans la nuit, avait avorté (dans un cas semblable nous avons vu l'animal survivre).

M. Koch a étudié successivement l'action de l'alcool, du chloral, de la morphine, de l'atropine et de l'opium, en injection sous-cutanée et péritonéale. L'opium lui a donné les meilleurs résultats, injecté dans la cavité péritonéale sous forme de teinture à la dose de 1^{cc}. pour 200 grammes du poids de l'animal.

Les cobayes sont narcotisés rapidement pour un temps qui varie de 1/2 heure à 1 heure ; ils se réveillent et paraissent de nouveau bien portants. S'ils ont reçu préalablement du liquide contaminé précédé d'une injection de 5 centimètres cubes de la solution bicarbonatée à 5 0/0, ils ne tardent pas à tomber malades et à succomber. Dans une expérience 30 cobayes moururent sur 35.

Des expériences de contrôle furent faites avec le bacille incurvé de Finkler et Prior (5 cobayes moururent sur 15), avec celui que Deneke a trouvé dans le vieux fromage (3 cobayes moururent sur 15), avec celui que Miller a retiré d'une dent creuse (quatre cobayes succombèrent sur 21).

En substituant, dans l'expérience de Koch, l'alcool à la teinture d'opium, nous n'avons pas été plus heureux que cet auteur. Les

cobayes succombent souvent de la seule intoxication alcoolique poussée jusqu'à la torpeur que réclame M. Doyen.

6° *Injection d'alcool.* — M. Doyen injecte par la voie stomacale 1^{cc}.6 à 1^{cc}.8 d'alcool à 40° centésimaux par 100 grammes de poids de l'animal, et, en outre, une solution de bicarbonate de soude à 5 0/0, ou bien il répète simplement l'injection alcoolique après 24 heures, et il voit les cobayes succomber dans ces conditions à l'inoculation stomacale de la virgule.

Pour lui l'alcool agit : 1° en modifiant la sécrétion gastrique qui devient neutre ou alcaline surtout lorsqu'on injecte l'alcool deux ou trois jours de suite ; 2° en abaissant, pendant la période de l'ivresse, la température de 1 à 2 degrés. M. Doyen affirme que le développement du bacille-virgule devient presque nul vers 40°, température profonde du cobaye ; 3° en déterminant un certain degré d'irritation gastro-intestinale.

Le bacille-virgule végète très activement à 40°, notre expérience contredit en ceci celle de M. Doyen.

7° *Inoculations préventives.* — M. Ferran dit avoir constaté que des cobayes qui avaient subi une première injection sous-cutanée non mortelle de culture, en supportaient de plus grandes quantités que ceux que l'on injectait pour la première fois. Ainsi des cobayes qui avaient reçu une première fois 3^{cc}. supportèrent après huit jours des doses de 6 et 8^{cc}.

Il était particulièrement intéressant de rechercher si une injection sous-cutanée préalable rendait les cobayes réfractaires à l'inoculation par voie stomacale. Déjà MM. Paul Gibier et van Ermen-gem ⁽¹⁾ ont fait des recherches dans ce sens et sont arrivés à une conclusion négative. Voici une expérience bien concluante dans le même sens :

(1) Acad. des Sc., 10 août 1885.

Cinq cobayes reçoivent en injection sous-cutanée 1^{cc} de culture dans du bouillon. Au sixième jour après, on leur administre, au moyen de la sonde stomacale, dix centimètres cubes de la solution bicarbonatée sodique à 5 0/0 contaminée avec quelques gouttes de culture. Deux sont morts, l'un après deux fois vingt-quatre heures, l'autre après quatre fois vingt-quatre heures. Des virgules ont été trouvées dans les voies biliaires des deux.

Expérience de contrôle : Trois cobayes non inoculés ont reçu en même temps même quantité du même liquide à bacilles. Des trois, un est mort après quatre fois vingt-quatre heures.

M. Ferran n'a pas fait cette expérience parce que n'ayant rencontré que des cobayes réfractaires à l'inoculation par voie intestinale, il en était arrivé à n'en tenir aucun compte.

8° *Virus atténué*. — Reprenant, en mai 1885, une nouvelle série d'inoculations avec du virus conservé par transplantations successives depuis le mois d'octobre 1884, nos expériences demeurèrent sans résultats. En rapprochant ce fait d'un résultat analogue signalé par M. Van Ermengem, nous avons été tentés d'en conclure que le bacille-virgule s'atténue dans les conditions où ont été faites nos cultures, c'est-à-dire dans le bouillon ou la gélatine nutritive et par une température moyenne de 20 à 25° (1).

Nous devons revenir sur cette conclusion, car le virus de même provenance conservé par transplantations successives, soit dans les mêmes milieux, soit dans l'agar-agar, s'est montré de nouveau très virulent à la date du 8 février dernier (1886).

Six cobayes sont soumis à un jeûne de douze heures, après lequel on leur injecte dans l'estomac une solution à 5 0/0 de bicarbonate de soude contaminée pour trois d'entr'eux par de la culture de 1885, et pour les trois autres, par de la culture de 1884. On les fait jeûner ensuite pendant cinq heures.

Culture de 1884 : Des trois cobayes, l'un meurt après 24 heures, le second après 48 heures, le troisième après trois jours et demi.

(1) Voir notre note à l'Acad. des Sc., séance du 13 Juill. 1885.

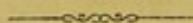
Culture de 1885 : Des trois cobayes, deux ont survécu, un seulement est mort après 48 heures.

Pour expliquer nos insuccès répétés du mois de mai 1884, nous croyons devoir invoquer : 1° le peu de réceptivité d'animaux nourris très abondamment à l'herbe fraîche, en plein air et par une température chaude, et 2° la non observance du jeûne après l'inoculation.

Conclusions. — Les cobayes peuvent être inoculés par l'estomac. Les conditions les plus favorables nous paraissent données en choisissant des animaux nourris au son ou au blé, en les faisant jeûner avant et après l'inoculation et en leur injectant avec le virus, qui peut être en quantité aussi faible que l'on veut, de l'eau bicarbonatée sodique à 5 0/0, à raison de 5^{cc} par 100 grammes du poids de l'animal; enfin, il est bon de maintenir les animaux à une température un peu basse.

L'opium, l'alcool, les traumatismes favorisent l'action du virus.

L'inoculation préventive par injection sous-cutanée de virgules est sans effet.



CHAPITRE IV

Ptomainé du choléra.

Parmi les auteurs qui se sont occupés, ces dernières années, de l'étiologie et de la physiologie du choléra, plusieurs ont émis l'hypothèse que le bacille-virgule sécrète un poison ⁽¹⁾.

Nous avons pu, dès l'automne 1884, mettre en évidence la toxicité des liquides de culture. (Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, 24 novembre 1884).

« Si, au moyen du filtre Pasteur, on dépouille de leurs bactéries des cultures pures *anciennes de huit jours au moins*, obtenues soit dans le bouillon, soit dans la gélatine nutritive (formule de M. Koch) et que l'on injecte le liquide ainsi obtenu *dans le torrent circulatoire sanguin* (veine jugulaire, veine crurale) des chiens, on observe les symptômes suivants :

« Dans une expérience, vomissements, selles, abattement général, puis rétablissement en une heure.

« Dans d'autres expériences : on a observé des troubles de la respiration caractérisés par des inspirations et des expirations plus profondes, des troubles des organes digestifs sous forme d'efforts de vomissements répétés ; puis des troubles moteurs remar-

(1) Koch, 1^{re} Conférence, 26 juillet 1884, p. 33-36 ; Strauss et Roux, *Bulletin de l'Acad. de Méd.*, 5 août 1884, p. 1055.

quables se sont manifestés: un chien, qui a guéri ensuite, s'est affaissé sur ses pattes; relevé, il a fait de vains efforts pour marcher; les pattes de devant se repliaient à leur extrémité; un chien plus petit est tombé immobilisé, conservant cependant les yeux ouverts et montrant par de très légers mouvements de la queue, lorsqu'on le caressait, que son intelligence et sa sensibilité paraissent conservées. Ce chien est mort dans la nuit, après plus de douze heures.

« A l'autopsie, nous avons trouvé des taches ecchymotiques étendues dans le duodénum, et quelques-unes moins grandes dans l'estomac. La vessie urinaire était vide; la substance corticale des reins était fortement injectée ».

Voici les expériences sur lesquelles s'appuie cette note :

EXP. I. *Culture récente dans du sang*, filtrée au filtre Pasteur. Injection dans la veine jugulaire d'un petit chien de 5⁰⁰⁰ de ce liquide. Quelques instants après, mouvements de la langue comme de gustation; du reste, pas d'autres symptômes.

EXP. II. *Culture dans du bouillon, vieille de trois jours, filtrée*. Injection dans la veine crurale de 6⁰⁰⁰; température, cinq heures après l'opération, 39°, pas de symptômes.

EXP. III. *Culture bouillon, peu ancienne, filtrée*. Injection de 2⁰⁰⁰ dans la veine jugulaire d'un chien. Après dix minutes, mouvements de respiration profonds avec participation des muscles accessoires pour l'inspiration comme pour l'expiration, frisson prolongé, température 38°5; tous symptômes qui disparaissent après quelques minutes. L'animal paraît fatigué le lendemain et le surlendemain, mais il va et vient, mange. Il meurt dans la nuit du troisième jour. On trouve à l'autopsie: vacuité de la vessie urinaire, injection de la substance corticale des reins; réplétion de la vésicule biliaire avec de la bile épaisse et foncée, pas d'altération intestinale.

EXP. IV. *Culture filtrée récente*. Injection dans la jugulaire de deux chiens, 6⁰⁰⁰ à l'un, 18⁰⁰⁰ à l'autre. Pas de symptômes, sinon, peu après l'injection, mouvements de la langue comme de gustation, températ. 39°.

EXP. V. *Culture ancienne dans la gélatine filtrée.* Injection de 6^{cc} dans la jugulaire d'un petit chien. — L'animal après 16 minutes s'affaisse sur ses pattes, mouvements de défécation, température 39°3. Après 40 minutes température = 40°2, état de paralysie totale. Seuls les mouvements de la respiration persistent et quelques petits mouvements de la queue; quand on tire sur la patte elle se contracte cependant. Même état après cinq heures. Mort dans la nuit après dix heures. A l'autopsie on trouve: dans l'estomac, quelques taches ecchymotiques; dans le duodénum, larges ecchymoses, vessie vide, substance corticale du rein très foncée, sang liquide noir abondant dans le cœur et les gros vaisseaux.

Injection de même quantité à un chien de taille moyenne. Il s'affaisse sur ses pattes après 1/2 heure; après 1 heure ne peut encore se tenir sur ses pattes, qui se plient quand il essaie de marcher. Après cinq heures il marche. Le lendemain il est guéri.

EXP. VI. *Culture ancienne dans le bouillon, filtrée; injection dans la veine crurale d'un chien de taille moyenne de 6^{cc} de liquide.* —

L'animal, après 15 minutes, se couche, refuse de manger			
»	20	»	température rectale 39°;
»	25	»	vomit;
»	30	»	défile, se recouche très abattu;
»	35	»	nouveau vomissement;
»	40	»	température rectale, 38°8;
»	45	»	température, 38°8, respiration 32;
»	1 h. 15	»	température, 37°, respiration, 28;
»	1 h. 35	»	toujours très abattu;
»	7 h. 00	»	rétabli.

Une piqûre à l'oreille faite après 45 minutes ne laisse d'abord pas écouler de sang, puis bientôt un sang abondant non altéré.

Les mêmes liquides injectés sous la peau étaient restés sans action marquée.

L'action toxique des cultures fut confirmée bientôt après par M. Van Ermengem (*Bulletin de l'Académie de Médecine de Belgique*, n° 12. Séance du 27 décembre 1884):

« Les liquides de culture privés d'organismes cholériques par filtration au moyen du filtre Chamberland, ou dans lesquels ils ont été tués en maintenant la culture entre 60 et 70° pendant une demi-heure, possèdent encore une action toxique très manifeste.

« J'en ai injecté des doses variables dans le duodénum de cinq cobayes. Les doses d'un centimètre cube sont restées sans effet marqué ; un cobaye a succombé rapidement, en moins d'une heure, à l'injection de 3 à 4^{cc}, avec des phénomènes d'algidité extrêmes. La même quantité injectée dans le péritoine a tué un autre cobaye et déterminé des symptômes toxiques identiques. Un à deux centimètres cubes en injection hypodermique ne provoquent que quelques troubles passagers et ne donnent lieu à aucune réaction locale. »

Plus tard, M. Koch apporta aussi des expériences à l'appui de l'hypothèse qu'il avait émise le premier (*Deuxième Conférence*, p. 8, 4 mai 1885) :

« Ainsi que je vous l'ai déjà exposé antérieurement, nous ne pouvons comprendre l'action des bacilles du choléra qui ne pénètrent pas dans le sang, qu'en admettant qu'ils produisent des substances toxiques appartenant au groupe des ptomaines ; ces substances sont résorbées et agissent alors sur l'ensemble de l'organisme. Pour donner à cette conception une base expérimentale, je me suis efforcé de démontrer directement l'existence de ces produits vénéneux des bacilles du choléra ; mais ces recherches n'ont pas encore pleinement réussi. Il en résulte seulement que l'on parvient à obtenir des cultures du bacille-virgule qui possèdent une action toxique intense ; injectées aux animaux sous la peau ou dans la cavité péritonéale, elles provoquent en quelques minutes le même ensemble de symptômes qui ne se manifeste chez les animaux atteints de choléra que un à deux jours après l'infection : faiblesse à forme paralytique des extrémités postérieures, refroidissement de la tête et des jambes, respiration ralentie ; cet état se termine le plus souvent par la mort après quelques heures. »

D'un autre côté, M. Gabriel Pouchet avait réussi à retirer un poison des déjections cholériques (*Comptes-rendus de l'Académie des Sciences*, 17 novembre 1884) : « Traitées par épuisement au

moyen du chloroforme, elles abandonnent à ce dissolvant une substance liquide huileuse, s'oxydant facilement, et douée d'un pouvoir extrêmement toxique. Ce composé est certainement une ptomaïne, et j'en continue actuellement l'étude. L'injection sous-cutanée d'une trace de ce liquide, pratiquée sur une grenouille, la tue rapidement, avec un ralentissement considérable des mouvements du cœur, et l'on observe, après la mort, une rigidité générale des plus intenses. »

M. Villiers apporta bientôt de son côté des renseignements sur une ptomaïne de même provenance (Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, 12 janvier 1885) ; par la méthode de Stas, il retira des organes de deux cholériques un alcaloïde nettement caractérisé par sa réaction alcaline et ses réactions chimiques ; il fut trouvé en quantité notable dans l'intestin ; les reins en contenaient des traces bien caractérisées, le foie et le sang du cœur des quantités à peu près nulles. « Cet alcaloïde est liquide ; il possède une saveur âcre et une odeur d'aubépine assez franche. » M. Villiers essaya l'action physiologique sur un cobaye et deux grenouilles ; il nota seulement une variation du nombre des battements du cœur et des mouvements musculaires. Enfin, M. Villiers indiqua plusieurs réactions chimiques sur lesquelles nous reviendrons (iodure de potassium et de mercure, iodure de potassium ioduré, eau bromée,, acide picrique, chlorure d'or, ferricyanure et perchlorure de fer, acide sulfurique).

Quinze jours après, M. Pouchet revient encore sur ce sujet (Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, 26 janvier 1885) : « La ptomaïne est un liquide primitivement incolore, offrant l'odeur des bases pyridiques, s'oxydant à l'air et à la lumière avec une extrême rapidité et se colorant d'abord en rose, puis en brun. » Le chlorhydrate se dissocie facilement et réduit le mélange de ferricyanure de potassium et de chlorure ferrique ; il réduit aussi les chlorures d'or et de platine. M. Pouchet parle d'une intoxication

assez intense qu'il aurait éprouvée par l'inhalation des vapeurs de la base et *qui aurait débuté dix-huit heures après cette inhalation*. M. Pouchet qui était parvenu, avec le produit brut séparé des déjections par le chloroforme, à tuer une grenouille en moins de deux heures, n'a plus réussi avec le produit purifié qu'à déterminer chez un cobaye « l'irrégularité des mouvements du cœur et un frisson passager qui n'a été suivi d'aucun accident grave. »

En reprenant, en 1885, nos recherches sur le choléra ⁽¹⁾, nous nous étions proposé d'acquérir des données plus positives sur l'action physiologique de la ptomaïne des cholériques, et d'examiner si les cultures de bacille-virgule contiennent un poison exerçant des effets analogues. Notre programme pour les cultures était déjà rempli, en grande partie, quand M. Pouchet fit paraître une note sur le même sujet (Comptes-rendus de l'Académie des Sciences, 24 août 1885) :

« Dans une note présentée à l'Académie, le 17 avril 1884, ainsi que dans deux notes publiées ensuite, j'ai établi l'existence, dans les déjections des cholériques, d'une substance alcaloïdique très altérable et se comportant comme un poison violent à l'égard de l'homme et des animaux ; il était intéressant de déterminer, au point de vue de la pathologie elle-même, le mode de production ainsi que le rôle de cette substance dans les manifestations cholériques.

« Pour y parvenir, j'ai analysé, à l'instigation de M. le professeur Brouardel, des bouillons de culture pure du microbe de Koch, et j'ai pu y constater la présence, à l'état de traces, il est vrai, d'un alcaloïde liquide et dont les caractères (odeur, altérabilité, toxicité pour les animaux) paraissent identiques à ceux de la substance isolée des déjections des cholériques. »

(1) Les résultats ont été indiqués dans nos notes des 1^{er} octobre, 1^{er} novembre et 15 novembre, du *Journal de pharmacie et de chimie*. Voyez aussi la communication faite par M. Riche à l'Académie de Médecine, le 27 octobre 1885.

On se demande comment, avec *des traces* de cette substance, M. Pouchet a pu établir son identité avec la ptomaïne des cholériques, étant données surtout les expériences physiologiques bien incomplètes relatées plus haut, ainsi que l'accident à peine croyable observé par M. Pouchet sur lui-même et dans lequel la ptomaïne n'aurait agi que dix-huit heures après son inhalation. M. Pouchet exagère donc quand il prétend avoir démontré l'identité des deux ptomaïnes (*Bulletin de l'Académie de Médecine*, 3 novembre 1885); non seulement il n'a pas démontré cette identité, mais il n'a même apporté aucun fait positif sur l'action toxique de la ptomaïne des cultures.

Voici l'exposé de nos expériences :

Ptomaïne des cultures.

Exp. I. Un litre de bouillon à 15 p. 1000 de peptones et 5 p. 1000 sel marin, matras rempli presque jusqu'au col; température 30 à 35 degrés les premiers jours après ensemencement; laissé végéter quatre semaines. On a vérifié alors que le liquide était une culture pure de bacilles-virgules. Acidulé par l'acide tartrique, réduit au bain-marie au quart du volume, additionné le résidu de son double volume d'alcool à 90°, filtré, évaporé en extrait ferme, repris par alcool à 92°, filtré, évaporé à sec. Le résidu est dissous dans un peu d'eau, additionné de carbonate de soude, agité trois fois avec de l'éther, chaque fois avec trois ou quatre volumes. L'éther décanté est agité avec quelques centimètres cubes d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique. La solution aqueuse chauffée à 35°-40° jusqu'à disparition de toute odeur éthérée est neutralisée par le carbonate de soude. On obtient 5^{cc} dont 3 sont injectés sous la peau d'un jeune cobaye pesant 130 grammes. Après quelques moments, paresse des membres postérieurs; l'animal tombe sur le côté à chaque pas en marchant; puis, il ne fait plus que se traîner sur le ventre en tombant encore à chaque instant; enfin il reste couché sur le flanc. Contractions spasmodiques du diaphragme; plus tard, secousses convulsives des membres, des postérieurs surtout. Bave s'écoulant de la bouche; mouvements des mâchoires comme pour mâcher. Respiration notablement ralentie, quand il reste couché

sur le flanc. Après 50 minutes, rétablissement lent qui laisse après cinq et même encore vingt-quatre heures une certaine paresse.

Exp. II. Deux litres de bouillon à 40 p. 1000 de peptones et 20 p. 1000 de sel marin ; température 30 à 35° les premiers jours, puis laissé à la température ambiante. Laissé végéter du 3 juin au 13 août. Vérifié alors que c'est une culture pure. Dans cette expérience comme dans la précédente, la rareté de l'oxygène avait évidemment ralenti la végétation. Traité comme dans l'Expérience I. Obtenu 9^{cc} de solution aqueuse neutre.

A. Injecté les 2/3 en trois fois, à quelques minutes d'intervalle, à un jeune cobaye de 145 grammes. Après quelques minutes, la marche devient plus difficile, paresse des extrémités postérieures, tendance à s'endormir ; puis se tient à peine sur ses pattes qui restent écartées. Marche encore plus pénible, l'arrière-train tombant à chaque instant sur le côté. Sensibilité réflexe intacte. Après un quart d'heure la température est 36°8, de 38°8 au début. L'animal, tombe alors couché sur le flanc sans pouvoir se relever. Après une demi-heure, la température est descendue à 35°4 ; hoquets, respiration et amplitude des battements cardiaques irrégulières. Après 40 minutes environ, la température n'est plus que de 33°8 ; secousses musculaires, surtout dans les membres postérieurs. Muqueuse buccale très-pâle. La section de la peau ne provoque pas d'hémorrhagie. Immobilité complète. On met à nu les muscles de la jambe et l'on applique sur eux directement le courant d'induction : les muscles se contractent. On met à nu des nerfs exclusivement moteurs et l'on y applique le même courant : le muscle se contracte. Enfin, on excite le bout central d'un nerf sensitif sectionné : l'animal gémit et contracte la patte correspondante. Mort au bout de trois heures de cet état. A l'autopsie on constate la vacuité de la vessie ; pas trace d'entérite.

B. Un centimètre cube du même liquide est injecté à une souris du poids de 95 grammes. Après quelques minutes on note de la paresse des extrémités et des muscles de la nuque, état qui va s'augmentant pendant quelques heures, mais sans atteindre un haut degré. Pas d'abaissement de la température. Rétablissement complet le lendemain.

C. Petite souris du poids de 21 grammes. Injection sous la peau de 2^{cc} du même liquide. Immédiatement après l'injection, l'immobilité est complète ; quand on pince fortement la queue, l'animal fait péniblement un effort comme pour fuir, témoignant que la sensibilité est conservée. Diminution rapide de la température qui descend jusqu'à 32°.

Mort dans cet état après 26 heures. Jusqu'à la fin immobilité, mais conservation de la sensibilité.

Exp. III. (Contre-épreuve). Un litre de bouillon de même composition que celui qui a servi à l'expérience II, préparé en même temps et avec les mêmes matériaux, est stérilisé et reste placé comme témoin à côté des précédents. Il ne s'y produit aucune végétation. On le traite ensuite par la méthode indiquée; on obtient 2^{cc}·5 de liquide neutre que l'on injecte en totalité sous la peau d'un cobaye nouveau-né du poids de 70 grammes. Abaissement léger de la température jusqu'à 36°6; absence totale d'autres symptômes; l'animal ne perd pas un instant de sa vigueur.

Exp. IV. Un litre de bouillon avec 40 0/00 peptones et 20 0/00 sel marin; laissé végéter sept jours à 30-35° dans des matras remplis seulement au tiers et agités fréquemment.

A. Le tiers du liquide obtenu est injecté à une souris de 18 grammes. On observe des symptômes tout à fait analogues à ceux de l'expérience I. Après 25 minutes la température descend à 33°. L'animal est immobile, couché sur le dos, faisant à peine quelques mouvements des pattes quand on lui pince fortement la queue; cet état se prolonge plus de vingt-quatre heures; le surlendemain la souris est trouvée morte.

B. Le reste de la solution chlorhydrique reste neuf jours sous la cloche pneumatique dans le vide partiel en présence de l'acide sulfurique. Injecté alors en totalité à une souris du poids de 25 grammes, il ne produit aucun symptôme.

Exp. V. Un litre et demi de bouillon (1) sans peptones à 5 0/00 de sel marin; végétation de huit jours à 30-35° dans des matras à moitié pleins. La totalité de la solution chlorhydrique neutre (1^{cc}·) est injectée à une souris de 21 grammes. Après huit minutes reste en place couchée sur le ventre, le museau à terre; mouvements convulsifs verticaux de la tête de courte durée, mais se répétant de temps en temps. Après dix-huit minutes, respiration saccadée, marche chancelante, cris plaintifs. Après vingt-deux minutes, température 33°2, convulsions générales. Après cinquante minutes $t = 27°6$. Bave alcaline à la bouche. Après 1 heure 23, $t = 25°$. Mouvements convulsifs de sauts dont un jette l'animal sur le flanc; il reste couché ainsi; respiration très lente. Mort dans cet état 1 h. 1/2 après l'injection.

(1) Un litre de bouillon correspondait, comme dans les autres expériences, à 1/2 kilog. de viande de bœuf.

Exp. VI. 1/2 litre de bouillon avec 40 0/00 de peptones et 5 0/00 de sel marin; végétation dans un matras à moitié plein pendant onze jours à une température de 17 à 26° environ (matras placé dans le laboratoire). Le liquide obtenu (un peu moins de 1^{ère}) est injecté en totalité à une souris qui ne manifeste dans les deux premières heures que paresse, marche chancelante; abaissement de la température: $t = 30^{\circ}5$ après une heure; point de convulsions; trouvée morte le lendemain.

Exp. VII. Un litre d'eau distillée contenant 30 0/00 de peptones, 15 0/00 de sel marin, 3 0/00 phosphate de soude. Végétation pendant sept jours à 30-35° dans des matras demi pleins. Injecté la presque totalité de la solution chlorhydrique obtenue à une souris de 26 grammes. Après quelques minutes, résolution musculaire débutant par les pattes postérieures; après 10 minutes, température 35°6, puis immobilité suivie de mouvements convulsifs qui provoquent une série de sauts plus ou moins complets; morte au bout de 20 minutes.

Exp. VIII. Comme dans l'expérience VII; mais végétation de quatre jours seulement. Résultat analogue, mais l'action a paru moins énergique pour la même quantité de culture.

Dans toutes les expériences précédentes nous avons eu soin de n'employer que de la viande tout à fait fraîche; les bouillons étaient au feu cinq ou six heures au plus tard après l'abattage des animaux. Nous ne nous sommes servis que de peptones sèches que nous dissolvions à chaud soit dans le bouillon, soit dans l'eau, et que nous stérilisions presque aussitôt. L'expérience III avait montré que ni le bouillon, ni nos peptones ne fournissent, dans ces conditions et par ce traitement, un produit toxique, même après avoir été conservés stériles plus de deux mois. Au contraire les différents liquides,ensemencés de bacilles-virgules en culture pure, avaient constamment fourni des solutions chlorhydriques toxiques. Il devenait évident que le même poison doit se former dans l'intestin des cholériques.

Il était nécessaire cependant de répéter ces expériences avec un produit plus pur et de comparer son action avec celui extrait par le même procédé de l'organisme des cholériques. Pour plus de

simplicité et d'économie nous nous sommes servis dans la suite, comme liquides de culture, de solutions de peptones (3 à 5 0/0) dans l'eau distillée, avec ou sans sel marin et phosphate de soude, mais neutralisées, bien entendu, par de la soude caustique ou carbonatée ; ces solutions étaient stérilisées immédiatement. Les cultures ont été maintenues ordinairement à une température de 30-35°.

Nous nous étions aperçus, d'un autre côté, que les résidus des opérations précédentes étaient loin d'être épuisés ; en continuant à les traiter par l'éther, puis celui-ci par l'acide chlorhydrique, etc. (comme plus haut), nous avons encore pu tuer des animaux comme le montrent les expériences suivantes :

Exp. IX. 1^{cc} de solution chlorhydrique neutre injecté à une souris qui meurt en cinq minutes avec crampes, convulsions, sauts brusques.

Exp. X. Deux jours après, injecté 1/2^{cc} de la même solution à une souris. Somnolence, paresse surtout du train postérieur ; laisse tomber le museau à terre. Après 10 minutes, température 34°. Ne meurt qu'après 26 heures et n'a pu être observée que d'une façon très intermittente. Après une vingtaine d'heures on a noté par moments des sauts convulsifs, plus tard un tremblement fibrillaire généralisé.

Exp. XI. Solution chlorhydrique toujours obtenue avec une partie des résidus précédents déjà traités quinze fois par l'éther. 1^{cc} injecté à une souris. Paresse, surtout du train postérieur ; puis marche chancelante, reste couchée ensuite sur le ventre, le museau à terre, les pattes postérieures écartées ; se traîne avec peine quelques pas, quand on lui pince la queue ; puis tombe sur le flanc et reste immobile, sauf de temps en temps un mouvement convulsif ; trouvée morte le lendemain. Après 6 minutes température 35°8, après 17 minutes 33°2.

Pour les expériences ultérieures nous avons alors employé le traitement suivant. Les cultures acidulées par l'acide tartrique sont concentrées, filtrées, puis concentrées encore au dixième environ du volume initial ; le résidu est traité par trois à quatre volumes d'alcool ; on filtre, évapore à siccité, reprend par l'alcool à 92°, filtre et évapore à siccité. Résidu repris par très peu d'eau, neutralisé par le bicarbonate de soude, puis additionné avec précaution

de soude caustique en évitant toute élévation de température; on agite avec quatre à six volumes d'éther, et ce véhicule décanté est agité avec de l'acide chlorhydrique fumant dilué de quatre volumes d'eau ou même seulement de deux volumes. Puis on fait faire au même éther un grand nombre de fois la navette entre la solution alcaline et l'acide chlorhydrique, en remplaçant celui-ci quand il est saturé ou près de l'être. La solution chlorhydrique, lavée deux fois avec plusieurs volumes d'éther, est soumise encore une fois à tout le traitement: bicarbonate de soude, soude caustique, éther, acide chlorhydrique. La deuxième solution chlorhydrique (ou la troisième, si la deuxième est encore trop colorée), rendue alcaline par la soude caustique, est traitée par l'éther que l'on décante et évapore.

Nous avons, pendant quelque temps, remplacé l'éther par le chloroforme que nous purifions nous-mêmes et qui nous semblait enlever plus rapidement la ptomaïne à ses solutions aqueuses; mais nous avons ensuite constaté qu'ici encore un grand nombre de traitements étaient nécessaires, et nous sommes de nouveau revenus à l'éther, surtout pour le traitement final, car pendant l'évaporation du chloroforme nous avons pu constater un dégagement notable de vapeurs alcalines. Pendant ces longues manipulations on perd une quantité notable de ptomaïne.

On obtient comme résidu un liquide sirupeux, jaunâtre, très soluble dans l'eau, colorant fortement le papier de tournesol rouge en bleu, ordinairement avec nuance verdâtre; placé sur le couvercle d'un bain-marie d'eau bouillante, le papier ne reprend qu'à la longue sa coloration rouge primitive; à la température ordinaire, il la conserve quelques jours au moins. Si on place au bain-marie la capsule contenant l'alcali, celui-ci se volatilise lentement en donnant des fumées blanches. Le résidu possède ordinairement, surtout à chaud, une odeur aromatique que M. Villiers a comparée avec raison (pour la ptomaïne extraite des cholériques) à celle de l'aubépine; il se pourrait cependant que cette odeur soit due à des

impuretés et non à l'alcali lui-même. Nous avons obtenu une fois par l'évaporation du chloroforme un résidu solide, alcalin, soluble dans l'eau, etc.; il serait possible que l'état liquide soit dû à un reste d'eau. Une autre fois, par l'évaporation très lente d'éther, nous avons trouvé (le lendemain) dans la capsule à la fois quelques gouttelettes liquides et des aiguilles cristallisées, d'un blanc sale; mais le tout en quantité bien faible, et nous ne nous sommes pas assurés si ces cristaux étaient dus à l'alcali libre ou à son carbonate. La solution aqueuse est jaunâtre, la solution chlorhydrique jaune-rougeâtre; ces colorations peuvent être dues à des impuretés ou à une altération par l'oxygène de l'air.

Le chlorhydrate encore impur qui, à la dose de 1 centigramme, tuait une souris en 55 minutes (Voyez expér. XIII), a été conservé pendant quatre semaines en solution aqueuse neutre à 6 0/0 dans un flacon à l'émeri à demi plein; injecté alors à une souris à la dose de 24 centigrammes, calculée d'après le chlorhydrate primitif, il n'a produit que de la somnolence et une paresse momentanée du train postérieur; après 1 h. 1/2, l'animal était presque complètement remis.

Voici les expériences physiologiques que nous avons faites avec la ptomaine purifiée comme il a été dit plus haut.

Exp. XII Une partie du résidu est additionnée d'un peu d'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, on neutralise exactement le faible excès d'acide par du carbonate de soude et on injecte le tout à une souris. Deux minutes après l'injection, quelques convulsions; l'animal reste ensuite immobile quelques secondes, puis nouvelles convulsions intéressant surtout les muscles de la nuque, sauts convulsifs; ces alternatives se succèdent rapidement et la souris tombe bientôt sur le flanc immobile; trois minutes après l'injection elle était morte. Après que la respiration a cessé, nous observons encore quelques secousses du train postérieur, du diaphragme, des muscles de la nuque, des mâchoires.

L'action toxique du résidu ayant été ainsi constatée, il s'agissait d'en déterminer, approximativement au moins, l'énergie toxique;

nous avons saturé pour cela tout ce qui restait de ce résidu par l'acide chlorhydrique et évaporé dans une capsule tarée; pour ne pas trop perdre de substance nous n'avons pas évaporé absolument à sec. Avec ce chlorhydrate encore impur et imparfaitement desséché nous avons fait une solution titrée.

Exp. XIII. 1 centigramme est injecté sous la peau d'une souris de 15 grammes. Au bout de huit minutes les symptômes commencent à se manifester : somnolence, paresse du train postérieur, tremblement convulsif de la tête; puis convulsions générales intermittentes qui deviennent toujours plus fortes, plus longues et plus rapprochées; finalement sauts convulsifs dont un jette l'animal sur le flanc où il reste; encore quelques mouvements saccadés des pattes postérieures, des mâchoires, et, après que la respiration a cessé, quelques secousses des muscles de la nuque et des pattes antérieures; sensibilité conservée jusqu'à la fin. Une minute après la mort, en touchant les muscles du dos, on sent encore du tremblement fibrillaire. Mort : 55 minutes après l'injection.

Exp. XIV. 5 milligrammes, injectés à une souris de 17 grammes, ont déterminé : somnolence, paresse du train postérieur, un certain tremblement de la tête, mais point de convulsions; après 16 heures l'animal est encore paresseux, mais commence à manger; il se remet ensuite complètement.

Exp. XV. 6 centigrammes injectés à un cobaye de 175 grammes. Après six minutes commencent à se manifester les symptômes habituels : somnolence, paresse du train postérieur, etc.; après neuf minutes, convulsions, d'abord des muscles de la nuque et de tout le train postérieur, puis convulsions générales. Respiration ralentie, contractions brusques du diaphragme. Après quatorze minutes reste couché sur le flanc; après cessation de la respiration on remarque encore des contractions des muscles de la peau et quelques mouvements saccadés des mâchoires. Le cœur cesse de battre 17 minutes après l'injection. Température après 15 minutes = $38^{\circ}4$, après 16 minutes = $37^{\circ}6$.

Exp. XVI. Pour plus de sûreté, nous avons fait une nouvelle contre-épreuve avec les peptones sèches qui avaient servi aux expériences XII à XV; 50 grammes sont dissous dans l'eau distillée et soumis au traitement indiqué antérieurement, mais abrégé, c'est-à-dire que la première solution chlorhydrique est injectée en totalité à une souris qui ne manifeste rien.

Ptomaïne des cholériques.

Il fallait maintenant obtenir la ptomaïne retirée de l'organisme des cholériques par M. G. Pouchet et par M. Villiers, et comparer son action physiologique à celle de la ptomaïne des cultures. Nos recherches ont porté principalement sur les organes de cinq cholériques morts rapidement et en algidité; l'autopsie avait été faite ordinairement une heure, jamais plus tard que 2 heures après la mort. On a employé pour chaque cas le sang, 3 à 500 gr., et dans 3 cas, la presque totalité du foie; on a constaté pour chaque cas la présence des virgules.

Immédiatement après l'autopsie, le foie était divisé, puis le tout additionné d'alcool et d'acide tartrique jusqu'à réaction franchement acide. Plus tard, toutes ces matières ont été réunies, additionnées encore d'alcool, et on a porté le tout à l'ébullition en ayant soin de s'assurer de temps en temps que la réaction est toujours acide. Il vaut mieux employer des quantités assez grandes d'alcool, sans cela on obtient, surtout avec le sang, des liquides très difficiles à filtrer. On répète une seconde fois le traitement par l'alcool bouillant; on passe, filtre, évapore en consistance ferme, reprend par l'alcool bouillant à plusieurs reprises et évapore encore les liqueurs filtrées au bain-marie en consistance d'extract ferme. On dissout le résidu dans une faible quantité d'eau et l'on maintient quelque temps au bain-marie, puis on laisse refroidir lentement; les matières grasses forment alors à la surface du liquide une pellicule dont on se débarrasse assez facilement par décantation et filtration. Si l'on cherche à filtrer directement la solution aqueuse, il est très difficile d'obtenir un liquide clair et l'opération est extrêmement longue. La solution aqueuse est rendue

alcaline par le carbonate de soude, en ayant soin d'éviter toute élévation de température. On agite avec de l'éther, et quand celui-ci est devenu tout à fait limpide, on le décante et on l'agite avec de l'acide chlorhydrique fumant dilué au $\frac{1}{3}$ ou au $\frac{1}{5}$; la solution chlorhydrique débarrassée d'éther et neutralisée exactement par le carbonate de soude se montre très toxique. Nous avons employé directement celles qui provenaient des premiers traitements par l'éther.

Exp. XVII. Employé 1^{cc} en injection sous-cutanée à une souris. Après cinq minutes, paresse générale surtout du train postérieur ; après sept minutes, température = 35°. Les pattes de devant faiblissent, la respiration devient saccadée et moins ample ; clignotement, contraction des paupières. Contractions violentes du diaphragme donnant l'apparence d'efforts de vomissement. Après dix minutes, efforts comme convulsifs pour marcher et respirer ; queue droite, contraction musculaire générale. Après douze minutes, mouvements convulsifs, véritables décharges du train postérieur ; dans un de ces efforts l'animal tombe sur le flanc ; les secousses continuent encore dans tout le corps ; on note surtout des contractions du diaphragme. Morte après quatorze minutes.

Exp. XVIII. Injecté à une souris 1^{cc} d'une solution plus concentrée. Après trois minutes convulsions fortes, intermittentes qui durent une demi minute ; l'animal tombe alors sur le flanc ; encore quelques secousses convulsives des pattes et de la tête. Morte en cinq minutes.

Exp. XIX. Un cobaye de 200 grammes montre de la paresse quinze minutes après l'injection ; il chancelle du train postérieur ; après vingt minutes il tombe sur le flanc sans pouvoir se relever ; après 25 minutes il reste immobile, mais réagit encore par des mouvements des mâchoires, quand on le pince. Mort après 26 minutes.

Exp. XX. Cobaye de 90 grammes ; dose approximativement égale à celle donnée au précédent. Mort en quelques minutes avec convulsions.

Mais la solution ainsi employée n'était pas suffisamment pure ; il était indispensable de poursuivre le traitement ci-dessus indiqué pour les cultures, d'autant plus que la contre-épreuve n'avait pas donné une solution chlorhydrique tout à fait inoffensive.

EXP. XXI. (Contre-épreuve). Un litre de sang et deux kilog. de foie provenant d'un bœuf tué à l'abattoir, sont traités deux heures après la mort de l'animal par la méthode indiquée plus haut pour les organes des cholériques.

A. La solution chlorhydrique encore acide obtenue avec les premiers traitements par l'éther, est lavée à l'éther, débarrassée de toute trace de ce véhicule, saturée par la soude; on injecte la moitié de la solution, 1^{re}, à une souris qui, au bout d'une demi-heure, ne montre guère que de la fatigue, de l'abattement, et un certain balancement dans la marche; elle est trouvée morte le lendemain.

Il était évident cependant que cette solution était incomparablement moins toxique que celle obtenue avec le sang et le foie des cholériques.

B. L'extrait alcoolique est alors additionné encore de soude caustique, agité neuf fois avec de l'éther qui, décanté, est agité chaque fois avec de l'acide chlorhydrique; cette solution chlorhydrique est réunie à la moitié restante de A. On traite alors par la soude caustique, chloroforme, etc., comme il a été dit plus haut pour les cultures, et l'on n'obtient finalement qu'un très faible résidu jaune, solide, dont la solution aqueuse se montre sans action sur le papier de Tournesol; elle est injectée en totalité à une souris qui ne présente aucun symptôme et se porte bien les jours suivants.

Le sang et le foie de bœuf n'ont donc pas donné d'alcali toxique.

L'extrait alcoolique fourni par les organes des cinq cholériques et ayant déjà servi aux expériences 17-20 est alors traité comme en XXI, B. La première solution chlorhydrique obtenue après plusieurs traitements par l'éther est lavée à l'éther, puis traitée par la soude et l'éther, etc.; la deuxième est lavée au chloroforme; la troisième enfin est encore lavée à l'éther, puis traitée par la soude et l'éther. L'évaporation de ce dernier laisse encore un liquide jaunâtre (avec le chloroforme le résidu était solide), sans aucune odeur ammoniacale, mais à odeur aromatique analogue à celle signalée plus haut pour les cultures, volatile vers 100° degrés en donnant des fumées blanches; il colore en bleu intense le papier rouge de tournesol et cette coloration est persistante. Ce résidu est très soluble dans l'eau; on obtient ainsi un liquide jaunâtre. La solution chlorhydrique est jaune-rouge. Une partie de cette solution un peu acide est neutralisée et injectée à une souris.

Exp. XXII. 1^{cc} injecté à une souris. Après deux minutes, l'animal raccourcit le pas, puis, tout d'un coup, des sauts convulsifs dont un le jette sur le dos ; il reste dans cette position ; encore quelques convulsions de la patte postérieure gauche en extension. Mort trois minutes après l'injection. Après arrêt de la respiration et des battements cardiaques, on sent encore, par moment et pendant une minute avec la main, un tremblement fibrillaire des muscles du dos.

Le restant de la solution chlorhydrique est évaporé au bain marie à siccité dans une capsule tarée ; avec le résidu chlorhydrate de ptomaine impur et à peu près sec, on fait une solution titrée.

Exp. XXIII. 1 centigramme, soit 1/2^{cc} de solution, est injecté à une souris du poids de 20 grammes. Après quelques minutes l'animal semble presque paralysé et ne s'avance que difficilement quand on lui pince la queue ; état de somnolence dans lequel il se tient couché sur le ventre, le museau touchant terre. Par moments, il se réveille pour faire péniblement quelques pas ; en même temps, tremblement convulsif vertical de la tête. Ces derniers symptômes deviennent de plus en plus fréquents et violents, et se transforment en convulsions générales et sauts convulsifs. L'animal tombe sur le flanc et y reste montrant encore quelques secousses des pattes postérieures, des muscles de la nuque et des mâchoires, ainsi que des contractions du diaphragme ; finalement quelques mouvements des pattes antérieures et des muscles de la peau. Mort après une demi-heure. Après 15 minutes, température 35°.

Exp. XXIV. Injection d'un peu moins de 2 grammes de la solution à un cobaye de 130 grammes. Comme pour les cultures, le cobaye s'est montré à égalité de poids plus sensible que la souris. Après 20 minutes, la faiblesse des pattes postérieures commence à se manifester (temp. = 37°8) ; ce symptôme s'accroît bientôt, en même temps paresse générale et somnolence. Au bout d'une demi-heure cet état se trouve interrompu de temps en temps par des mouvements et sauts convulsifs accompagnés de contractions du diaphragme qui deviennent de plus en plus violentes et fréquentes. Après 36 minutes, ces symptômes se changent en convulsions générales intermittentes ; en même temps l'animal semble faire de violents efforts de vomissement. Cris plaintifs ; sensibilité conservée ; oreilles et pattes froides. Après 45 minutes, température = 37°10 ; après une heure, température = 36°8. Les symptômes s'accroissent encore ; les contractions diaphragmatiques sont surtout très fortes et paraissent pénibles à l'animal. Après 1 heure 15 les convulsions deviennent plus rares, puis disparaissent ; les mouvements du diaphragme

persistent plus longtemps. Après deux heures il ne reste que de la somnolence et une paresse très prononcée des pattes postérieures; température = 37°8. Après trois heures ces symptômes aussi sont atténués, quoique encore bien manifestes. Le lendemain l'animal est trouvé en bonne santé.

Nous avons encore tué deux cobayes et six souris avec des symptômes tout à fait analogues à ceux que nous venons de relater, soit en tout cinq cobayes et dix souris; une autre portion du poison a été employée aux réactions chimiques dont il va être question tout à l'heure. Enfin l'extract alcoolique ne paraissait pas encore tout à fait épuisé à ce moment; mais nous n'avons pu continuer le traitement, ayant été obligés alors d'interrompre encore une fois notre travail. D'un autre côté, les matières premières, foie et sang, n'avaient certainement pas été épuisées, une partie notable de la ptomaine avait été perdue ou détruite pendant ces longues manipulations, et d'après M. Villiers, d'autres organes tels que les reins en renferment sensiblement plus que le sang et le foie. On voit d'après cela que la quantité de poison qui se forme chez les cholériques dans l'intestin et *qui est absorbée*, est loin d'être négligeable.

Conclusion.

Les symptômes observés ont été tout à fait semblables à ceux décrits précédemment pour la ptomaine des cultures, et, d'après notre dosage, encore imparfait il est vrai, l'énergie toxique des deux alcalis semble aussi comparable. Dans les deux séries d'expériences la sensibilité des animaux a été conservée jusqu'à la fin et nous avons pu noter un abaissement notable de la température, quand la mort n'est pas survenue trop rapidement; dans les mêmes conditions nous avons observé le plus souvent une injection de la substance corticale des reins et la vacuité de la vessie.

Les deux ptomames retirées l'une des cultures pures du bacille-virgule, l'autre du cadavre des cholériques, semblent donc bien identiques *d'après leur action physiologique*.

Nous avons aussi essayé comparativement l'action de quelques réactifs chimiques sur les solutions chlorhydriques des deux alcalis, en prenant pour point de départ les réactions indiquées par M. Villiers pour la ptomaïne qu'il a retirée des organes des cholériques :

Par l'iodure de potassium ioduré, précipité brun foncé dans les deux cas ;

Par l'eau bromée, précipité jaune dans les deux cas ;

Par l'acide picrique, précipité jaune foncé ;

Par le tannin, précipité blanc sale prenant naissance au bout de quelques secondes dans une solution à 1/100 ;

Par l'iodure de potassium et de mercure, précipité blanc-jaunâtre, un peu plus foncé pour la ptomaïne du sang ;

Par le perchlorure de fer et le ferri-cyanure de potassium, coloration bleue immédiate qui va en augmentant ensuite ;

Par le chlorure de platine, précipité jaune.

Ces deux derniers résultats diffèrent un peu de ceux obtenus par M. Villiers, d'après lequel le chlorure de platine ne forme pas de précipité, et la coloration bleue ne se développe que lentement et pas immédiatement. Nous inclinons à croire que ces différences ne tiennent qu'à ce que M. Villiers a opéré avec une solution très diluée. M. Pouchet, au contraire, a observé comme nous la réduction immédiate du mélange de chlorure ferrique et de ferri-cyanure.

Ces réactions ne montrent donc aucune différence entre les deux

alcalis ; il est évident qu'elles ne suffisent en aucune façon à prouver leur identité chimique. L'interruption forcée de nos recherches ne nous a pas permis de continuer la comparaison par des analyses quantitatives. Mais si l'on tient compte de la présence constante bien établie du bacille-virgule dans l'intestin des cholériques au début de l'attaque, de l'aspect de culture pure qu'offre cet intestin dans les cas rapides qui revêtent d'une façon si frappante l'apparence d'une intoxication, on ne doutera pas de l'identité des deux alcaloïdes.

D'après M. Berdez (*British méd. journ.* Londres, 7 nov. 1885, et *Semaine méd.* du 11 novembre 1885), le *bacillus-subtilis* fournit un liquide ayant les mêmes propriétés toxiques que celui du bacille-virgule, et la même expérience, répétée avec une culture pure du bacille de Finkler et Prior, aurait donné des résultats identiques. M. Berdez considère cette substance comme identique avec les ptomaines de Brieger, mais il n'en fournit pas la preuve. Brieger, du reste, a montré que dans les cultures pures du bacille typhique prend naissance une ptomaine spéciale, et que cet alcaloïde diffère des ptomaines diverses que l'on rencontre dans les putréfactions, fermentations complexes à microbes multiples.

D'après M. A. Gautier aussi : « Il n'est pas douteux que, suivant l'espèce du ferment qui détruit les albuminoïdes, il puisse se former diverses ptomaines. » (1)

L'assertion de Berdez nous semble donc quelque peu risquée ; serait-elle même exacte qu'elle n'invaliderait nullement la conclusion que nous prétendons tirer des faits acquis sur la ptomaine des cholériques et celle du bacille-virgule.

(1) *Bulletin de l'Acad. de médecine*, 12 janvier 1886, p. 80. Note.

CHAPITRE V

Vitalité du bacille-virgule.

Il importe de connaître la vitalité du microbe cholérique dans ses différents milieux naturels, sa manière d'être vis à vis des agents antiseptiques ; il importe aussi d'être renseigné sur les diverses conditions qui peuvent favoriser, restreindre ou arrêter sa multiplication, et celles qui peuvent déterminer sa mort.

A. — VITALITÉ DANS LE CORPS DE L'HOMME, DANS LES SELLES, LE LINGE ET LA TERRE HUMIDE. INFLUENCE DE LA PUTRÉFACTION.

Moment de la disparition des bacilles dans le corps de l'homme. — Ce point est particulièrement important pour nous fixer sur l'époque où un homme malade ou convalescent peut être considéré comme n'étant plus contagieux.

Nous avons examiné les *selles* d'un grand nombre de malades qui ont guéri. Les virgules ont été trouvées au plus tard au dixième jour après le début des accidents cholériques. Parfois, nous n'en avons plus trouvé dès après le quatrième jour. Il n'y a pas lieu de s'arrêter à ces derniers chiffres ; les résultats négatifs même nombreux n'ayant qu'une valeur relative. Nous devons dire cepen-

dant que les virgules n'ont pas été trouvées dans les déjections qui ont repris l'odeur, la couleur et la consistance des matières fécales. Elles n'ont pas été trouvées non plus dans la diarrhée tardive qui prolonge exceptionnellement la convalescence de plusieurs semaines.

Nous avons attaché le plus grand soin à la recherche du bacille-virgule dans le *contenu intestinal* des individus morts et autopsiés.

Nous avons relaté en détail les résultats de ces recherches dans un chapitre précédent. Nous insistons principalement ici sur ce point que deux fois les bacilles ont été retrouvés après onze jours de maladie dans l'intestin, et même une fois après 13 jours dans les voies biliaires. Au *point de vue prophylactique*, on doit donc se rappeler qu'un cholérique *peut* encore être contagieux après treize jours de maladie.

Mais, à un autre point de vue, nous devons nous souvenir ici que dans plusieurs de nos autopsies le bacille-virgule n'a pas été retrouvé; dans l'une la mort avait eu lieu après six jours de maladie, et dans les autres après un temps plus long. Les cas où la virgule ne se maintient pas au-delà de cinq ou six jours semblent même beaucoup plus fréquents qu'à ceux où elle persiste au-delà; fréquemment sa durée est encore moindre et ne dépasse pas le troisième ou quatrième jour. Déjà dans sa première conférence Koch avait insisté sur ce fait que le développement du bacille-virgule dans le corps de l'homme est très rapide et que sa régression ne l'est pas moins; nos observations confirment pleinement ces assertions. Il ne sera donc pas étonnant que l'on ne retrouve pas la virgule dans des cas non récents de choléra, et de pareils résultats négatifs ne pourront être invoqués contre la doctrine cholérigène du bacille-virgule. Si nous insistons de nouveau sur ces faits, c'est qu'ils sont en contradiction apparente avec ce que nous venons de dire de la prophylaxie; mais il est évident que le système de désinfection, pour être efficace, doit se baser même sur les cas exceptionnels.

Matières en chambre humide ou en flacons bouchés. — Nos expériences sont très nombreuses. Elles ont porté sur les matériaux de la plupart des autopsies et sur un grand nombre de selles cholériques.

Les récipients ont été placés, soit dans l'étuve, soit simplement dans le laboratoire à la température ambiante.

Après vingt-quatre ou quarante-huit heures, il y a presque toujours foisonnement de la virgule. On aura soin de tenir compte de ce fait pour une épreuve en vue du diagnostic. A partir de ce moment, il y a tendance à disparition et à remplacement par d'autres bactéries, surtout celles de la putréfaction. Quand la matière commence à prendre une odeur putride, le bacille cholérique diminue rapidement; vingt-quatre à quarante-huit heures après, on n'en trouvera plus ordinairement. Parfois, à vingt-quatre heures d'intervalle, nous constatons, à la place d'une culture pure, absence de virgules.

Ces résultats ont été obtenus par des préparations sur lamelles, et nous avons conclu à l'absence du bacille-virgule, quand, dans ces préparations, nous ne trouvons plus ni virgules caractérisées, ni bacilles douteux. Il est évident, cependant, que ce procédé n'est pas mathématique.

Ceci a fait des observations tout à fait semblables; de plus, il a institué des expériences d'inoculation avec des déjections cholériques pourries, et il n'est arrivé qu'à des résultats négatifs, tandis que les déjections fraîches employées de même donnaient des résultats positifs.

Il serait possible cependant que l'on réussit encore dans certains cas à déceler des virgules par le procédé des cultures, quand les préparations n'en montrent plus. Néanmoins, quand on voit une purée qui semble formée uniquement de bacilles-virgules, se transformer en peu de temps, quelquefois en moins de vingt-quatre heures, à tel point qu'on ne trouve plus ce bacille, mais à

sa place et en nombre aussi considérable des bactéries diverses, quelquefois aussi une culture presque pure soit d'un coccus, soit d'un petit bâtonnet droit, etc., et quand cette transformation rapide s'accompagne d'une odeur putride de plus en plus prononcée, tandis que la purée de virgules, au contraire, ne montrait qu'une faible odeur, particulière et nullement putride ; dans ces conditions, il faut bien admettre que le phénomène complexe que l'on désigne sous le nom de putréfaction, est une cause de destruction du bacille-virgule et peut, doit même, amener la désinfection au point de vue du choléra, le bacille cholérigène étant dépourvu de spores. Sur un milieu aussi nutritif qu'une selle cholérique ou une muqueuse intestinale, le bacille-virgule trouve des conditions très favorables à sa multiplication rapide, surtout quand il y a abondance d'oxygène libre ; aussi la virgule arrive-t-elle en chambre humide à un degré de développement qu'elle n'atteint jamais dans l'intestin *in situ*. Cette multiplication est accompagnée de la formation de produits de désassimilation, notamment d'une ptomaïne toxique, qui ne tardent pas à arrêter le foisonnement. Mais d'autres bactéries sont, sans aucun doute, beaucoup moins sensibles à l'action de ces produits que la virgule elle-même ; au moment où celle-ci a atteint son apogée, elles n'existent qu'en nombre minime dans la purée, et dans les préparations elles ne se montrent quelquefois que rares et isolées. Elles commencent maintenant à foisonner à leur tour, et non seulement elles s'assimilent les substances nutritives que la virgule a pu laisser, mais il n'est pas douteux qu'elles digèrent même cette dernière.

Comme nous avons entendu tirer quelquefois des conclusions tout à fait erronées de ce fait de la disparition de la virgule sous l'influence de la putréfaction, fait signalé en premier lieu par Koch, nous tenons à ajouter que les phénomènes seraient évidemment modifiés, si on délayait dans une quantité d'eau plus ou moins grande le milieu nutritif concentré que représentent les

déjections ou le contenu intestinal des cholériques. Dans ce milieu nutritif dilué il n'y aurait plus foisonnement rapide de la virgule, ni formation massive de produits toxiques pouvant arrêter son propre développement ; il n'y aurait pas non plus, pour les bactéries de la putréfaction, multiplication suffisante pour qu'elles arrivent à tuer *rapidement* et à digérer le bacille-virgule.

Nos expériences, qui ont porté sur des matières intestinales et sur la muqueuse elle-même, ne sont donc applicables qu'à des milieux où les substances nutritives sont très concentrées.

Dans aucun cas, nous n'avons vu la virgule se conserver au-delà du huitième jour ; souvent c'est entre le cinquième et le sixième, plus souvent encore entre le troisième et le quatrième, qu'elle a disparu ; quelquefois même il a suffi d'un temps plus court, à peine quarante-huit heures. En flacon bouché la conservation nous a paru, en général, un peu plus longue. Fréquemment le microbe se montrait encore abondant au quatrième et même au cinquième jour.

Pour justifier ces conclusions, nous allons indiquer les essais faits avec l'intestin et le contenu intestinal d'un homme de 26 ans, mort après moins de 48 heures de maladie, et ayant donné à l'autopsie de nombreuses virgules ⁽¹⁾.

I. *Morceau de jejunum en chambre humide, à l'étuve,*

- 1^{er} jour (jour de l'autopsie faite 5 heures après la mort) +
 2^e jour + culture pure.
 3^e jour (4 heures du soir, soit 61 heures après la mort). — odeur putride.

(1) Le signe + indique la présence de virgules nombreuses donnant des préparations caractéristiques, +* et +** des virgules de moins en moins nombreuses, le signe — que l'on n'a pu trouver de virgules dans la préparation. Pour les cultures, les mêmes signes se rapportent au nombre relatif des colonies de virgules et à leur absence.

II. *Morceau de jejunum en chambre humide, à l'étuve.*

A l'autopsie.....	+	
16 heures <i>post mortem</i>	+	plus nombreuses notablement.
30 — —	+	commencement d'odeur putride.
61 — —	—	putréfaction.

III. *Morceau de rectum, chambre humide, étuve.*

5 heures <i>post mortem</i>	+	*
31 — —	+	odeur putride.
61 — —	—	putréfaction.

IV. *Contenu intestinal sur linge; chambre humide, étuve.*

1 ^{er} jour.....	+	
2 ^e —	+	plus nombreuses, pas pure.
3 ^e —	+	culture pure, pas d'odeur putride.
4 ^e —	+	**
5 ^e —	—	culture à peu près pure d'une bactérie droite.

V. *Contenu intestinal sur linge en chambre humide, dans le laboratoire (commencement d'octobre).*

1 ^{er} jour.....	+	
2 ^e —	+	presque pure.
3 ^e —	+	moins pure, pas d'odeur putride.
4 ^e —	+	*
5 ^e —	+	** culture presque pure d'une bactérie droite, quelques rares virgules seulement.
7 ^e —	—	

VI. *(Comme en v.)*

5 ^e jour.....	—
--------------------------	---

VII. *Contenu intestinal en flacon, à l'étuve.*

1 ^{er} jour.....	+	
2 ^e —	+	
3 ^e —	+	culture pure, odeur cholérique caractéristique.
4 ^e —	+	moins nombreuses.
5 ^e —	+	**
7 ^e —	—	

VIII. *Contenu intestinal en flacon, dans le laboratoire.*

1 ^{er} jour.....	+
2 ^e —	+ culture pure.
3 ^e —	+ moins nombreuses, aucune odeur putride.
4 ^e —	+ pas de changement sensible.
5 ^e —	—
7 ^e —	—

M. van Ermengem (*Recherches sur le microbe du choléra asiatique*, p. 260 et suivantes) a constaté, de son côté, que le bacille-virgule meurt rapidement, en quelques heures, dans les produits des vidanges anciennes à odeur ammoniacale, même quand ces produits ont été débarrassés de leurs bactéries. Il résiste plus longtemps, quand on mélange ses cultures avec des matières fécales fraîches.

Ces résultats confirment ce que nous avons dit plus haut.

Matières cholériques renfermées dans le linge empaqueté ou dans la terre humide. — Il arrive souvent que du linge ou des effets souillés par les déjections des cholériques sont empaquetés et emportés au loin, puis lavés au point d'arrivée; aujourd'hui les effets contaminés peuvent ainsi parcourir des distances fort grandes en peu de temps. Il était intéressant de savoir pendant combien de temps le bacille-virgule peut se conserver vivant dans ce linge. Nous verrons plus loin que la dessication tue rapidement le contagé cholérique, et nous venons de voir que les déjections placées en chambre humide se désinfectent, pour ainsi dire, d'elles-mêmes au bout de cinq à huit jours; mais il peut arriver, et il arrive certainement quelquefois dans les emballages, que le linge ou les effets souillés par les déjections cholériques se trouvent placés dans des conditions telles qu'il n'y a point dessication et cependant une perte d'eau suffisante pour que les bactéries ne

général n'en trouvent plus suffisamment pour pouvoir se reproduire. On sait, en effet, par expérience, que dans les milieux de culture il n'y a plus reproduction quand on dépasse un certain degré de concentration, c'est-à-dire quand on descend au-dessous d'une certaine proportion d'eau. La putréfaction devient impossible dans ces conditions, et le bacille-virgule lui-même sera en quelque sorte à l'état de vie latente.

Il arrive aussi fréquemment que les déjections des cholériques sont jetées sur le sol humide, et il importait d'avoir des données sur la vitalité du bacille-virgule dans ces conditions.

Les expériences ont été faites de la façon suivante : Une selle de cholérique est restée d'abord 48 heures en chambre humide ; elle s'était transformée en une belle culture ; des portions de la matière pâteuse de la grosseur d'une lentille sont alors placées sur de petits carrés de toile, que l'on plie en quatre et que l'on place dans des tubes en verre, sur une couche de coton ordinaire, non stérilisé ; la toile est recouverte avec le même coton, que l'on bourre dans le tube, lequel est fermé ensuite avec un bouchon de liège. Une série de petits tubes sont préparés de cette façon. Au bout de quelques jours, on ouvre un des tubes, on retire le carré de toile, on le mouille avec une goutte d'eau stérilisée, puis on racle un peu de la matière que l'on sème dans la gélatine nutritive liquéfiée.

Celle-ci est coulée sur des lames de verre ou dans des godets avec les précautions ordinaires. L'apparition des colonies caractéristiques démontre qu'il y avait encore des virgules vivantes dans le linge.

1^{re} Expérience. — Tubes garnis le 18 août.

Essai fait le 25 août.....	+
— 27 —	+
— 30 —	+
— 1 ^{er} septembre....	—

Pour le dernier semis, l'observation des godets a été prolongée jusqu'au 5 septembre soit pendant cinq jours.

Les virgules se sont donc conservées vivantes dans les tubes pendant douze jours au moins, ce qui, joint aux 48 heures de chambre humide, fait quatorze jours.

2^{me} expérience. — Comme la première; seulement on emploie, au lieu d'une selle, du contenu intestinal transformé encore en une belle culture par 48 heures de chambre humide. Le coton est mouillé par quelques gouttes d'eau. Tubes garnis le 23 septembre.

Essai fait le 29 septembre. —
— 6 octobre.... — odeur putride.

Dans cette expérience, il y a eu évidemment excès d'humidité, et les phénomènes de la putréfaction ont pu se produire, tandis que dans l'expérience 1^{re}, la matière assez ferme, mais non sèche, ne présentait aucune odeur putride.

3^{me} expérience. — Contenu intestinal d'un cas foudroyant transformé en une belle culture par 24 heures de chambre humide. Tubes garnis le 3 octobre; le coton est mouillé par quelques gouttes d'eau.

La matière n'est pas semée dans la gélatine, mais sert directement à faire des préparations sur lamelles.

A. Tubes placée à l'étuve.

Essai du 4 octobre..... —
— 6 — —

B. Tubes restés à la température ambiante.

Essai du 4 octobre..... +*
— 6 — +*

4^e expérience. — Le coton est remplacé par de la terre humide non stérilisée; les tubes sont simplement bouchés au coton et maintenus dans une atmosphère très humide. Emploi des mêmes matières que pour la première expérience.

Tubes garnis le 18 août. Semis en gélatine.

Essai du 25 août.....	+
— 27 —	+
— 30 —	+
— 1 ^{er} septembre.....	+

On n'a plus fait d'essai que le 5 octobre : résultat négatif.

Lorsque l'on se place dans des conditions analogues à celles du linge empaqueté ou de la terre humide, le bacille-virgule peut donc, dans certains cas, se maintenir vivant 14 à 15 jours au moins.

La vitalité dans la terre humide jointe à la vitalité dans l'eau dont il va être question, expliquent comment, dans certaines circonstances, surtout au commencement ou à la fin d'une épidémie, les cas de choléra peuvent ne se succéder qu'à des intervalles assez éloignés tout en étant liés entre eux.

B. — VITALITÉ DANS LES EAUX.

Pendant l'épidémie de 1884 nous avons fréquemment examiné des eaux qui provenaient de lieux contaminés et que l'on supposait avoir été une cause de propagation du choléra ; elles étaient originaires, en majeure partie, de Marseille, mais aussi de Berre, Saint-Chamas, Martigues, Arles, Tarascon, Aix, Sisteron, Salon, Lascours, les Omergues, Châteaurenard, etc. Quelques gouttes d'eau placées sur une lamelle couvre-objet étaient évaporées à l'air libre ou dans une étuve chauffée à 30-40° ; on achevait la préparation d'après la méthode connue. Sur 145 observations ainsi faites, nous avons trouvé 36 fois le bacille-virgule, ou d'autres bacilles incurvés pouvant morphologiquement être confondus avec lui. Nous avons

essayé de même 23 fois l'eau du Vieux Port de Marseille, du 11 août au 2 novembre, et nous avons eu 16 fois le même résultat.

Mais l'épreuve directe est tout à fait insuffisante, et il est indispensable de la compléter par des cultures. Nous avons, à maintes reprises, employé ce procédé pour l'eau du Vieux Port, et nous sommes arrivés quatre fois à des résultats positifs ; d'autres fois, ils ont été douteux, des colonies d'autres bactéries à croissance plus rapide ayant liquifié la gélatine trop vite.

M. Koch avait déjà démontré la présence du bacille-virgule dans un *tank* (étang) de l'Inde, autour duquel s'étaient produits de nombreux cas de choléra (*Conferenz sur Eroeterung der Cholerafrage*, p. 31).

Pendant l'épidémie de 1884, à la Spezzia, M. Stassano a trouvé le bacille de Koch dans deux ruissaux presque stagnants, en faible quantité dans le liquide lui-même, mais plus abondant dans la boue.

Comme il est évident que le bacille-virgule se trouve fréquemment amené dans l'eau ; comme il a été mis hors de doute par des observations nombreuses, même antérieures à toute notion sur le rôle pathogénique des microbes que l'eau est au moins un des principaux agents de propagation du choléra, il nous a paru intéressant de faire des expériences directes sur la vitalité de la virgule dans l'eau. Ses liens de parenté avec la classe essentiellement aquatique des spirilles faisaient prévoir une certaine longévité dans ce milieu.

Il y avait un intérêt local pour Marseille à ne pas restreindre ces essais à l'eau douce, mais à les étendre aussi à l'eau de mer, surtout à l'eau saumâtre, qui est celle de nos ports où se déversent de nombreux égouts.

C'est aussi une eau saumâtre que celle du delta du Gange, où M. Koch a placé la patrie d'origine du bacille-virgule : le Sundarbans (*Conferenz*, p. 41). C'est une bande de terrain inhabitée, à

faune et à flore très riches, qui reçoit les déjections de la nombreuse population agglomérée dans le haut du delta; elle n'est jamais à sec, les marées l'envahissent en partie, et l'eau douce du Gange et du Brahmapoutra s'y mêle sans cesse à l'eau de mer.

Les expériences ont été faites de la façon suivante : Des matras en verre de 1/2 à 1 litre de capacité ont été remplis aux 3/4 au moins avec l'eau filtrée au papier, puis bouchés au coton. On les maintient au bain-marie d'eau bouillante 1 heure 1/2 à 2 heures; on recommence le lendemain, puis encore le surlendemain; ou bien on les stérilise en les exposant deux ou trois fois pendant une heure au courant de vapeur d'eau bouillante. Avec un tube capillaire à ampoule, on introduit dans cette eau stérilisée et refroidie quelques gouttes d'une culture pure très riche en virgules. Les matras, rebouchés aussitôt et agités pour répartir les bacilles dans toute la masse, ont été exposés à la température ambiante dans le laboratoire, dont une fenêtre est restée constamment ouverte, sauf quelques heures par jour où le laboratoire était chauffé par deux ou trois becs de gaz (expériences faites en hiver). A des intervalles variables, on prélève quelques gouttes de cette eau avec un capillaire à ampoule, on la mélange à de la gélatine nutritive liquéfiée et en partie refroidie; puis on coule cette gélatine dans des godets en verre, qui sont ensuite placés à l'étuve.

Tant que le coniage cholérique se maintient vivant dans l'eau, on obtiendra des colonies de bacilles-virgules dans la gélatine; la réponse fournie par celle-ci est vraie, même dans le cas où les spores existeraient ou, plus exactement, se formeraient dans les conditions de l'expérience.

Nous avons fait, à plusieurs reprises, l'examen direct de l'eau, et, aussi longtemps qu'elle donnait des colonies, les préparations sur lamelles montraient des virgules prenant bien les couleurs d'aniline et ne présentant aucun indice de sporulation.

1^{re} expérience. — Eau distilléeensemencée le 17 novembre.

Essais :

18 novembre +; 22 +; 26 —; 27 —; 29 +;
4 décembre +; 7 décembre +; 10 décembre —
17 novembre au 7 décembre = 20 jours.

2^e expérience. — Eau du canal de Marseilleensemencée le 17 novembre.

Essais :

18 novembre +; 22 novembre ?; 26 novembre +;
29 novembre —; 4 décembre —; 7 décembre —.
Du 17 au 26 novembre = 9 jours.

3^e expérience. — Eau du canal de Marseilleensemencée le 6 décembre.

Essais :

15 décembre +; 16 décembre +; 17 décembre —;
19 décembre +; 20 décembre +; 25 décembre —.
Du 6 au 20 décembre = 14 jours.

4^e expérience. — Eau du canal de Marseilleensemencée le 6 décembre.

Essais :

19 décembre +; 20 décembre +; 29 décembre +;
2 janvier +; 7 janvier +; 13 janvier +; 25 janvier —.
Du 6 décembre au 13 janvier = 38 jours.

5^e expérience. — Eau du canal de Marseilleensemencée le 6 décembre.

Essais :

21 janvier (46 jours) —.
» » injection duodénale à 2 cobayes, observés pendant 8 jours —.

6^e expérience. — Eau de mer puisée à 4 kilomètres environ des ports, près de l'île de Pomègues,ensemencée le 17 novembre.

Essais :

10 novembre +; 22 novembre +; 26 novembre +; 29 novembre +;
4 décembre +; 7 décembre +; 10 décembre +; 15 décembre +;
20 décembre +; 25 décembre +; 5 janvier +; 16 janvier —.
Du 17 novembre au 5 janvier = 49 jours.

7^e expérience. — Eau de mer puisée au large à plusieurs kilomètres de Marseille, près de l'île Riou,ensemencée le 12 décembre.

Essais :

29 janvier + ; 1^{er} février +.

12 décembre au 1^{er} février = 51 jours.

Cette expérience n'est pas continuée, les cultures étaient trop impures.

8^e expérience. — La même eau,ensemencée aussi le 12 décembre.

Essais :

6 février + ; 14 février + ;

22 février (72 jours) — ; 26 février —.

12 décembre au 14 février = 64 jours.

9^e expérience. — La même eau, toujoursensemencée le 12 décembre.

Essai du 28 février (78 jours) : résultat négatif.

10^e expérience. — Eau du vieux port de Marseille,ensemencée le 16 octobre 1884.

Essais :

23, 26, 28, 31 octobre +.

1^{er}, 6, 17, 18, 22, 26, 29 novembre +.

4, 7, 10, 15, 20, 23, 25 décembre +.

5 janvier +.

16, 22, 25 janvier —.

Du 16 octobre au 5 janvier = 81 jours.

11^e expérience. — La même eau,ensemencée le 6 décembre.

Essais :

21 janvier (46 jours) +.

26 février (82 jours) —.

12^e expérience. — Même eau,ensemencée le 5 décembre 1884.

Le matras est ouvert pour la première fois le 28 février 1885.

Résultat —.

13^e expérience. — Eau de cale d'un navire en fer revenant du Japon sans avoir vidé sa cale en route. Ensemencée le 12 décembre 1884.

Essais :

16 décembre + ; 20 décembre + ; 25 décembre — ;

26 décembre + ; 2 janvier + ; 7 janvier — ; 13 janvier +.

12 décembre au 13 janvier = 32 jours.

Nous n'avons pas continué cette expérience.

14^e expérience. — Eau de sentine d'un navire en bois revenant des colonies. Ensemencée le 19 décembre.

Essais :

25 décembre — ; 2 janvier —.

Ainsi, dans l'eau distillée, la virgule a pu vivre . 20 jours.

Dans l'eau du canal	38	»
» de mer.	64	»
» du Vieux-Port	81	»
» de cale	32	»

Dans ces essais les cultures ordinaires ne se composaient tout d'abord que de colonies de virgules ; mais quand le matras avait été ouvert plusieurs fois, elles devenaient tout à fait impures ; ainsi pour l'eau du Vieux Port (10^e expérience), les cultures ont été impures dès le 26 octobre. A plusieurs reprises, quand nous voyions la gélatine menacée de liquéfaction par les autres bactéries, avant que les colonies de la virgule fussent bien caractérisées, nous avons fait un nouvel ensemencement avec une ou plusieurs des colonies probables de bacilles cholériques. Les colonies ont toujours été contrôlées par l'examen microscopique.

Eau de nos ports.—Ces expériences s'écartaient très notablement des conditions naturelles : 1^o la concurrence vitale avec d'autres micro-organismes, qui joue un si grand rôle dans la destruction de la virgule, se trouvait supprimée dans les premières phases, ou même pendant l'expérience tout entière, quand les prises d'essai peu nombreuses n'ont été faites que longtemps après l'ensemencement ; 2^o le bacille-virgule est adapté à des contrées où la température ne descend jamais au-dessous de 17° ; il peut avoir l'avantage dans l'eau de nos ports pendant les chaleurs de l'été ; mais la température s'abaissant, la population habituelle de ces eaux, acclimatée à ce changement, reprendra le dessus et fera

disparaître le microbe cholérique; 3° dans nos matras, la contamination n'avait lieu en définitive que par l'air; il est donc probable que les concurrents n'étaient pas les mêmes, ni surtout aussi variés que dans l'eau d'un port de nos côtes; 4° la température ayant été basse en général, l'activité vitale, la multiplication surtout, ont dû se ralentir très notablement; 5° la température a été assez variable, condition bien différente de celle réalisée dans une grande nappe d'eau; 6° une circonstance évidemment défavorable a été l'état des substances nutritives, très diluées et longtemps chauffées à 100°, partant moins assimilables, et leur faible quantité; 7° enfin, dans nos expériences, l'eau filtrée était débarrassée en majeure partie de ces particules organiques flottantes dans l'eau des ports et susceptibles de constituer au bacille-virgule de véritables petits appareils de culture.

Il serait difficile de déduire rigoureusement des expériences précédentes la manière d'être du bacille-virgule dans l'eau de nos ports. Mais ce qui en résulte d'une façon nette, c'est que le contagion cholérique se maintient longtemps vivant dans les eaux, notamment dans les eaux salées; qu'il peut s'y multiplier tant que la température est supérieure à 15-17°, et, quand elle s'abaisse notablement au-dessous de ce point, le bacille-virgule disparaîtra très probablement: 1° sous l'influence *lente* d'autres micro-organismes mieux acclimatés à cette basse température; 2° parce qu'il ne pourra plus se multiplier; 3° parce qu'il y a un écoulement constant, quoique faible, des eaux des ports vers la mer. Nous supposons, bien entendu, que le bacille cholérique ne se trouve pas sans cesse apporté de nouveau dans les ports par les eaux d'égoûts; mais même dans ce cas l'abaissement de température empêchera au moins la multiplication et rendra le danger moins grand.

Eau de cale des navires. — On voit que dans un cas (13) le bacille a vécu trente-deux jours au moins dans l'eau de cale d'un

navire de commerce (en fer) ; la cale, paraît-il, n'avait pas été vidée une seule fois pendant la dernière traversée, d'une durée de plus de quarante jours ; cette eau contenait 34 gr. 20 de chlorure de sodium par litre, point de fer ; elle était de couleur ambrée, d'une odeur fade, assez désagréable, mais nullement putride, et ne rappelant pas le moisi.

Dans l'expérience 14, il s'agissait de l'eau de sentine d'un navire en bois. La sentine est le rendez-vous des eaux de la cale et de la machine ; elle avait été vidée et nettoyée quelques jours avant l'arrivée ; mais, en mer, une certaine quantité de ces eaux reste toujours dans les fonds.

Pendant la stérilisation elle avait donné un dépôt ocreux ; elle conservait ensuite une réaction légèrement acide, et contenait encore notablement de fer aux deux états d'oxydation. Cette eau nous avait été envoyée par MM. les professeurs de l'Ecole de Toulon, qui ont bien voulu aussi nous donner très obligeamment des renseignements sur les chances de contamination de l'eau de cale. D'après ces messieurs, elle ne pourrait certainement avoir lieu que dans des cas très rares, mais ne doit pas être considérée comme impossible.

Dans les navires de commerce, la cale est accessible par une trappe bien facile à soulever, et l'expérience 13 montre que le contagion cholérique pourrait bien se conserver vivant dans ce milieu pendant la durée d'une traversée de l'Inde en Europe.

C. — VITALITÉ DANS D'AUTRES MILIEUX, NOTAMMENT DANS LES MILIEUX ARTIFICIELS.

Nous avons déjà signalé la vitalité du bacille-virgule dans la gélatine nutritive, où il peut se maintenir à peu près deux mois,

ou même davantage à basse température ; notons qu'il s'agissait de cultures pures. Dans les tubes d'agar-agar nous avons vu aussi qu'il pouvait rester vivant 5 à 6 et même 10 mois (Koch, Babes, Hueppe). Il se développe fort bien dans le lait qu'il ne caille point et qui ne semble nullement modifié (Koch) ;

Sur les pommes de terre cuites, sur lesquelles il forme une mince enveloppe brun-gris (pourvu que la température ne soit pas trop basse), comme l'a signalé Koch et comme nous l'avons vérifié nous mêmes ;

Sur la viande, sur les œufs, les carottes, les choux, le pain mouillé (Cornil et Babes, p. 478) ;

Sur les navets et carottes (van Ermengem).

Cornil et Babes ont constaté qu'il se maintenait vivant pendant 24 heures au moins sur le fromage, sur des légumes, dans le café, le chocolat, le suc des fruits ; mais que sur les fruits et les légumes acides il mourait dans ce laps de temps. Nous avons vérifié cependant le développement sur des tranches de poires *très mûres*. M. van Ermengem signale la croissance de la virgule sur des tranches de melon et de poire.

Agents désinfectants. — Pour apprécier l'action des agents désinfectants, il est nécessaire de bien distinguer entre les substances ou les doses qui arrêtent seulement le développement aussi longtemps que se trouvent maintenues les conditions de l'expérience, et celles qui empêchent tout développement ultérieur, c'est-à-dire qui tuent le microbe.

Pour être renseigné sur le premier point on ajoute des quantités croissantes de la substance à un milieu de culture jusqu'à ce que celui-ci devienne impropre au développement du bacille-virgule.

Koch a ainsi constaté que 1/40000 d'iode n'a aucune action. Le développement se trouve arrêté par :

1/10 d'alcool,
2 0/0 de sulfate de fer,
1 0/0 d'alun,
1 pour 300 de camphre,
1 pour 400 de phénol,
1 pour 2000 d'essence de menthe,
1 pour 2500 de sulfate de cuivre,
1 pour 5000 de quinine,
1 pour 100000 de sublimé corrosif.

Nous avons cherché à déterminer les doses des différents agents chimiques capables de tuer le bacille-virgule, c'est-à-dire d'amener une désinfection réelle.

Les milieux des cultures sont ordinairement un peu alcalins, et neutralisent par conséquent partiellement les acides; pour la même raison et par leur nature même (principes azotés complexes), ils précipitent les bases métalliques, et forment avec leurs sels des combinaisons doubles inactives ou moins actives que ces sels eux-mêmes. Pour éviter autant que possible ces réactions qui peuvent induire en erreur sur l'énergie relative de l'agent chimique employé, nous avons toujours opéré en ajoutant à 10-20 centimètres cubes de liquide désinfectant quelques gouttes seulement (4 à 5) d'une culture (bouillon ou gélatine) très-riche en virgules. Nous laissons réagir pendant un temps fixe ordinairement très court; au bout de 5, 10, 15, minutes, etc., quelques gouttes seulement du mélange étaient semées dans la gélatine nutritive liquéfiée, refroidie en partie et coulée immédiatement avant l'ensemencement sur une lame de verre ou dans un godet stérilisé. Les lames mises en chambre humide et les godets munis de leurs couvercles étaient ensuite placés à l'étuve et observés tous les jours, ordinairement pendant six jours au moins. Tant qu'il se formait des colonies de virgules la désinfection n'avait pas eu lieu. Les résultats des expériences sont contenus dans le tableau suivant; nous emploierons encore les mêmes signes + et — pour la présence et l'absence des colonies; un ou deux astérisques placés à la suite du signe +

signifient qu'on a remarqué une diminution plus ou moins grande dans le nombre des colonies, comparativement au témoin ou aux autres résultats de la même colonne horizontale.

Les agents antiseptiques avec leur degré de dilution sont inscrits dans les première et deuxième colonnes verticales ; en tête des autres colonnes est marqué le temps pendant lequel on a laissé agir le désinfectant. Il est bien entendu qu'un témoin était toujours ensemencé avec la même culture primitive et placé dans les mêmes conditions.

Les quantités de réactif introduites dans la culture d'épreuve étaient toujours relativement très faibles, puisque les quelques gouttes du mélange de solution désinfectante et de culture primitive étaient ajoutées à vingt fois au moins leur volume de gélatine ; ces quantités peuvent même être considérées comme nulles dans les cas des acides (neutralisation par la gélatine) et des sels métalliques (précipitation et combinaisons doubles). Les doses indiquées comme efficaces ne sont donc pas celles qui arrêtent simplement le développement, mais celles qui désinfectent réellement.

On remarquera une certaine contradiction dans les résultats obtenus avec les sels de mercure à la limite d'action. On conçoit qu'à un pareil degré de dilution une petite variation, dans la quantité de bouillon (ou gélatine) à virgules ajoutée, peut faire changer le résultat, à cause de la précipitation et des combinaisons doubles dont nous venons de parler.

On s'expliquera donc que pour plusieurs substances les proportions que nous avons trouvées *désinfectantes* soient inférieures à celles indiquées par M. Koch comme *arrêtant* simplement le *développement*, puisque M. Koch ajoutait l'agent chimique au liquide nutritif, jusqu'à ce que celui-ci fût devenu inapte à la reproduction de la virgule.

On s'expliquera encore que d'autres auteurs soient arrivés à des

résultats assez notablement différents par d'autres procédés. C'est ainsi que M. van Ermengem indique comme doses désinfectantes :

1/60000	pour le sublimé corrosif,
1/600	pour le sulfate de cuivre,
1/300	pour le sulfate de zinc,
1/200	pour l'acide acétique.

M. van Ermengem opérait en ajoutant 1 volume d'une solution désinfectante à 5 volumes de bouillon de culture ; évidemment, dans ces conditions le liquide nutritif devait neutraliser une plus grande quantité de l'agent chimique. Cela est encore plus vrai pour les expériences de M. Babes qui ajoutait la substance germicide à un milieu gélatinisé ; on sait, en effet, que la gélatine précipite certains sels métalliques ; c'est ainsi que M. Babes trouva 1/10,000^e comme dose toxique du sublimé corrosif.

Ce serait donc une grande erreur que de vouloir appliquer les doses minima de nos expériences à la désinfection des déjections, linge, etc., des cholériques. Dans la pratique, il faudra dépasser de beaucoup ces doses pour la plupart des réactifs. Mais le tableau suivant pourra contribuer à un classement rationnel des désinfectants au point de vue du choléra, classement qui joint au prix de revient et aux autres avantages ou inconvénients de chaque agent déterminera le choix dans la pratique.

RÉSISTANCE DES BACILLES AUX DIVERS DÉSINFECTANTS.

(Le signe + indique la résistance des bacilles, le signe — leur destruction ;
+* et +** indiquent que les bacilles sont en nombre décroissant.)

AGENTS employés	Degré de dilution	Après 5 minutes	Après 10 minutes	Après 15 minutes	AGENTS employés	Degré de dilution	5 minutes	10 minutes	15 minutes
1. Acide chlorhydrique fumant 1 gr. = 0,3697 HCL	1 p. 1.000 1 2.000 1 3.000 1 4.000	— — + +	— — +* +	— — +** +	12. Acide salicylique...	saturé à + 17° 1 p. 2.000	+** +	— +*	— +*
2. Acide azotique monohydraté.....	1 1.000 1 2.000 1 4.000	— — +	— — +**	— — +**	13. Salicylate de soude crist...	1 200 1 1.000	— +*	— +*	— +**
3. Acide sulfurique à 66°	1 1.000 1 2.000 1 4.000	— — +*	— — —	— — —	14. Sulfate de zinc.....	1 200 1 333 1 500	— + +	— — +	— — +
4. Acide acétique cristallisable...	1 500 1 1.000 1 2.000	— + +	— + +	— + +	15. Chlorure de zinc....	1 1.000 1 2.000 1 500	— + —	— + —	— + —
5. Acide tartrique.....	1 500 1 1.000 1 2.000	— + +	— +* +*	— — +*	16. Sulfate de cuivre.....	1 1.000 1 2.000 1 3.000 1 4.000 1 5.000	— + — + +	— — — — +	— — — — —
6. Acide oxalique.....	1 4.000	+	+	+	17. Bichlorure de mercure	1 100.000 1 200.000 1 300.000 1 300.000 1 300.000 1 400.000 1 500.000	— — — + — + +	— — — — + +* +	— — — +** +* +* +
7. Acide borique.....	1 100	+	+	+					
8. Borax.....	1 100	+	+	+					
9. Phénol....	1 200 1 400	+* +	— +	— —					
10. Acide sulfureux, solution saturée à reflux à 15°....	1 10 1 50	+ +	+ +	— +					
11. Chlore, solution saturée à reflux à 15°....	1 10 1 50 1 100	— — —	— — —	— — —					

TABLEAU II (Suite).

AGENTS employés	Degré de dilution	5 minutes	40 minutes	15 minutes	AGENTS employés	Degré de dilution	5 minutes	40 minutes	15 minutes
18. Bi-iodure de mercure	1 p. 500.000	+	+	—	34. Sulfat ^e de fer	5 p. 100	—	—	—
	1 500.000	—	—	—		2,5 100	—	—	—
	1 500.000	+	+	+		2 100	—	—	—
	1 500.000	—	—	—		1 100	?	+	—
	1 500.000	+	+	—		1 100	+	+	+
19. Sulfate de quinine.....	1 1.000.000	+	+	+	35. Vin n° 1. Alcool 9,3% sul- fate de potasse 3 gr. 03 p. litre; sature 5 gr. 03 de carbon ^e de soude p. litre.	1 200	+	+	+
20. Sulfate d'a- tropine.....	1 5.000	+	+	+					
21. Nicotine....	1 10.000	+	+	+					
22. Sulfate de strychnine...	1 10.000	+	+	+					
23. Chlorhydr ^{te} de morphine.	1 10 000	+	+	+					
24. Chlorate de potasse.....	1 100	+	+	+	36. Vin n° 2. Alcool 12,95 %; sulfate de po- tasse 2 gr. 20 p ^r litre ; saturé 5 gr. 51 de car- bon ^e de soude par litre.....				
25. Hypochlo- rite de chaux	1 200	+	+	+					
26. Ammoniaq ^e solution du	1 100	+	+	—					
27. Acide arsé- nieux.....	1 100.000	+	+	+					
28. Azotate d'ar- gent.....	1 500.000	+	+	+					
29 Chlorure d'ar- gent dissous dans l'hypo- sulfite de soude	1 1.000.000	+	+	+	37. Bière Velten de Marseille..				
	à 10°	+	+	+					
	à 15°	+	+	+					
30. Alcool.....	à 20°	+	+	+					
	à 25°	?	—	—					
31. Ether éthy- lique	1 p. 1.000	+	+	+	38. Vin n° 1.....				
32. Acide osmi- que.....	1 100.000	—	—	—					
33. Eau saturée de sulfure de carbone	»	?	—	—					
	»	—	—	—					
	»	—	—	—					
	»	—	—	—	39. Bière.....				
	»	—	—	—					
	»	—	—	—					
	»	—	—	—					
	»	—	—	—					

Les solutions d'acide sulfureux et de chlore ont été préparées en saturant jusqu'à refus l'eau refroidie au-dessous de 15°, dans des flacons à l'émeri bouchés aussitôt; on diluait au moment de l'emploi, c'est-à-dire 5 à 6 heures plus tard tout au plus. Le dosage direct n'a pas été fait; mais on peut admettre que pour l'acide sulfureux les solutions employées contenaient à peu près cinq fois (1 p. 10) et une fois (1 p. 50) leur volume de gaz; la première n'a agi qu'en 15 minutes; au bout de 10 minutes, l'effet n'était point marqué. La seconde solution n'a produit aucun effet au bout de 15 minutes. Peut-on, d'après cela, compter sur la désinfection opérée en brûlant du soufre dans des appartements toujours mal clos? cela paraîtra douteux.

M. van Ermengem est arrivé à la même conclusion par ses expériences dans lesquelles il brûlait du soufre (à peu près 1 gr. par litre) sous une cloche ou dans une chambre, dans laquelle il exposait des cultures de bacille-virgule. M. Dujardin-Beaumetz paraît avoir obtenu, au contraire, des résultats plus satisfaisants. Il serait prudent, néanmoins, de ne pas se contenter de ce moyen de désinfection jusqu'à ce que des expériences nouvelles aient fixé définitivement les idées dans un sens ou dans l'autre.

L'eau saturée de sulfure de carbone (33) préconisée par M. Pasteur, semble, au contraire, un agent efficace qui pourra rendre service dans bien des cas et qui a même été recommandée pour la désinfection du tube digestif.

Pour le chlore, le maximum de solubilité (3 vol. à 8°) n'avait probablement pas été atteint par la solution concentrée; malgré cela, cette solution diluée au centième s'est montrée encore fort énergique (11), et il est probable que des doses plus faibles seraient encore efficaces. Mais pour le chlore l'application paraît assez restreinte dans la pratique. L'expérience 25 montre que la solution d'hypochlorite de chaux ne peut remplacer le chlore qu'à la condition d'y ajouter un acide.

Les sels de mercure (17, 18) se sont montrés de beaucoup les plus énergiques ; mais leur prix élevé et la grande quantité de mercure qui se trouverait précipitée et neutralisée dans la pratique, compensent en partie cet avantage ; leur emploi généralisé offrirait, du reste, trop d'inconvénients pour ne pas en restreindre l'usage aux laboratoires et à certains cas particuliers.

Pour la désinfection des déjections cholériques et de tout ce qu'elles ont souillé (linge, vases, parquets, maisons, etc.), le sulfate de cuivre (16) est indiqué en première ligne ; il faut évidemment dépasser de beaucoup la dose de 1/3000 ; la coloration bleue que ce sel communique à l'eau permettra de s'assurer facilement si, après mélange avec une selle par exemple, il en reste encore une certaine quantité en solution, c'est-à-dire si la désinfection a été suffisante.

Le chlorure (15) et le sulfate de zinc (14) doivent être rangés dans le voisinage du sulfate de cuivre, de même que le phénol (9) qui lui sera même préféré dans quelques cas.

Le sulfate de fer (34) n'agit qu'à dose notablement plus élevée que les réactifs précédents.

Les expériences 28 et 29 indiquent que les sels d'argent ne semblent pas exercer sur le bacille-virgule une action aussi énergique que sur l'*Aspergillus niger* (M. Raulin).

Les essais 19 à 24 et 27 (sulfate de quinine, d'atropine, de strychnine, nicotine, morphine, chlorate de potasse, arsenic) ne permettent pas d'espérer de ces différentes substances une action efficace sur le *bacille-virgule* dans l'intérieur de l'économie.

Le salicylate de soude (12 et 13) s'est montré encore ici moins énergique que l'acide salicylique ; serait-il suffisamment efficace pour fonder quelque espoir sur son usage interne, même à haute dose ?

Les essais 35 et 36 indiquent que le vin et la bière ne peuvent être contaminés ; que le premier peut même être employé dans une

certaine mesure à désinfecter l'eau, à la condition de faire le mélange quelques heures d'avance ; on ajoutera par exemple un litre de vin à deux ou trois litres d'eau cinq à six heures avant d'en faire usage.

Cette action n'est due qu'en faible partie à l'alcool (30) ; elle est surtout attribuable à l'acidité du liquide et peut-être aussi au tannin. Les vins employés étaient plâtrés ; les vins non plâtrés doivent être moins efficaces. Il est évident qu'il faudrait encore tenir compte de la contamination possible des vases employés (verres, etc.) par l'eau qui aurait servi à leur nettoyage.

Pour vérifier l'action préservatrice attribuée par M. Koch à l'estomac, nous avons fait d'abord des essais avec du suc gastrique de chien et des solutions de pepsine acidulées ; mais nous avons reconnu ensuite par les expériences 1 à 5 que les effets obtenus devaient être attribués à la seule action des acides. En effet, notre solution d'acide chlorhydrique à 1 pour 2,000 (1), renfermant moins de 20 centigrammes par litre d'acide chlorhydrique réel (HCl), avait amené la stérilisation complète en moins de cinq minutes ; le suc gastrique, étant toujours notablement plus riche en acide chlorhydrique, doit tuer à peu près instantanément les virgules contenues dans les aliments qu'il imprègne.

Nous verrons, en analysant la pathogénie du choléra, qu'il n'est pas besoin, pour expliquer l'infection de l'homme, d'états morphologiques particuliers (spores ou autres) pouvant résister aux acides, surtout quand il s'agit d'un microbe essentiellement aquatique. L'action des acides est une raison de plus pour considérer l'eau comme le principal agent de propagation de l'épidémie.

La salive et le suc pancréatique n'empêchent pas le développement des colonies de bacille-virgule dans la gélatine en les ajoutant à ce milieu dans des proportions assez notables (1/5 à 1/4). Les bacilles qui ont séjourné une heure dans la salive et qu'on sème ensuite dans la gélatine se développent encore.

La bile n'a pas exercé d'action en en ajoutant 1/5 à la gélatine, ni en faisant séjourner la virgule dans parties égales de bouillon et de bile avant de l'ensemencer. Nous avons cru tout d'abord à une action différente en observant les mouvements en goutte suspendue ; mais nous avons reconnu bientôt que cette épreuve ne méritait aucune confiance. Plus tard nous avons trouvé des virgules vivantes dans la vésicule biliaire des cholériques.

L'estomac est donc la seule barrière qu'aient à franchir les microbes cholériques introduits dans l'économie.

Dessication. — Les bacilles-virgules sont rapidement tués par la dessication. Cette propriété, en rapport avec leur adaptation aux milieux aquatiques, a été découverte par M. Koch (*Conferenz*, p. 19) qui a fait voir en même temps tout le parti que l'on pouvait en tirer dans la pratique.

Nous avons vérifié cette propriété de la façon suivante. Avec une tige de platine récemment flambée, nous avons étendu une culture pure (bouillon très riche en virgules) sur une série de lames de verre stérilisées (ou de godets). Ces lames restaient ensuite exposées à l'air en les suspendant sur deux baguettes de verre parallèles et stérilisées, la face chargée de virgules étant tournée en bas pour empêcher autant que possible la contamination par l'air. A des intervalles variables, nous prenions une de ces lames pour verser, sur la face primitivement contaminée, de la gélatine liquéfiée et en partie refroidie ; avec une baguette de verre stérilisée, on répand la gélatine en couche uniforme ; les lames sont ensuite placées en chambre humide, à l'étuve, à une température peu inférieure à celle de la liquéfaction de la gélatine. Voici les expériences :

1^{re} expérience. — Godets. Durée, 3 h. 20. — Etat hygrométrique, moyenne de sept déterminations : 82,7. — Température comprise entre 20°, 25 et 21°.

Gélatine ajoutée après 10 minutes de dessiccation + culture pure, colonies très nombreuses.

»	»	1 h. 30	»	—
»	»	2 15	»	—
»	»	2 40	»	—
»	»	3 10	»	—
»	»	3 20	»	—

2^e expérience. — Lames. Durée, 1 h. 56. Etat hygrométrique, moyenne de 6 observations : 65,5. — Température comprise entre 17° et 17°,75.

Gélatine ajoutée après 33 minutes + mais les colonies ne deviennent manifestes qu'au 5^e jour.

»	»	46	»	+ mais les colonies ne deviennent visibles que le 6 ^e jour.
»	»	1 h. 1	»	+ une seule colonie visible le 6 ^e jour, il y en a davantage le lendemain.
»	»	1 16	»	— observé pendant 10 jours.
»	»	1 31	»	— »
»	»	1 56	»	— »

Témoin : culture pure ; gélatine liquéfiée en 48 heures.

La deuxième expérience montre déjà une très forte diminution dans le nombre des colonies et un retard notable dans le développement après 33 minutes d'exposition à l'air ; après 1 heure, nombre plus faible et retard plus grand ; après 1 heure 16, tout était mort.

M. van Ermengem a fait des expériences de même ordre en se rapprochant davantage des conditions pratiques ; une culture dans l'agar-agar qui dessèche difficilement, a été exposée à l'air sec à une température de 16-18° ; les virgules se sont montrées vivantes pendant les premières 48 heures seulement.

M. Hueppe, ayant prétendu que les formations qu'il considère comme des arthrospores, mais que nous croyons être simplement des cellules végétatives très courtes (*voir Chapitre I*), offrent une plus grande résistance à la dessiccation, nous avons installé une série d'expériences avec des cultures maintenues constamment dans une étuve d'Arsonval, à la température de 34° (d'après les

indications de Hueppe, les arthrospores devraient prendre naissance dans ces conditions), et nous avons comparé l'effet de la dessiccation sur ces cultures et sur celles obtenues à la température ordinaire. Pour cela nous avons encore étendu les cultures en couche mince sur des lames de verre stérilisées que l'on suspendait comme précédemment; après un temps variable, on râclait le résidu laissé par évaporation sur la lame avec un scalpel stérilisé et on introduisait la matière dans un tube à bouillon; les tubes à bouillon étaient exposés à une température assez élevée (24° à 34°) pendant plusieurs jours; ceux qui se troublaient étaient soumis à l'examen microscopique; dans ceux qui restaient parfaitement limpides on n'avait introduit évidemment que des bacilles-virgules morts.

Dans quelques autres expériences les lames préparées de même ont été placées sur l'étagère d'une chambre (dite humide) de Verick dont la fermeture était assurée par de la glycérine et dans laquelle se trouvait une petite capsule avec de l'acide sulfurique à 66°.

3^e expérience. — Cultures dans le bouillon additionné de peptones, toutes maintenues à 34°; dessiccation sous cloche.

AGE de la culture en jours	DURÉE de la dessiccation en heures	RÉSULTAT
1	22 1/2	—
2	22 1/2	—
3	22 1/2	+
4	22 1/2	+
5	22	+
7	24	—
11	24	—
14	22	—
16	25	—

4^e expérience. — Cultures maintenues toutes à 34°; dessiccation sous une même cloche pendant 24 heures.

MILIEU de culture	AGE de la culture en jours	RÉSULTAT
Bouillon à peptones	1	—
d°	3	—
d°	4	—
d°	5	—
d°	6	—
d°	7	—
Agar	5	+
d°	7	+

5^e expérience. — Dessiccation à l'air libre; temps beau et sec; toutes les cultures obtenues à 34°.

MILIEU de culture	DURÉE de la culture en jours	DURÉE de la dessiccation en heures	RÉSULTAT
Bouillon	2	7	—
Bouill. à pepto ^{nes}	4	d°	—
d°	5	d°	—
d°	6	d°	—
d°	7	d°	—
d°	8	d°	—
d°	18	d°	—
Agar	6	7	—
d°	d°	24	—
d°	d°	31	—
Agar	8	7	+
d°	d°	24	—
d°	d°	31	—

6^e expérience. — Air libre, temps pluvieux ; cultures toutes à 34°.

MILIEU de culture	AGE de la culture en jours	DURÉE de la dessiccation en heures	RÉSULTAT
Bouillon	1	20	—
»	3	»	—
Agar	7	»	—
Bouillon	8	»	—
Agar	9	»	+
Bouillon	19	»	—

7^e expérience. — Dessiccation à l'air libre ; temps chaud (22-23°), mais humide ; cultures dans le bouillon.

AGE de la culture en jours	TEMPÉRATURE à laquelle a été obtenue la culture	RÉSULTAT APRÈS DESSICCATION pendant				
		40 minutes	58 à 60 min.	78 à 80 min.	106 à 108 m.	126 à 129 m.
2	18-20°	—	+ ^r	—	—	—
1	18-20°	—	—	—	—	—
10	34°	—	—	—	—	—
5	»	—	—	—	—	—
4	»	+	—	—	—	+ ^r
3	»	+	+	—	+ ^r	—
2	»	+	+	+ ^r	+ ^r	—
1	»	+	+	+ ^r	+ ^{rr}	—

La lettre ^r indique un retard, ^{rr} un retard plus considérable dans le développement.

8^e expérience. — Cultures dans le bouillon ; dessiccation à l'air libre ; temps un peu froid.

TEMPÉRATURE à laquelle a été obtenue la culture	AGE de la culture en jours	RÉSULTAT APRÈS DESSICCATION pendant				REMARQUE
		29 à 31 m.	1 heure	2 h.	3 h	
34°	23	—	—	—	—	Témoin +
»	12	+ ^r	—	+ ^r	—	
»	7	+	—	—	—	
»	6	+	+	+ ^r	+ ^r	
»	5	+ ^r	+	+ ^r	+ ^r	
»	4	+	+	+	+	
»	3	+	+	—	+	
»	2	+	+	+ ^r	+ ^r	
»	1	+	+	+	+	
18-20°	4	+	+	+	+	
»	3	+	+	+	+ ^r	
»	2	+	+	+	+	

9^e expérience. — Cultures dans le bouillon ; dessiccation à l'air libre.

TEMPÉRATURE à laquelle a été obtenue la culture	AGE de la culture en jours	RÉSULTAT APRÈS DESSICCATION pendant			
		45 min.	1 heure.	1 h. 15 m.	1 h. 30 m.
34°	1	+	+	+	+
»	2	+	+	—	+
»	3	—	—	—	—
18-20°	2	+	+	+	—
»	3	+	+	+	+
»	4	+	+	—	—
»	5	—	—	—	—
»	6	+	+ ^{rr}	—	—

10^e expérience. — Cultures dans l'agar. — Dessiccation à l'air libre.

TEMPÉRATURE à laquelle a été obtenue la culture	AGE de la culture en jours	RÉSULTAT APRÈS DESSICCATION pendant			
		14 h. 1/2	20 heures	24 heures	3 jours
34°	1	+	+ ^r	+	—
»	2	+	+ ^r	+ ^r	—
»	3	+ ^r	+ ^r	—	—
»	4	—	—	+	—
»	5	—	—	+	—
»	6	—	+ ^r	+	—
18-20°	4	+	—	+	—
»	5	+	—	+	—

Les expériences précédentes ne montrent pas toujours des résultats très concordants ; c'est que la vitesse de la dessiccation dépend de conditions physiques qui ont varié dans ces expériences : température, état hygrométrique de l'atmosphère, courants d'air, et surtout épaisseur de la couche de culture étalée sur les lames (pour l'agar principalement). Mais si on considère les résultats dans leur ensemble, il en ressort clairement, à notre avis, qu'il n'y a pas production, dans les conditions indiquées par Hueppe, d'une forme durable plus résistante à la dessiccation. Les cultures anciennes à 34° dans lesquelles les arthrospores devraient être abondantes, se montrent, au contraire, notablement plus sensibles, tandis que les cultures obtenues à basses températures (18-20°) sont tout aussi sinon plus résistantes que les cultures de même âge obtenues à 34°.

Les cultures dans l'agar, toutes choses égales d'ailleurs, ont supporté la dessiccation bien plus longtemps que les cultures correspondantes de bouillon ; cela était vrai aussi bien pour les

cultures de 18-20° que pour celles de 34°; mais il est bien évident que cela tient uniquement au substratum lui-même, c'est-à-dire à l'agar qui retient très-énergiquement l'eau; ceci est corroboré par les observations de Koch, de Babes et de Hueppe lui-même sur la longévité des cultures dans l'agar.

Ce serait trop dévier le mot de spores de sa signification primitive que de l'appliquer à des cellules ne différant des cellules végétatives ordinaires que par leur longueur moindre, mais ne possédant aucune autre propriété spéciale. Rien du reste ne nous force à admettre une forme durable pour le bacille cholérigène qui semble ne se maintenir en permanence que dans le delta du Gange où la température ne descend pas au-dessous de 17° et où le lit de la rivière n'est jamais à sec.

La dessiccation peut donc être employée comme un moyen de désinfection; il faudra, bien entendu, la prolonger suffisamment; la durée ne peut en être déterminée d'une façon absolue, car elle variera nécessairement avec les conditions physiques que nous avons indiquées; elle ne devra pas être moindre de 6 à 8 jours.

La dessiccation se montrera surtout avantageuse pour les objets de quelque valeur qui ne pourront être ni lavés avec des désinfectants, ni exposés à la vapeur d'eau bouillante; elle constituera un moyen de désinfection excellent et des plus simples pour tout ce qui pourra rester hors d'usage pendant quelque temps (appartements, literie, matelas, voitures, coussins, etc.). Il est bien entendu que l'on devra se placer à l'abri de la pluie et hâter, au besoin, la dessiccation par le chauffage artificiel.

On a invoqué contre ce mode de stérilisation la recrudescence du choléra coïncidant souvent avec une baisse des eaux déterminée par la sécheresse. Il est évident cependant qu'un ruisseau, un puits, etc., dont les eaux sont basses, n'est point pour cela à sec; les bacilles-virgules qui arriveront dans cette eau, se trouveront moins delayés et, par suite de la concentration des substances

nutritives, pourront mieux se multiplier ; les chances de contamination par ces eaux sont donc plus grandes.

Il n'y a pas lieu non plus de se baser sur la mort de la virgule par la dessiccation pour supprimer l'arrosage des rues et les mesures de propreté en général ; il ne peut être question que de dessécher les objets directement infectés.

Températures. — Ce que nous avons dit plus haut sur les arthros-pores de Hueppe se trouve encore corroboré par nos expériences sur la température minima nécessaire pour tuer le bacille-virgule.

Nous avons opéré de la façon suivante : Un tube contenant une culture pure dans le bouillon plonge par sa partie inférieure dans l'eau d'un ballon qui n'est pas tout à fait rempli ; toute la culture est au-dessous du niveau de l'eau.

Un thermomètre est fixé dans la tubulure du ballon à côté du tube, de façon que son réservoir se trouve à la même hauteur que la culture. On prend plusieurs capillaires à ampoule ; on flambe l'extrémité opposée à l'ampoule, on la brise et on introduit les capillaires dans le tube à culture, en soulevant un peu le bouchon de coton. La pointe brisée des capillaires vient à une faible distance du niveau supérieur de la culture, mais ne la touche point. Le bouchon de coton enfoncé de nouveau maintient en place les capillaires.

On pose ensuite le ballon avec tout ce qu'il contient sur une toile métallique au-dessus d'un bec de Bunsen, et l'on chauffe avec une certaine lenteur ; quand on approche de la température à laquelle on veut faire un essai, on chauffe l'ampoule d'un des tubes avec la flamme d'un bec de Bunsen mobile au bout de son tuyau de caoutchouc ; on chasse ainsi une partie de l'air du capillaire, puis on fait pénétrer sa pointe dans le liquide à virgules ; on note exactement la température à ce moment. Une partie de la culture pénètre dans

le capillaire qu'on retire; en chauffant de nouveau l'ampoule, on fait sortir le bouillon à virgules et on le reçoit dans un godet stérilisé, dans lequel on verse ensuite un peu de gélatine liquéfiée et en partie refroidie. On replace le couvercle, on mélange en inclinant plusieurs fois le godet à droite et à gauche et, après que la gélatine s'est figée, on le maintient à une température de 18-23°.

1^{re} expérience. — On commence à chauffer :

à 6 h. 45 minutes

7	15	»	50°	+* (5 ^e jour).
7	25	»	60°	—
7	35	»	70°	—
7	57	»	80°	—

2^e expérience. — Durée 30 minutes.

53°	—
55°	—
60°	—
66°	—
71°	—
Témoin	+

3^e expérience. — Durée 26 minutes.

46°	+	colonies caractéristiques en 48 heures, culture pure
50°	+	» » au bout de 4 jours.
55°	+	» » »
61°	—	observé 8 jours.

Le bacille-virgule du choléra est donc tué par une température de 60°. D'après Cornil et Babes, une température de 50° ne produit le même effet qu'au bout de quelques jours, une température de 45° est supportée plusieurs jours. D'après van Ermengem 50 à 55° maintenus pendant une à deux heures suffiraient pour la stérilisation.

La même limite de 60° a été trouvée aussi pour un grand nombre

d'autres bactéries, abstraction faite de leurs spores, quand elles en possèdent.

Il était intéressant de savoir si les cultures obtenues à 34° offraient ici une résistance plus grande indiquant la présence d'une forme durable. Dans ce but, nous avons installé les expériences suivantes :

4^e expérience. — Plusieurs cultures d'âges différents, mais toutes obtenues à 34°, sont placées dans un bain-marie ; le niveau de l'eau dépasse celui des cultures ; les tubes sont disposés en cercle autour du centre du bain-marie occupé par un thermomètre ; quand celui-ci marque 60° on enlève rapidement les tubes de l'eau et on inocule ensuite avec chacun d'eux un tube à bouillon. On a mis 18 minutes à aller de 20 à 60°. Il faut remarquer que dans ces expériences les cultures elles-mêmes n'ont pas dû atteindre tout à fait la température de 60°.

Milieu de culture :	Bouillon à peptone	Ibid.	Ibid.	Ibid.	Ibid.	Ibid.	Bouillon	Ibid.	Ibid.
Age de la culture en jours.....	19	9	8	7	6	5	3	2	1
RÉSULTAT...	—	—	—	—	—	—	—	+	+

5^e expérience. — Toutes les cultures dans le bouillon à peptones ; on a mis 8 minutes à porter le bain-marie de 35 à 60°.

Températ° à laquelle la culture a été obtenue.....	34°	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	18-20	Id.
Age de la culture en jours.....	8	7	6	5	4	3	1	5	3
RÉSULTAT...	—	—	—	—	+	—	+	+	+

6^e expérience. — Cultures toutes obtenues dans le bouillon ; on a mis 10 minutes à aller de 35 à 60°.

Températ ^{re} de formation de la culture.....	34°	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	Id.	18-20°	Id.	Id.	Id.	Id.
Age de la culture en jours.....	10	8	7	6	5	3	2	1	7	6	5	4*	3
RÉSULTAT.....	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Dans les expériences suivantes le thermomètre plongeait dans la culture même qui a donc été portée réellement à 60°.

7^e expérience. — Culture de 2 jours à 34° dans du bouillon à peptones ; on a mis 4 minutes à aller de 35 à 60° ; il n'y a pas eu stérilisation +.

8^e expérience. — Culture de 3 jours à 18-20° dans le bouillon à peptones ; on a mis 6 minutes à aller de 35 à 60° ; il n'y a pas eu stérilisation +.

9^e expérience. — Culture dans le bouillon à peptones de 2 jours à 34° ; on a mis 7 minutes à aller de 40 à 60° ; stérilisation —.

10^e expérience. — Culture dans le bouillon à peptones de 24 heures à 34° ; on a mis 30 minutes à aller de 40 à 60° ; stérilisation —.

La température de 60° doit donc être maintenue pendant un certain laps de temps pour amener sûrement la stérilisation. Les cultures obtenues à basse température semblent tout aussi résistantes que celles de 34° ; ces dernières, arrivées à un certain âge, deviennent plus sensibles à des températures voisines de 60°, ce qui tient sans doute (comme aussi pour la dessiccation) à l'accumulation des produits d'excrétion. La différence a été en effet plus frappante pour le bouillon à peptones, plus nutritif et où le développement atteint un plus haut degré, que pour le bouillon simple.

Le bacille-virgule, de même que beaucoup d'autres bactéries, est peu sensible aux basses températures. Il n'est pas tué par une température de -10° maintenue pendant une heure (Koch), ni 0° maintenue pendant douze heures (van Ermengem).

Une température aussi basse n'est pas nécessaire pour arrêter toute végétation, pour empêcher notamment toute putréfaction. Les matières cholériques dans ces conditions pourront conserver leur virulence un temps plus ou moins long, pendant lequel elles seront aussi dangereuses qu'au début, si, par un hasard quelconque, elles sont ramenées dans le corps de l'homme ou dans un appartement chauffé. On s'explique donc que le choléra ait pu se maintenir à l'état d'épidémie discrète, en hiver, dans des pays aussi froids que la Sibérie.

Des températures notablement supérieures à 0° suffisent déjà pour arrêter le développement du bacille-virgule. Koch (1^{re} Conférence, p. 13) a observé qu'à 17° le développement est encore sensible, tandis qu'au-dessous de 16° il devient nul ou presque nul.

Van Ermengem a vu un certain développement, fort lent, il est vrai, à une température de 8 à 15° maintenue pendant neuf jours.

Nous avons installé une expérience dans le même sens de la façon suivante :

Une série de tubes de gélatine a été inoculée et maintenue d'abord 48 heures à l'étuve, vers 18° . Les colonies étaient alors visibles à l'œil nu, mais très petites. Les tubes sont enfermés dans un flacon à l'émeri placé lui-même dans une caisse en fer blanc ; le tout est immergé dans le Vieux Port, à 40 centimètres à peu près au-dessous de la surface, le 25 décembre.

Le 10 janvier on retire l'un des tubes, les colonies ne sont presque pas plus grandes qu'au 25 décembre. Mais, en plaçant le tube à l'étuve, le développement continue d'une manière normale et donne une culture pure.

Le 26 janvier on retire un second tube; les colonies ne sont presque pas plus avancées qu'au 10 janvier; à l'étuve le développement continue.

Dans cet intervalle de 32 jours la température de l'eau a été prise 28 fois, près de la surface, aux heures suivantes : 7 heures, 10 heures matin, midi, 2 heures, 4 heures soir; elle a varié entre 6° et 11°,5. La moyenne des 28 observations a été de 9°,46; la température réelle des tubes a dû être, en réalité, un peu plus basse à 40 centimètres de la surface. Dans ces conditions il y a eu presque arrêt de développement; mais les virgules n'ont pas été tuées.

Dans l'intervalle du 10 au 26 janvier un peu d'eau du port avait pénétré dans le flacon, et même dans quelques tubes à travers les bouchons de coton qui étaient mouillés. Nous n'avons pas osé, pour cette raison, continuer l'expérience. Dans les tubes ainsi contaminés, nous trouvâmes une végétation bactérienne variée et abondante; les virgules y existaient, mais relativement rares; la gélatine était liquéfiée en partie. Nous croyons qu'il y a là une indication sur la façon dont la virgule doit, à la saison froide, être arrêtée dans son développement et même se trouver détruite à la longue, là où, en été, elle aurait trouvé des conditions favorables à son foisonnement, par exemple dans les selles des cholériques, sur les parcelles organiques flottant dans l'eau de nos ports.

La température la plus favorable au développement du bacille-virgule est, d'après Koch, comprise entre 30 et 40°. D'après van Ermengem, l'optimum serait à 37°; à 40° déjà la végétation serait difficile. Doyen (*Arch. de physiol.*, 15 août 1885, p. 225) prétend même qu'à 40° le développement devient presque nul. Mais cette assertion est inexacte.

Nous avons fait des expériences comparatives avec plusieurs séries de tubes, les uns garnis d'agar-agar, les autres de différent liquides tels que bouillon, bouillon à peptones, solution de peptones dans l'eau distillée. Une série A était placée dans une étuve à

régulateur automatique de d'Arsonval dont la température initiale était de 40° et est montée 40°,2 à la fin de l'expérience ; la température était indiquée par un thermomètre dont le réservoir était placé à la même hauteur que les cultures et dont l'extrémité supérieure sortait un peu du couvercle. La deuxième série B était placée dans une étuve chauffée par un bec de gaz ; la température observée plusieurs fois a varié de 30 à 34°. La troisième C a été laissée dans le laboratoire à une température de 20 à 25°. Nous n'avons pas remarqué d'abord de différence appréciable entre les séries A et B, dans lesquelles le développement a été bien plus rapide qu'à la série C ; après 24 heures B paraissait très légèrement en avance sur A. Par d'autres expériences nous avons constaté qu'à 42° même le développement du bacille-virgule est très notable. A ce point de vue spécial il ne semble donc pas utile de chercher à abaisser la température des animaux au-dessous de 40° dans les essais d'inoculation.

Oxygène. — La présence de l'oxygène est indispensable au développement du bacille-virgule. Koch a fait voir (1^{re} Conférence, p. 14) qu'en recouvrant d'une lame de mica la gélatine nutritiveensemencée avec la virgule et coulée sur une plaque de verre, il n'y avait formation de colonies que sur le bord de la lame ; qu'en plaçant les tubes inoculés dans le vide de la machine pneumatique ou dans une atmosphère d'acide carbonique, il n'y avait pas de développement. Mais la virgule ne meurt pas dans ces conditions et les colonies se forment, lorsqu'on permet de nouveau l'accès de l'oxygène.

Nous avons vérifié ce fait en plaçant des matras, garnis de bouillon et inoculés, sous la cloche de la machine pneumatique ; après avoir fait le vide partiel on laissait rentrer de l'acide carbonique ; le bouchon de coton était ensuite recouvert de plusieurs doubles de papier buvard ou de caoutchouc ; il n'y a eu aucun développement, même

au bout de quelques jours et en exposant les matras à une température de 30°-35°.

Si l'on inocule des matras remplis de liquide nutritif jusqu'à la naissance du col et qu'on recouvre le bouchon de plusieurs doubles de papier à filtrer, le développement se fait bien d'abord à la surface, mais il ne tarde pas à se ralentir très notablement, et il n'atteint pas le même degré que dans des matras remplis seulement au tiers ou à moitié.

Le bacille-virgule est donc essentiellement aérobic.



CHAPITRE VI

Mode d'action du bacille-virgule sur l'organisme.

De l'exposé des chapitres précédents, il ressort pour nous que le bacille-virgule est le contage du choléra. Les preuves en sont :

1° La présence constante et exclusive du microbe dans l'intestin des cholériques pendant les premiers jours de la maladie (Chap. I);

2° La localisation dans l'intestin seulement avec ses annexes immédiates : les glandes intestinales et les voies biliaires (Chap. II);

3° L'analogie entre les symptômes du choléra et ceux obtenus par l'inoculation intestinale des matières cholériques ou des cultures pures de bacille-virgule (Chap. III);

4° La similitude d'action physiologique de l'alkaloïde trouvé dans les cultures pures du bacille et dans les organes des cholériques (Chap. IV);

5° Le mode de vitalité de ce microbe qui concorde avec tout ce que l'on savait déjà, avant sa découverte, sur la manière d'être du contage cholérique (Chap. V).

Nous voulons dans ce chapitre étudier, à la lumière de l'anatomie et de la physiologie pathologiques, quelques points de fait et de doctrine capables de jeter quelque jour sur le mode d'action du bacille-virgule cholérigène.

La *porte d'entrée du microbe* est la partie supérieure du tube digestif. Nul doute ne peut subsister à ce sujet.

Il faut, pour lui faire franchir l'estomac, des conditions particulières; car on a vu (Chap. V) que le bacille-virgule est tué rapidement par le suc gastrique.

D'après nos expériences, les circonstances favorables à la contamination nous paraissent être :

1° Le jeûne avant l'ingestion. Nous avons vu l'estomac des cobayes présenter, après un jeûne prolongé, une réaction neutre à sa surface ;

2° L'état liquide de la matière ingérée ; car, à l'état solide, elle séjournera dans l'estomac et s'imprégnera de suc gastrique ;

3° L'absence, dans le liquide ingéré, d'éléments nutritifs capables d'inciter la sécrétion du suc gastrique ;

4° Le jeûne après l'ingestion : l'eau bue immédiatement avant ou avec le repas s'imprègne naturellement de suc gastrique. (Nous n'entendons pas parler de ce jeûne consécutif prolongé nécessaire au cobaye à cause du rôle très particulier que paraît jouer le cœcum dans cet animal) ;

5° La quantité de liquide ingéré qui devra être assez grande pour ne pas être résorbée entièrement dans l'estomac (*l'eau bue sans mélange et en quantité, en dehors des repas, constituera donc le meilleur véhicule pour le contagé cholérique*) ;

6° Le trouble chronique ou accidentel (excès de table) des fonctions gastriques qui permettra à des matières contaminées solides d'arriver dans l'intestin non imprégnées de suc gastrique.

Enfin il est possible que la réceptivité de l'homme pour le choléra ne soit point absolue et que des individus très bien portants puissent supporter impunément des bacilles-virgules dans leur intestin.

Il n'est point étonnant que les expérimentateurs qui ont ingéré les matières cholériques à l'état solide (pilules, M. Bochefontaine) ou même en culture dans le bouillon (Klein), n'aient pas eu le choléra. Il y a lieu bien plutôt de tenir compte de ce fait rapporté par Macnamara et cité par Koch (2^{me} Conférence, p. 9) :

Des déjections cholériques parvinrent, par le fait d'un hasard sur lequel l'auteur ne s'est pas expliqué, dans une eau qui resta

exposée au soleil une journée tout entière. Dix-neuf personnes en burent ensuite ; cinq furent atteintes du choléra dans les 36 heures suivantes.

Le champ d'action directe du microbe cholérique est l'intestin et l'intestin seul avec son annexe les voies biliaires. Encore les voies biliaires ne sont-elles envahies que très tardivement, ce qui doit faire renvoyer ce dernier point à l'étude des accidents tardifs de la maladie.

MORT RAPIDE.

Pour expliquer la mort par les seules altérations de l'intestin, nous trouvons deux hypothèses en présence :

a. L'une est la *théorie mécanique ou hydraulique du choléra*, qui a trouvé dans le célèbre Pacini ⁽¹⁾ un chaud défenseur. Ce savant a même cherché à en établir la formule mathématique. D'après cette théorie, les accidents sont dus à la perte de liquide qui serait la conséquence de l'entérite. Le sang, devenu épais, ne circule plus que difficilement dans les capillaires, et en particulier dans les capillaires pulmonaires, d'où l'asphyxie et la mort.

On est d'accord généralement aujourd'hui pour considérer comme insuffisante cette théorie, parce qu'elle n'explique pas la mort dans les cas de choléra sec, ces cas foudroyants entre tous, où il n'y a presque pas d'évacuations et où, en même temps, le liquide n'est point accumulé dans l'intestin en quantité exceptionnellement grande.

b. L'autre hypothèse, pour expliquer la mort par entérite, pourrait être appelée : la *théorie nerveuse réflexe* du choléra. Pour elle la

(1) Voir la traduction de l'ouvrage de Pacini par le Dr Bos, in *Marseille médical* 1880 et 1881. C'est à cette théorie que l'on doit les essais de transfusion qui, finalement, n'ont pas abouti. L'amélioration momentanée observée parfois, peut être mise à l'actif d'une dilution de la substance toxique et partant à l'actif de la théorie de l'empoisonnement.

gastro-entérite agirait comme fait peut-être la hernie étranglée, suivant la comparaison avancée pour la première fois par Griesinger. Il y a, en effet, entre les deux états une analogie symptomatique qui a de bonne heure frappé les médecins à tel point que l'on parle de *choléra herniaire*.

En admettant que l'anurie soit un phénomène réflexe, l'anurie est-elle capable à elle seule de provoquer la mort rapide par la rétention de l'urée et d'autres déchets organiques normaux de l'économie ? L'expérience est contraire à cette hypothèse.

Les animaux, en effet, auxquels on extirpe les reins, ne meurent pas en quelques heures comme on voit mourir les cholériques. Pour nous en assurer, nous avons pratiqué l'extirpation des reins sur trois chiens en pénétrant par la région dorsale et en employant toutes les précautions usuelles. Le premier est mort après deux fois vingt-quatre heures; le second et le troisième sont morts après trois fois vingt-quatre heures.

Nous ne savons pas, dans l'état actuel de nos connaissances en physiologie, d'autre phénomène réflexe de l'irritation intestinale capable de donner la mort.

Il nous reste à examiner une dernière théorie, celle de l'*empoisonnement* par une substance toxique développée dans l'intestin sous l'influence de la fermentation bacillaire. Cette théorie a pour elle la découverte d'un alcaloïde dans les matières intestinales des cholériques et dans leurs organes, et la découverte d'un alcaloïde très probablement identique dans les cultures pures du bacille-virgule.

Les animaux empoisonnés par ces alcaloïdes ont succombé avec des convulsions, en algidité. Quand la dose a été moins forte, on a constaté cet état parétique des extrémités et particulièrement des extrémités postérieures que l'on retrouve dans l'inoculation des cobayes. La vessie s'est trouvée vide, les reins injectés. Nous avons observé les premiers sur les chiens, à qui nous avons injecté

dans les veines de la culture pure ancienne filtrée, des vomissements, des mouvements de défécation, et un état de parésie très remarquable. A l'autopsie on a trouvé la vessie vide, les reins injectés et des ecchymoses intestinales.

Voilà des expériences qui ne sont pas seulement des faits d'analogie, mais bien les effets directs de produits extraits avec toutes précautions soit des organes des cholériques, soit des solutions de peptones après la fermentation bacillaire virgulienne.

Encore ne faut-il pas oublier que la ptomaïne peut n'être pas le seul poison des cultures du bacille-virgule. M. A. Gautier affirme, en effet, dans sa récente communication à l'Académie de Médecine (19 janvier 1886) « qu'il existe à côté des alcaloïdes des substances « azotées non alcaloïdiques qui les accompagnent toujours et sont « douées d'une activité bien autrement grande. Le poison septique « de Panum ne contient pas ou fort peu d'alcaloïdes; les matières « azotées extractives et incristallisables des urines sont extrême- « ment toxiques sans être basiques; la partie essentiellement active « du venin des ophidiens est azotée, mais non alcaloïdique. »

Le lieu de formation du poison est l'intérieur de l'intestin, où sa présence a été signalée, chez les cholériques, par G. Pouchet, et où se trouvent, dans la portion grêle, les matières albuminoïdes à l'état de peptones dont les solutions pures ont fourni, après fermentation virgulienne, la ptomaïne de nos expériences. De l'intestin il est absorbé dans le torrent circulatoire de la veine porte et jeté dans la grande circulation. On connaît (expérience de Magendie, voir Chap. III) l'action toxique du sang de cholérique injecté dans les veines (1). M. Villers a trouvé la ptomaïne isolé-

(1) Voici nos expériences sur ce point :

Exp. I. Injection de 3,5^{cc} du sang de choléra foudroyant, recueilli après la mort dans un flacon stérilisé, et injecté deux heures après. Le chien est tôt après abattu, il frissonne; le lendemain et le surlendemain, même état; il est trouvé mort après trois jours écoulés. Autopsie: Sang du cœur: noir, ne contient que

ment dans le sang, dans le foie, et en quantité particulièrement considérable dans les reins, faisant supposer qu'en ce dernier point est un émonctoire naturel où va s'opérer son élimination.

La preuve de l'élimination par les reins serait donnée par la présence de la ptomaïne dans les urines. C'est surtout dans les premières urines rendues au sortir de l'algidité qu'il y a lieu de la rechercher; il ne faut pas s'attendre, du reste, à l'y retrouver toute entière: substance très altérable, elle doit disparaître de l'économie, au moins en partie, par oxydation.

M. Bouchard a injecté de cette urine dans les veines du lapin et noté des symptômes particuliers différents de ceux que donne l'urine normale ou celle de maladies autres que le choléra: c'est de la diarrhée, des crampes et une hypothermie plus considérable. La dose mortelle n'était pas différente de celle d'une urine ordinaire, et la toxicité a été proportionnelle à la dose injectée (1).

Des recherches dans ce sens se heurtent tout d'abord à la difficulté où l'on se trouve, dans un hôpital surtout, de se procurer les *premières urines* d'un cholérique, dans lesquelles surtout il faudrait rechercher la ptomaïne. Nous ne sommes pas certains que les expériences suivantes aient été faites sur de pareilles urines.

Nous avons fait deux essais d'extraction par la méthode de Stass :

quelques grumeaux de couleur foncée, pas de caillots fibrineux; estomac et portion supérieure de l'intestin grêle contiennent du sang en abondance. Pas de virgules.

EXP. II. Jeune cochon du poids de 40 à 50 kilog. Injection dans une veine abdominale de 7^{cc} de sang de cholérique mort après quelques heures de maladie. L'animal est tôt après très abattu; les pieds, le museau, les oreilles sont cyanosés et froids au toucher. On le trouve entièrement rétabli le lendemain.

EXP. III. Petit chien. Injection dans la veine crurale d'une seringue Pravaz de sang de cholérique, cas rapide. Paraît abattu, puis guérit après un peu plus de vingt-quatre heures.

M. Livon (*Marseille médical* 1884, p. 536), expérimentant sur le lapin, a provoqué la mort dans les vingt-quatre heures (2 expériences).

(1) Association Française, Congrès de Grenoble, 1885.

Premier essai : la solution provenant d'un peu plus de deux litres d'urine fournis par plusieurs malades, a été injectée à un cobaye. On n'a observé qu'un abaissement de température sans autres symptômes (température initiale 40°,2 ; après 4 heures 37° seulement et après 18 heures 38°).

Deuxième essai : La solution provenant d'un litre d'urine analogue a été injectée à une souris qui est morte au bout de trois heures et demie : paresse générale et du train postérieur surtout, marche chancelante, cris plaintifs, algidité (27° deux heures après l'injection).

Ces essais sont loin d'être concluants.

Le poison a-t-il une action sur les éléments du sang ? La question est résolue négativement par les derniers travaux sur ce sujet (1).

Le poison a-t-il une action spéciale sur le système nerveux ? Ici nos expériences sont affirmatives : les vomissements chez le chien, l'atonie motrice, les convulsions sont tout autant de symptômes d'ordre essentiellement nerveux (Chapitre IV de nos expériences). Comme cependant les fonctions intellectuelles ou de l'écorce cérébrale sont conservées intactes, que la motilité réflexe demeure indemne, c'est au domaine des nerfs pour les fonctions viscérales et vasomotrices que l'on se trouve nécessairement limité. C'est dans ce domaine là, du reste, qu'évolue essentiellement la maladie.

M. Paoletti (Congrès de Pérouse, *Semaine médicale*, 1885, p. 323) admet un spasme général des fibres musculaires lisses, une sorte de tétanos entéro-moteur, vaso-moteur, vésical, etc., à mettre en parallèle avec le tétanos des muscles à fibres striées qui est celui de la strychnine. Jusqu'ici le tétanos artériel est seul établi (section d'artère non suivie d'hémorrhagie, expérience de Magendie, de Dieffenbach). L'hypothèse d'une pareille élection toxicologique n'a rien qui doive paraître osé ni étrange ; nous rappelons l'action

(1) Hayem et Winter, *Gaz. hebdom.* 20 et 27 février 1885.

élective de la strychnine, on connaît aussi celles du curare sur les terminaisons des nerfs moteurs, de la digitale sur les nerfs du cœur, du chloroforme et de tant d'autres poisons. Diverses hypothèses peuvent être faites : Le poison agit-il sur les cellules ganglionnaires qui tapissent les vaisseaux eux-mêmes ? sur les ganglions viscéraux isolés ? sur les ganglions cérébraux enfin ? Nous nous arrêtons sur ce terrain où nous n'avons pas d'expériences à relater.

Le poison exerce son action sur les fonctions hépatiques. *Le foie* se trouve être le premier baigné par le sang revenant de l'intestin, et les lésions histologiques du foie sont constatées dès le début : dilatation et thrombose capillaires, tuméfaction et décoloration de la cellule ⁽¹⁾, atrophie commençante ⁽²⁾, disparition ou au moins diminution de la matière glycogène ⁽³⁾, bile noire et visqueuse au début, bile fluide et incolore dans certains cas tardifs (voir ci-après, à propos de la mort tardive).

Que *le rein* soit troublé dans ses fonctions, c'est ce que l'anurie rend évident. La cause de l'anurie doit-elle être cherchée dans l'action directe d'un poison agissant par le sang dans le rein ? ou dans une action indirecte ? C'est ce qu'il ne nous est pas possible d'élucider. Une chose certaine, c'est que des altérations histologiques ne tardent pas à apparaître. Nous aurons à les examiner dans l'étude de la mort tardive, car elles ont été trouvées nulles ou à peine ébauchées dans les cas de mort rapide, et n'ont revêtu quelque caractère significatif que dans ceux où la mort est survenue après le troisième jour ⁽⁴⁾.

(1) Hanot et Gilbert, *Arch. de physiol.*, 1885, p. 304.

(2) Kelsch et Vaillard, loc. cit.

(3) Bouchut, cité in *Dict. de Dechambre*, article *Choléra*, p. 840.

(4) Kelsch et Vaillard, *Arch. de physiol.*, 1885, p. 326.

MORT TARDIVE.

Trois ordres de faits peuvent être invoqués pour expliquer la mort tardive dans le choléra. Ce sont : 1° les désordres organiques ébauchés dans les cas très rapides et qui se montrent ici beaucoup plus accentués, en particulier dans le foie et dans les reins ; 2° diverses septicémies ; 3° l'empoisonnement putride.

Lésions hépatiques et des voies biliaires. — A part le cas d'un abcès, nous n'avons à noter, en fait de différence dans l'examen de l'organe à l'œil nu, que la disparition de la couleur violacée générale des cas rapides et son remplacement par une coloration gris-jaunâtre où se marquent des taches de couleur plus claire dont le dessin lobulaire est effacé. Nous notons encore dans quelques cas la teinte ictérique, la dilatation des canalicules biliaires avec présence de concrétions orangées.

Lorsqu'apparaissent les marbrures jaunes on a constaté une atrophie disséminée bien plus prononcée que dans les cas rapides : la surface du lobule est comme craquelée, les cellules sont disjointes, elles apparaissent : ou bien légèrement tuméfiées, pâles, à peine granuleuses avec un noyau assez visible, c'est le plus petit nombre ; ou bien plus petites, présentant un protoplasma clair, homogène, peu sensible au carmin, et un noyau peu coloré qui tend à s'effacer ; à ces éléments se mélangent des cellules à angles mousses sans noyau apparent, et finalement des blocs cellulaires informes, vitreux, qui peuvent même constituer de petits foyers isolés (1).

(1) Kelsch et Vaillard, loc. cit. Comparez aussi V. Hanot et Gilbert, *Arch. de physiol.*, 1885, pour les lésions du début.

Les lésions histologiques du foie qui, nous l'avons vu, précèdent celles du rein, peuvent donc atteindre un degré très marqué; elles sont de nature atrophique.

Il faut noter, en outre, comme appartenant aux autopsies tardives :

- a.* La pénétration des bacilles-virgules dans les voies biliaires ;
- b.* La décoloration de la bile (bile aqueuse, incolore, contrastant avec la bile visqueuse, noire des premiers jours) ;
- c.* La coïncidence régulière de la décoloration de la bile avec une néphrite très accusée (la réciproque ne serait pas vraie) ;
- d.* La coïncidence du même fait avec l'observation pendant la vie des symptômes typhoïdes (la réciproque n'est pas absolue).

Voici nos observations à ce sujet :

DURÉE de la maladie	VÉSICULE biliaire	FOIE	REINS	
Obs. 17 11 jours.	Extraordin ¹ dilatée. Vir- gules.	Abscès au mi- lieu d'une par- tie altérée et augm. de vol ¹	Hypertrophiés, subst ¹ corticale blanche, glomé- rules non app ¹ .	Symptôm ¹ typhoï- des. Elév ¹ de temp ¹ Ecchym ¹ étendues dans le tube digestif
Obs. 22 11 jours	Gorgée de 130 gr. de liq ¹ séreux, incol ¹	1850 gr. Co- loration icté- rique pronon- cée.	Gros rein blanc	Ictère, épistaxis. Selles sang ¹ . Uri- ne ictérique.
Obs. 23 10 jours.	Gorgée de 110 gr. de bile incolore.	1575 gr. Con- duits bil ¹ dila- tés, tr ¹ de bile concr ¹ orang.	Substance cor- ticale hypertro- phiée. Glomé- rules effacés.	Symp ¹ typh ¹ . Rate augm. Ecch ¹ étendues d ¹ le tube digestif.
Obs. 27 Plus de 10 jours.	Gorgée de 120 gr. de bile décolorée.	1700 gr. pâle, grisâtre, lobu- les effacés.	Substance cor- ticale hypertro- phiée, blanche.	Symp ¹ typh ¹ . Rate augm. (340 g.) Ecchym ¹ étendues dans le tube digestif
Obs. 29 6 jours.	Gorgée de bile noire. Ob- struction du cholédoque. Virgules.	1370 gr. (In- dividu amaï- gri.)	Substance cor- ticale blanche, augmentée.	Trois jours de symp ¹ typhoïdes.
Obs. 44 11 jours.	Bile de con- sistan ¹ et cou- leur normales	Virgules.	Augmentés, subst ¹ corticale blanche.	
Obs. 45 Longue	Gorgée de bile décolorée. Virgules.		Subst ¹ cortic ¹ blanche, glomé- rules effacés.	Hépatisation du poumon gauche et épanchem ¹ purul ¹ du même côté.
Obs. 50 Au moins 9 jours.	Distendue p ¹ de la bile inco- lore.	Canaux bi- liaires dilatés contenant une matière con- crète jaune.	Reins très aug- mentés, subst ¹ corticale blanche	Urine abondante, un peu bilieuse.
Obs. 51	Longue de 0,12, gorgée de bile décolorée.		Gros rein blanc	Symptôm ¹ typhoï- des pendant plus ¹ jours.
Obs. 46 Plus de 4 jours.	Enorme, lon- gue de 0,20, liquide non si- rueux noir. Virgules.		Un peu aug- mentés, subst ¹ corticale blanche	Mort en algidité.
Obs. 59 13 jours		Virgules et autres bacté- ries.		Hépatisation du poumon droit.

Le poids du foie est signalé comme augmenté dans la période tardive par Kelsch et Vaillard. Ce fait ne ressort pas nettement de leurs observations. Ils signalent un seul cas où le poids dépasse 2000 grammes (il y a doute entre 2050, chiffre indiqué dans le texte des observations, et 2500, chiffre indiqué dans la discussion qui suit les observations). Nous ne l'avons trouvé augmenté de volume d'une façon apparente que dans un cas et dans la portion seulement qui était le siège d'un abcès (obs. 17). Nous avons, au contraire, noté un poids de 1350 après 6 jours de maladie, et même un poids de 1260 après une durée de 5 jours pleins. Nous accordons cependant aux auteurs que nous venons de citer que le poids du foie peut être en augmentation sur les cas de mort très rapide où le foie comme le rein, comme tout le corps, du reste, diminuent en raison de la déperdition aqueuse générale.

Les altérations des reins ont fait l'objet d'études approfondies parmi lesquelles nous devons citer les recherches anciennes : Reinhardt, Frerichs, Virchow, Kelsch et Renaut, Charcot et Cornil, et récemment Strauss avec Roux et Nocard, Klebs, et enfin un nouveau mémoire de Kelsch avec Vaillard. Nous renvoyons à ces publications le lecteur désireux de connaître les détails histologiques des lésions.

Nous voulons ici seulement insister sur la relation qui nous a paru frappante entre l'état des reins et la durée de la maladie.

On a déjà vu que les altérations histologiques n'apparaissent qu'au-delà du troisième jour. A partir de ce moment, elles vont en augmentant, et dans les cas très-tardifs, on rencontre de ces reins très gros à substance corticale particulièrement augmentée et entièrement blanche. Ce rein-là contraste étrangement avec le rein petit, rosé, cyanosé des cas très rapides, et le rein également petit et exsangue des premiers jours qui suivent.

Les histologistes s'accordent à voir dans la lésion du rein la

manifestation d'une nécrose, ou mort des éléments essentiels de l'organe. Ils basent ce jugement en particulier sur la résistance des noyaux à l'action des matières colorantes et sur l'analogie des lésions observées avec la lésion expérimentale qui est le produit de la ligature de l'artère rénale.

Ce fait peut être expliqué par le défaut d'irrigation sanguine pendant la période algide et l'arrêt de nutrition qui en est la conséquence. Remarquons cependant avec les auteurs (Cohnheim, Strauss)⁽¹⁾ que l'ischémie artérielle est loin d'être absolue. S'il ne coule pas assez de sang pour la sécrétion, il en vient peut-être assez pour entretenir la vie des éléments.

Ce fait peut être expliqué encore par l'effet d'un poison contenu dans le sang et agissant directement sur les cellules du rein.

L'urine des cholériques est albumineuse ; le sang des cholériques a été trouvé riche en urée.

La présence de l'urée dans le sang et la lésion si prononcée des reins jouent certainement un rôle important dans les troubles tardifs de la maladie, rôle qui a été bien mis en relief en particulier par Griesinger ⁽²⁾.

Ce n'est pas cependant de l'urémie simplement, de l'urémie comme elle se présente dans les néphrites ordinaires, car un symptôme essentiel fait défaut : les convulsions générales, éclamptiques. Griesinger les signale bien comme observées « dans des cas très rares » ; quant à nous, nous n'avons ouï parler d'aucun fait de ce genre dans les épidémies auxquelles nous avons assisté.

Diverses septicémies. — Nous avons vu, dans le chapitre deuxième, que des bactéries ont été trouvées par nous dans les

(1) Strauss, loc. cit., p. 409.

(2) *Traité des maladies infectieuses.*

organes des cholériques, en très petit nombre sans doute, et d'espèces très diverses. Néanmoins, dans les cas où l'envahissement septicémique à travers les parois altérées de l'intestin a eu lieu, rien n'est plus plausible que de voir là le point de départ de certaines inflammations localisées en foyers, aboutissant à la purulence. Ce sont les abcès signalés en diverses régions du corps, les faits très rares de méningite purulente, de pleurésie, de parotidite, de laryngite, de splénite, ce sont enfin les faits plus fréquents de pneumonie dont nous avons observé deux cas très accentués.

Dans l'un de ces cas, nous avons obtenu par ensemencement des colonies de coccus souvent associés à deux en diplococcus. L'autopsie ayant été faite pour l'un d'eux, avant notre examen, par MM. les internes de l'Hôpital, nous n'avons sur elle que des renseignements très incomplets (obs. 59). La maladie en était au 18^e jour ; il y avait hépatisation très étendue, de couleur gris-jaunâtre en voie de transformation purulente.

L'autre, concerne un homme adulte, mort après six jours d'hôpital. La vésicule biliaire a été trouvée pleine de bile foncée ; les reins étaient à peine augmentés, les glomérules de la substance corticale peu apparents étaient cependant reconnaissables. Le poumon droit était, à l'exception du sommet, tout entier en état d'hépatisation rouge ; le poumon gauche présentait seulement deux noyaux de la même hépatisation (obs. 54). On peut se demander si, dans ces cas, l'infection a eu réellement pour point de départ l'intestin excorié ; l'hypothèse paraît plausible.

On pourrait citer encore le cas suivant, que nous communiquons le docteur Sieur, aide-major à l'Hôpital-Militaire, concernant un soldat atteint de choléra le 31 juillet, entré en convalescence le 7 août, et chez qui une fièvre typhoïde dothiéntérique s'est développée à partir du 23 août. C'est là un fait, sans doute, qui ne peut être mis que très indirectement à l'actif du choléra, mais qui indique combien peuvent être variées les formes de septicémie

consécutives au choléra suivant les microbes du milieu où vit le malade.

Empoisonnement putride. — M. Koch a signalé un fait dont nous avons souvent contrôlé l'exactitude, c'est le foisonnement de bactéries de toutes sortes dans l'intestin des cholériques morts en réaction. Il se peut qu'après l'expulsion du bacille-virgule et la victoire de l'organisme sur le poison qu'il a sécrété, les parois intestinales livrent passage aux produits de cette fermentation putride, et il n'est pas impossible que ces poisons formés dans l'intestin jouent un rôle dans la pathogénie des accidents tardifs. Pour pouvoir l'affirmer, il faudrait isoler des organes les produits résorbés de la fermentation putride intestinale et caractériser ces produits, ce que nous n'avons pas fait.

CONCLUSION. — *Pour résumer et pour esquisser, tel qu'il nous apparaît, le mécanisme de la maladie, nous dirons :*

Le bacille-virgule pénètre par la bouche et se développe dans l'intestin ; tardivement et par exception, il se développe aussi dans les voies biliaires.

Il produit dans l'intestin un poison qui est résorbé. C'est ce poison qui cause la mort. (Choléra simple, choléra typhoïde.)

Les lésions intestinales peuvent occasionnellement servir de porte d'entrée à d'autres microbes pathogènes dont l'action intervient pour chacun d'eux suivant le mode qui lui est propre. (Abscesses, parotides, pneumonies, méningite, etc.)

La fermentation putride qui a lieu dans l'intestin pendant la réaction peut jouer un rôle dans la symptomatologie de cette période de la maladie.

CHAPITRE VII

Applications prophylactiques.*Modes d'importation et de propagation.*

Du delta du Gange, seul point du globe où le choléra soit endémique, la maladie se répand sans cesse dans l'Inde (1). Elle n'a été transportée en Europe d'abord que par la voie de terre et en étapes successives. Depuis le percement de l'isthme de Suez, elle nous arrive bien plus vite soit par l'intermédiaire seulement de l'Egypte et de l'Arabie, soit même directement, grâce à la rapidité des communications à vapeur.

A grande distance l'importation a lieu le plus souvent par l'homme lui-même atteint de choléra. Cependant, avec nos moyens rapides de locomotion on ne saurait exclure le transport du choléra au loin par d'autres porteurs du contagé.

Nous avons vu, en effet, le bacille-virgule se maintenir vivant 14 à 16 jours dans le linge empaqueté, et ce laps de temps est plus que suffisant pour aller de l'Inde en Egypte ; il n'est pas du tout certain que ce soit là la durée maxima.

Nous avons vu aussi que le bacille peut vivre au-delà de 30 jours dans l'eau de cale d'un navire, c'est-à-dire pendant plus de temps que n'en demande la traversée de l'Inde en Europe (2).

(1) Grâce surtout aux pèlerinages qui mettent en mouvement tant de milliers d'indigènes

(2) Le danger de l'eau de cale semble rendu bien manifeste par un fait ancien que nous tenons de la bouche d'un marin et qui concerne un navire de l'Etat, *le Monge*. Ce navire, absolument indemne du choléra, fut frappé par l'épidémie en plein Océan Pacifique après de longs jours de traversée, mais fort peu de temps après que l'on eût procédé à l'évacuation de l'eau de cale.

Il peut se répandre ensuite par l'intermédiaire des ouvriers occupés dans la cale pendant le déchargement, ou par l'intermédiaire des ports eux-mêmes, si l'on y déverse l'eau de cale, comme cela se fait généralement à l'arrivée. Dans ce dernier cas, le bacille-virgule, s'il trouve des matières nutritives, peut se multiplier, soit immédiatement, soit après un temps plus ou moins long, quand l'importation a eu lieu à un moment de l'année où les eaux sont froides.

Quand il n'y a pas eu de cas de choléra pendant la traversée, l'importation par cette voie nous paraît aussi probable que par des effets de matelots décédés du choléra dans les Indes.

Examinons comment se répand le choléra une fois qu'il est installé en Europe :

C'est d'abord directement par l'homme, par ses déjections et par tout ce qu'elles ont touché.

L'homme peut conserver le contagium vivant en lui pendant plusieurs jours, jusqu'à 13 jours dans des cas exceptionnels ; rappelons qu'il existe des cas de choléra réduits à de simples diarrhées, mais qui n'en sont pas moins dangereux au point de vue de la propagation. Dans les déjections, le bacille peut foisonner de manière à les transformer en une véritable purée de virgules, c'est ce qui arrive notamment sur le linge. Les effets des cholériques constituent un des plus importants agents de la propagation, cela est confirmé par de fréquents cas de choléra observés chez les blanchisseuses. Le linge peut même, surtout emballé, conserver longtemps le contagium vivant et servir à le transporter au loin. Un fait de ce genre a été constaté en 1884 où le linge d'un cholérique de Marseille devint le point de départ d'une épidémie intense dans la vallée du Jabron (Basses-Alpes). Il ne faut pas oublier que de pareils cas sont presque toujours difficiles à établir ; ceux qui ont expédié ou reçu le linge ne savent souvent pas qu'il était contaminé, et, dans le cas contraire, ils ne s'empressent pas en général d'en convenir.

Si les déjections cholériques arrivent dans des fosses closes, étanches, elles se trouveront désinfectées automatiquement par la putréfaction. Il n'en sera pas de même dans les fosses non closes, dans les tinettes filtrantes, dans les puisards peu étanches recevant les eaux ménagères. Là les selles se trouveront plus ou moins délayées et le bacille-virgule ne sera plus détruit rapidement par la putréfaction ; il arrivera alors vivant dans les égouts, et de là, dans les ports, les rivières, etc. ; d'un autre côté, il pourra contaminer le sol et, par son intermédiaire, les puits.

Dans les différents milieux (ports fermés, eaux stagnantes, rivières, puits) pauvres en matières nutritives, le bacille-virgule pourra, si les autres circonstances lui sont favorables, se maintenir longtemps vivant à côté de beaucoup d'autres bactéries ; il pourra même encore, comme l'a fait remarquer Koch, trouver sur des débris végétaux ou animaux flottant dans l'eau, un milieu restreint très favorable à son développement.

En dehors même de toute expérimentation directe une pareille invasion des puits et des ports fermés ne semble point douteuse pour Marseille, étant donné son système de puisards et de tinettes filtrantes, et leurs communications avec les égouts et les ports. Nous avons vu la longévité du bacille-virgule dans l'eau saumâtre de ces derniers ; elle peut, à chaque instant, devenir le point de départ de nouveaux cas de choléra soit par contact direct avec l'homme, soit plus souvent indirectement par l'intermédiaire des effets, linge, filets, etc., qui s'en trouvent imprégnés ou arrosés.

On voit par là combien le système de vidanges et d'égouts d'une ville doit avoir d'influence sur la marche et l'intensité des épidémies cholériques.

Si les égouts allaient se déverser en pleine mer, le bacille-virgule pourrait vivre encore un temps notable dans ce milieu, mais ses chances de multiplication seraient considérablement réduites par la dilution des matières nutritives, et le contagionisme cholérique se

trouverait tellement délayé dans cette énorme masse d'eau que la contamination de l'homme deviendrait tout à fait improbable. Le danger serait encore plus sûrement écarté si une canalisation spéciale portait les matières de vidange loin de la ville et des ports, soit dans la mer, soit dans une usine dont les manipulations détruiraient le contagion cholérique ; la contamination, par cette voie, des puits et des eaux potables en général se trouverait évitée du même coup.

Nos expériences relatées plus haut nous ont montré, en effet, que le bacille-virgule peut se maintenir vivant un temps notable dans l'eau douce, et la propagation du choléra par ce véhicule est depuis longtemps admise par tout le monde. Il serait trop long de citer les faits si nombreux que l'on peut invoquer à l'appui ; nous nous contenterons donc d'en rappeler quelques-uns.

Koch a signalé avec insistance la diminution du choléra déterminée, à Calcutta et au fort William, par l'installation d'une conduite d'eau à l'abri de la contamination ; il a fait connaître beaucoup d'autres faits de ce genre observés dans l'Inde.

Pendant l'épidémie de 1884, M. le professeur Bouveret, de la Faculté de Lyon, s'est livré à une étude très minutieuse sur le choléra dans l'Ardèche. M. Bouveret a distingué, d'après l'intensité avec laquelle sévissait le fléau, des épidémies massives, discrètes ou avortées. Les localités où fut importé l'élément contagieux ne différaient pas par la nature du sol, mais bien par le régime des eaux potables. « Dans tous les foyers intenses les eaux potables sont puisées à des sources, citernes ou puits découverts, et situés au sein de l'agglomération. Dans les villages contaminés où l'eau potable est puisée à distance de l'agglomération et surtout à des fontaines jaillissantes, dont les sources sont toujours captées loin des habitations, l'épidémie présente le caractère d'une épidémie discrète ou même avortée. »

MM. les professeurs Roustan et Queirel, qui se sont rendus en 1884 dans la vallée du Jabron, ont été frappés du rôle joué pour la propagation du choléra par ce ruisseau dans lequel on avait lavé le linge cholérique mentionné plus haut. Tous les villages qui se servaient des eaux du Jabron comme boisson, pour les usages domestiques, arrosage des jardins, etc., ont eu une épidémie cholérique ; les hameaux de la vallée placés à mi-côte, à une certaine distance du Jabron, dont ils

n'employaient pas les eaux, sont restés indemnes ou n'ont présenté que des cas isolés pour lesquels l'importation directe d'une localité contaminée a été évidente.

Ce mode de propagation par les eaux est presque toujours plus facile à suivre et à établir dans les petites localités que dans les grands centres; néanmoins pendant l'épidémie de 1885 la contamination par certains puits de Marseille a été des plus frappantes. Rappelons encore les faits de même nature mis en lumière pour Gènes par M. Maragliano et M. Ceci. Le remarquable rapport lu par M. Marey à l'Académie de Médecine (14 octobre 1884) contient aussi de nombreuses preuves dans le même sens; nous y renvoyons le lecteur.

L'influence attribuée au sol sur la marche des épidémies de choléra pourra aussi, sans doute, être expliquée en dernier ressort par ses rapports avec les eaux de consommation et les eaux courantes.

Nous ne prétendons nullement pour cela que l'eau soit l'agent unique de contamination, mais seulement qu'elle joue le principal rôle, et nous croyons volontiers qu'il n'y aura pas de véritable épidémie de choléra là où l'on saura se mettre à l'abri de ce mode de contamination et du contact direct des déjections cholériques.

L'eau est d'autant plus dangereuse que le public se tient beaucoup moins en garde contre l'eau que contre les déjections ou effets des cholériques; enfin l'eau est beaucoup plus apte que les substances alimentaires solides à faire franchir au bacille-virgule la barrière de l'estomac. Le transport pourrait certainement, en principe, avoir lieu à assez *grande distance* par l'intermédiaire des eaux courantes; en fait, la chose sera relativement rare, car l'eau ne reçoit pas constamment des matières cholériques, même dans une localité envahie par l'épidémie, et ces matières, pourvu que le débit d'eau soit un peu notable, ne tardent pas à se trouver tellement délayées que les chances de contamination s'affaiblissent.

La contamination par l'air, vu la faible résistance de la virgule à la dessiccation, ne semble possible que dans des cas tout à fait

exceptionnels ; il peut arriver, par exemple, que des mouches aillent se poser d'abord sur des déjections cholériques dont elles sont très friandes, puis sur des substances alimentaires, mais il ne restera attaché aux pattes ou à l'appareil buccal de la mouche que de bien petites parcelles de matières cholériques, qui dessècheront très rapidement. Ce mode de transport n'aura donc guère lieu qu'à faible distance ; néanmoins, c'est une éventualité qu'on ne doit pas perdre de vue dans les localités envahies par le choléra.

De ce qui précède découlent naturellement les mesures prophylactiques.

Quarantaines.

Pour nous garantir de l'importation de l'Inde, le moyen le plus simple et le plus efficace semblerait l'isolement des navires à leur arrivée dans nos ports. Mais les quarantaines jettent une telle perturbation dans les relations commerciales, il y a tant de gens intéressés à les enfreindre ou à les esquiver, qu'elles seront bien souvent illusoires ; elles exigent d'ailleurs une entente complète, une action commune de toutes les puissances, au moins de celles confinant à la Méditerranée, et l'on sait combien un pareil accord est difficile. A quoi serviraient de longues quarantaines dans les ports français, si voyageurs et marchandises peuvent être débarqués à Naples et gagner la France par voie ferrée plus rapidement que par mer. Quant aux quarantaines de terre, il semble bien que l'on est à la veille d'y renoncer totalement.

Il paraîtra, sans doute, plus rationnel dans l'avenir de ne plus mettre en suspicion le navire tout entier, mais seulement ce qui peut servir de véhicule au contagion cholérique ; on laissera libre pratique à la plupart des marchandises, à tout ce qui est sec notamment, mais :

1° On se méfiera de l'eau de cale, que l'on videra avant l'entrée dans le port ;

2° On désinfectera la cale ;

3° On soumettra à la désinfection les effets de ceux qui ont été atteints de choléra, ou même de diarrhée pendant la traversée ;

4° On mettra en surveillance pendant quelques jours les passagers et l'équipage, si cette mesure peut se faire dans des conditions telles qu'elle ne soit pas elle-même une cause de danger et de propagation ; sinon il est préférable encore de ne retenir que les malades.

Ces moyens prophylactiques pourront encore être simplifiés par une hygiène rationnelle rigoureusement appliquée pendant la traversée. Il sera possible d'isoler les malades suspects ; il sera facile de désinfecter leurs déjections et leurs effets par l'eau bouillante ou la vapeur d'eau, de désinfecter chimiquement ou de laisser dessécher tous les objets souillés qui ne peuvent subir ces manipulations.

Les récipients contenant l'eau potable seront rigoureusement surveillés et l'on videra fréquemment par les pompes l'eau de cale du navire, Le personnel se prêtera volontiers à ces mesures s'il sait pouvoir éviter ainsi la quarantaine ; pour être bien appliquées elles exigeront une certaine éducation hygiénique de l'équipage qu'il sera sans doute aussi possible de réaliser.

Système de vidanges, égouts, conduites d'eau.

Des mesures générales devront être prises (ou complétées) par les municipalités, surtout dans les grandes agglomérations et dans les localités qui servent habituellement de portes d'entrée aux épidémies ; nous avons nommé Marseille et Toulon. La nécessité de

ces mesures s'impose d'autant plus qu'elles se montrent efficaces pour la plupart des maladies contagieuses.

Les tinettes filtrantes et les puisards doivent absolument disparaître ; ils amènent sûrement la contamination du sol et des puits.

Le meilleur système de vidanges consisterait évidemment en une canalisation spéciale étanche conduisant loin de la ville soit dans une usine, soit dans des champs d'irrigation, soit en pleine mer ; les déjections et toutes les eaux ménagères.

La canalisation spéciale pourrait être au besoin remplacée par un système d'égouts étanches allant déboucher en pleine mer. Par le déversement des égouts dans les ports fermés on constitue des foyers perpétuels d'infection.

Il est indispensable d'assurer une distribution d'eau à l'abri de toute contamination, non-seulement à la source ou au point de départ, mais aussi sur le parcours du canal ; rien de plus faux, au point de vue hygiénique, que de reverser dans la conduite commune des eaux qui ont déjà servi à divers usages, comme cela se pratique à Marseille pour les minoteries.

Désinfection.

Les cholériques doivent être isolés autant que possible ; nous avons vu qu'ils pouvaient avoir des bacilles-virgules jusqu'au 13^m jour de la maladie ; il est donc indispensable de désinfecter jusque-là leurs déjections, notamment leurs selles, à moins qu'elles ne soient en un moindre temps redevenues tout à fait normales, et que le malade soit entré aussi en pleine convalescence. Malheureusement dans la pratique les premières selles d'un cholérique échapperont bien souvent à la désinfection ; il en sera de même des déjections de ceux qui ne sont atteints que d'un choléra très léger.

En réalité, il faudrait en temps d'épidémie recevoir dans des vases et désinfecter toutes les selles des diarrhéiques ; cela est bien difficile à exécuter. Aussi un bon système de vidanges, de canalisation pour les eaux sales et de conduites pour l'eau propre, constituera-t-il la barrière la plus efficace à opposer à l'épidémie.

Pour les déjections, on pourra employer un volume égal d'une solution de sulfate de cuivre à 5 0/0, ou d'acide phénique à 5 0/0, ou de chlorure de zinc à 10 0/0, et laisser en contact une heure au moins.

Tous les effets souillés et pouvant supporter l'immersion dans l'eau, resteront 24 heures dans une solution analogue, mais beaucoup plus faible (10 fois, par exemple) ; on peut abréger ce temps en ayant recours à des liqueurs plus concentrées. On pourra encore les plonger dans l'eau, dans un vase approprié, et porter à l'ébullition. Là où existe l'outillage spécial nécessaire, la suspension des effets dans un courant de vapeur d'eau bouillante réalisera un moyen de désinfection aussi rapide qu'efficace ; des appareils mobiles de stérilisation à courant de vapeur d'eau seront donc de la plus grande utilité.

Les effets ne pouvant être soumis à l'un de ces procédés resteront hors de service 6 à 8 jours au moins dans une pièce couverte, bien aérée et chauffée au besoin. Les voitures, wagons, coussins, etc. seront traités de même.

Les parquets, murs, tapis, bois de lit, enveloppes de matelas, etc., souillés par les déjections seront frottés avec des linges imbibés d'une des solutions fortes.

Ce qu'il faut éviter à tout prix, c'est de jeter les déjections (et ce qu'elles ont touché) sur le sol ou de les mettre en contact avec l'eau du sous-sol d'une façon quelconque, avant de les avoir désinfectées ou desséchées ; mieux vaudrait encore les abandonner à la putréfaction dans un vase couvert.

Comme on n'est jamais sûr, malgré toutes ces précautions,

d'avoir désinfecté toutes les matières cholériques provenant du malade, il sera prudent, après guérison ou décès, d'évacuer pendant huit jours la pièce et d'en assurer largement l'aération.

Ces mesures de désinfection devront surtout être minutieusement appliquées aux premiers cas d'une épidémie, qu'il sera alors bien souvent possible d'enrayer. La difficulté consiste à connaître, à diagnostiquer exactement ces premiers cas. C'est là que des laboratoires bactériologiques bien installés pourraient rendre d'immenses services, économiser bien des vies humaines et bien des millions; l'installation de pareils laboratoires s'impose, surtout dans les villes servant de portes d'entrée aux épidémies, et ce n'est pas seulement au point de vue du choléra qu'ils feraient sentir leur utilité.

Les personnes soignant les cholériques ne courent aucun danger dans leur voisinage; elles peuvent toucher sans crainte aucune les malades, leurs déjections, leur linge et leurs effets; elles auront seulement bien soin de ne pas porter les mains à la bouche pendant ces manipulations et de les laver ensuite (ainsi que tout ce qui peut avoir été souillé) avec une solution désinfectante: bichlorure de mercure 1 0/00, sulfate de cuivre 2 à 5 0/00, acide phénique 20 0/00. C'est surtout avant de manger, de boire ou de toucher des aliments que cette précaution devra être rigoureusement observée. On ne mangera, ni ne boira dans les chambres occupées par les cholériques.

On devra tenir pour presque aussi dangereuses que les déjections et les effets souillés par elles, les eaux qui ont pu être contaminées: eaux stagnantes, eaux de puits, eau de ports fermés, etc., ainsi que tous les objets mouillés par ces eaux.

Les cadavres devront être enterrés dans les 24 heures. On les entourera, dans le cercueil, de substances absorbantes poreuses (charbon, sciure de bois) pour empêcher l'écoulement des liquides intestinaux durant le transport.

Eau potable. Alimentation,

Des précautions tout à fait spéciales seront prises pour l'eau de boisson. Dans les villes ayant un système de lieux d'aisance et d'égouts défectueux, ayant des tinettes filtrantes, des puits-sards, etc., il faudrait absolument s'abstenir d'eau de puits, non seulement pendant les épidémies, mais en tout temps ; car le sous-sol est forcément contaminé par des contagés divers. Pendant le choléra ce principe ne saurait être trop exactement observé.

On fera fort bien de faire bouillir toute eau dont on ne sera pas absolument sûr, de la verser encore chaude dans des bouteilles bien sèches, puis de l'aérer après refroidissement par agitation.

L'addition à l'eau de 2 grammes d'acide tartrique par litre, que l'on neutralise, après un intervalle d'une heure au moins, par une quantité correspondante de bicarbonate de soude, est un moyen de désinfection à la portée de tout le monde et fournissant une boisson gazeuse. Les acides minéraux, en particulier l'acide sulfurique, ne devront être employés que par des mains exercées aux manipulations chimiques, et il faudra neutraliser avec soin avant de se servir de l'eau comme boisson ; celle-ci ne se trouverait ainsi additionnée que d'une faible quantité de sulfate de soude ; ce procédé pourra peut-être rendre des services, quand il s'agira de stériliser rapidement et économiquement de grandes quantités d'eau suspectes, par exemple dans les usines employant de nombreux ouvriers. Nous ne croyons pas qu'il y ait lieu de conseiller l'usage habituel de boissons acides (limonade sulfurique, chlorhydrique), on s'exposerait trop à des troubles digestifs et partant à une plus grande réceptivité pour le choléra.

Pour ceux qui boivent d'habitude du vin, l'eau peut être rendue inoffensive, mais au point de vue du choléra seulement, en la

mélangeant cinq à six heures d'avance avec le quart ou le tiers de son volume de vin.

Tous les vases et ustensiles de cuisine seront, après avoir été lavés, tenus à sec pendant plusieurs heures avant de resservir, à moins qu'on ne préfère laver à l'eau bouillie.

On tiendra en suspicion les substances alimentaires ayant pu être mises en contact avec de l'eau contaminée : coquillages, salades, etc.

La cuisson détruit à coup sûr le contagé cholérique ; on fera donc bien de ne manger autant que possible que des aliments cuits ; cela s'applique au lait notamment, si souvent additionné d'eau. La macération dans le vin, le vinaigre ou l'eau-de-vie produira le même effet. On conservera les aliments à l'abri du contact des mouches et des insectes en général, surtout s'il y a des cholériques dans les maisons voisines.

Il faut, en temps de choléra, éviter les excès, surtout les excès alcooliques, et tout ce qui peut causer des troubles digestifs et constituer ou augmenter ainsi notre état de réceptivité pour la maladie. Il va sans dire qu'on ne négligera pas les règles hygiéniques ordinaires.

Nous avons, pensons-nous, indiqué les éléments essentiels de l'hygiène publique et privée en temps de choléra. Il y aurait, sans doute, beaucoup de choses à ajouter, ainsi le danger des transports en masse, des grands rassemblements de personnes, danger qui découle naturellement du fait que l'homme lui-même est le premier véhicule du contagé, etc., etc.

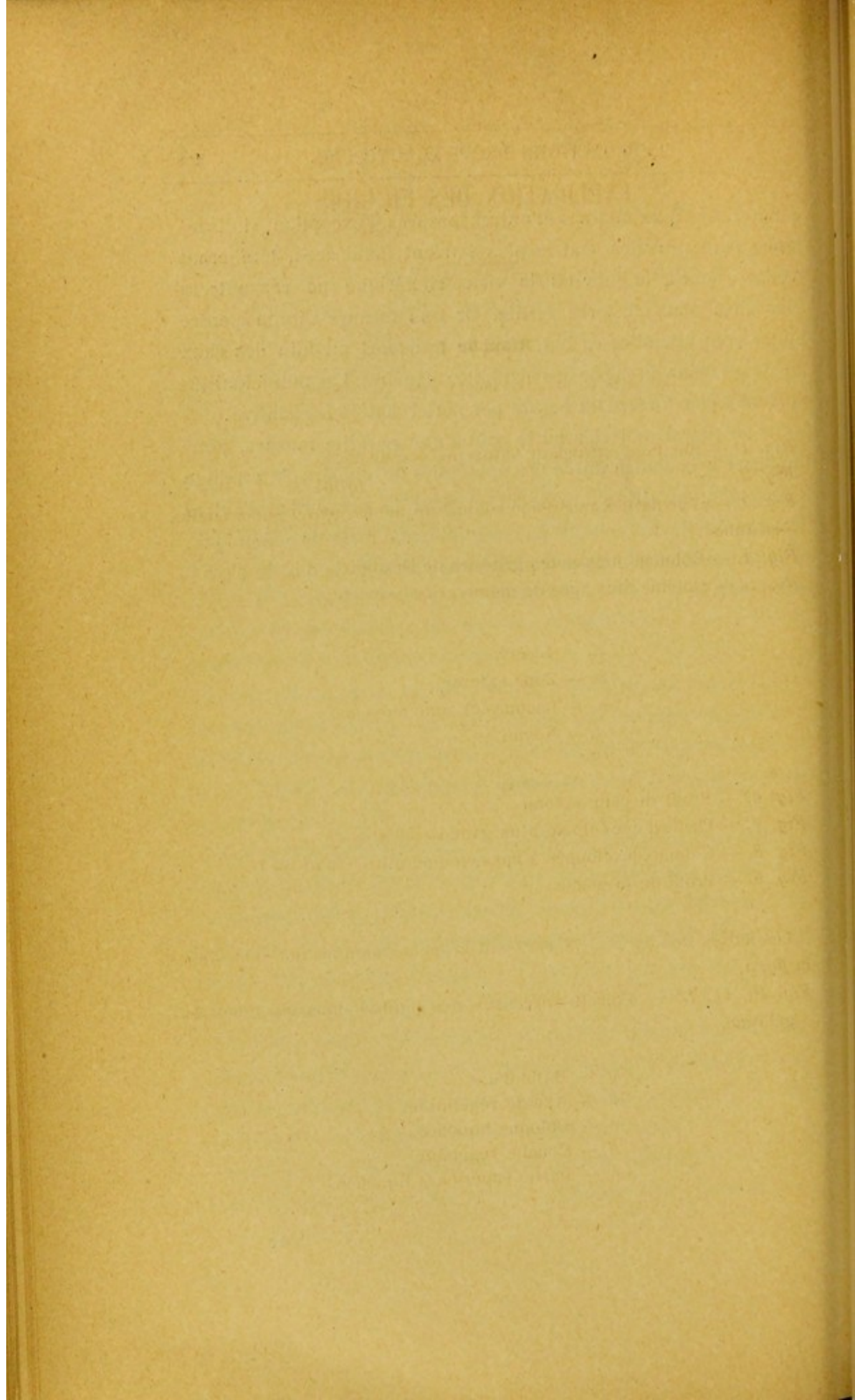
L'hygiène privée et personnelle du choléra est une hygiène tout élémentaire, elle a pénétré déjà dans les usages des classes aisées ; l'enseignement à l'école, dans les casernes, arrivera, il faut l'espérer, à la faire pénétrer dans toutes les classes.

Quant à l'hygiène publique, elle réside essentiellement dans l'assainissement des villes et des agglomérations humaines ne

général. Les quarantaines et autres mesures d'exception, si discutables parce qu'elles sont le plus souvent inefficaces, tomberont d'elles-mêmes, le jour où le virus cholérique ne rencontrera plus chez nous de terre fertile. Or une mesure s'impose entre toutes pour atteindre ce but, c'est le transport au loin des eaux fécales et ménagères par des conduites étanches. Les municipalités doivent y être forcées au besoin par l'intervention législative.

On ne saurait objecter ici le coût d'une pareille mesure, pour l'opposer à la courte durée des épidémies de choléra ; la pratique a enseigné, qu'elle s'impose aussi pour la prévention d'autres fléaux, de la fièvre typhoïde par exemple, une maladie endémique, celle-là. La vitalité et la prospérité des villes et de tout le pays y sont engagés.





EXPLICATION DES FIGURES

Planche I.

COLONIES DU BACILLE VIRGULE DANS LA GÉLATINE.

Fig. 1. — Sur lame, grandeur naturelle, vue de face.

Fig. 2. — » » » » profil.

Fig. 3. — Vue de dessous d'une colonie du même genre, superficielle, en tube.

Fig. 4. — Colonies naissantes grossies de 50 diam.

Fig. 5. — Colonie plus âgée de même grossissement.

a. — Liséré.

b. — Zone externe.

c. — Lacunes et zone moyenne.

d. — Noyau.

Fig. 6. — Profil de cette colonie.

Fig. 7. — Partie d'une colonie plus grande (50 gross.)

Fig. 8. — Colonie développée à basse température (50 gross.)

Fig. 9. — Profil de la même.

Les lettres des *fig. 6, 7, 8* et *9* ont la même signification que dans la *fig. 5*.

Fig. 10, 11, 12. — Aspects successifs des piqûres dans les tubes de gélatine.

a. — Bulle d'air.

b. — Axe de végétation.

c. — Colonne liquéfiée.

d. — Couche végétante.

e. — Partie supérieure liquéfiée.

Planche II.

BACILLES DIVERS ISOLÉS. — COLONIES DIVERSES.

- Fig. 1.* — Bacilles virgules d'un intestin de cholérique (cas rapide) après 24 heures de chambre humide (600 diam.)
- Fig. 2.* — Bacilles virgules provenant d'un bouillon à peptones (même gross.)
- Fig. 3.* — Bacilles d'une dent cariée (même gross.)
- Fig. 4.* — Fausse virgule (même gross.)
- Fig. 5.* — Bacilles de Finkler et Prior (même gross.)
- Fig. 6.* — Colonies naissantes du bacille de Finkler et Prior (50 diam.)
- Fig. 7 et 9.* — Colonies avancées du même (50 diam.)
- Fig. 8.* — Profil de *fig. 7 et 9.*
- Fig. 10 et 11.* — Colonies de fausses virgules (bacilles de *fig. 4.*)
- Les lettres des *fig. 7 à 11* ont la même signification que dans la planche I. *fig. 6 à 9.*

ab. — Zone externe.
c. — » moyenne.
d. — » nucléaire.



Planche 1.

Fig. 1



Fig. 2.

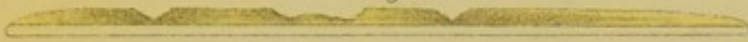


Fig. 3



Fig. 8.

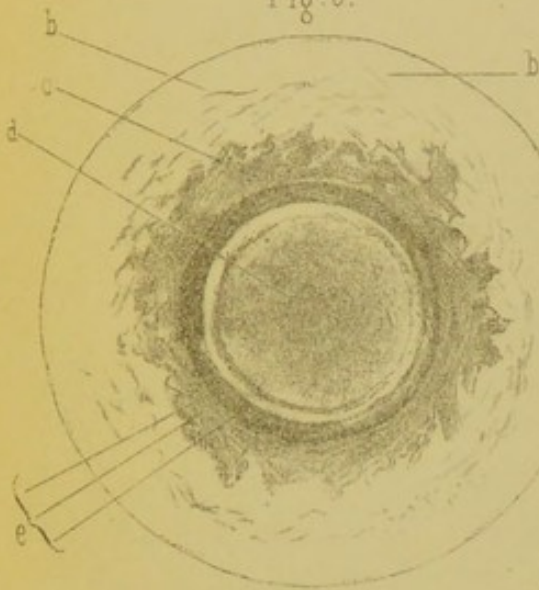


Fig. 5.

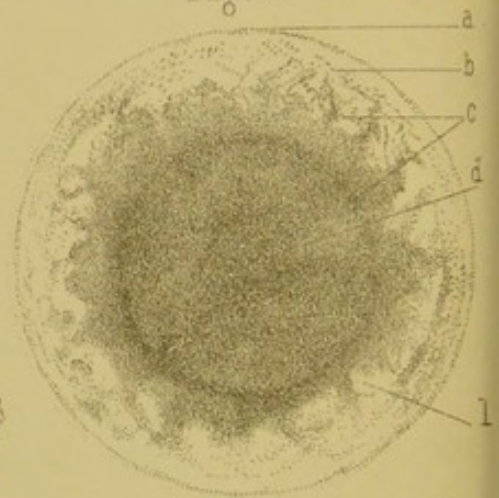


Fig. 4.

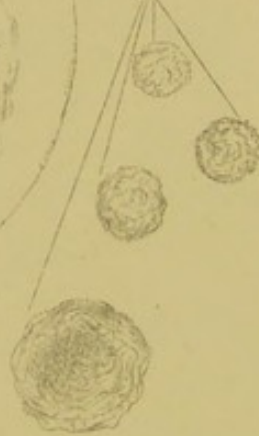


Fig. 9.



Fig. 6.

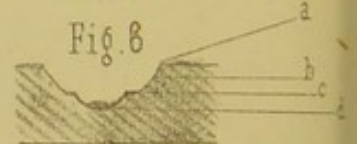


Fig. 7.

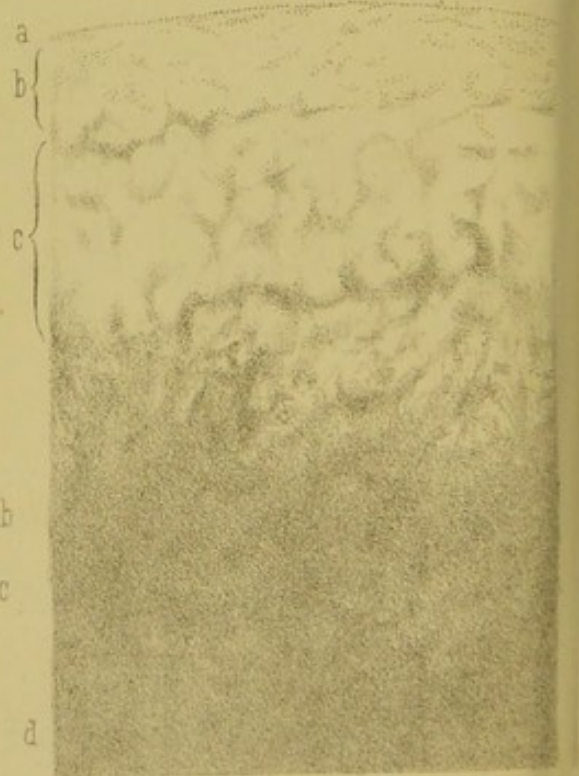


Fig. 10

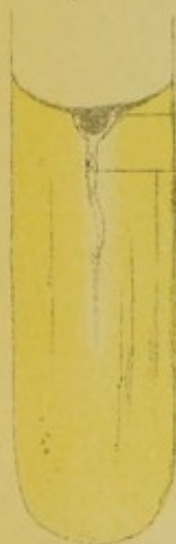


Fig. 11.



Fig. 12

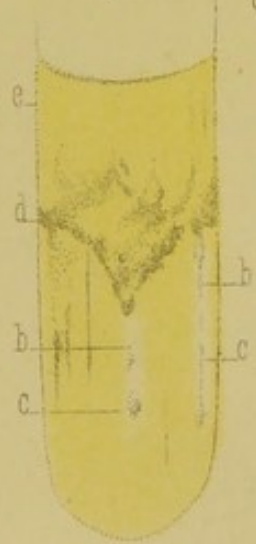


Planche 2.

Fig. 1.

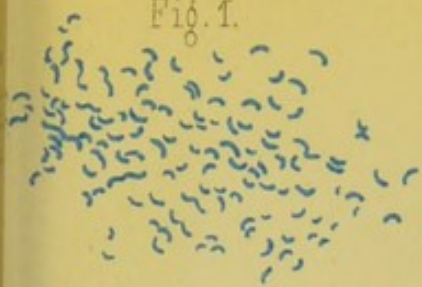


Fig. 3.

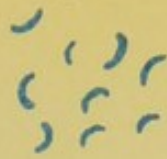


Fig. 2.



Fig. 7.

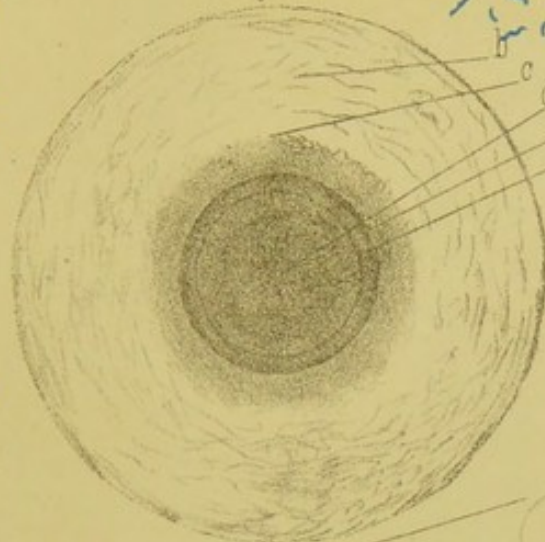


Fig. 5.



Fig. 4.



Fig. 8.



Fig. 6.

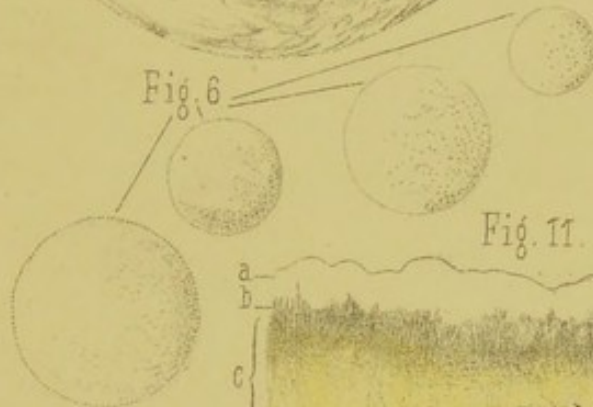


Fig. 11.



Fig. 9.

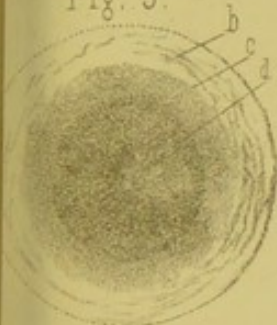


Fig. 10.

