Précis de bactériologie / par Ch. Dopter et E. Sacquépée.

Contributors

Dopter, Ch. 1873-1950.
Sacquépée, E.

Publication/Creation

Paris : Baillière, 1914.

Persistent URL

https://wellcomecollection.org/works/t89guu6s

License and attribution

Conditions of use: it is possible this item is protected by copyright and/or related rights. You are free to use this item in any way that is permitted by the copyright and related rights legislation that applies to your use. For other uses you need to obtain permission from the rights-holder(s).

wellcome collection

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

8/1

JBB&F

BIBLIOTHÈQUE GILBERT ET FOURNIER

DOPTER ET SACQUÉPÉE

BACTÉRIOLOGIE

J.B. BAILLIÈRE & FILS

22101643673

Med
K15857

91 F

LIBRARY OF THE
PRESENTED
BY THE EDITOR OF
B. M. J.
BRITISH MEDICAL ASSOCIATION

BIBLIOTHÈQUE DU DOCTORAT EN MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & L. FOURNIER

PRÉCIS

DE

BACTÉRIOLOGIE

BIBLIOTHÈQUE DU DOCTORAT EN MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT et L. FOURNIER

30 volumes petit in-8, d'environ 500 à 800 pages, avec nombreuses figures noires et coloriées. — Chaque volume : **8** à **16** fr.

Premier examen.

ANATOMIE — DISSECTION — HISTOLOGIE

Anatomie, 2 vol.	Grégoire	Professeur agrégé à la Faculté de Paris.	
Histologie (2e édit.)	Branca	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	15 fr.

Deuxième examen.

PHYSIOLOGIE — PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES

Physique médicale (2e édit.)	Broca (A.)	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	12 fr.
Chimie biologique	Desgrez	Professeur à la Faculté de Paris	12 fr.
Physiologie	.....	.....	

Troisième examen.

I. MÉDECINE OPÉRATOIRE ET ANATOMIE TOPOGRAPHIQUE PATHOLOGIE EXTERNE ET OBSTÉTRIQUE

Anatomie topographique	Soulié	Professeur à la Faculté de Toulouse	16 fr.
Pathologie externe, 4 vol.	Faure (J.-L.)	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	Ch. vol. 10 fr.
	Alglave	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Desmarest	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Okinczyc	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Ombredanne	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Schwartz	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Mathieu	Chirurgien des hôpitaux de Paris	
Médecine opératoire	Lecène	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	10 fr.
Obstétrique	Fabre	Professeur à la Faculté de méd. de Lyon	16 fr.

II. PATHOLOGIE GÉNÉRALE — PARASITOLOGIE — MICROBIOLOGIE PATHOLOGIE INTERNE — ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Pathologie générale	Claude (H.)	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	12 fr.
	Camus (J.)	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
Parasitologie	Guiart	Professeur à la Faculté de Lyon	12 fr.
Microbiologie	Dopter	Professeur au Val-de-Grâce.	
	Sacquépée	Professeur agrégé du Val-de-Grâce.	18 fr.
Pathologie interne, 4 vol.	Gilbert	Professeur à la Faculté de Paris	T. I 14 fr.
	Widal	Professeur à la Faculté de Paris	
	Dopter	Professeur au Val-de-Grâce	
	Castaigne	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Claude	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Lœper	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Rathery	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Ribierre	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
	Garnier (M.)	Médecin des hôpitaux de Paris	
	Jomier	Chef de clinique de la Faculté de Paris	
	Josué	Médecin des hôpitaux de Paris	
	Paisseau	Ancien interne des hôpitaux de Paris	
Anatomie pathologique	Achard	Professeur à la Faculté de Paris	12 fr.
	Lœper	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	

Quatrième examen.

THÉRAPEUTIQUE — HYGIÈNE — MÉDECINE LÉGALE — MATIÈRE MEDICALE PHARMACOLOGIE

Thérapeutique	Vaquez	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	10 fr.
Hygiène	Macaigne	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	10 fr.
Médecine légale (2e édit.)	Balthazard	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	12 fr.
Matière médicale et Pharmacologie	.....	.....	

Cinquième examen.

I. CLINIQUE EXTERNE ET OBSTÉTRICALE. — II. CLINIQUE INTERNE

Dermatologie et Syphiligraphie	Jeanselme	Professeur agrégé à la Faculté de Paris.	
	Sézary	Chef de clinique à la Faculté de Paris	
Ophtalmologie	Terrien	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	12 fr.
Laryngologie, Otologie, Rhinologie	Sébileau	Professeur agrégé à la Faculté de Paris	
Psychiatrie	Dupré	Professeur agrégé à la Faculté de Paris.	
	Camus (P.)	Médecin des asiles d'aliénés.	
Maladies des Enfants (2e édit.)	Apert	Médecin des hôpitaux de Paris	12 fr

15.1.14 20 frs. 79

BIBLIOTHÈQUE du DOCTORAT en MÉDECINE

PUBLIÉE SOUS LA DIRECTION DE

A. GILBERT & **L. FOURNIER**

Professeur à la Faculté de médecine de Paris,
Médecin de l'Hôtel-Dieu,
Membre de l'Académie de médecine.

Ancien Chef de clinique
de la Faculté,
Médecin des hôpitaux de Paris.

LIBRARY OF THE BRITISH MEDICAL ASSOCIATION
PRESENTED BY THE EDITOR OF B. M. J.

PRÉCIS

DE

BACTÉRIOLOGIE

PAR

Le Dr CH. DOPTER ET **Le Dr E. SACQUÉPÉE**

MÉDECIN MAJOR DE PREMIÈRE CLASSE
PROFESSEUR AU VAL-DE-GRACE

MÉDECIN MAJOR DE PREMIÈRE CLASSE
PROFESSEUR AGRÉGÉ DU VAL-DE-GRACE

Avec 323 figures noires et coloriées

PARIS
LIBRAIRIE J.-B. BAILLIÈRE ET FILS
19, RUE HAUTEFEUILLE, 19

1914

Tous droits réservés.

14784778

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY

Coll.	welMOmec
Call No.	QW

LIBRARY OF THE
PRESENTED
BY THE EDITOR OF
B. M. J.
BRITISH MEDICAL ASSOCIATION

PRÉFACE

La somme des connaissances exigées aujourd'hui de l'étudiant en médecine pour l'obtention du titre de docteur est considérable ; elle s'accroît chaque jour du fait des progrès chaque jour accomplis dans le domaine médical. Aussi, de plus en plus, l'étudiant a-t-il besoin, à côté des cours oraux et des travaux pratiques qu'il trouve à l'école, de leur auxiliaire précieux et indispensable, le livre.

La nécessité, pour l'enseignement médical, d'ordonner, de condenser, de mettre au point les innombrables travaux de ces dernières années est la raison d'être du prodigieux essor de la librairie médicale actuelle, qui nous a donné, avec les gros traités de médecine, plusieurs collections très importantes.

Mais il n'existe pas, nous a-t-il semblé, une collection d'ouvrages correspondant au programme imposé aux étudiants en médecine. Certes, il n'est pas inutile aux jeunes de butiner dans le vaste champ des productions médicales et de faire eux-mêmes leur apprentissage dans l'art de choisir la meilleure nourriture intellectuelle ; mais encore faut-il qu'ils aient eu tout d'abord et qu'ils conservent toujours à leur disposition et à leur portée une alimentation rationnelle et choisie.

D'ailleurs le temps qui leur est dévolu pour acquérir la somme des connaissances que l'on exige d'eux — à juste

raison du reste — est relativement très peu considérable. En quelques années, ils passent de l'état de collégiens à l'état d'hommes appelés à jouer un rôle social considérable. Rien de ce qui peut leur faciliter cette transformation prodigieuse, rien en particulier de ce qui peut les doter plus vite des connaissances indispensables ne doit être négligé.

Voilà pourquoi nous avons entrepris de présenter à ceux qui se destinent à la profession médicale une collection d'ouvrages qui fussent comme le développement naturel des programmes imposés par la Faculté. Après avoir dressé le plan détaillé de la « Bibliothèque du Doctorat », nous nous sommes efforcés de trouver, pour chaque partie, le collaborateur le plus nettement désigné, celui qui, de l'aveu universel, parût le plus capable de mettre au point la somme des connaissances que doit posséder l'étudiant. Nous avons trouvé dans le corps enseignant de la Faculté de Paris la plupart de ces précieux collaborateurs déjà tout désignés par leur enseignement oral même pour assumer la tâche non moins méritoire et glorieuse de l'enseignement écrit. Nous tenons à les remercier bien vivement de l'aide qu'ils nous ont apportée dans l'accomplissement de l'œuvre entreprise ; grâce aux services qu'elle rendra certainement, ils auront contribué à soutenir l'antique renommée de l'École de Paris et à maintenir l'éclat de son enseignement.

La « Bibliothèque du Doctorat » comprendra trente volumes ; les étudiants en médecine y trouveront développées toutes les matières de leur programme. Pour les préparer aux difficultés de la clinique, nous avons insisté pour que les chapitres de sémiologie fussent suffisamment développés en médecine, en chirurgie, en obstétrique. Nous avons enfin attribué à quelques spécialités, ophtalmologie, oto-rhino-laryngologie, psychiatrie, une place relativement assez considérable, puisqu'un volume

tout entier a été consacré à chacune d'elles; mais l'importance croissante de ces spécialités, le fait qu'elles comportent soit des examens, soit des concours spéciaux, justifiaient, nous semble-t-il, une semblable détermination.

Nous ne saurions terminer cette préface sans remercier MM. J.-B. Baillière des efforts qu'ils ont faits pour que la « Bibliothèque du Doctorat » se présentât sous un aspect agréable, capable de satisfaire les bibliophiles les plus délicats et pour qu'aucun reproche ne pût se justifier tant au point de vue de l'impression du texte que de la reproduction des figures.

A. Gilbert et L. Fournier.

PRÉCIS

DE

BACTÉRIOLOGIE

CHAPITRE PREMIER

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES MICROBES

On entend par microbes des êtres vivants, ayant une structure élémentaire et des dimensions si minimes qu'ils ne peuvent être vus qu'au microscope. Certains d'entre eux même échappent encore à l'investigation microscopique ; il s'agit d'un groupe d'organismes dits invisibles, dont la nature microbienne ne peut être démontrée que par divers procédés de laboratoire. Quoi qu'il en soit, les microbes sont les êtres les plus simples que l'on rencontre dans la nature.

PLACE DES MICROBES PARMI LES ÊTRES VIVANTS.

La plupart des premiers observateurs avaient été frappés par la mobilité des germes des fermentations : on vit ainsi Müller, Ehrenberg, Dujardin, affirmer qu'ils devaient, par là même, être rattachés au règne animal, au même titre que les Infusoires. Dujardin basait son affirmation sur l'absence de chlorophylle dans ces êtres vivants, qui devaient ainsi s'éloigner du règne végétal.

Davaine, en étudiant la bactéridie charbonneuse, observa cependant son immobilité : on sait depuis que beaucoup d'autres microbes sont immobiles ; d'ailleurs, la mobilité est un caractère que l'on constate chez certains végétaux inférieurs au cours de certaines phases de leur existence : c'est le cas des Algues, des Oscillariées, des Diatomées. Enfin il existe d'autre part des champignons dénués de chlorophylle.

Davaine, en effet, assimilait les bactéries à des Algues, voisines des Oscillaires. Pasteur les a longtemps considérées comme des Infusoires. Ce fut aussi l'opinion de Balbiani, Künstler, Bütschli.

Actuellement, on a tendance à les considérer comme des végétaux inférieurs; on a été frappé, en effet, de la ressemblance de certaines bactéries avec certaines Algues. De ces dernières, il existe des Algues vertes, constituées par un protoplasma incolore, un noyau et une membrane, mais le protoplasma contient des granulations, ou chromatophores, sur lesquelles se fixe un pigment chlorophyllien. Mais on connaît aussi des *Algues bleues*, ou *Cyanophycées* ou *Phycochromacées*, dépourvues de noyau, et dont le protoplasma contient de la chlorophylle et de la phycocyanine, substance soluble dans l'eau, dissoute dans le contenu cellulaire. Elles présentent des formes analogues à des cocci isolés ou disposés en chaînettes ou à des bâtonnets ; on leur connaît aussi des formes encapsulées et des formes spiralées. Les Cyanophycées produisent encore, comme certaines bactéries, des agglomérations en *zooglées*, représentant des formes dites palmellacées. Elles constituent en réalité la transition entre les Algues proprement dites et les bactéries.

Il est donc probable que les bactéries sont des végétaux inférieurs.

FORMES ET DIMENSIONS DES BACTÉRIES.

On connaît aux bactéries plusieurs formes :

Microcoques. — En certains cas, elles présentent une forme ronde, sphérique. On dit alors qu'il s'agit d'un *coccus* ; on les nomme encore *Microcoques*. Les cocci mesurent en moyenne quelques dixièmes de μ de diamètre.

Un coccus peut se montrer à l'état isolé, ou bien il se montre sous l'aspect de *diplocoques*, quand un élément est associé à l'un de ses congénères. Le groupement peut être plus important et être constitué par une série de cocci agglomérés, figurant des sortes de grappes, par exemple le *Staphylocoque*. Parfois ils se disposent en *chaînettes*, comme les *Streptocoques*.

Lors de leur multiplication, les cocci peuvent se segmenter en deux sens perpendiculaires ; on observe alors des *tétrades*, comme pour le *Tétragène*. Si la segmentation s'opère en trois sens, il s'agit alors de *Sarcines*.

En d'autres cas, les cocci, au lieu d'être ronds, sont aplatis et prennent la forme de grains de café ou de haricots regardant un de leurs congénères par leur face plane ou concave. Tel est le cas du Méningocoque et du Gonocoque.

Enfin certains cocci prennent une forme un peu ovalaire et se rapprochent ainsi des bacilles, ce sont des Cocco-bacilles. Tel le bacille de la peste. Certains Cocco-bacilles sont entourés d'une capsule, comme le Pneumocoque et le Pneumobacille.

Bacilles. — Les bacilles sont des germes plus ou moins allongés : ils ont la forme de bâtonnets.

Les uns ont des extrémités rectilignes, comme la bactéridie charbonneuse ; chez d'autres, comme le bacille typhique, le Colibacille, elles sont arrondies. Le bacille diphtérique, le bacille tétanique montrent, au contraire, des extrémités renflées. En d'autres, le renflement porte sur le corps même du microbe, comme dans le bacille fusiforme.

Certains auteurs distinguent dans ce groupe deux familles : l'une, famille *Bacterium*, représentée par les bâtonnets asporogènes, l'autre, famille *Bacillus* comprenant des bâtonnets sporulés.

Ces divers bacilles se présentent en général à l'état isolé. S'ils sont groupés deux à deux, ce sont des diplobacilles. Si plusieurs éléments semblables sont placés bout à bout, ils forment de véritables chaînettes (strepto-bacilles ou même strepto-diplobacilles).

Dans le genre bacille, il faut distinguer encore plusieurs espèces :

Les *bâtonnets incurvés* en virgule, comme le Vibrion cholérique ;

Les *Spirales* ou *Spirochètes*, fins filaments présentant un nombre variable d'ondulations ;

Les *bacilles ramifiés*. Dans les uns (*Cladothrix*), les ramifications sont fausses, car elles sont simplement accolées ; dans les autres (*Streptothrix*), les ramifications sont vraies (fig. 1).

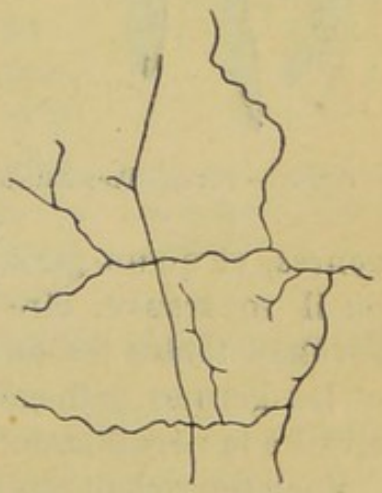


Fig. 1. — Streptothrix (d'après Gasparini).

La dimension des bacilles est très variable. Longs en général de quelques dixièmes de μ, ils présentent parfois une longueur de 1 μ à 1 μ, 5 ; mais leur largeur peut être plus considérable suivant les espèces et les milieux où on les fait vivre.

PLÉOMORPHISME DES BACTÉRIES.

Il est remarquable de constater que la forme d'une seule et même bactérie, contrairement à la fixité relative de la plupart des espèces animales et végétales, est très variable.

Ainsi le *bacille diphtérique*, porté du milieu naturel où il pullule dans un milieu artificiel, devient plus court ou au contraire plus allongé ; dans un même milieu artificiel, si la culture se prolonge et vieillit, il prend des formes qui le font ressembler à un coccus.

Le *Bacillus prodigiosus*, ensemencé sur les milieux alcalins, donne des cocci ; réensemencé en milieu faiblement acide (acide tartrique), il se montre sous l'aspect de bacilles ou de spirales.

D'autres germes donnent, suivant le milieu où ils vivent et suivant les conditions diverses qu'on leur fait subir, des cocci, des filaments droits ou incurvés, des filaments spiralés.

Enfin, dans les cultures anciennes, dans les milieux défavorables à leur développement, les microbes prennent souvent des *formes d'involution* (fig. 2), dans lesquelles il est souvent impossible de reconnaître le germe initial ; ils prennent ainsi des formes en massue, en poire, en raquette, en fuseau, etc., ou des formes ramifiées.

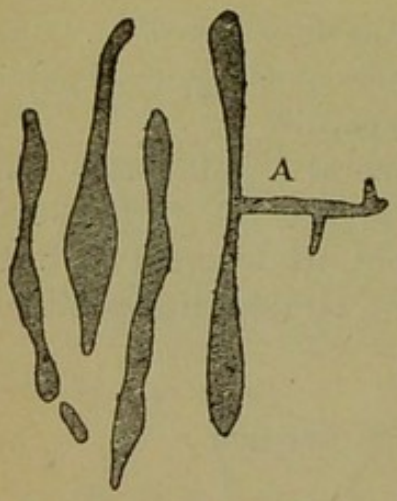


Fig. 2. — Formes d'involution.

Cette notion du pléomorphisme des bactéries n'a pas été admise sans conteste.

Nægeli, qui avait observé cette mutabilité souvent extraordinaire, en avait conclu qu'il ne pouvait distinguer dans les bactéries ni espèces, ni familles, ni genres, et qu'un germe peut, tour à tour, suivant les conditions où il se trouve, être ferment lactique, acétique, butyrique. En revêtant toutes les formes, il pouvait remplir plusieurs fonctions, et les germes pathogènes produire toutes les infections. Il en arrivait à la négation de la spécificité.

Koch reprochait aux partisans de cette théorie d'avoir opéré sur des cultures impures, où des bactéries différentes se trouvaient mélangées. En réalité, même dans les cultures pures, ces mutations se rencontrent : Kurth l'a démontré, en mettant en évidence le pléomorphisme avec le *Bacterium Zopfii*.

Ces variations dues au pléomorphisme ne peuvent influencer la spécificité ; d'ailleurs, elles sont le plus souvent difficiles à fixer. Ainsi le *Bacillus prodigiosus*, cultivé à 37°,5, ne produit plus son rouge habituel ; si, après trente-cinq générations obtenues à cette température, on le reporte à 22°, son pouvoir antérieur reparaît. Des observations identiques ont été faites sur le Bacille pyocyanique, qui, sous l'influence d'antiseptiques, prend un

aspect filamenteux, spiralé, etc. ; reporté dans un milieu normal, il reprend sa forme habituelle.

STRUCTURE.

L'examen microscopique le plus approfondi des bactéries les plus souvent observées renseigne très mal sur la structure de ces microorganismes : elles apparaissent comme des corps protoplasmiques, habituellement homogènes. On ne peut, en réalité, obtenir de données précises que sur certaines espèces de grandes dimensions, et encore faut-il parfois user d'artifices de préparation, de divers réactifs, de fixateurs qui donnent des renseignements utiles. On a ainsi pu constater que les bactéries étaient des cellules constituées par une masse protoplasmique, entourée d'une membrane d'enveloppe ; la question de l'absence du noyau est encore discutée.

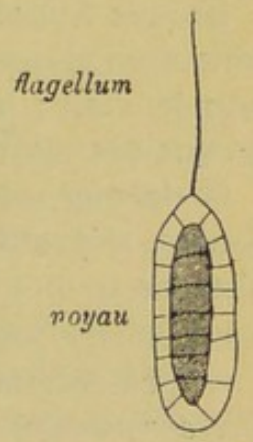


Fig. 3. — Bactérie avec noyau (d'après Bütschli).

Membrane d'enveloppe. — Chez certains germes à protoplasma très finement granuleux, la membrane d'enveloppe peut s'observer directement par un simple examen à l'état frais ; chez d'autres, on ne peut la distinguer qu'après rétraction du protoplasma, sous l'influence de la chaleur ou de l'alcool. Pour Fischer, elle est plus nettement visible en faisant agir une solution de sel marin à 2,5 p. 100 par exemple, qui détermine de l'osmose et de la plasmolyse. La membrane se sépare alors du contenu protoplasmique et est nettement perceptible.

Les recherches de Künstler et Busquet ont permis à ces auteurs de lui distinguer une couche externe, d'aspect gélatineux, assez mal délimitée (*couche gélatineuse*), et une couche interne, mince, qu'ils envisagent comme la vraie membrane (*couche cuticulaire*).

La *couche gélatineuse* serait le siège d'une striation très fine et proviendrait peut-être d'une différenciation de la zone périphérique de la couche cuticulaire ; elle se montre sous l'aspect d'un liséré hyalin ou d'une auréole claire.

Les *capsules* ne seraient qu'une exagération de cette couche gélatineuse ; on les constate chez le pneumocoque, le pneumobacille ; la bactéridie charbonneuse en est pourvue. Ces capsules ne se colorent que par les procédés spéciaux (Voy. p. 242). Elles sont plus ou moins épaisses suivant les cas ; elles entourent des bactéries iso-

lées, ou bien elles enveloppent plusieurs éléments agglomérés. Elles ne se montrent en général que sur les éléments microbiens observés dans les produits pathologiques et dans les cultures en sérum liquide. Dans les autres cultures, elles sont absentes.

La *couche cuticulaire*, interne, est plus dense et d'aspect plus sombre. Schaudinn a montré sur le *Bacillus Bütschlii* qu'elle était constituée par une sorte de réseau alvéolaire.

Protoplasma. — Les colorants vitaux, tels que le rouge neutre, le vert de méthyle, etc., ont permis de reconnaître que le protoplasma bactérien ne présente pas l'homogénéité qu'une observation superficielle permet de lui attribuer. En réalité, le protoplasma est trouble et parsemé de granulations, fixant plus ou moins les matières colorantes.

D'après Künstler, Schaudinn, il présente une structure alvéolaire : réticulum granuleux très fin, emprisonnant des espaces remplis d'un liquide clair ; les granulations siègent en général au niveau des nœuds des mailles de ce réseau.

Ce dernier est souvent parsemé de *vacuoles* plus ou moins volumineuses, siégeant soit au centre de l'élément, soit à ses extrémités ; d'autres se montrent en chapelet. Elles sont plus fréquentes dans les bactéries provenant des vieilles cultures.

Le protoplasma est parsemé, chez certains germes, de *corpuscules métachromatiques*, qui possèdent une affinité spéciale pour les matières colorantes. On les a décrits surtout (Neisser) dans le protoplasma des bacilles diphtériques. A. Meyer les a particulièrement étudiés sous le nom de *grains de volutine* chez *Spirillum volutans*, où ils sont très nombreux. D'après lui, il ne s'agit pas de produits de dégénérescence, comme on l'a supposé, mais de produits de réserve. Fischer pense qu'ils sont constitués par une condensation de glycogène.

Noyau. — Les opinions sont très partagées sur la question de savoir si les bactéries possèdent, ou non, un noyau.

Fischer, Massart, Migula nient son existence et prétendent que les noyaux qu'on a décrits ne sont que des vacuoles se fragmentant, en même temps que la division protoplasmique s'opère.

D'après Bütschli, frappé par la grande affinité des bactéries pour les matières colorantes, presque toute la bactérie au contraire serait constituée par de la substance nucléaire, le protoplasma se trouvant réduit à une couche extrêmement mince, appliquée contre la membrane d'enveloppe ; le corps central des *Beggiatoa* (voisines des Cyanophycées) serait tout entier un noyau. D'ailleurs, pour lui, la bactérie n'a pas besoin d'une grande quantité de protoplasma pour son genre spécial de vie ; elle trouve en effet

dans le milieu extérieur des aliments tout préparés, qui lui évitent l'élaboration des produits nutritifs. Elle a besoin, au contraire, pour se multiplier et pulluler, d'un noyau énorme comme les cellules embryonnaires et certaines cellules telles que les spermatozoïdes.

Enfin, pour d'autres auteurs (Weigert notamment), le noyau des bactéries n'est pas nettement individualisé : la substance chromatique existe, mais elle ne forme pas une masse limitée, agglomérée; elle est disséminée dans le protoplasma; le noyau serait donc diffus, fractionné, constituant, à vrai dire, un système *chromidial*. Cet état diffus est évident, comme l'a montré Swellengrebel, chez le *Bacillus maximus buccalis* (fig. 4), où il forme un filament spiralé; de même chez le *Spirillum giganteum*.

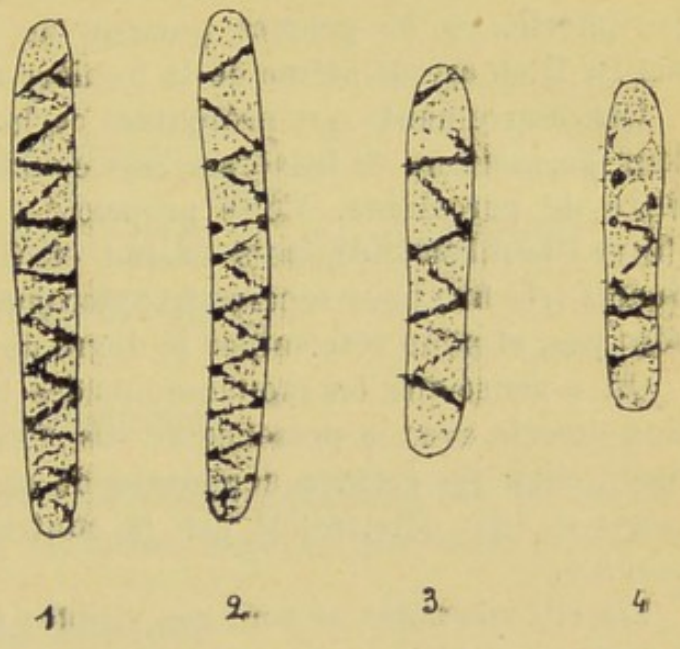


Fig. 4. — *Bacillus maximus buccalis* (Swellengrebel).

MOBILITÉ.

Un certain nombre de microbes sont mobiles dans les milieux liquides : c'est un caractère qui avait frappé les premiers observateurs. D'autres, au contraire, sont complètement immobiles.

Les mouvements qu'ils présentent sont bien différents du mouvement brownien et des mouvements dus aux courants de la masse liquide dans laquelle ils sont plongés. Ils sont de plusieurs sortes.

Ils peuvent être extrêmement rapides, à tel point que le microbe traverse comme une flèche le champ de la préparation. En d'autres cas, le mouvement est lent et consiste à la fois en un mouvement d'oscillation et de translation. Parfois il s'agit d'une simple reptation, ou bien encore d'un mouvement de vrille, fréquemment observé chez les Spirochètes.

Le degré de mobilité des bactéries est conditionné par divers facteurs, parmi lesquels on compte tout d'abord la fluidité du liquide; moins le liquide est dense, plus les mouvements sont vifs.

L'influence de l'oxygène pour certaines bactéries est indéniable.

Il est facile de s'en rendre compte dans une goutte de culture liquide placée entre lame et lamelle. Il arrive un moment où, au centre de la préparation, les mouvements cessent, alors qu'à la périphérie, où les germes puisent de l'oxygène, ils sont encore actifs. Il en est de même de la lumière et de la chaleur.

Les mouvements que présentent certains germes sont tels qu'ils leur permettent de traverser une couche de sable, voire même un filtre de porcelaine. Cette propriété a été utilisée par Cambier (filtre Chamberland), puis Carnot et Garnier (tube contenant un quartz très fin) pour séparer les microbes mobiles de ceux qui ne le sont pas, et pour déterminer le degré de mobilité des premiers.

On a pensé que les mouvements des bactéries étaient en corrélation directe avec la présence de *cils vibratiles* s'insérant à leur surface; chez les germes dépourvus de ces organes on admet qu'ils peuvent être déterminés par la contractilité du protoplasma microbien.

Les cils vibratiles ne sont pas visibles à l'état frais ; on ne peut les mettre en évidence que par certains procédés spéciaux de coloration (Voy. p. 244). Certaines bactéries, comme le Vibrion cholérique, ne possèdent qu'un cil, placé à l'une des extrémités. Les Spirochètes en présentent soit un seul à chaque extrémité, soit plusieurs disposés en bouquet. Les bâtonnets mobiles en sont habituellement pourvus d'un grand nombre, s'insérant sur toute l'étendue du corps bactérien (Bacille typhique, Colibacille, Bacille du tétanos, etc.).

On discute encore sur la *nature* des cils vibratiles. Les uns admettent qu'ils sont une émanation de la masse protoplasmique des microbes, voire même de la couche périphérique, dépourvue de granulations et très difficile à colorer, comme les cils eux-mêmes.

D'après Van Tieghem, les cils vibratiles dépendent de la membrane d'enveloppe : c'est aussi l'opinion de Bütschli, qui, par pression, fait éclater la membrane du *Bacterium lineola*, alors que le contenu du microbe sort tout entier par l'orifice de rupture ; le cil que cette bactérie possède persiste avec la membrane d'enveloppe.

CHAPITRE II

NOTIONS SOMMAIRES SUR LA PHYSIOLOGIE DES MICROBES

REPRODUCTION.

La reproduction des bactéries s'effectue, suivant les cas, les conditions d'existence et suivant certaines espèces, par deux procédés essentiels :

1° Par *scissiparité* ou simple division ;

2° Par *sporulation*.

Scissiparité. — La scissiparité n'est pas une véritable reproduction : « Le phénomène de reproduction implique en effet la formation d'individus nouveaux ; dans la division vraie, un élément, préparé par divers changements qui se sont opérés en lui, en forme deux ou plusieurs, sans qu'aucun caractère puisse faire distinguer un élément producteur d'un élément produit » (Macé).

Pour observer ces phénomènes de scissiparité, il suffit de placer une goutte de culture en bouillon entre lame et lamelle et de luter cette préparation fraîche à l'aide de paraffine pour éviter l'évaporation. Avec des microbes avides d'oxygène, il faut observer avec la chambre humide, en goutte pendante :

La division s'opère en général suivant une ligne transversale ; quand la bactérie a atteint sa longueur normale, il se forme en son milieu une cloison mince ; l'apparition de cette cloison s'accompagne d'un étranglement qui divise l'élément en deux portions égales. L'étranglement s'accentuant sépare ces deux parties, dont chacune devient une bactérie nouvelle (fig. 5 et 6).

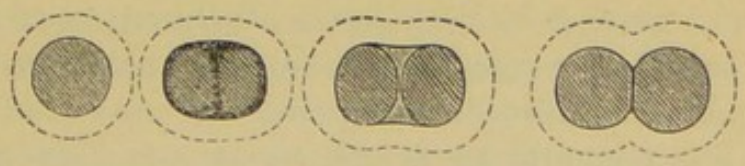


Fig. 5. — Schéma de la division des cocci (Macé).

Ces portions restent parfois accolées pour déterminer la formation d'éléments disposés deux à deux (*diplobacilles* ou *diplocoques*). Le

groupement peut porter sur une série d'éléments semblables placés bout à bout (*Streptocoques*, *Streptobacilles*) ; cette série d'éléments est séparée parfois par une cloison si fine qu'elle est peu perceptible, et le groupement nouvellement né paraît constitué par un long filament, en réalité composé, comme dans la bactéridie charbonneuse, d'une série de bactéridies identiques.

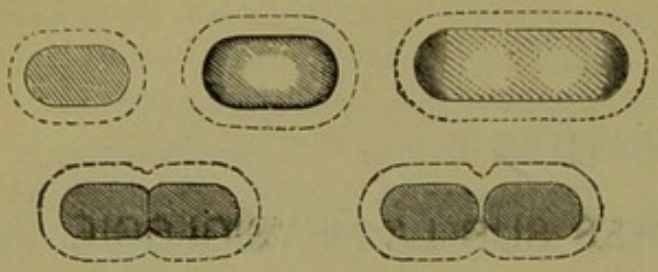


Fig. 6. — Schéma de la division des bâtonnets (Macé).

Chez certains cocci, la division peut s'opérer ainsi suivant deux diamètres perpendiculaires l'un à l'autre et dans un même plan. Il se forme alors des *tétrades* (fig. 7). Quand elle s'effectue par trois plans perpendiculaires, dans trois directions différentes, on assiste alors à la formation de masses cubiques de cocci, qu'on nomme *sarcines* (fig. 8).

Chez *Bacillus Bütschlii*, Schaudinn a montré que la division débute par l'apparition, sur la partie médiane du bâtonnet, d'une granulation réfringente qui s'élargit

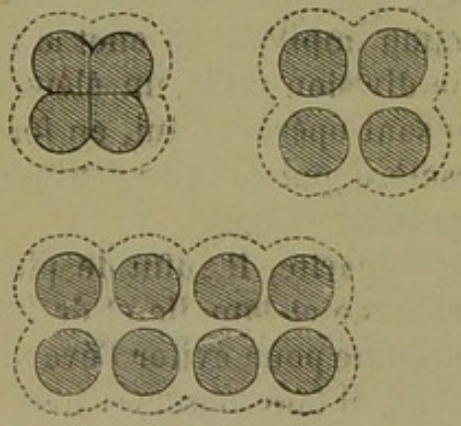


Fig. 7. — Schéma de la production des tétrades (Macé).

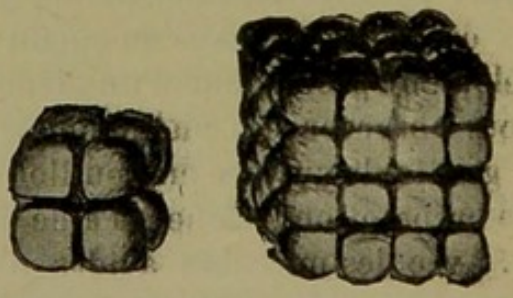


Fig. 8. — Schéma de la production des sarcines (Macé).

pour envahir la longueur de l'élément et se souder à la membrane d'enveloppe : puis, à son niveau, la substance cellulaire se raréfie et se fond ; la division est opérée.

La segmentation des bactéries est d'autant plus rapide que la nutrition est meilleure ; quand les matériaux nutritifs du milieu sont épuisés, la reproduction s'arrête.

Sporulation. — On a cru, pendant longtemps, que la formation des spores était réservée aux bactéries se trouvant dans des conditions nutritives difficiles ou dans un milieu déjà imprégné de leurs produits de désassimilation. Il n'en est pas toujours ainsi, car certains germes, en pleine période d'activité végétatrice, se repro-

duisent non seulement par segmentation pure et simple, mais aussi par sporulation.

La spore constitue en réalité la forme de résistance de la bactérie, celle qui assure la conservation de l'espèce. Elle est en effet beaucoup plus résistante que le germe où elle se produit, à l'action des agents extérieurs, lumière, oxygène, températures élevées. Avec les procédés ordinaires de coloration, la spore est impénétrable aux substances colorantes classiques; on ne peut la colorer que par des procédés spéciaux (Voy. p. 243).

La sporulation s'effectue par *endospores* ou par *arthrospores*.

Endospores. — Les endospores ont été décrites en 1864 par Pasteur dans ses études sur la bacille de la *flacherie* des vers à soie ; il a constaté, dans ce bacille, l'existence de points brillants qui devenaient libres après la résorption du corps microbien. Depuis lors, elles ont été observées chez un grand nombre de bactéries.

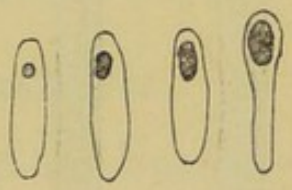


Fig. 9. — Formation d'endospore dans un bacille (Metchnikoff).

Ces spores occupent soit le centre du microbe (bacille charbonneux), soit l'une de ses extrémités. Elles peuvent ne pas contribuer à modifier sa forme; en d'autres cas, leur volume excédant celui de la bactérie, elles déforment cette dernière, telle la spore du bacille tétanique, dit, pour cette raison, bacille en épingle.

La formation de la spore s'effectue de la façon suivante :

En un point du corps microbien, le protoplasma se trouble et devient granuleux, sans doute par accumulation de réserve nutritive (amidon en général) ; puis autour de cette masse granuleuse, habituellement incolore, où, d'après certains auteurs, on perçoit une ou plusieurs gouttelettes de graisse, une membrane d'enveloppe épaisse se forme, limitant la spore qui s'est bien constituée.

Schaudinn a décrit le processus spécial qui préside, chez le *Bacillus Bütschlii*, à la formation de la spore. Ce bacille, avant la sporulation, commence par subir un début de division transversale : une cloison médiane se forme qui ne tarde pas à disparaître; puis, aux extrémités du microbe, on constate des amas chromatiques, alors que, dans le corps même, ces granulations se disposent en chapelet sinueux. Les amas des extrémités se condensent, grandissent, prenant une forme ovoïde, et s'entourent d'une membrane résistante, achevant la formation de la spore (fig. 10).

Quand la spore est constituée, le corps microbien se désagrège progressivement ; la spore est mise en liberté et tombe.

C'est ainsi que, dans les vieilles cultures de bacille tétanique

et de bacille du charbon, les spores libres sont seules perceptibles.

La germination et l'éclosion des spores s'effectuent de la façon suivante : la spore commence à pâlir, la membrane se rompt et laisse

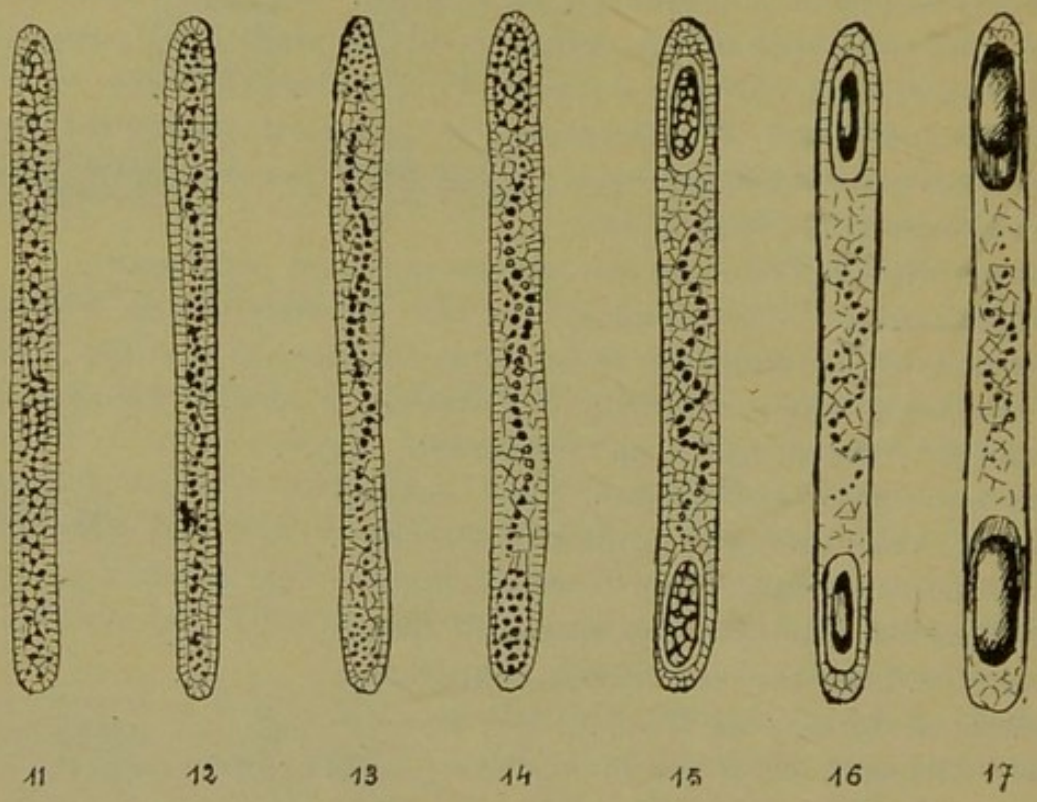


Fig. 10. — Détails de la formation d'une endospore (d'après Schaudinn).

passage à un prolongement qui présente bientôt l'aspect et les caractères de la bactérie initiale, qui a donné naissance à la spore. On observe en général l'issue de ce prolongement à l'une des extrémités du diamètre équatorial de la spore, mais aussi parfois à l'extrémité polaire, comme dans la bactéridie charbonneuse (fig. 11 et 12).

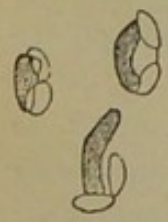


Fig. 11. — Germination polaire d'une bactérie (Metchnikoff).

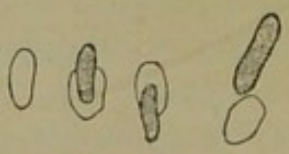


Fig. 12. — Éclosion transversale (Metchnikoff).

L'aptitude de certaines bactéries à se reproduire par sporulation peut se perdre. Il en est ainsi, comme l'ont montré Chamberland et Roux, pour la bactéridie charbonneuse. Ils ont pu priver cette dernière de la faculté de produire des spores, en soumettant les cultures à l'action du bichromate de potasse en solution faible ou d'une solution d'acide phénique ajoutée dans la proportion de 10 à 20 p. 1 000. Les caractères de végétabilité et de virulence de cette bactéridie devenue asporogène ne se modifient

pas; cette propriété nouvelle se conserve dans les générations ultérieures.

Arthrospores. — L'arthrosporulation se caractérise par la transformation totale en spore d'une bactérie entière, en général un coccus. Cette transformation s'opère sans grande différenciation ni modification très notable de la cellule qui doit sporuler. Celle-ci se gonfle pour atteindre deux à trois fois son volume antérieur; son contenu devient réfringent et s'entoure d'une membrane épaisse (fig. 13).

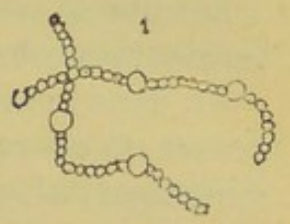


Fig. 13. — Arthrospores (Macé).

Ces arthrospores présentent les mêmes caractères de résistance que les endospores aux influences extérieures (lumière, oxygène, chaleur, antiseptiques). Elles possèdent donc toutes les propriétés générales des spores.

RESPIRATION. — AÉROBIES ET ANAÉROBIES.

Les bactéries ne peuvent vivre si elles n'ont à leur disposition de l'oxygène, qu'il soit contenu dans l'air, ou à l'état de solution dans le milieu nutritif, ou à l'état combiné avec une substance quelconque. Les unes ont besoin d'oxygène libre, sans lequel elles succombent; pour d'autres, l'oxygène libre entrave leur développement et est même nuisible à leur existence. D'où ces deux grandes classes de microbes: les microbes *aérobies* et les microbes *anaérobies*.

Aérobies. — On peut se rendre aisément compte du besoin d'oxygène qu'éprouvent les microbes aérobies : il suffit de les ensemencer dans du bouillon par exemple; après vingt-quatre ou quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°, la culture, devenue trouble, est surmontée d'un voile ou d'une collerette où les microbes abondent, venant ainsi à la surface prendre la plus grande quantité possible de l'oxygène de l'air qui leur est indispensable.

L'observation peut être faite sur une goutte de culture de *B. subtilis*, disposée entre lame et lamelle. Les bacilles s'accumulent rapidement sur les bords de la lamelle, où ils peuvent puiser de l'oxygène; si on lute à la paraffine, on les voit se diriger vers les bulles d'air que peut contenir la préparation.

L'expérience d'Engelmann est encore très démonstrative. On introduit un filament d'algue verte à chlorophylle dans un milieu contenant des aérobies mobiles; on fait tomber sur ce milieu un spectre microscopique. On voit bientôt les bactéries s'accumuler au niveau des points (raies B et C de Frauenhofer), où se trouvent les

bandes d'absorption de la chlorophylle, c'est-à-dire où l'acide carbonique est décomposé et l'oxygène dégagé.

Anaérobies. — Les anaérobies sont des germes qui ne peuvent vivre en présence d'oxygène libre. Telle est la définition de Pasteur à la suite de ses observations sur le Vibrion butyrique, agent de la fermentation butyrique.

Si, dans le milieu où se développe le Vibrion butyrique, on fait passer un courant d'acide carbonique, ce germe n'en subit aucun dommage ; si, par contre, on y fait passer un courant d'air atmosphérique pendant une ou deux heures, les ferments succombent, et la fermentation butyrique s'arrête.

D'ailleurs, contrairement à ce que l'expérience a montré pour les aérobies, les anaérobies fuient le voisinage de l'air et des bulles d'air contenues dans les préparations; ils perdent leur mobilité, tombent en vie latente ou succombent.

Il est néanmoins possible de cultiver ces anaérobies dans un milieu ordinaire, où des aérobies, comme le *B. subtilis*, forment un voile à la surface. Ce dernier germe absorbe pour lui seul tout l'oxygène du milieu, qui ne gêne plus le développement de l'anaérobie. C'est ce qu'a réalisé Vaillard pour la culture du bacille tétanique.

Contrairement aux cellules végétatives des anaérobies, les spores de ces derniers supportent impunément le contact prolongé de l'oxygène libre. Mais, transportées dans un milieu où elles peuvent germer, la germination ne s'opère que dans un milieu privé d'oxygène.

Les anaérobies, qui ne peuvent vivre en présence d'oxygène libre, utilisent cependant l'oxygène existant à l'état de combinaison dans les matières alimentaires du milieu où ils sont placés.

Anaérobies facultatifs. — Entre les anaérobies stricts, ne tolérant pour pouvoir vivre et pulluler aucune trace d'oxygène, et les aérobies qui exigent, au contraire, la présence d'oxygène, il y a place pour toute une catégorie de germes qui se développent fort bien dans les milieux aérés, mais peuvent, bien que pullulant plus faiblement, se passer d'oxygène. Ce sont les *anaérobies facultatifs*. Le *bacille typhique*, le *Colibacille* sont du nombre.

En réalité, ces anaérobies facultatifs constituent les intermédiaires entre les aérobies et les anaérobies stricts, chaque espèce ayant besoin d'oxygène qu'elle prend sous une forme ou une autre. D'ailleurs, on peut acclimater lentement et progressivement tous ces germes à une vie différente, à cet égard, de celle qui leur est coutumière et normale. En effet, Rosenthal a pu habituer petit à petit les anaérobies stricts à vivre au contact de l'oxygène;

il a obtenu cette « aérobisation » en diminuant progressivement le vide, ou en cultivant ces germes dans des culots de gélose de moins en moins élevés, diminuant ainsi leur profondeur. Par contre, il a habitué des aérobies stricts, comme la Bactéridie charbonneuse, à l'anaérobiose facultative. Nægeli, puis Nencki avaient fait des observations analogues avec diverses bactéries de fermentation.

Les microbes anaérobies sont abondants dans la nature ; ce sont les agents principaux des fermentations : on les rencontre de préférence dans la profondeur du sol, dans la vase, les égouts, les fumiers, les matières excrémentitielles animales, là, en un mot, où l'air est rare et est remplacé par d'autres gaz : c'est d'ailleurs dans ces milieux que les fermentations les plus actives s'accomplissent pour opérer la transformation de la matière organique.

Enfin certains d'entre eux sont les agents pathogènes spécifiques d'une foule d'infections bien définies : Vibrion septique, bacille tétanique, bacille du charbon symptomatique, bacille du botulisme. D'autres déterminent fréquemment des suppurations fétides et gangreneuses ; ils se trouvent seuls ou associés à d'autres germes (Veillon).

NUTRITION.

Pour pouvoir vivre, toute cellule vivante a besoin d'aliments, qui doivent contenir les substances entrant dans la constitution du corps cellulaire. Il en est de même de la cellule bactérienne.

Milieux naturels. — Les recherches chimiques montrent que la cellule bactérienne contient de l'eau, de la cellulose, des matières amylacées, sucrées, des matières albuminoïdes, des matières grasses, enfin des principes minéraux. Les corps qui dominent sont donc : le carbone, l'hydrogène, l'oxygène, l'azote et des substances minérales (soufre, phosphore, etc.), qui interviennent à titre accessoire.

Dans les milieux extérieurs, les bactéries trouvent tous ces corps simples : le *carbone* provient des substances ternaires : sucre, amidon, glycérine, etc., qui subissent, en vue de l'assimilation, des modifications dues à l'action de certaines diastases.

Elles trouvent l'*azote* dans les matières albuminoïdes, que beaucoup transforment en peptones, substances solubles et assimilables, dues, ici encore, à l'action de ferments spéciaux ; l'azote provient encore des sels ammoniacaux, des nitrates de soude et de potasse, de l'urée, de l'albumine, de la tyrosine, voire même de l'asparagine. L'azote gazeux de l'atmosphère peut être assimilé en nature par

certaines bactéries : telles le *Clostridium pasteurianum* (Winogradsky), les *microbes des nodosités des légumineuses* (Mazé), etc.

Les *aliments minéraux* sont le phosphore, le soufre, le calcium, les potassium, le magnésium, le fer, le chlore, le silicium.

Milieux artificiels, milieux de culture. — Quand on veut, au laboratoire, cultiver les bactéries *in vitro*, il faut leur fournir les éléments essentiels à leur existence et faire varier la composition du milieu suivant les exigences particulières de chaque microbe.

On peut distinguer à cet égard : les *milieux usuels*, qui permettent la culture de la plupart des germes : qu'il s'agisse de milieux liquides (bouillon par exemple) ou de milieux solides (gélose, gélatine), on fait entrer dans leur composition la plupart des substances nutritives qui sont nécessaires à leur nutrition : macération de viande, peptone, sel marin, phosphates de soude, de magnésie, etc.; les *milieux spéciaux* dont on fait varier la constitution suivant la qualité du germe. Citons à ce propos les milieux à base d'albumine animale ou humaine (sérum coagulé, gélose-sang, gélose-ascite, sérum liquide), les milieux sucrés (maltose, glucose, etc.), les milieux végétaux (tranches de pomme de terre, de carotte, d'artichauts).

On prépare, en outre, des infusions végétales (infusions de foin, de paille, eau de touraillons, etc.), des milieux chimiquement définis (liquide de Cohn, de Nægeli, dont on connaît diverses formules à employer suivant les cas, etc.).

Parmi les milieux chimiquement définis, le *liquide de Raulin* est constitué par des substances purement minérales :

Eau	1 500 grammes.
Sucre candi	70 —
Acide tartrique	4 —
Nitrate d'ammoniaque	4 —
Phosphate d'ammoniaque	0gr,60
Carbonate de potasse	0gr,60
— de magnésie	0gr,40
Sulfate d'ammoniaque	0gr,25
— de zinc	0gr,07
— de fer	0gr,07
Silicate de potasse	0gr,07

Ce milieu, composé par tâtonnements pour la culture de l'*Aspergillus niger*, est important à connaître pour montrer l'influence que chacune de ces substances constituantes exerce sur le développement de cette moisissure. Qu'on supprime ou qu'on diminue seulement l'un des sels minéraux qui entrent dans sa composition, la récolte

de l'*Aspergillus*, constatée par la pesée, diminue dans des proportions très importantes.

Il en résulte donc que, pour un microbe donné, le choix de la substance alimentaire possède une influence considérable sur le développement de ce germe.

Il existe à ce sujet des variations considérables : certaines bactéries peuvent se contenter, pour vivre et pulluler, d'une quantité d'aliments fort minime : il en est qui se développent dans l'eau stérilisée, voire même l'eau distillée; d'autres, par contre, exigent la présence de certains éléments indispensables à leur vie artificielle, tels le Méningocoque, le Gonocoque, qui, surtout lors des premières générations, ne poussent qu'à la condition de trouver des albumines, et plus particulièrement une albumine humaine.

Enfin les bactéries réclament, pour la plupart, une *réaction neutre*, voire même légèrement *alcaline* du milieu. L'acidité, à part quelques exceptions, leur est défavorable ; il en est de même d'une trop forte alcalinité. Quand, au cours du développement microbien, l'acidité ou une trop forte alcalinité apparaît, le développement cesse.

ASSIMILATION.

Les matières nutritives destinées à l'alimentation des bactéries peuvent pénétrer directement dans le corps microbien après avoir franchi la membrane qui leur sert d'enveloppe; mais d'autres demandent à être préalablement transformées.

Ces phénomènes d'assimilation sont, en réalité, assez mal connus. On ignore ainsi comment ils peuvent amener la synthèse des substances ternaires et des albuminoïdes. Dans le premier cas, il est peu d'exemples montrant la fixation du carbone. Il en est de même des albuminoïdes, pour lesquelles le mode de synthèse varie assurément avec la forme suivant laquelle l'azote se présente.

On possède cependant quelques renseignements sur la fixation de l'azote par les bactéries.

De nombreux observateurs ont été frappés par la richesse du sol en azote. Les terres même non fumées, comme les terres de montagnes et de forêts, en contiennent en grandes proportions ; et cependant la déperdition de ce gaz est considérable, et ces terres continuent à être très fertiles; elles conservent, en effet, leur azote et en gagnent. Le premier, Berthelot a démontré que cette fixation de l'azote par le sol était opérée par des êtres animés : des microbes; si, en effet, une terre arable fixant de l'azote atmosphérique est stérilisée par un chauffage à 120°, ce pouvoir fixateur ne s'exerce plus.

De recherches ultérieures il résulte que cette fixation d'azote s'effectue par des bactéries situées jusqu'à 30 centimètres dans la profondeur du sol, leur abondance étant d'autant plus marquée que le sol est plus aéré; de ces bactéries, les unes sont anaérobies, les autres aérobies; elles réclament comme aliments les hydrocarbonés, d'où elles reçoivent l'énergie, puis des aliments minéraux.

Certaines Mucédinées sont capables ainsi de fixer de l'azote. Enfin ce pouvoir est dévolu encore à des germes qui ne vivent pas libres dans le sol, mais dans les *nodosités des légumineuses*. Ces nodosités, en effet, déjà vues en 1687 par Malpighi, sont le produit d'une infection des racines par des bactéries aérobies de forme irrégulière, qu'on a nommées *bactéroïdes*, et qui sont contenues dans l'intérieur des tumeurs auxquelles elles ont donné naissance.

Ces bactéries ont été distinguées par Mazé en *calcicoles*, adaptées aux terrains calcaires, et *calcifuges*, adaptées aux terrains acides. Elles se nourrissent d'éléments hydrocarbonés que leur fournit la plante, à laquelle elles fournissent l'azote, indispensable à l'existence des végétaux. Celles qui sont libres sont d'ailleurs attirées vers les racines des légumineuses, comme en vertu d'une chimiotaxie positive, par les hydrates de carbone du type végétal.

Ces bactéroïdes pénètrent dans les radicules et s'entourent d'une gaine muqueuse qui est résorbée par la sève, le mucus représentant l'aliment azoté qu'elles élaborent.

La démonstration de la fixation de l'azote par ces germes a été faite par Mazé dans les expériences de culture en gélose, additionnée de bouillon de haricots, sur laquelle il fit passer un courant d'air. On observe alors une déperdition d'azote dans l'air et la formation d'un dépôt muqueux analogue à celui qui existe dans les nodosités.

DÉSASSIMILATION.

Comme toutes les cellules vivantes, les bactéries produisent des substances de déchet, qui s'accumulent dans les milieux de culture et peuvent ensuite en entraver le développement. Ces substances tirent leur origine soit du protoplasma lui-même, soit des produits de transformation provenant de la nutrition. Elles sont fixes ou volatiles.

Produits fixes : ce sont des acides organiques (lactique, formique, acétique), de l'aldéhyde, de la leucine, de la tyrosine, du glycocolle.

Produits volatils : ce sont l'hydrogène, l'acide carbonique, l'hydrogène sulfuré ou phosphoré, des carbures d'hydrogène ; parmi eux, se rangent encore des acides gras, des ammoniaques composées, des mercaptans, de l'indol, du scatol, voire même du phénol.

ACTION DES AGENTS EXTÉRIEURS SUR LES BACTÉRIES.

Les agents extérieurs font subir aux bactéries des modifications vitales, biologiques, etc., qui sont, suivant les cas, plus ou moins accentuées. Il y a lieu d'envisager à cet égard les agents physiques, chimiques, et même les microbes.

Agents physiques. — ***Température.*** — La température est assurément un des éléments qui influent le plus sur les propriétés biologiques des bactéries.

Chaleur. — Comme toute cellule vivante, les microbes ont besoin de chaleur pour se développer. Mais chacun d'eux possède, à cet égard, des propriétés qui lui sont particulières.

En général, les bactéries saprophytes, qu'on rencontre dans l'air et l'eau, peuvent commencer à se développer à 10° et même 5°. Les pathogènes, adaptés le plus souvent à la température des organismes où ils pullulent, exigent une température plus élevée ; il en est qui, comme le Pneumocoque, exigent une température supérieure à 24° ; le bacille de la tuberculose ne commence à se développer que vers 28°. A partir de leur température *minima*, propre à chacun d'eux, les microbes se développent d'autant plus facilement que la température s'élève, mais jusqu'à une limite *maxima*, au delà de laquelle la végétation cesse et que l'on fixe en général vers 42°. Mais entre ces deux extrêmes, chacun possède une température qui favorise mieux que toute autre la pullulation : c'est la température *optima*, oscillant en général entre 37° et 38°. Elle peut varier suivant l'espèce microbienne envisagée. C'est ainsi que la température optima du Pneumocoque égale 35°, celle du bacille de Koch 38°, celle du bacille phosphorescent 5° à 10° ; celle du bacille thermophile de Miquel 65° à 70°.

De même la résistance vitale des bactéries à la température varie suivant les espèces, suivant la forme, sporulée ou non, suivant que la chaleur est sèche ou humide.

Certaines bactéries sont facilement tuées par un chauffage au bain-marie à 58° ou 60° pendant trente minutes ; c'est le fait de beaucoup de microbes pathogènes dans leur forme végétative ; d'autres, comme les bactéries dites *thermophiles*, supportent des températures très élevées et les exigent même parfois pour se développer.

Ces bactéries thermophiles se trouvent un peu partout dans l'eau, le sol, l'intestin humain. Le bacille thermophile de Miquel vit de préférence à 60°-70°. Sur les fumerolles de Naples, certaines bactéries vivent à 60°. Certes et Garrigou ont isolé dans une eau chaude de

Luchon (64°) un microbe qui se développe à cette température.

Les bactéries sporulées sont plus résistantes que les bactéries dénuées de spores : le *Bacillus subtilis* résiste à la température de 100° prolongée pendant une heure : il faut quinze minutes à 105°, ou cinq minutes à 110° pour le tuer.

Les spores charbonneuses résistent fort longtemps à 80° de chaleur humide ; à 100° elles meurent en six minutes. La chaleur sèche est moins efficace : d'après Koch, les spores du charbon et du *Bacillus subtilis* peuvent encore germer à 123° de chaleur sèche.

L'action de la chaleur sur les bactéries a été utilisée par Pasteur dans ses expériences sur les vaccinations pour atténuer la virulence de la bactéridie charbonneuse. En effet, entre le degré de chaleur le plus favorable à la vie d'un microbe et le point où il succombe, il existe un intervalle où, avec les manifestations vitales, la virulence s'atténue au fur et à mesure que la température s'approche du degré mortel. Ainsi, d'après les expériences de Toussaint, puis de Chauveau, la bactéridie charbonneuse (forme végétative), perd sa virulence quand elle est chauffée à 55° ; cette virulence s'atténue à 52° pendant six minutes, et cette atténuation s'accroît quand le temps de chauffage à 52° est prolongé pendant dix, douze et quatorze minutes.

Enfin cette action de la température a été utilisée pour obtenir l'isolement de certains germes sporulés. Pasteur isolait ainsi le Vibrion septique du sol : il émulsionnait dans l'eau une parcelle de terre et la laissait reposer. Il chauffait ce dépôt à 90° pendant quelques minutes, et l'injectait sous la peau d'un animal. Ce dernier succombait le plus souvent de septicémie, et à l'autopsie le Vibrion septique pouvait être recueilli à l'état de pureté. C'est un procédé analogue que Vaillard utilisait pour obtenir des cultures pures de tétanos.

Froid. — La résistance des bactéries au froid est assez variable, mais en général elles peuvent supporter des températures très basses. Beaucoup de bactéries se conservent à la glacière (0°) pendant longtemps et gardent toute leur virulence. Von Freich, Gibier, etc., ont fait des expériences sériées où ils ont montré que certains microbes supportaient impunément un froid de 30°, 50°, 70°, etc. D'Arsonval et Charrin ont ainsi soumis le bacille pyocyanique à 40°, ou 60° et plus bas encore ; ce germe résistait, mais sa morphologie était modifiée. Pictet et Yung ont vu que les spores charbonneuses exposées à 130° pendant vingt heures étaient encore vivantes et virulentes ; la bactéridie seule succombait.

A côté de ces bactéries si résistantes au froid, d'autres, comme

méningocoque, sont facilement tuées par un court séjour à C°.

Lumière. — La lumière agit incontestablement sur la vitalité des bactéries.

Un grand nombre d'entre elles succombent quand elles sont soumises à son influence. C'est ce qui résulte des recherches de Duclaux, Roux, Pansini, Dieudonné, etc. Il est facile de s'en rendre compte en exposant des cultures vivantes de germes variés à l'action de la lumière solaire, de la lumière diffuse, et en comparant leur vitalité, toutes choses égales d'ailleurs, avec celle d'une culture conservée à l'obscurité ou dans des tubes de verre noir pour les protéger contre la lumière.

En général la lumière solaire possède une action stérilisante énergique sur les cultures déjà développées ; elle possède aussi une action retardante sur leur développement. Le maximum du pouvoir bactéricide a lieu quand les rayons tombent perpendiculairement sur les cultures.

La lumière diffuse présente le même pouvoir, mais moins marqué.

Cette action bactéricide s'effectue après une durée qui varie avec chaque bactérie. D'après Roux, la bactérie charbonneuse succombe après trente heures d'insolation. Buchner a montré qu'une heure suffit pour tuer le Colibacille en suspension dans l'eau. Janouvski, puis Vincent ont vu le bacille typhique succomber en quatre ou dix heures. Le bacille tuberculeux isolé meurt en cinq à sept heures (Koch et Migueco), etc. Il est vrai d'ajouter que ces résultats sont variables suivant le milieu où les bactéries se trouvent, suivant leur abondance, suivant les conditions auxquelles elles sont exposées.

D'après Duclaux, l'action de la lumière est liée à l'action de l'oxygène et de l'oxydation qu'elle rend très active.

Des travaux de Kotliar, de Dieudonné, il résulte que l'action respective des divers rayons du spectre est différente suivant la catégorie envisagée. Les rayons jaunes et rouges sont les moins bactéricides ; les plus actifs sont les rayons bleu violet, et surtout *ultra-violets*. C'est d'ailleurs la propriété de ces derniers que Courmont et Nogier ont utilisée pour la stérilisation des eaux potables. Les rayons ultra-violets atténuent le bacille tuberculeux après une minute d'exposition ; après dix minutes, il succombe.

Les rayons Rœntgen ont été expérimentés, mais sans résultat bien décisif.

Enfin Pfeiffer et Friedberger ont éprouvé l'action bactéricide du *radium*. Elle existe mais serait assez superficielle. C'est aussi la conclusion de Bouchard et Balthazard, d'après qui le radium se contenterait de modifier la production du pigment de certains germes.

Dessiccation. — La dessiccation possède en général une influence nocive sur la vitalité des microbes, en leur enlevant l'eau qui entre dans leur constitution. D'autres lui résistent cependant assez longtemps. Aussi aucune proposition générale ne peut être, à cet égard, érigée en loi. Tout dépend de la qualité de la bactérie, de la rapidité de la dessiccation, de la température à laquelle elle s'exerce. Il existe aussi des différences suivant que le microbe est sporulé ou asporulé ; les spores opposent à la dessiccation une assez grande résistance.

Enfin, tout peut dépendre encore de la nature du milieu où le germe est englobé ; un milieu albumineux comme le sang, les crachats, etc., le protège assurément mieux contre cette influence que si le germe était nu.

Agents chimiques. — Antiseptiques. — La vitalité des bactéries est défavorablement influencée par une foule de substances chimiques dites antiseptiques.

Les antiseptiques agissent par simple destruction de la cellule bactérienne, ou en coagulant son protoplasma ; la mort du microbe est alors fatale.

Les variations d'action antiseptique des diverses substances usitées sont en rapport avec les conditions dépendant des produits eux-mêmes et de la bactérie. Elles s'observent suivant la nature du produit, son état liquide ou gazeux, son degré de concentration, son temps d'action, la température ambiante. Elles dépendent, d'autre part, des différences individuelles de résistance du germe en cause, du milieu où il vit, de l'abondance de ses éléments, de son état de sécheresse ou d'humidité ; enfin les spores sont infiniment plus résistantes que les bactéries non sporulées.

L'action d'un antiseptique peut être étudiée et évaluée en le faisant agir sur une masse déterminée de culture vivante, ou encore sur des fils de soie imprégnés de cette culture. On note, comparativement à des témoins, le temps qu'une solution antiseptique exige pour tuer le microbe à l'étude.

Agents microbiens. — Les bactéries subissent facilement l'influence d'autres bactéries avec lesquelles elles se trouvent en contact.

Cette influence peut être nocive. On observe le fait quand, de deux bactéries vivant dans le même milieu, l'une utilise plus que l'autre les éléments nutritifs mis à leur disposition. La première végète et se multiplie abondamment, enlevant à la seconde les conditions essentielles de sa nutrition et de sa vie. Elle se développe alors aux dépens de l'autre qui succombe. C'est ce qui se produit encore quand une bactérie fait subir au milieu des conditions

défavorables au développement de l'autre. Il se produit ainsi une véritable *concurrence vitale* dont on retrouve maints exemples dans la nature, notamment dans l'eau et le sol, où certaines catégories de germes prennent le pas sur d'autres espèces.

A côté de cette concurrence vitale, il y a lieu de signaler l'*antagonisme* naturel d'une bactérie vis-à-vis d'une autre; on a signalé ainsi l'antagonisme de la bactéridie charbonneuse et du bacille pyocyanique ; il s'observe non seulement en culture *in vitro*, mais aussi dans l'organisme infecté par ces deux germes.

D'autre part, certains microbes semblent jouer un *rôle favorisant* pour des germes avec lesquels ils se trouvent. Tel le pouvoir favorisant des sarcines, des torulas pour le vibrion cholérique (Metchnikoff). Nous verrons aussi le rôle favorisant de certaines *associations microbiennes* dans l'étiologie de certaines infections ; les microbes associés agissent alors indirectement par leur pouvoir chimiotactique positif sur les leucocytes qui les englobent, laissant aux autres bactéries la faculté de pulluler et d'exercer leur pouvoir infectieux.

Enfin, on connaît des exemples nombreux de *symbiose*, c'est-à-dire de vie en commun, qui ne nuit en rien, bien au contraire parfois, au développement simultané de deux bactéries, *in vivo* comme *in vitro*.

PRODUCTION DE CHALEUR.

De la combustion des aliments résulte en général une libération d'énergie dont la plus grande partie sert à l'entretien de la cellule bactérienne ; la chaleur qui se trouve en excès élève la température du milieu. Le fait est particulièrement perceptible chez les levures, qu'on les fasse vivre dans les gaz inertes, ou, ce qui est préférable, en présence de l'oxygène, ou mieux encore, à l'abri de l'air, mais lors de la fermentation. Eriksson a pu ainsi constater dans ce dernier cas une élévation de 3°,9. On sait d'ailleurs que, dans les fumiers, les tas de foin, surtout humide, les balles de coton, la chaleur peut égaler parfois 60°, 70° et même davantage.

PRODUCTION DE LUMIÈRE. — PHOSPHORESCENCE.

On remarque bien souvent que le bois en putréfaction, des poissons morts, de la viande exposée à l'air pendant plusieurs jours, des champignons, certaines eaux de mer émettent de la lumière et sont phosphorescents.

La phosphorescence est liée à la présence, à la surface de ces produits, de microbes spéciaux dont Pflüger a démontré l'existence,

et dont on connaît actuellement une trentaine d'échantillons, appartenant à plusieurs espèces, représentées le plus souvent par le type bacille, plus rarement par des Microcoques ou des Vibrions.

Cette fonction photogène particulière est soumise à certaines conditions :

Elle dépend tout d'abord de la *température*. Il faut en moyenne une température de 20 à 30°, mais ce chiffre peut varier dans des proportions importantes suivant l'espèce microbienne ; en général, les températures basses sont plus favorables que les températures élevées.

L'*alimentation* des bactéries photogènes influe beaucoup aussi sur cette fonction spéciale : la plupart exigent la présence du sel, d'autres de l'azote et du carbone ; mais elles ont toutes besoin d'oxygène ; la phosphorescence ne se produit pas dans le vide, et, dans un milieu contenant de l'oxygène, la phosphorescence cesse quand ce gaz est consommé.

Pour montrer cette phosphorescence, il suffit d'ensemencer un bacille photogène en gélatine au bouillon de poisson, à laquelle on ajoute 10 p. 100 de sel marin ; on peut aussi prendre un hareng frais, arrosé d'eau salée à 5 p. 100, ajouter du sucre, de la peptone, de la glycérine, et le laisser ainsi à 10° environ. Après quarante-huit heures, le jus et la chair émettent de la lumière.

La lumière phosphorescente produite par les bactéries photogènes est d'intensité variable ; en certains cas, elle peut être assez accusée pour qu'on puisse, à sa lueur, lire l'heure à une montre. R. Dubois a même photographié à leur propre lumière les colonies de ces germes. Cette lumière attire les tiges de jeunes plantes en germination, mais ne peut faire apparaître la chlorophylle.

R. Dubois a attribué cette propriété lumineuse à la présence d'une substance spéciale, la *luciférine*, qui brille en présence de l'air. Pour d'autres, elle est liée à la vie cellulaire, car si on détruit la bactérie photogène, on empêche la phosphorescence.

PRODUCTION DE PIGMENTS.

Un certain nombre de germes sécrètent des pigments, produits par le protoplasma cellulaire. Ils peuvent diffuser dans les milieux où on les cultive, ou être retenus dans le corps microbien, d'où ils ne s'échappent qu'après la mort de la cellule bactérienne.

Caractères généraux. — Les microbes producteurs de pigments sont très répandus dans la nature. On connaît des *levures* noires, roses, brunes ; le *Streptothrix maduræ* produit une teinte rouge vif

avec reflets métalliques; l'*Actynomyces bovis* en culture présente une teinte jaune qui vire ensuite au vert, puis au noir.

Les colonies de *Sarcina lutea*, *Micrococcus cereus flavus*, *Diplococcus pharyngis flavus* sont teintées en jaune ou jaune-citron ; *Staphylococcus aureus* prend une couleur jaune d'or ; les cultures de *Micrococcus prodigiosus* sont rouges. Les *bacilles violets* donnent une teinte violet noir. Le bacille du lait bleu (*Bacillus syncyanus*) colore le lait en bleu de ciel ou bleu grisâtre. Le *Pyocyanique* ou bacille du pus bleu présente une teinte bleu verdâtre ; il peut produire en outre un pigment fluorescent et un pigment vert non fluorescent. On en connaît une variété à pigment noir.

D'autres bactéries produisent une fluorescence verte (*Bacillus fluorescens liquefaciens*, *Bacillus fluorescens putridus*).

On connaît assez mal la nature de ces pigments ; Migula a observé pour certains la solubilité dans l'eau, mais la plupart y sont insolubles et sont solubles au contraire dans l'alcool, l'acétone, le chloroforme.

Certains peuvent être rangés dans la catégorie des pigments végétaux, nommés *lipochromes*, substances grasses, insolubles dans l'eau, mais solubles dans l'alcool. Il en est ainsi du pigment des staphylocoques, sarcines, etc. D'autres, comme la pyocyanine, la chlororaphine, se rapprochent assez étroitement des alcaloïdes, dont ils possèdent la plupart des réactions.

Leur production semble être liée à la production de diastases et en particulier d'oxydases.

Ces pigments s'oxydent très facilement ; ils semblent fixer avidement l'oxygène.

Conditions de la production du pigment. — Divers facteurs influent sur la production des pigments microbiens :

La *lumière* n'est pas indispensable, car le *M. prodigiosus*, le *B. violaceus* produisent leur pigment dans l'obscurité.

Par contre, l'*oxygène* est nécessaire ; une bactérie très chromogène cesse de l'être quand elle est cultivée à l'abri de l'air.

La *constitution chimique du milieu* peut, en certains cas, présenter une grande importance. Pour le Pyocyanique, Gessard a montré que la fluorescence ne se produit pas en l'absence de phosphates, et que le pigment noir réclame la présence de tyrosine.

De même la *réaction du milieu* présente une certaine influence. En général, les pigments préfèrent un milieu neutre ; ainsi, dans un milieu alcalin, au bout de plusieurs générations, le *M. prodigiosus* devient incolore. Par contre, le Pyocyanique, les fluorescents préfèrent une réaction basique. Les réactions influent encore sur la

teinte des pigments : ainsi le bacille du lait bleu, cultivé en milieu neutre, donne une teinte gris ardoisé ; en milieu acide, il devient bleu; en milieu alcalin, il devient rougeâtre. Un même pigment peut dès lors présenter des colorations successivement différentes suivant les réactions des milieux de culture.

La puissance chromogène paraît être encore en rapport avec la *vitalité du germe* ; elle diminue quand la vitalité s'atténue, soit spontanément ou sous l'influence d'antiseptiques. C'est ainsi que Charrin et Roger ont pu graduer la production pigmentaire du Pyocyanique en additionnant les cultures de solutions de sublimé.

L'influence de la *température* est indéniable. En moyenne, on peut considérer comme optima les températures comprises entre 20° et 25°. Ainsi *M. prodigiosus*, *Bacillus fluorescens putridus* donnent un pigment abondant à 20° ou 22° ; cultivés à 25°, leur culture est incolore. Mais, en habituant progressivement ces germes à des températures de 35° à 37°, on peut arriver à leur faire sécréter leur pigment.

SÉCRÉTION DE DIASTASE.

Les bactéries sont des agents producteurs de *diastases* ou *enzymes*, substances qui rendent assimilables les éléments non nutritifs, ou qui disloquent les composés fermentescibles pour engendrer la chaleur nécessaire à la vie de la bactérie. Ainsi l'amidon, la cellulose, l'albumine, la fibrine ne peuvent être assimilés qu'à la faveur de transformations opérées par les diastases. Le sucre de canne doit être interverti; les nitrates doivent être réduits. Ces substances diastasiques sont retenues dans le corps cellulaire ou bien diffusent dans le liquide ambiant. On ignore leur constitution ; on ne connaît que leurs propriétés et leurs effets.

Les diastases sont solubles dans l'eau et la glycérine ; beaucoup d'entre elles sont retenues par les filtres : elles dialysent mal et adhèrent aux précipités que l'on produit dans les liquides qui les contiennent. Elles sont détruites par une chaleur relativement peu élevée, variable suivant la diastase envisagée (entre 55° et 80°) ; cependant, quand elles ont été préalablement desséchées, leur résistance à la température est beaucoup plus accusée : elles peuvent alors supporter une température de 100° et même davantage.

La lumière leur est nuisible; la sucrase de l'*Aspergillus niger*, l'invertine sont en effet détruites par une exposition de quelques heures au soleil.

L'action nocive de la chaleur et de la lumière s'exerce de préférence en présence de l'air et de l'oxygène.

Les propriétés des enzymes se manifestent soit en milieu acide, comme la sucrase, soit en milieu alcalin, comme la trypsine.

Enfin l'action de chaque diastase peut être empêchée ou favorisée par la présence de sels, dont l'action peut être diamétralement opposée suivant la nature de la diastase : ainsi l'action de la présure est favorisée par l'action des sels de chaux, qui au contraire empêchent celle de l'amylase.

Duclaux a divisé les diastases en plusieurs classes :

Diastases coagulantes et décoagulantes. — Dans ce groupe rentrent la *présure*, qui coagule le lait, et la *caséase*, qui redissout la caséine ; la *trypsine*, qui contribue à assurer la liquéfaction de la gélatine et du sérum coagulé.

Diastases hydrolysantes et déshydrolysantes. — A ce groupe appartiennent l'*uréase*, qui produit la fermentation ammoniacale, l'*amylase* et la *dextrinase*, *sucrase*, *maltase*, *inulase*, etc.

L'amylase convertit l'amidon en dextrine ; la dextrinase transforme la dextrine en maltase.

Diastases oxydantes et désoxydantes. — Telles les *oxydases* à qui l'on attribue les changements de coloration des milieux de culture (pomme de terre notamment) ; le *philothion*, qui possède des propriétés réductrices et provoque la formation de sulfure d'hydrogène avec la fleur de soufre.

Diastases de décomposition. — La *zymase*, découverte par Buchner, est seule à représenter ce groupe.

ACTIONS FERMENTATIVES. — FERMENTATIONS.

On nommait autrefois « fermentation » les phénomènes de décomposition accompagnés de bouillonnement de la masse liquide, de boursouflement et de dégagement de gaz : telle, par exemple, la fermentation du moût de raisin. Mais on fut obligé de reconnaître que des fermentations pouvaient s'opérer sans aucun dégagement gazeux perceptible : tel le cas de la fermentation acétique.

D'après M. Nicolle, la fermentation « est un phénomène vital, dans lequel il y a une disproportion énorme entre le poids de l'organisme actif et celui du corps transformé ». En effet, les microbes sont capables de transformer sous un poids extrêmement réduit des quantités énormes de matière fermentescible. La fermentation se rapproche assez étroitement des « actions diastasiques dues à ce qu'on appelait autrefois les ferments chimiques ».

Pour que l'action fermentative puisse s'opérer, certains microbes ont besoin du secours de l'oxygène (fermentations par oxydation) ;

d'autres peuvent s'en passer, ou exigent même son absence (fermentation par réduction).

On connaît de nombreuses variétés de fermentations :

Fermentation alcoolique. — C'est la transformation des sucres en alcool et acide carbonique. Découverte par Lavoisier, elle a été étudiée surtout par Pasteur, qui l'a attribuée à l'action vitale des levures.

Ces levures (levures hautes fonctionnant à 16° à 20°, et les levures basses, à 6° à 8°) agissent sur les *saccharides*. Parmi les *monosaccharides*, la glucose, la mannose, la galactose sont fermentescibles directement sous leur influence. Les *disaccharides* (saccharose, lactose, maltose, etc.) doivent préalablement être transformées en monosaccharides par action diastasique. Ainsi la levure de bière (par l'invertine) dédouble la saccharose en glucose et lévulose, puis disloque ces derniers en donnant de l'alcool et de l'acide carbonique. Il en est de même des *polysaccharides* (inuline, amidon, dextrine).

Outre l'alcool et l'acide carbonique, la fermentation alcoolique s'accompagne de la formation de glycérine, d'acide succinique, d'aldéhyde, d'acides volatils et de divers éthers.

Cette action fermentative des levures est due à la *zymase*. Elle s'opère en anaérobiose, mais Pasteur a démontré qu'au bout d'un certain temps l'oxygène devient nécessaire ; il en suffit de traces pour réactiver une fermentation disparue.

Fermentation lactique. — Elle s'opère par la précipitation de la caséine, effectuée par le dédoublement de la lactose en acide lactique. Divers éléments microbiens peuvent la produire : le bacille de Pasteur et Hüppe, et divers ferments contenus dans l'air et l'eau (Miquel). En outre de ces ferments proprement dits, des bactéries diverses : bacilles typhique et paratyphique, colibacille, vibrions, etc., sont capables de l'assurer. Cette fermentation par les microbes pathogènes intéresse au plus haut point le bactériologiste au point de vue de l'identification des espèces (Voy. à cet égard l'étude de chaque bactérie en particulier).

Il existe encore des fermentations sucrées voisines de la fermentation lactique : on connaît ainsi les fermentations des sucres suivants : glucose, lévulose, mannite, dextrine, maltose, galactose, saccharose, que nous aurons souvent l'occasion d'étudier.

Ces fermentations spéciales s'opèrent de préférence à 30-35° en milieu légèrement alcalin, et en contact avec l'oxygène.

Dans les milieux de culture où elles s'effectuent, elles s'arrêtent en général quand la quantité d'acide formée atteint 0,6 à 0,8 p. 100.

Fermentation butyrique. — La fermentation butyrique s'ob-

serve avec l'amidon, la dextrine, certaines celluloses, la saccharose, la glucose, la lactose. Mais, comme dans les fermentations alcoolique et lactique, les disaccharides et polysaccharides doivent être attaqués préalablement par l'hydrolyse.

Les agents microbiens capables de la produire sont assez nombreux. On connaît notamment le bacille butyrique de Hüppe, qui l'effectue en présence d'oxygène : le Vibrion de Pasteur, l'*Amylobacter* de Van Tieghem, etc., qui agissent sans le secours d'oxygène. La fermentation butyrique se produit parfois après la fermentation lactique.

En dehors de l'acide butyrique, on trouve, après la fermentation, de l'hydrogène, des acides : carbonique, acétique, formique, de l'alcool butylique, etc.

Fermentation acétique. — La fermentation acétique s'observe sur les boissons alcooliques en général et le vin en particulier. Qu'on les abandonne à l'air, on voit se développer à la surface un voile mince, velouté ; une odeur aigrelette de vinaigre apparaît.

Pasteur a montré que l'agent fermentatif est un microbe très petit, disposé en diplobacilles, mais en réalité très polymorphe ; il l'a nommé *Bacterium aceti*.

La fermentation acétique se produit au maximum entre 20 et 30°, à la faveur d'une aération énergique ; sans cette aération, l'alcool se transforme en aldéhyde ; c'est ce qui se produit encore quand la teneur en alcool est inférieure à 10 p. 100.

Fermentation ammoniacale. — Elle est le plus habituellement due à l'action d'un microcoque étudié par Pasteur et Van Tieghem. Miquel en a isolé d'autres qui proviennent de l'air, des eaux, etc. Leur action fermentative est due à la production d'une diastase qu'on a nommée *uréase*. Sous son influence, l'urine se trouble et devient alcaline, en même temps que les phosphates et les matières organiques se déposent ; l'urée est transformée en carbonate d'ammoniaque, qui ne tarde pas à se convertir en sesqui, puis en bicarbonate d'ammoniaque : l'ammoniaque se dégage. Les mêmes ferments peuvent dédoubler le glycocolle et l'asparagine.

Enfin cette fermentation ammoniacale s'opère strictement en présence de l'air, et de préférence à la température de 30 à 33°.

Elle est favorisée par la lumière et empêchée par l'acidité.

Nitrification. — La nitrification est la transformation des sels ammoniacaux en azotates. Elle s'effectue en permanence, et d'une façon pour ainsi dire insensible, dans le sol où les nitrates sont l'aliment azoté principal que consomment les végétaux.

Schlœsing et Müntz ont montré que les agents de cette nitrification sont des êtres vivants.

On remplit un cylindre de terre arable; à sa partie supérieure, on verse du sulfate d'ammoniaque; à sa partie inférieure, on recueille du nitrate d'ammoniaque. Toutefois, si on chauffe la terre à 100°, ou si on l'imprègne de chloroforme, le sulfate passe en nature, et la nitrification ne se fait plus. Celle-ci devait donc être produite par un organisme vivant. C'est Winogradsky qui eut le mérite de faire connaître le mécanisme de cette fermentation spéciale et les bactéries qui contribuent à l'assurer.

Elle s'effectue en deux temps, par deux sortes d'agents microbiens ayant chacun leur fonction.

Dans une première phase, les *ferments nitreux* : *Nitrosomonas* d'Europe, de Java, et *Nitrosococcus* du Mexique et du Brésil, *Micrococques mobiles*, pourvus d'un cil, transformant les sels ammoniacaux en *nitrites*; dans une deuxième, ces nitrites sont transformés en nitrates par le *ferment nitrique*, le *Nitrobacter*, *bacille immobile*, découvert par Winogradsky.

Ces ferments nitreux et nitrique, qui ne peuvent se développer en présence de matières organiques, puisent leur alimentation dans les carbonates, dont ils absorbent le carbone.

La nitrification réclame une bonne aération, de l'humidité, une température de 5° à 50°, une alcalinité légère et de l'obscurité.

Ces phénomènes de nitrification ont reçu plusieurs *applications* intéressantes :

Müntz a pu reproduire des *nitrières artificielles* par l'action des microbes nitrifiants; c'est d'ailleurs par cette action que se sont produits dans la nature les vastes gisements de nitrate, et que se produisent en réduction, sur les murs humides, les dépôts de salpêtre qu'on y rencontre.

La nitrification a été utilisée pour assurer l'*épuration biologique des eaux*. Cette dernière s'effectue, on le sait, en deux phases : dans les fosses septiques où s'opèrent les fermentations anaérobies, puis dans les lits bactériens, siège des fermentations aérobies.

Dans les fosses septiques, les diastases microbiennes attaquent et décomposent les substances tertiaires et quaternaires. Les matières organiques qu'elles contiennent se dissolvent pour aboutir à la transformation en sels ammoniacaux.

Dans les lits bactériens où le contact de l'air est assuré par des agencements spéciaux, les ferments nitrobactériens assurent la transformation des sels ammoniacaux en nitrites, puis nitrates.

Dénitrification. — L'action des agents nitrificateurs est parfois anéantie par l'action des agents dits dénitrificateurs, qui ramènent les nitrates et les nitrites à l'état d'ammoniaque, en dégageant

du protoxyde d'azote, du bioxyde d'azote ou de l'azote seul. On trouve de ces bactéries dénitrifiantes dans la paille, la luzerne, les tourteaux, la bouse de vache. Elles agissent en présence de l'excès de matières organiques qui, on l'a vu plus haut, empêche la nitrification. On estime que la nitrification et la dénitrification se régularisent mutuellement et se font équilibre.

Putréfaction. — Ce sont encore des bactéries qui déterminent les phénomènes de putréfaction, consistant en une série de dédoublements des matières hydrocarbonées, azotées et surtout des albuminoïdes. Ces dédoublements aboutissent à la libération des éléments simples, oxygène, hydrogène, carbone, azote, sous forme d'acide carbonique et d'ammoniaque, qui sont ainsi restitués aux milieux d'où provenaient les matériaux ayant subi ces transformations.

Dans la putréfaction, on observe la dislocation des différentes substances contenues dans le milieu :

Les hydrates de carbone se transforment, comme on l'a vu dans l'étude des diverses fermentations, après ou sans hydrolyse préalable, suivant leur qualité.

Les matières grasses sont dédoublées tout d'abord en glycérine et en acides gras : la glycérine fermente, les acides gras disparaissent, brûlés par l'action des moisissures.

Les matières azotées sont ou simplement solubilisées, ou disloquées; de ces phénomènes résulte le dégagement de produits gazeux, dont les uns, comme l'hydrogène et l'acide carbonique, restent inodores, dont les autres dégagent une odeur infecte : acides gras volatils, ammoniaques composées, mercaptan, hydrogène sulfuré, phosphoré, indol, scatol.

La putréfaction s'effectue en général en deux phases : la première due aux *aérobies*, la seconde aux *anaérobies*.

Soit un liquide qui se putréfie : sa masse est tout d'abord envahie par les aérobies qui y trouvent des éléments et de l'oxygène : ils s'y développent abondamment, brûlent les aliments qui y sont contenus, et dégagent des produits simples et inodores; au fur et à mesure que l'oxygène du milieu s'épuise, ils viennent se cantonner à la surface pour y absorber l'oxygène de l'air. Quand tout l'oxygène de la masse est épuisé, les anaérobies, protégés contre l'action de l'oxygène de l'air par le voile qui s'est formé, peuvent se développer en toute liberté; c'est alors qu'intervient la transformation spéciale d'où se dégagent les produits volatils d'odeur repoussante.

Il en est de même pour la putréfaction de la viande, où les aérobies s'attaquent surtout aux substances hydrocarbonées et un peu aux albuminoïdes, grâce à la présence des ferments peptolytiques et

protéolytiques mixtes. Après trois ou quatre jours, les anaérobies apparaissent; après une semaine environ, les sucres ont disparu, la glycérine est brûlée, les graisses sont devenues des savons ammoniacaux. Sous l'influence des ferments protéolytiques purs, le dégagement des produits volatils d'odeur infecte s'effectue. Après trois à quatre semaines, la décomposition s'avance davantage, et l'ammoniaque augmente de plus en plus, sous forme d'ammoniaques composées.

Ces phénomènes durent plus ou moins longtemps, mais finissent par aboutir à la disparition complète de la matière organique et à la nitrification.

FORMATION DE SUBSTANCES TOXIQUES.

Toxines proprement dites. — Les bactéries sont capables de sécréter des substances toxiques qui interviennent énergiquement dans la production des phénomènes morbides de l'infection qu'elles provoquent. On les a nommées « toxines ».

On classe les toxines en deux grands groupes : *toxines solubles* et *endotoxines*.

Toxines solubles. — Par leurs caractères généraux, elles se rapprochent assez étroitement des diastases.

Solubles dans l'eau et la glycérine, elles sont insolubles dans l'alcool; elles adhèrent fortement aux précipités et coagula que l'on provoque dans les liquides où elles ont pris naissance. Elles dialysent lentement, sont retenues en partie sur les filtres; comme les diastases encore, elles agissent à dose très minime. Elles sont sensibles à la lumière, à la chaleur, à l'oxydation.

Les toxines sont donc bien différentes des ptomaïnes avec lesquelles on a voulu les assimiler; elles diffèrent aussi des protéines bactériennes de Buchner, qui ne sont que des résidus de nutrition des bactéries, dénuées, contrairement aux toxines, de tout caractère de spécificité.

Les toxines diphtérique, tétanique, botulinique sont des types de toxines solubles.

Divers facteurs interviennent pour conditionner leur sécrétion :

Leur formation dépend tout d'abord du *microbe* producteur. En général, plus le microbe est virulent, plus il est toxigène.

Elle dépend encore de la *constitution des milieux de culture*, variable d'ailleurs avec le microbe étudié. C'est ainsi que, pour donner une toxine active, le bacille tétanique a besoin de chlorures, le bacille diphtérique de phosphates. Les sucres, en déterminant de l'acidité, sont nuisibles à la toxine diphtérique; par contre, ils n'in-

fluent en rien sur la toxine botulinique, dont le germe producteur ne souffre aucunement de cette acidité. — Enfin, dans la plupart des cas, la *réaction* du milieu doit être alcaline.

La température requise pour l'obtention des toxines est en général de 37°. De plus, les milieux demandent habituellement à subir une aération notable, surtout pour les germes qui forment un voile superficiel.

La résistance des toxines solubles à la chaleur est assez variable. A cet égard, on a classé un peu trop schématiquement les toxines en *thermolabiles* et *thermostabiles*. Ainsi les toxines diphtérique et tétanique sont atténuées par un chauffage à 55° et sont détruites à des températures inférieures à 100°.

Par contre les toxines cholérique et pyocyanique supportent impunément la température de l'ébullition.

Ces substances toxiques élaborées et sécrétées par les bactéries sont *spécifiques*. Ainsi les symptômes spasmodiques provoqués par la toxine tétanique sont bien différents de ceux que produit la toxine diphtérique, qui donne des troubles paralytiques.

Cette spécificité semble être due à l'*affinité élective* de chaque toxine, pour des éléments spéciaux de l'organisme. Les toxines en effet se fixent électivement sur certaines cellules ; c'est la raison pour laquelle une dose infime de toxine peut être mortelle en se fixant sur des cellules dont le rôle physiologique est considérable : la cellule nerveuse, par exemple, dans le cas de la toxine tétanique. On a depuis longtemps comparé cette fixation à une véritable teinture ; c'est sans doute un phénomène d'adhésion moléculaire.

Chez l'homme ou l'animal infecté par le microbe qui les produit, les toxines solubles agissent surtout à distance; l'exemple le plus typique est celui de la diphtérie et du tétanos où la lésion locale est infime, mais où les troubles toxiques prédominent, dus à la toxine lancée et diffusée dans la circulation.

Enfin ces toxines bactériennes, injectées à des animaux à doses progressivement croissantes, vaccinent ces derniers contre leur action nocive et déterminent la fermentation d'*antitoxines spécifiques*, dont nous parlerons dans des chapitres ultérieurs.

A cet égard, il faut établir un rapprochement entre ces toxines bactériennes et certaines *toxines végétales* comme l'*abrine* (jequirity), la *ricine* (graines de ricin), le *crotine* (*croton tiglium*). On a reconnu que ces substances, par leur nature et leurs propriétés, doivent être assimilées non pas aux albuminoïdes ni aux glucosides, mais aux toxines. Comme ces dernières d'ailleurs, elles peuvent provoquer la

formation d'antitoxines spécifiques, alors que les albuminoïdes et les glucosides en sont incapables.

Endotoxines. — Il est des microbes qui, dans les milieux de culture, ne libèrent pas de poison toxique tant qu'ils sont vivants, mais les retiennent dans le corps microbien. Ces endotoxines, comme on les a nommées, ne possèdent donc pas la propriété des toxines dites solubles. C'est à ce caractère essentiel qu'est due la distinction, peut-être artificielle, entre les unes et les autres.

Les principales endotoxines connues sont l'endotoxine pesteuse, typhique, dysentérique.

Leur existence peut être démontrée de la façon suivante : soit une culture jeune en bouillon de bacilles dysentériques de Shiga ; on la centrifuge ; après dépôt des microbes au fond du tube, on injecte à l'animal le bouillon devenu clair : il est inoffensif ; on recueille le dépôt microbien que l'on tue par la chaleur à 58° pendant une heure ; les microbes tués injectés sous la peau d'un lapin, déterminent l'intoxication dysentérique expérimentale, comme les microbes vivants ; le corps microbien retient donc la toxine sans la laisser diffuser.

Il est vrai que cette endotoxine peut être mise en liberté dans une culture en bouillon, mais elle n'est décelable par ses effets pathogènes et ses réactions qu'après quinze à vingt jours de séjour à l'étuve à 37°, quand la plupart des bactéries sont mortes. Les corps microbiens, qui, à l'état vivant, retiennent leur poison, le laissent dégorger et diffuser une fois la mort et la destruction de la cellule bactérienne.

Avec des cultures solides, on peut obtenir la mise en liberté de ces endotoxines par les procédés produisant l'autolyse (macération aqueuse, congélation à l'air liquide par la méthode de Macfadyen et Rowland à — 90° F., procédé de Besredka avec une solution concentrée de chlorure de sodium, etc.).

De par leurs caractères généraux, elles ne semblent pas différer essentiellement des toxines solubles. Elles sont assimilables, comme ces dernières, aux diastases. Elles sont sensibles à la chaleur, mais avec des différences, suivant chacune d'elles, comme on l'a observé pour les toxines solubles.

Néanmoins, il est assez difficile d'établir une démarcation nette entre ces endotoxines et les toxines solubles. Pour certains auteurs, le fait que la toxine est diffusée dans le milieu ambiant ou retenue dans le corps microbien ne constitue pas un caractère suffisant pour faire admettre cette différenciation. La question de savoir s'il y a ou non identité de nature entre ces deux poisons n'est pas encore tranchée.

Enfin ces endotoxines peuvent fournir de l'anti-endotoxine quand elles sont injectées à doses progressives à l'animal ; mais alors qu'avec les toxines l'antitoxine est obtenue par injections sous-cutanées, les endotoxines ne peuvent donner d'anti-endotoxine qu'après injection intraveineuse (Besredka).

Tuberculine et malléine. — La tuberculine et la malléine sont des toxines qui méritent d'être classées dans une catégorie spéciale. Ce ne sont pas à proprement parler des toxines vraies, mais des extraits microbiens. On les extrait des corps bactériens par action de la glycérine.

Elles sont très résistantes à la chaleur. Enfin leur toxicité ne se manifeste que chez les sujets malades respectivement de tuberculose et de morve, en provoquant une réaction locale et une réaction générale.

Hémolysines. — En dehors des toxines proprement dites, les bactéries sécrètent des produits toxiques particuliers, exerçant leur action nocive sur les globules rouges ; on les nomme *hémolysines*. Elles possèdent la propriété de dissoudre les hématies, dissolution suivie de la diffusion de l'hémoglobine. On en connaît plusieurs variétés.

Une des mieux connues, la première qui ait été étudiée, est la *tétanolysine*, hémolysine sécrétée par le bacille du tétanos (Ehrlich et Madsen). Elle dissout les hématies de la plupart des animaux, surtout celles du lapin et du cheval.

Un chauffage à 50° pendant vingt minutes la détruit complètement. Substance très instable, elle est donc différente de la toxine tétanique vraie ou tétanospasmine. D'ailleurs, l'immunisation des animaux avec des cultures filtrées, contenant l'hémolysine et la toxine vraie, donne un sérum antitétanique et antihémolytique, mais ces antitoxines sont élaborées en quantités différentes : certains sérums en effet sont très antitoxiques et à peine antihémolytiques.

On connaît aussi une *staphylolysine*. A une culture de Staphylocoque en bouillon, âgée de trois à quatre jours, on ajoute une goutte de sang défibriné de lapin ; après deux heures de séjour à l'étuve, puis de dix-huit heures à la glacière, le sang est complètement dissous. Il en est de même quand on ajoute ce sang à une culture filtrée de Staphylocoque. La staphylolysine injectée par voie sous-cutanée confère au sérum de l'animal des propriétés anti-hémolytiques ; par voie veineuse, celles-ci sont à peine marquées ; elles sont nulles quand on prend la voie péritonéale.

On a décrit encore et étudié la *pyocyanolysine*, la *colilysine*, la *typholysine*, qui sont thermostabiles et ne se détruisent qu'à des températures fort élevées.

Besredka a fait connaître les propriétés de la *streptocolysine*, qui exerce son action non seulement *in vitro*, mais encore *in vivo*. Puis, contrairement aux hémolysines précédentes, qui n'apparaissent que dans les cultures déjà anciennes, la streptocolysine ne se manifeste que quand le streptocoque est en pleine activité ; elle diminue d'intensité quand la culture vieillit.

Kraus a fait connaître encore des *vibriolysines* qu'on observe avec des Vibrions voisins du Vibrion cholérique. L'expérience montre que certains Vibrions cholériques authentiques peuvent en sécréter.

Leucocidines. — Ce sont des produits toxiques pour les leucocytes. Van der Velde les a mises en évidence de la façon suivante : on injecte dans la plèvre d'un lapin du Staphylocoque doré ; un exsudat se forme, riche en leucocytes, mais dégénérés. Ces leucocytes, mis en présence de leucocytes normaux, altèrent ces derniers, en dissolvant le protoplasma tout d'abord, puis leur noyau. Un chauffage à 58° pendant dix à quinze minutes détruit cette leucocidine.

VIE SAPROPHYTIQUE ET RÔLE PATHOGÈNE DES BACTÉRIES. L'INFECTION.

Des nombreuses bactéries que l'on rencontre dans la nature, les unes ne présentent pour l'être vivant aucune propriété nocive. Elles se contentent de pulluler aux dépens de la matière morte et sont des agents destructeurs énergiques des cadavres de végétaux et d'animaux. On les nomme des *bactéries* saprophytes (σαπρος, *putride* ; φυτον, *plante*). Elles agissent par leurs produits diastasiques pour déterminer les phénomènes, décrits plus haut, de fermentation, de putréfaction, de nitrification, etc. Par extension, on désigne habituellement sous le même nom des bactéries pouvant vivre, sans provoquer d'infection, dans les cavités naturelles de l'homme auxquelles elles ont accédé par l'intermédiaire de l'eau, des poussières, des aliments.

De ces bactéries, les unes sont douées de propriétés fermentatives et aideraient ainsi à l'action des ferments cellulaires, tout particulièrement dans l'intestin, où leur action diastasique assurerait la digestion de certaines substances alimentaires, notamment de la cellulose ; elles opéreraient une véritable digestion bactérienne, qui s'ajouterait à la digestion ordinaire. Certains auteurs préfèrent donner à ces germes l'épithète de « commensaux ». D'autres bactéries, saprophytes aussi, arrivent à pulluler dans les mêmes cavités naturelles, mais leur présence, inoffensive le plus souvent, peut ne pas l'être toujours, et certaines peuvent même, par association secondaire

avec d'autres, favoriser le pouvoir infectant de ces dernières.

En regard de ces bactéries saprophytes, se trouvent les bactéries capables d'infecter les organismes vivants qu'elles ont envahis, où elles pullulent, se développent et y produisent des désordres caractéristiques de l'infection et des toxi-infections. Ce sont les *bactéries pathogènes*.

De ces dernières il est plusieurs catégories : les unes semblent ne pouvoir vivre que dans les organismes vivants. Tombées d'un organisme vivant dans les milieux extérieurs, elles y restent à l'état de latence pendant un certain temps, puis succombent si elles n'ont pas l'occasion de pénétrer à nouveau chez un hôte où elles puissent reprendre leur vie active. Ce sont des *parasites obligés*. D'autres, au contraire, vivent de la vie saprophytique en dehors de l'être vivant, dans le sol, les eaux, où elles peuvent se multiplier, se diviser ou prendre une forme de résistance qui leur permet d'attendre souvent des mois et des années l'occasion favorable à une nouvelle vie infectante. Ce sont les *parasites facultatifs*.

Ces derniers exemples montrent qu'un seul et même microbe peut, à l'occasion, se comporter en saprophyte ou en pathogène. Il est vraisemblable d'ailleurs que certains saprophytes se transforment en pathogènes ; n'admet-on pas aujourd'hui que beaucoup de pathogènes ont été élevés à cette dignité, de saprophytes qu'ils étaient primitivement, par adaptations successives aux milieux vivants dans lesquels ils ont été appelés à pénétrer progressivement ? D'ailleurs, H. Vincent a, par des moyens spéciaux, pu conférer le pouvoir pathogène à des bactéries saprophytes, le *Bacillus subtilis*, le *B. mesentericus vulgatus*.

Les bactéries pathogènes engendrent donc l'infection ; mais, pour que celle-ci puisse se produire, diverses conditions relevant du microbe et de l'organisme qui l'héberge doivent être réalisées.

Conditions relevant du microbe. — La *virulence* des germes est un facteur de haute importance. Elle peut être définie : « L'aptitude des microbes à se développer dans le corps des animaux et à y sécréter des substances toxiques » (Roux).

Cette virulence est variable suivant diverses conditions naturelles et expérimentales.

Elle diminue sous l'influence de l'air, de la lumière, de la dessiccation, des antiseptiques, de la chaleur, du vieillissement dans les cultures. Elle augmente quand on fournit à un germe les aliments qui lui conviennent le mieux, quand on l'habitude, par adaptation progressive, à un organisme déterminé, par exemple en le faisant vivre à l'abri des défenses de cet organisme, dans les sacs de collo-

dion introduits dans le péritoine. Ces passages successifs exaltent le pouvoir pathogène, mais seulement pour l'espèce à laquelle il a été habitué. Ces conditions expérimentales sont parfois réalisées naturellement au cours des épidémies. Il est de règle qu'au début d'une épidémie, de choléra par exemple, les premiers cas sont bénins, puis surviennent des atteintes bien caractérisées, des formes graves et enfin des formes foudroyantes. Au fur et à mesure des passages, la virulence s'est accrue.

Dans la déterminisme des infections, la *quantité de microbes* pénétrant dans l'organisme doit entrer encore en ligne de compte. Avec certaines espèces de germes, il suffit d'un microbe pour réaliser l'infection ; avec d'autres, une grande quantité est nécessaire. Le fait a été remarquablement mis en lumière par Chauveau dans ses expériences sur le mouton algérien ; bien que réfractaire au charbon dans les conditions naturelles, s'il reçoit cependant une forte dose de cultures, il contracte l'infection.

En médecine expérimentale, on sait aussi que l'injection d'une dose infime de germes peut n'être suivie d'aucun effet ; une dose plus forte peut provoquer une infection locale, un abcès, et une dose beaucoup plus forte produire une septicémie. La quantité influe encore sur la gravité de l'infection et sur la durée de l'incubation.

Le rôle joué par les *associations microbiennes* est indiscutable : si on inocule à un animal des spores tétaniques sans toxine, il ne contracte pas le tétanos ; si à ces spores on associe certains germes saprophytes, le tétanos se déclare ; dans le premier cas, la spore a été phagocytée ; dans le second, les leucocytes se sont emparés de la bactérie banale et ont laissé libre la spore, qui a eu le temps de germer et de lancer la toxine dans la circulation. Cet exemple n'est pas le seul ; on connaît le pouvoir favorisant du Streptocoque sur le bacille de Löffler, le bacille d'Eberth, dont la virulence est accrue par ce fait ; il en est de même du choléra : Metchnikoff a montré le rôle des bactéries favorisantes ou au contraire empêchantes sur son éclosion.

Le rôle de la *porte d'entrée* des microbes pathogènes n'est pas négligeable. Le même germe, suivant sa voie d'introduction, produira des effets différents et de gravité variable ; la pénétration du bacille tuberculeux par les voies respiratoires est plus sûrement tuberculisante que par les voies digestives : le chancre syphilitique extragénital donne une syphilis plus grave que s'il se développe sur les organes génitaux ; la variole congénitale est très grave, car elle résulte d'une inoculation sanguine, etc. Inoculé au niveau de la

peau, le streptocoque donne un érysipèle, dans les veines une septicémie, etc.

Influence du terrain. — Il faut d'abord compter avec l'état réfractaire que présentent naturellement certains organismes vis-à-vis de tel ou tel microbe ; nous étudierons plus loin ces phénomènes d'*immunité*.

L'*âge* est une condition individuelle qui influe sur la réceptivité. C'est assurément l'enfance qui, d'une façon générale, est la plus apte à contracter les maladies infectieuses ; le fait est notoire pour les fièvres éruptives. Suivant l'âge encore, telle infection présente une gravité variable ; la fièvre typhoïde notamment, bénigne dans l'enfance, est plus maligne à l'âge adulte. En d'autres infections, la proposition est renversée.

Le *sexe* intervient encore, mais surtout en raison des occupations et travaux réservés soit à l'homme, soit à la femme.

L'influence de la *race* est à considérer encore ; on connaît la faible réceptivité des noirs pour le paludisme, la fièvre jaune ; l'extrême réceptivité des blancs pour la scarlatine, etc.

Une grande influence doit être attribuée à l'*état de maladie* : « Le meilleur moyen de se bien porter, a-t-on dit, est de ne pas être malade. » A cet égard, les troubles des viscères interviennent à un haut degré : troubles de l'estomac, du cœur, lésions de la rate, du foie destructeur des poisons, du rein chargé de les éliminer, de l'intestin, etc. Les intoxications et les auto-intoxications sont des éléments essentiellement favorisants ; de même l'*insuffisance alimentaire*, qui déprime l'organisme et permet aux microbes, qui l'envahissent ou y préexistent, de devenir pathogènes ; on connaît le rôle marqué de la *famine* sur l'éclosion et le développement des épidémies. L'influence du *surmenage* est actuellement classique : elle est observée couramment en pathologie humaine (fièvre typhoïde, tuberculose, etc.) et animale (morve, etc.). L'influence des agglomérations, de l'*encombrement*, est encore indéniable ; elle agit en multipliant les contacts et en privant les individus du cube d'air qui leur est nécessaire.

A ces facteurs individuels s'ajoutent encore des conditions extrinsèques.

Le *froid* est à envisager dans bon nombre de cas ; son influence favorisante sur l'éclosion de la tuberculose, de la méningite cérébro-spinale est connue ; il agit en diminuant ou en annihilant le rôle défensif des leucocytes, des muqueuses, des épithéliums. L'expérience de Pasteur sur la poule, réfractaire au charbon, en est une preuve manifeste ; qu'on lui plonge les pattes dans l'eau froide après une

inoculation de bactéridie charbonneuse, elle succombe au charbon. L'influence de la *chaleur* doit en être rapprochée, quoique plus complexe, car divers éléments agissent sur la diminution de la phagocytose. Ajoutons les influences météoriques, climatiques, etc.

Le *traumatisme* est invoqué, à juste titre, dans l'éclosion de certaines infections restées latentes, qu'il réveille et appelle aux régions où il se produit (tuberculose, pleurésie et péritonite tuberculeuses, pneumonie traumatique, etc.). Il en est de même de l'*altération mécanique des épithéliums* ; une excoriation de la muqueuse pharyngée ou une lésion préalable produite par un germe quelconque préparent la muqueuse à des diphtéries secondaires ; la grippe, la rougeole, la scarlatine, par leurs localisations sur les muqueuses, agissent de même pour favoriser l'éclosion de nouvelles infections spécifiques, greffées sur la première.

Dans cette lutte entre la graine et le terrain, l'organisme met en jeu ses défenses naturelles par les muqueuses, les sécrétions glandulaires, dont on connaît le pouvoir destructeur des germes et des toxines (salive, suc gastrique, pancréatique, intestinal) ; il en est de même du foie, de la rate, de l'épiploon, sans oublier le rôle général joué par les leucocytes, comme l'a démontré Metchnikoff dans la production de l'immunité, à l'étude de laquelle nous sommes ainsi tout naturellement amenés.

CHAPITRE III

IMMUNITÉ

L'organisme humain ou animal est en lutte constante avec les nombreux agents morbigènes venus de l'extérieur qui y accèdent pour y pulluler et y déterminer l'infection : quand de cette lutte l'organisme sort victorieux, la maladie ne se produit pas ; on dit qu'il est immunisé.

L'immunité peut donc être définie : cet état de l'organisme qui présente la faculté de s'opposer à l'action d'un agent pathogène quelconque, parasite ou poison.

Elle est innée ou acquise.

Immunité naturelle. — On connaît maints exemples d'immunité naturelle : alors que le mouton de nos pays est si sensible au charbon, le mouton algérien y est réfractaire; la poule est réfractaire au charbon et au tétanos, les bovidés et les porcs à la morve, etc.

De même encore le hérisson est insensible à l'action du venin de vipère; l'atropine est inoffensive pour le lapin, la nicotine pour la chèvre, etc.

Cette immunité innée peut être fonction de l'espèce, de la race, de l'âge.

L'*espèce* humaine contracte des infections auxquelles les animaux restent réfractaires, et inversement.

Certaines *races* sont naturellement insensibles à l'action de certains virus : la race noire est, en général, réfractaire à la fièvre jaune ; chez les nègres comme chez les Annamites, les Malgaches, les Hindous, la malaria est moins sévère que chez le blanc.

L'influence de l'*âge* entre en ligne de compte. Au cours des épidémies de rougeole, de scarlatine, les enfants de moins d'un an sont habituellement épargnés ; le bacille typhique respecte aussi en général les jeunes enfants et les vieillards. En pathologie animale, on observe des exemples semblables.

Enfin, dans ces états « immuns », il faut distinguer les faits d'*immunité absolue* et d'*immunité relative*.

Dans les premiers, l'être vivant est réfractaire à un virus, quelle qu'en soit l'activité, et quelle que soit la déchéance organique; par exemple l'état d'immunité du bœuf vis-à-vis de la morve.

Dans les secondes, l'immunité peut être vaincue en certaines circonstances; il suffit parfois pour cela d'augmenter la virulence d'un germe ou d'accroître la réceptivité de l'organisme.

Immunité acquise. — L'immunité peut s'acquérir à la suite de certaines infections : l'homme est ainsi vacciné contre la fièvre typhoïde, la variole, la rougeole, la scarlatine, les oreillons, la fièvre jaune, quand il en a subi une première atteinte. Les atteintes frustes, bénignes, confèrent l'immunité comme les atteintes graves. Au cours d'épidémies, certains organismes jouissent d'une immunité, qui ne peut être expliquée que par de tels faits.

A côté de ces infections immunisantes pour une longue durée, d'autres se caractérisent par une immunité assez passagère; d'autres enfin, comme l'érysipèle, la pneumonie, etc., ne confèrent aucune immunité; bien plus, elles sont plus sensibilisantes que vaccinantes.

L'immunité acquise peut être provoquée par des inoculations successives de virus vivants, atténués par la chaleur ou par le vieillissement de cultures, ou de virus morts. Le type de ces vaccinations microbiennes est fourni par la vaccination antityphique, antipesteuse, anticholérique, etc. Elles provoquent des réactions locales et générales amenant, au bout de quelques jours, l'immunité cherchée. Rappelons encore la vaccination jennérienne contre la variole déterminée par la vaccine. Les inoculations de poisons, de toxines microbiennes peuvent provoquer ce même état réfractaire.

Cette immunité acquise par une infection antérieure, contractée spontanément ou provoquée par l'action de virus ou de poisons inoculés, est dite *immunité active*.

En regard, on connaît l'*immunité passive*, conférée par l'inoculation du sérum d'animaux ou d'individus hyperimmunisés; en ce cas, on introduit dans l'organisme des substances qui permettent à l'organisme de lutter efficacement contre l'envahisseur. C'est le principe général de la sérothérapie dont on reparlera à maintes reprises.

NOTIONS SOMMAIRES SUR LE MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ.

Il n'est pas de question qui ait soulevé autant de discussions que celle du mécanisme de l'immunité. Avant que les notions que l'on possède actuellement sur ce sujet soient bien admises, de nom-

breuses théories ont été émises. Nous signalerons les principales d'entre elles, intéressantes au point de vue historique.

Théorie de l'épuisement du milieu. — Cette théorie, d'ordre chimique, avait été soutenue par Pasteur, lors de ses recherches sur le choléra des poules. Il pensait que, chez la poule vaccinée contre cette infection, celle-ci ne se produisait pas parce que l'organisme ne fournissait plus au virus les substances nécessaires à son développement. D'ailleurs il avait remarqué que le germe spécifique ne pouvait pulluler dans le bouillon où il avait déjà vécu. Si cependant on additionnait ce bouillon filtré de bouillon neuf, une semence nouvelle pouvait y prospérer. Pour lui, ces phénomènes observés *in vitro* et *in vivo* étaient du même ordre.

En réalité, cette théorie ne pouvait expliquer l'immunité naturelle, et en particulier ce fait que le mouton d'Algérie, réfractaire au charbon, peut prendre l'infection si on lui injecte de très fortes doses.

Théorie de Chauveau. — Chauveau pensait que l'immunité était due à l'addition au milieu organique de substances nuisibles, dont la diffusion devait empêcher le développement ou la vie du microbe.

L'immunité n'est pas encore expliquée par cette théorie, puis ne sait-on pas que la bactéridie charbonneuse pullule dans le sang des animaux vaccinés contre elle. Il en est de même, au moins pendant quelques heures, dans l'humeur aqueuse des animaux réfractaires.

Théorie humorale.

Pour les partisans de la théorie humorale, l'immunité est due à des propriétés spéciales du sang et des autres humeurs de l'organisme, indépendantes de toute action cellulaire, nuisibles pour les bactéries contre lesquelles l'animal a été vacciné.

Théorie bactéricide des humeurs. — Fodor avait remarqué, en 1886, que les germes saprophytes, comme le *B. subtilis*, le *B. megaterium*, etc., injectés dans la circulation, disparaissaient rapidement du sang. Le sang devait donc avoir des propriétés bactéricides élevées.

En 1888, Nuttal, reconnaissant que les globules blancs jouent un rôle important dans la destruction des bactéries, estime néanmoins que cette action est préparée par une altération préalable des mêmes bactéries par les humeurs organiques; il accorde à ces dernières une action prépondérante.

Buchner, en 1889, répète et complète ces expériences, et il observe

que les bactéridies charbonneuses ensemencées en sang défibriné de lapin ou de chien diminuent rapidement de nombre. Cette diminution existe déjà chez des animaux réceptifs; elle est beaucoup plus considérable chez les animaux vaccinés. Il attribue ces propriétés bactéricides à une substance qu'il nomme *alexine*.

C'est cette théorie bactéricide des humeurs que Pfeiffer invoquait pour expliquer la destruction du Vibrion cholérique, injecté dans le péritoine des animaux vaccinés contre ce germe. D'après lui, l'immobilité des Vibrions qui en résultait, de même encore leur transformation en granules, ne pouvaient relever que de cette propriété.

Des travaux auxquels cette théorie a donné naissance, il résulte qu'elle ne saurait être généralisée. Certains faits se trouvent d'ailleurs en contradiction formelle avec elle.

Par exemple : ensemençons de la bactéridie charbonneuse dans le sang d'animaux réfractaires au charbon, comme la poule, le chien : la bactéridie y pousse abondamment; de même si la culture est effectuée dans le sang de mouton vacciné contre cette infection.

D'autre part, le sang de lapin, très réceptif au charbon, est très bactéricide pour la bactéridie. Il en est de même pour le sang du cobaye vis-à-vis du *Vibrio Metchnikowi*, auquel il est très sensible. Kionka a montré en outre que le sérum d'un typhique prélevé avant la mort est très bactéricide pour le bacille d'Eberth.

Enfin, Pfeiffer, Metchnikoff ont montré le défaut de parallélisme existant entre les résultats de l'expérimentation *in vitro* et *in vivo*. Ainsi, le sérum d'un animal vacciné contre *Vibrio Metchnikowi* est très bactéricide *in vitro* contre ce dernier (il le tue en quelques heures); par contre, ce même germe, introduit sous la peau de l'animal qui a fourni ce sérum si actif, y reste vivant et virulent après quatre jours.

Théorie du pouvoir atténuant des humeurs. — Bouchard, Charrin et Roger pensent que les bactéries, sous l'influence des humeurs de l'organisme, sont rendues inoffensives et incapables de produire une maladie grave.

Ils ensemencent du streptocoque, du pneumocoque, du pyocyanique dans le sérum d'animal vacciné contre ces germes. Ces derniers perdent alors leur virulence et deviennent difformes et granuleux.

A deux lapins, l'un neuf, l'autre vacciné, ils injectent du bacille pyocyanique; après cinq à dix minutes, ils prélèvent du sang. Le sang du lapin neuf tue un autre animal; celui du lapin vacciné ne tue pas. Par conséquent, disaient Charrin et Roger, dans le premier cas le germe n'avait pas été atténué, dans le second il l'avait été.

Mais ce qui peut être vrai pour le pyocyanique ne l'est pas pour toutes les bactéries. Puis certaines, comme la bactéridie charbonneuse, loin de s'atténuer en passant par un organisme réfractaire, se renforcent : la bactéridie charbonneuse, injectée au lapin vacciné ou à un animal réfractaire, devient en effet plus virulente.

On sait encore que les spores tétaniques ne sont nullement atténuées par le séjour dans l'organisme d'un animal réfractaire.

Théorie antitoxique. — Cette nouvelle théorie prit naissance du jour où Behring et Kitasato découvrirent le pouvoir antitoxique du sérum d'animaux immunisés contre la toxine tétanique et la toxine diphtérique. Ces auteurs conçurent alors l'immunité de la façon suivante : le sérum de ces animaux devait contenir une substance neutralisant les toxines, capable de s'opposer à leurs effets nocifs, agissant comme un acide vis-à-vis d'une base. Et en effet, un tel sérum injecté à un animal neuf prévient l'infection diphtérique et tétanique, en neutralisant la toxine élaborée par les microbes.

Cette propriété neutralisante n'existerait pas que chez les animaux vaccinés : Wassermann a montré que le sérum d'enfants ou d'adultes n'ayant jamais contracté la diphtérie est antitoxique à un certain degré vis-à-vis de la toxine diphtérique. Il a obtenu l'immunité du cobaye avec 39 échantillons de sérum sur 51.

A cette conception on a fait de graves objections :

Tout d'abord la diphtérie et le tétanos sont des infections spéciales, où la toxine élaborée joue le principal rôle, et très différentes des autres infections connues.

Puis le sang d'animal réfractaire au tétanos ou à la diphtérie n'est pas antitoxique. Ainsi Vaillard a montré que le sérum de la poule, réfractaire au tétanos, ne neutralise pas la toxine tétanique ; il en est de même du sang de rat réfractaire au charbon : Seraphini et Enriquez l'ont injecté à des animaux réceptifs ; ils n'ont jamais pu les protéger contre l'infection charbonneuse. Il en est de même avec le sérum de rat, réfractaire à la diphtérie, vis-à-vis du bacille de Löffler.

Le sérum de ces animaux réfractaires peut acquérir des propriétés antitoxiques sous l'influence d'inoculations vaccinantes, mais le sang d'animaux neufs ne les possède pas.

La théorie ne saurait donc expliquer l'immunité naturelle. Tout au plus pourrait-elle s'appliquer à quelques cas particuliers d'immunité acquise, notamment ceux que Behring a envisagés pour la diphtérie et le tétanos. Et cependant une expérience de Roux devenue classique oblige à repousser cette action neutralisante et destructive des antitoxines sur les toxines correspondantes ; en effet :

des cobayes *neufs* qui reçoivent le mélange sérum et toxine restent bien indemnes; mais, si l'on utilise des cobayes qui ont été antérieurement soumis à l'inoculation de cultures diverses (Colibacille, *M. prodigiosus*, Vibrion cholérique, etc.), ils succombent avec les lésions et les symptômes de l'intoxication diphtérique ou tétanique. Il en est de même des animaux qui, ayant résisté au mélange sérum antitétanique et toxine tétanique, reçoivent ultérieurement des produits d'autres microbes; ils contractent le tétanos alors que les témoins restent indemnes.

Par conséquent, chez les cobayes neufs envisagés plus haut, la toxine inoculée n'avait pas été détruite par le sérum, ni neutralisée comme une base par un acide.

Il en est de même encore dans l'expérience de Calmette sur le sérum antivenimeux et le venin des serpents. Chauffé à 68°, le sérum perd son pouvoir antitoxique, alors que le venin conserve sa toxicité. On mélange *in vitro* sérum et venin, puis on chauffe ce mélange à 68° pendant trente minutes. Les animaux inoculés avec le mélange non chauffé résistent; ceux qui ont reçu le mélange chauffé succombent. Par conséquent, on ne saurait admettre une combinaison chimique entre le sérum et le venin pour former une substance inoffensive, ou bien, si elle existe, elle est bien instable.

Nous verrons ultérieurement que l'on peut interpréter le pouvoir antitoxique d'une autre façon : Roux, Metchnikoff pensent en effet que l'antitoxine pourrait agir en stimulant les éléments cellulaires de l'organisme pour les rendre capables de résister à l'action des toxines.

Théorie cellulaire.

Pour Metchnikoff, dont le nom est étroitement lié à cette théorie, l'immunité est due à des réactions cellulaires; elle n'est qu'un cas particulier de la résorption des éléments figurés en général.

Résorption des éléments figurés. — Metchnikoff avait montré autrefois que, chez les Spongiaires, les substances alimentaires, après avoir pénétré par les ouvertures si nombreuses à la surface des éponges, étaient saisies par les cellules vibratiles ou amiboïdes qui englobaient ces substances et leur faisaient subir une digestion intracellulaire. Ces cellules, il les avaient nommées *phagocytes*.

Ce phénomène peut être observé par l'expérimentateur, qui introduit dans un organisme des cellules quelconques :

En effet, injectons dans le péritoine de cobaye du sang défibriné d'oie; au bout de deux à trois heures, il se produit dans la cavité

péritonéale une inflammation aseptique révélée par l'exode d'une foule de leucocytes (polynucléaires, mais surtout grands mononucléaires). Les mononucléaires, que Metchnikoff dénomme « macrophages » (par opposition aux polynucléaires dits « microphages ») poussent des prolongements qu'ils fixent sur la paroi des hématies. Saisie par ces pseudopodes, l'hématie pénètre dans le macrophage, où elle subit des modifications importantes: l'hémoglobine diffuse, le corps protoplasmique se digère ; le noyau persiste tout d'abord, puis se divise en fragments qui finissent par disparaître au bout de quelques jours. Après avoir séjourné dans le péritoine, les macrophages quittent cette séreuse et vont achever leur digestion dans l'épiploon, les ganglions mésentériques, le foie et la rate.

On peut répéter la même expérience avec des cellules de tissus divers : tissu hépatique, nerveux, etc. Les spermatozoïdes conviennent très bien pour la démonstration ; toutes ces cellules sont d'abord englobées, puis digérées par les macrophages.

Ces phénomènes de digestion intracellulaire sont dus à une action fermentative produite par un ferment, peut-être une diastase, que Buchner a nommée *alexine* ; Ehrlich, *complément*, et Metchnikoff *cytase*. Ces faits traduisent l'effort naturel d'un organisme neuf pour résister à l'invasion des cellules étrangères et les éliminer; mais quand l'introduction des mêmes cellules est répétée, l'organisme envahi ainsi à plusieurs reprises acquiert vis-à-vis d'elles les propriétés nouvelles :

En effet, dans les expériences précédentes sur le cobaye, les macrophages seuls se chargeaient de digérer les hématies d'oie; le liquide péritonéal et le sérum n'avaient aucune action hémolytique. Mais, si l'on injecte une deuxième et une troisième fois le sang d'oie dans le péritoine des mêmes cobayes, le plasma péritonéal devient hémolytique ; de plus, le sérum mélangé *in vitro* avec les hématies d'oie les agglutine et les hémolyse.

C'est en effet une loi générale que Bordet a bien mise en évidence : l'injection de sang d'une espèce de Vertébrés dans le péritoine ou sous la peau d'un animal d'*espèce différente* confère toujours au sérum de celui-ci la propriété d'hémolyser les globules rouges injectés. En outre, la *substance hémolysante* ne dissout que les hématies de l'espèce qui a fourni le sang injecté.

L'explication du phénomène, donnée par Bordet, est la suivante :

Le sérum des animaux traités par du sang d'espèce étrangère renferme *deux substances distinctes qui n'agissent sur les hématies pour les dissoudre que lorsqu'elles sont réunies*. L'une est l'*alexine* (Bordet, Buchner), ou *complément* (Ehrlich), existant dans tout sérum, même

normal, et disparaissant par le chauffage à 56° pendant trente minutes; l'autre ne se trouve que dans les sérums d'animaux « préparés » par des injections répétées; elle résiste au chauffage; on la nomme *sensibilisatrice* (Bordet), *substance intermédiaire* ou *amboceptеur* (Ehrlich), *philocytase* (Metchnikoff); ainsi par exemple :

Dans un tube à essai (fig. 14), on verse le sérum *non chauffé*, contenant par conséquent l'alexine et la sensibilisatrice, puis les hématies. La dissolution hémolytique ne tarde pas à s'effectuer.

Dans un deuxième tube, on verse le même sérum *chauffé*, dépourvu par conséquent d'alexine, mais contenant la sensibilisatrice. Les hématies s'agglutinent, mais restent intactes; l'hémolyse ne se produit pas. Si cependant on ajoute à ce mélange quelques gouttes de sérum neuf, la dissolution des hématies s'effectue (tube n° 3).

Dans ces expériences on admet que la sensibilisatrice se fixe sur les hématies et qu'elle entraîne la fixation de l'alexine sur les mêmes éléments, cette dernière fixation étant indispensable pour amener la dissolution des hématies.

Pour Bordet, l'alexine s'attacherait à l'hématie « sensibilisée » comme une matière colorante s'attache à un élément mordancé.

Immunité dans les maladies infectieuses. — Résorption des bactéries. — L'immunité dans les maladies infectieuses, naturelle ou acquise, s'explique, d'après Metchnikoff, par des phénomènes identiques, la résorption s'opérant cette fois sur les bactéries envahissant l'organisme.

Immunité naturelle. — Il avait déjà mis en évidence cette résorption phagocytaire chez les Daphnies.

Les Daphnies sont sujettes au parasitisme d'une levure (*Mouospora*) dont les spores pénètrent dans leur tube digestif; elles traversent les parois intestinales pour se rendre dans l'intérieur du corps. Immédiatement après, les leucocytes entourent les spores et les englobent; la surface de la spore, lisse et régulière, devient échancrée, et onduleuse; la spore se détruit, et il n'en reste plus dans le leucocyte que des débris informes; elle a donc subi une digestion qui a abouti à sa destruction; la Daphnie qui a été ainsi infectée reste indemne et bien portante. En d'autres circonstances, si les leucocytes n'ont pas englobé la spore dès son invasion, la spore germe et sécrète un poison qui éloigne les phagocytes; les parasites se mettent à pulluler, et l'animal succombe.

Cette expérience, devenue classique, a été le point de départ d'une foule de recherches, où Metchnikoff et ses collaborateurs injectèrent des bactéries diverses à l'animal et comparèrent l'évolution des

phénomènes chez les animaux sensibles et les animaux naturellement réfractaires.

Chez un animal réceptif au charbon, comme le lapin, on fait une injection sous-cutanée de culture charbonneuse ; après quelques heures, l'examen de l'exsudat œdémateux qui s'est formé révèle une pullulation intense de bactéridies et la rareté des leucocytes contenus dans le liquide d'œdème ; les bactéridies sont libres ; elles passent dans la circulation et entraînent la mort.

Chez un animal réfractaire (grenouille, poule, chien, etc.), voici ce qu'on observe : l'examen de l'exsudat qui suit l'inoculation montre qu'après un certain temps, toutes les bactéridies sont englobées dans les cellules phagocytaires. Si, par contre, on diminue artificiellement la résistance de l'animal (maintien de la grenouille à 37° ; immersion des pattes d'une poule dans l'eau froide ; chez le chien ablation de la rate, riche en phagocytes), l'englobement leucocytaire ne se produit plus, la bactéridie pullule et l'animal succombe au charbon.

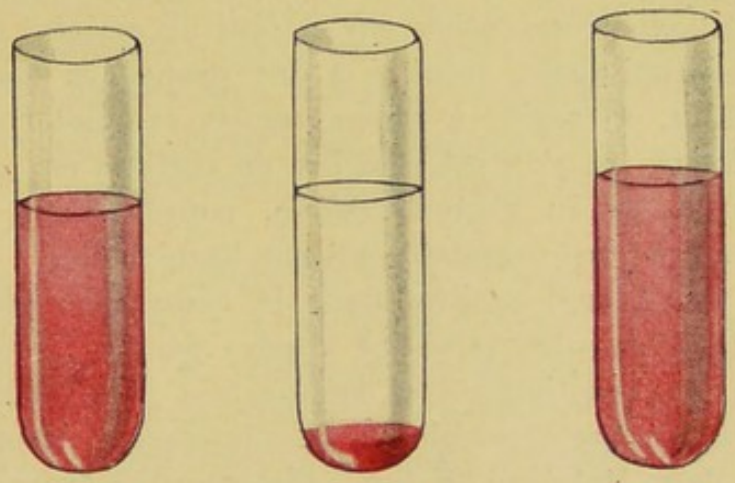


Fig. 14.

Tube n° 1.	Tube n° 2.	Tube n° 3.
1° Sérum hémolytique antimouton *non chauffé*.	1° Sérum hémolytique antimouton *chauffé* à 55°.	1° Sérum hémolytique antimouton *chauffé* à 55°.
2° Hématies de mouton.	2° Hématies de mouton.	2° Hématies de mouton.
		3° Alexine.
Hémolyse.	Pas d'hémolyse.	Hémolyse.

Les mêmes résultats s'observent quand on injecte au cobaye, par voie péritonéale, le spirille de la septicémie des oies (Metchnikoff), ou le spirille de la fièvre récurrente (Sawtchenko), auxquels cet animal est réfractaire. Au bout de quelques heures, les spirilles sont englobés par les leucocytes faisant issue dans le péritoine.

Avec le bacille typhique, le Vibrion cholérique et une foule d'autres germes, les mêmes phénomènes ont été notés.

Il s'opère donc ici, comme pour les hématies dans les expériences ci-dessus exposées, une résorption due à l'activité des phagocytes appelés par la présence de l'envahisseur.

Quels sont les éléments cellulaires capables de cet englobement microbien?

On a vu plus haut que les hématies et les cellules de l'organisme en général étaient englobées par les grands mononucléaires, dits macrophages. Metchnikoff a montré que c'étaient les polynucléaires ou *microphages*, de préférence aux précédents, qui se chargeaient d'englober et de digérer les bactéries. D'ailleurs, quand, au cours de l'expérimentation, on obtient un exsudat riche en polynucléaires (microphages), celui-ci a des propriétés bactéricides; si, au contraire, on arrive à provoquer un exsudat riche surtout en macrophages (ce qu'il est possible de réaliser en injectant dans la plèvre du chien du gluten-caséine, comme l'ont fait Gengou et Tarassevitch), cet exsudat n'est pas bactéricide.

Ici encore, comme dans la résorption des éléments figurés, la digestion intracellulaire s'opère par un ferment, la *cytase*, et dans le cas particulier la *microcytase* (Metchnikoff) issue des microphages, par opposition à la *macrocytase*, issue des macrophages.

Pour Metchnikoff donc, l'immunité naturelle se résume dans une action phagocytaire qui s'exerce sans avoir besoin du concours, même préalable, des humeurs, sur les microbes vivants et virulents. Le pouvoir bactéricide du sérum, invoqué par nombre d'auteurs, n'intervient qu'à la suite du dégagement de la microcytase échappée des leucocytes, lors de la coagulation du sang.

Immunité acquise. — Injectons sous la peau d'un lapin réceptif et d'un lapin vacciné contre un germe donné ce même germe :

Chez le lapin réceptif, l'exsudat qui se développe montre une pullulation marquée des bactéries restées libres et l'absence de leucocytes.

Chez le lapin vacciné au contraire, après l'inoculation, l'exsudat devient riche en leucocytes, et la phagocytose, suivie de la digestion intracellulaire du germe, s'exerce avec intensité.

Ces phénomènes sont donc calqués sur ceux que révèle l'expérience sur un animal réfractaire. Mais, dans le sérum et les humeurs de l'animal vacciné se développent des propriétés nouvelles, analogues à celles qui ont été décrites chez les cobayes qui ont reçu à plusieurs reprises les hématies d'oie. Le sérum, en effet, devient agglutinant, bactériolytique; de plus il devient préventif.

L'AGGLUTINATION ne présente aucune importance dans la production de l'immunité acquise. C'est une réaction d'infection et non d'immunité.

La BACTÉRIOLYSE, analogue à la cytolyse, qui amène la dissolution des hématies dans les expériences précitées, s'effectue grâce à l'action

combinée d'une *sensibilisatrice spécifique* ou *fixateur spécifique* qui prend naissance dans ce sérum, et de l'*alexine* ou *cytase* qui y préexiste. Bordet et Gengou ont mis ce phénomène en évidence de la même manière qu'avec les éléments cellulaires, les globules rouges notamment.

Pour Metchnikoff et ses collaborateurs, tous ces phénomènes de bactériolyse reconnaissent une origine leucocytaire. Cette opinion a été vivement combattue par Pfeiffer, qui a pensé pouvoir démontrer que la destruction extracellulaire des Vibrions cholériques dans le péritoine de cobayes vaccinés contre ces germes s'effectuait en dehors de toute action phagocytaire. Voici l'expérience dite *phénomène de Pfeiffer* :

Dans le péritoine d'un cobaye neuf et d'un cobaye vacciné contre le Vibrion cholérique, on introduit une même dose d'une émulsion de ce germe. Dix minutes après, on prélève par ponction capillaire un peu d'exsudat péritonéal de chacun de ces animaux. Chez le témoin, les Vibrions sont perceptibles en grand nombre ; ils ont conservé leur forme et leur mobilité : les animaux succombent ultérieurement. Chez le cobaye vacciné, ils ont subi des modifications profondes : leur mobilité a disparu ; de plus, la plupart sont agglutinés et ont perdu leur forme vibrionienne pour prendre l'aspect de granules fixant plus ou moins la couleur; les animaux survivent.

Pfeiffer attribue ces altérations graves des Vibrions à l'action nocive pure et simple de l'exsudat péritonéal. Metchnikoff répond à cette conception par les observations suivantes :

Quand on mélange *in vitro* une goutte de sérum frais de cobaye vacciné avec une émulsion de Vibrions cholériques, la transformation en granules s'obtient ; mais une fois chauffé, il perd cette propriété. C'est sans doute parce que ce chauffage a fait disparaître la microcytase ; en effet, si on ajoute au mélange une goutte de lymphe péritonéale normale, contenant des leucocytes, incapable par elle-même de reproduire le phénomène, la transformation granuleuse s'opère ; on obtient les mêmes résultats en ajoutant du sérum neuf (Bordet). Par conséquent, le phénomène de Pfeiffer est dû à l'action simultanée d'une *substance fixatrice* développée dans les humeurs de l'animal vacciné, et de l'*alexine* ou *cytase*. Metchnikoff a démontré que cette cytase est mise en liberté dans le péritoine par les leucocytes subissant une destruction intense (phagolyse) dès l'inoculation de l'émulsion microbienne (les leucocytes sont en effet très rares dans l'exsudat péritonéal). Ce qui le démontre, c'est qu'en supprimant cette phagolyse par injection préalable de

bouillon renforçant la résistance des leucocytes, la transformation en granules ne se produit pas.

Par conséquent, dans ce phénomène de Pfeiffer, qui montre la destruction extracellulaire du Vibrion, celle-ci relève bien du pouvoir bactéricide de la lymphe péritonéale, mais elle est encore en relation directe avec un acte cellulaire.

En dehors du pouvoir bactéricide attribué à sa véritable origine, le sérum des animaux vaccinés présente encore des PROPRIÉTÉS PRÉVENTIVES :

Richet et Héricourt ont montré les premiers que le sang défibriné de chien vacciné contre le Staphylocoque, injecté à des lapins, préservait ces derniers contre l'action pathogène de ce germe. Pfeiffer reprit les mêmes expériences avec le Vibrion cholérique : le sérum de cobayes vaccinés contre le Vibrion de Koch était préventif pour des cobayes neufs.

L'immunité ainsi conférée rentre dans le cadre l'*immunité passive*.

L'action préventive ne s'exerce pas, comme on a pensé, sur les microbes eux-mêmes, mais, d'après Metchnikoff, sur l'organisme en général. Ce savant a montré qu'elle s'accompagne d'une leucocytose et d'une phagocytose énergique : il l'attribue à une *action stimulante* ou à des substances qu'il a dénommées *stimulines*, contenues dans le sérum des animaux vaccinés, et différentes des agglutinines et des fixateurs.

Ainsi donc, dans l'immunité acquise, comme dans l'immunité naturelle, les phénomènes observés sont superposables à ceux que l'on constate dans la résorption des éléments figurés ; ils sont étroitement liés à la phagocytose.

De nombreuses objections ont été opposées à cette conception : parmi elles, signalons celle de Flügge, qui admettait bien le rôle des phagocytes, mais, selon lui, ils n'englobaient que des microbes morts, *déjà détruits par les humeurs*. Metchnikoff s'attacha à lutter contre cette opinion et démontra que les bactéridies englobées étaient bien vivantes et même virulentes.

Il inocule dans la chambre antérieure de l'œil d'un lapin vacciné de la bactéridie charbonneuse ; il prélève de l'humeur aqueuse et constate que les bactéridies sont phagocytées. Une culture en goutte pendante lui montra qu'elles se développaient ; inoculées à un animal réceptif, elles conféraient le charbon.

Dans le phénomène de Pfeiffer, les granules ensemencés donnent à la culture du Vibrion cholérique. Dans ses expériences montrant

la phagocytose des spirilles de la fièvre récurrente, Metchnikoff a constaté leur mobilité.

Puis les spores du tétanos et du charbon englobées dans les phagocytes restent vivantes pendant des mois entiers, mais sont arrêtées dans leur développement. Il en est ainsi tant que les phagocytes conservent leur intégrité. S'ils souffrent, les spores germent et provoquent l'infection.

Enfin certains germes englobés vivants restent non seulement vivants, mais peuvent y croître et s'y multiplier. C'est le cas de la tuberculose, de la lèpre, etc.

Immunité contre les toxines. — L'immunité contre les toxines peut être naturelle ou acquise.

Immunité naturelle. — On connaît de multiples exemples de résistance naturelle de certains animaux à l'action nocive de produits chimiques comme aussi à l'action du venin des serpents. En matière d'immunité contre les toxines, l'exemple de la résistance de la poule à la toxine tétanique est classique; elle peut recevoir impunément des quantités énormes de ce poison sous la peau, dans les veines, dans le péritoine.

On a attribué cette résistance à un pouvoir antitétanique naturel de ses humeurs. Or, Vaillard a montré que, mélangés à la toxine tétanique, le sang et le sérum de cet animal ne possédaient aucune propriété neutralisante. Les animaux qui le reçoivent contractent le tétanos comme les témoins.

Cet état réfractaire de la poule peut d'ailleurs être perdu si l'inoculation de toxine est pratiquée dans le cerveau ; en ce cas, elle présente un tétanos typique.

A cet exemple, ajoutons celui du rat, insensible à l'action de la toxine diphtérique et dont le sérum est dépourvu d'antitoxine; une injection intracérébrale minime le fait succomber rapidement. Dans ces faits, si la toxine inoculée sous la peau, dans les veines ou le péritoine, ne peut arriver jusqu'aux centres nerveux, elle doit en être empêchée par une barrière, constituée peut-être par les leucocytes. Ce qui semble le démontrer, c'est le fait suivant :

Chez la poule qui a reçu la toxine tétanique, on peut retrouver cette dernière, notamment dans le sang. En provoquant un exsudat aseptique (avec de la gluten-caséine notamment) dans une cavité séreuse, on remarque que l'exsudat, très riche en leucocytes, est beaucoup plus tétanigène que le sérum. D'ailleurs, l'injection de toxine provoque une hyperleucocytose manifeste (Metchnikoff).

Par cet exemple comme par d'autres encore, Metchnikoff est

enclin à penser que l'immunité naturelle contre les toxines relève encore d'une action leucocytaire.

Immunité acquise. — Des animaux qui ont reçu à plusieurs reprises des doses croissantes de toxine tétanique, diphtérique, etc., sont vaccinés au bout d'un certain temps contre ces toxines. Leur sérum acquiert en général un pouvoir antitoxique considérable ; on a donc attribué à l'antitoxine l'immunité ainsi conférée. Mais cette conception ne peut être généralisée, car le sérum d'animaux vaccinés n'est pas toujours antitoxique.

L'étude de l'immunité acquise contre divers poisons a montré à Metchnikoff et à ses élèves le rôle défensif qu'opéraient les leucocytes en absorbant et transformant ces poisons. En effet :

Calmette injecte dans les veines de lapins 0gr,2 de sulfate d'atropine ; il les saigne et recueille séparément, par centrifugation, le plasma et les globules blancs. Il injecte alors le plasma d'une part, les leucocytes de l'autre, dans le cerveau de lapins neufs : le plasma donne une réaction insignifiante ; les leucocytes, au contraire provoquent des phénomènes graves pouvant entraîner la mort. Donc l'atropine est arrêtée et absorbée par les leucocytes. Lombard démontre le même fait en injectant le plasma et les leucocytes dans la circulation chez le chat.

Chez les lapins accoutumés à l'arsenic, Besredka injecte du trisulfure d'arsenic dans le péritoine. Au bout d'un certain temps, il se produit une hyperleucocytose abondante, où les macrophages sont bourrés de grains de ce sel insoluble qui finissent par être digérés totalement. En diminuant la réaction phagocytaire par l'injection de grains de carmin, que les leucocytes sont occupés à englober, l'animal présente des troubles graves auxquels il succombe. Avec des sels arsenicaux solubles, il obtient des résultats analogues. D'autre part, l'injection de ces sels dans le cerveau provoque la mort avec une dose cent fois moindre.

Il était permis d'envisager de la même façon le mécanisme cellulaire de l'immunité acquise contre les toxines.

C'est ce que pense Metchnikoff, qui attribue aux phagocytes un rôle de défense accusée non seulement contre les microbes, mais aussi contre les toxines. Pour lui, ce rôle serait dévolu surtout aux macrophages plus qu'aux microphages.

Pour Metchnikoff et son école, *tous les phénomènes d'immunité naturelle ou acquise contre les microbes et les toxines se résument donc dans la phagocytose* ; les phagocytes les englobent et les détruisent. A ce rôle de défense prennent part de nombreuses cellules, les

leucocytes en premier lieu, mais aussi certaines *cellules fixes* de l'économie.

Cette théorie cellulaire de l'immunité a rencontré une forte opposition de la part des savants allemands qui ne voulaient admettre que l'action exclusive des humeurs bactéricides dans la défense de l'organisme contre les bactéries. Mais, depuis quelques années, un nouveau courant d'idées s'est fait jour en Allemagne en faveur de la conception phagocytaire ; il s'est développé à la suite des travaux de Wright, qui a fait intervenir l'action des *opsonines* dans la production de l'immunité. Pour Wright, les opsonines sont des substances solubles contenues dans les sérums normaux et les sérums spécifiques, et ayant pour rôle de préparer les microbes à la digestion leucocytaire, d'exagérer la phagocytose et de la rendre plus efficace. D'après les études récentes, les opsonines des sérums normaux ne seraient autres que l'alexine, issue des leucocytes. L'opsonine des sérums spécifiques, appelée encore *bactériotropine* par Neufeld, ne se distinguerait pas des sensibilisatrices (Levaditi et Inmann).

Wright, par sa théorie, eut donc le mérite de remettre à l'ordre du jour l'étude des propriétés phagocytaires des leucocytes et d'avoir fait accepter par les Allemands l'activité du globule blanc, qu'ils affectaient d'ignorer jusqu'alors.

Bref, *la théorie des opsonines a été le trait d'union entre la théorie phagocytaire et la théorie du pouvoir bactéricide des humeurs.*

THÉORIES PHYSICO-CHIMIQUES.

Théorie des « chaînes latérales » d'Ehrlich.

A la théorie cellulaire, que d'aucuns considéraient comme trop exclusive, Ehrlich, se basant surtout sur la présence, dans les humeurs d'animaux vaccinés, de principes d'ordre vraisemblablement chimique, substitua une théorie moins vitaliste et de nature physico-chimique.

Cette théorie s'appuie en même temps sur la loi, établie par Wright, de l' « hyper-régénération » et sur l'analogie existant entre l'assimilation des matières nutritives et certains phénomènes observés au cours de l'immunisation.

Pour Ehrlich, la molécule protoplasmique offre certaines analogies avec les groupements de la chimie des corps aromatiques. Comme ces derniers, cette molécule possède un *groupement central*, néces-

saire à la vie et caractéristique du fonctionnement spécifique de la cellule, et des *chaînes latérales*, véritables *récepteurs* vis-à-vis des divers principes en état de dissolution dans les humeurs. En vertu de leurs affinités chimiques et spécifiques, elles attirent certains de ces principes, surtout les principes nutritifs; elles les fixent et permettent à la cellule de se les assimiler. Une substance alimentaire serait ainsi fixée par les chaînes latérales et, après avoir subi les modifications indispensables à son assimilation, serait rejetée par la cellule sans que cette dernière soit altérée.

Il se passe pour les toxines un phénomène analogue. Pour Ehrlich, la molécule de toxine serait constituée par deux groupes : un premier, toxique, *groupe toxophore*; un second, non toxique, *groupe haptophore*, dont une partie serait soudée au groupe toxophore; l'autre serait libre, mais pourrait se fixer sur les récepteurs ou chaînes latérales de la molécule vivante, pour permettre l'action de la toxine (fig. 15). Si la cellule est saturée par les groupes toxophores, elle est mise hors d'activité; quand cette saturation s'opère ur un grand nombre d'éléments cellulaires de l'organisme, la mort s'ensuit. Par contre, si la saturation est incomplète, la cellule, pour régénérer les récepteurs devenus inactifs, en forme d'autres, mais elle les régénère en excès, comme certains animaux inférieurs régénèrent en excès les organes locomoteurs qu'ils ont perdus (loi de Weigert).

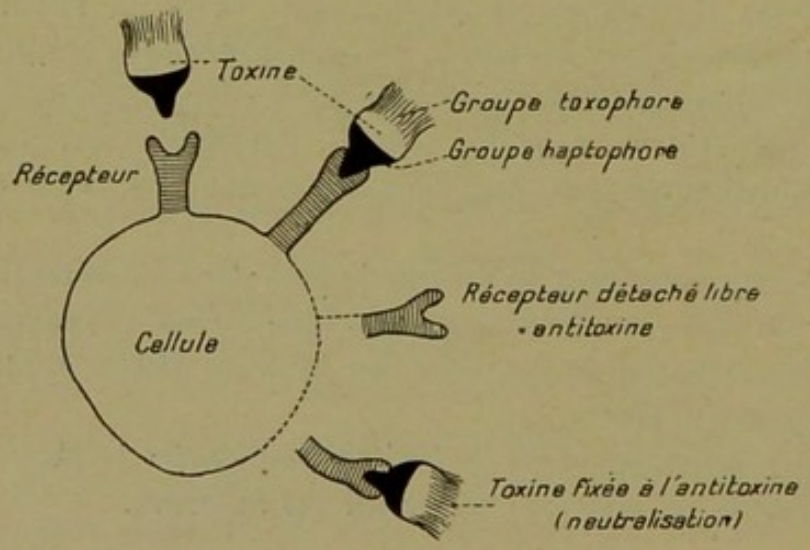


Fig. 15. — Récepteurs de premier ordre.

L'excès étant inutile au fonctionnement de la cellule, cette dernière rejette les récepteurs en excès et les déverse dans le sang et les humeurs de l'organisme. Ces *récepteurs libres* constitueraient les *antitoxines*.

Survienne maintenant une nouvelle dose de toxine, elle rencontrera les récepteurs libres (antitoxines), auxquels les groupes haptophores se fixeront immédiatement. Il en résulte que le groupe

toxophore, lié au groupe haptophore, ne pourra plus rejoindre les cellules sensibles, et l'immunité sera acquise.

Pour expliquer l'immunité naturelle, Ehrlich suppose que la molécule vivante des animaux spontanément réfractaires est dépourvue de récepteurs pour la toxine.

Les bactéries introduites dans l'organisme seraient constituées d'une façon identique par un groupe toxophore et un groupe haptophore; elles provoquent la formation d'anticorps tels que les *agglutinines*, les *précipitines*, les *bactériolysines*, etc. Comme les antitoxines, et par le même mécanisme, ces anticorps ne seraient que des chaînes latérales ou récepteurs régénérés en excès par la cellule vivante, à la faveur des infections répétées et rendus libres dans les humeurs. Qu'une nouvelle et même infection se produise, les bactéries rencontreront ces récepteurs libres, dont la sensibilisatrice spécifique, se fixeront sur cette dernière, et, grâce à l'alexine contenue dans tout sérum et à son action « complémentaire », la bactériolyse se produira, entraînant la destruction des bactéries en question.

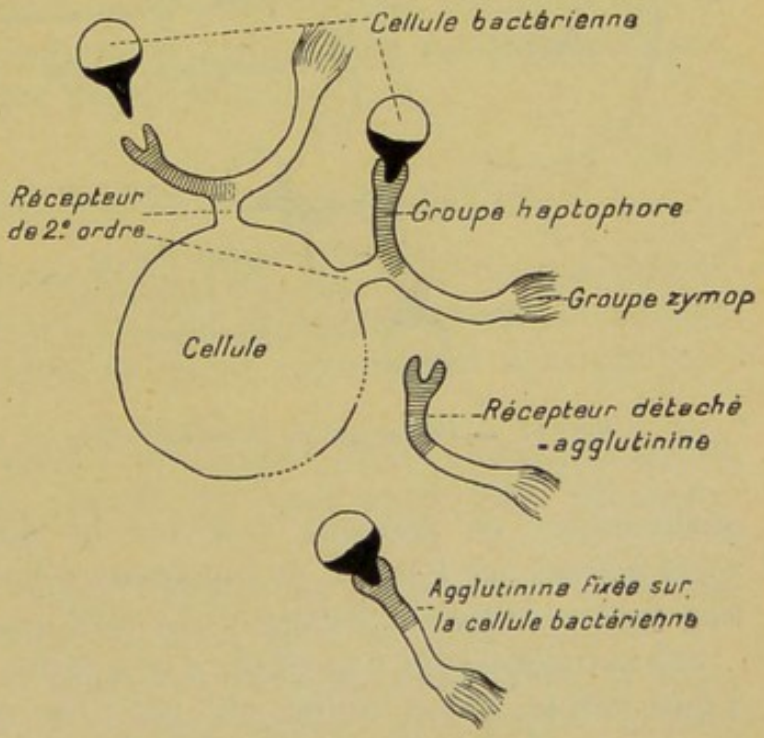


Fig. 16. — Récepteurs de deuxième ordre.

Ehrlich suppose l'existence de plusieurs catégories de récepteurs :

1° *Récepteurs de premier ordre*, servant à la fixation immédiate des toxines ;

2° *Récepteurs de deuxième ordre*, possédant, à côté du groupe haptophore, un groupe zymophore (fig. 16). Les agglutinines appartiennent à cette catégorie de récepteurs. Le groupe haptophore du fixateur fixe le groupe correspondant de la bactérie.

3° *Récepteurs de troisième ordre, ou ambocepteurs, ou sensibilisatrices.* Même constitution que les récepteurs de deuxième ordre, mais au groupe zymophore se substitue un deuxième groupe haptophore :

le premier est le *groupe cytophile* (fig. 17), qui fixe les anticorps sur la cellule; les anticorps exercent leur action avec l'aide de la cytase, alexine, ou complément, qui se fixe sur le deuxième groupe, dit *groupe complémentophile*.

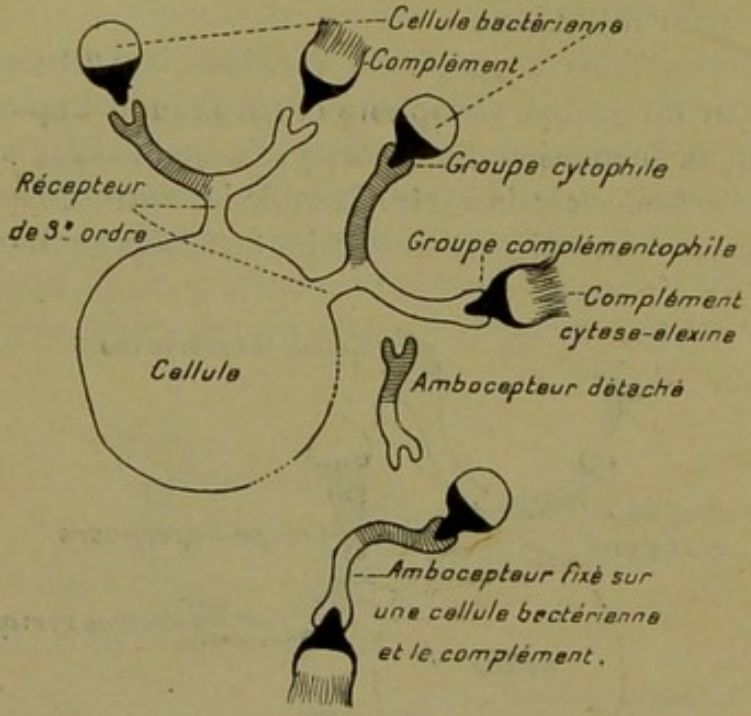


Fig. 17. — Récepteurs de troisième ordre.

Théorie de M. Nicolle.

Pour M. Nicolle, les phénomènes d'immunité s'expliquent de la façon suivante :

L'immunité représente une propriété de l'organisme en vertu de laquelle tout corps qui y est introduit (microbe, toxine, albumine, cellule quelconque), et pouvant recevoir la dénomination d'*antigène*, y est détruit par l'action de nouveaux corps engendrés par la réaction que cet antigène provoque : ce sont les *anticorps*.

Ces anticorps sont constitués d'une façon générale, qu'il s'agisse d'une cellule, d'une toxine, etc. par : les *coagulines*, auxquelles est dévolu le rôle de coaguler l'antigène, et les *lysines*, qui se chargent de les détruire et de les dissoudre.

M. Nicolle comprend, sous le vocable de coagulines, les *agglutinines* et les *précipitines* qui agissent sans avoir besoin de recourir à l'action du complément. Les lysines sont représentées par les *cytolysines*, les *bactériolysines*.

Grâce à ces anticorps, les antigènes subissent dans l'organisme immunisé des transformations, qui se ramènent aux modifications qu'apportent les ferments digestifs pour amener la digestion complète. Ils sont tout d'abord coagulés, puis lysés. Et cette transformation s'opère, soit en dehors des cellules, soit dans les cellules qui jouissent du pouvoir de les fixer et de les englober.

CHAPITRE IV

PROPRIÉTÉS DU SÉRUM DES SUJETS IMMUNISÉS

Quand on étudie au point de vue biologique le sérum de sujets immunisés, soit par infection spontanée, soit par infection expérimentale, on met en évidence diverses propriétés dont plusieurs ont été appliquées à la pratique bactériologique.

POUVOIR AGGLUTINANT. — AGGLUTINATION.

Le sérum d'un être vivant ayant reçu un antigène quelconque (cellule ou bactérie) présente, au bout de quelque temps, le pouvoir d'agglutiner *in vitro* ce même antigène. Prenons un exemple concret :

Dans un tube à essai, versons une dilution légère de sang défibriné de mouton, et du sérum chauffé de lapin ayant reçu plusieurs injections de ce même sang.

Dans un tube témoin, versons les mêmes hématies et du sérum normal ; au bout de quelques minutes, voici ce qu'on observe :

Dans le tube témoin, le mélange reste homogène ; dans le tube qui contient l'antisérum, le mélange devient grumeleux, et l'on voit les hématies se déposer au fond du tube, le liquide surnageant restant clair. Au microscope, les grumeaux sont constitués par des amas d'hématies, *agglutinées* intimement les unes aux autres.

Il en est de même pour les sérums d'animaux traités par des bactéries. Mélangeons comme précédemment du sérum d'animal inoculé à plusieurs reprises avec du bacille typhique et une émulsion de ce même germe : dans le tube témoin, le trouble reste homogène ; dans l'autre, les bactéries s'agglutinent en amas, qui tombent au fond du tube. Quand on suit le phénomène au microscope, on remarque tout d'abord que les bacilles typhiques perdent leur mobilité, puis ils s'agglutinent les uns aux autres, pour former des amas d'autant plus considérables que le pouvoir agglutinant du sérum est plus élevé.

Ce phénomène a été observé pour la première fois par Bordet, en

étudiant *in vitro* l'action du sérum anticholérique sur le Vibrion de Koch, additionné d'exsudat péritonéal de cobaye. En réalisant ainsi un phénomène de Pfeiffer (Voy. p. 553), il vit d'abord que les Vibrions s'agglutinaient avant de se transformer en granules.

Plus tard, Gruber et Durham étudient à ce point de vue divers antisérums, et montrent, par le pouvoir agglutinant que chacun possède sur les germes correspondants, la possibilité de différencier les Vibrions cholériques vrais des Vibrions voisins, et le Bacille typhique et les Bacilles éberthiformes.

C'est assurément Widal et Sicard qui ont le mieux fait connaître le phénomène de l'agglutination. Ils ont observé sa production en mettant en présence le sérum de malades atteints de fièvre typhoïde et des cultures de Bacille typhique. On sait le parti qu'ils ont tiré de cette réaction pour établir le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde.

Depuis lors, on a étendu ces recherches à tous les microbes pathogènes connus et, pour la plupart d'entre eux, la réaction agglutinante est couramment effectuée soit pour diagnostiquer un état infectieux déterminé, soit pour identifier un germe dont la nature paraît suspecte.

En dehors des exemples précédents, citons l'agglutination des Bacilles paratyphiques, du Bacille dysentérique, du Méningocoque, des spores de *Sporotrichum Beurmanni*, du bacille pesteux, du *M. melitensis*, etc.

Ce pouvoir agglutinant serait dû à la production, dans le sérum des sujets infectés ou vaccinés, d'une substance spéciale dénommée *agglutinine*. On a reconnu toutefois, dans les sérums immuns, l'existence de plusieurs sortes d'agglutinines, les unes *spécifiques*, d'autres *non spécifiques* ou *coagglutinines*; enfin des *sérums normaux* peuvent, dans certaines conditions, être agglutinants.

Agglutinines spécifiques. — Les agglutinines *spécifiques* sont celles qui, prenant naissance dans le sérum des organismes infectés, exercent leur action uniquement sur la bactérie infectante, respectant ainsi les bactéries étrangères. Leur production est liée non pas à l'immunité, comme on l'a supposé, mais à l'infection. Widal et Sicard l'ont bien démontré en faisant ressortir qu'un typhoïdique, dont le sérum est très agglutinant, peut néanmoins présenter une rechute ou une récidive. La réaction agglutinante *n'est pas une réaction d'immunité, mais une réaction d'infection.*

Mode d'obtention. — On obtient facilement la production d'agglutines spécifiques en injectant à un animal des doses croissantes d'une *culture microbienne vivante* ; elles peuvent apparaître à la

suite des injections, sous-cutanées, intrapéritonéales, intraveineuses. La voie intraveineuse est préférable à toute autre. Le pouvoir agglutinant du sérum n'apparaît en général qu'une dizaine de jours après la première injection ; il augmente au fur et à mesure des inoculations pratiquées ; mais, comme pour les autres anticorps, si tôt après les injections, il baisse rapidement pour se montrer à nouveau dans les jours qui suivent.

Les agglutinines peuvent encore s'obtenir avec les microbes morts (tués par la chaleur, le chloroforme, l'éther, le formol, les rayons ultra-violets) en milieu liquide ou desséché.

Elles apparaissent aussi après les injections de certaines toxines, surtout de toxines obtenues par autolyse ou macération de corps microbiens. Toutefois le pouvoir agglutinant est plus régulièrement obtenu après injection de microbes. Ainsi le sérum antidiphtérique préparé avec des cultures est infiniment plus agglutinant que s'il est préparé avec la toxine (L. Martin).

Caractères généraux. — Les agglutinines se rapprochent assez étroitement des diastases et des colloïdes. En général, à part quelques exceptions (sérum antidysentérique, sérum antiméningococcique), elles sont *thermostabiles* ; elles ne sont détruites qu'à 70°, elles résistent au chauffage à 55°.

Elles manifestent leur action de préférence à la température de 37° qu'à la température du laboratoire ; pour certains germes, cette action est accrue par une température de 55° ; il en est ainsi pour le bacille typhique, le méningocoque (Kutscher).

Les agglutinines résistent à la dessiccation, à la putréfaction.

Solubles dans l'eau et précipitables par l'alcool, elles ne traversent presque pas les filtres et les membranes dialysantes.

Dans l'organisme vivant, elles se montrent non seulement dans le sang, mais dans certaines humeurs, notamment le lait, l'humeur aqueuse, la partie liquide du pus, parfois l'urine, les sérosités pleurale et péricardique, les larmes. Par contre, elles ne passent pas dans la salive, le liquide céphalo-rachidien normal.

Les agglutinines spécifiques traversent le filtre placentaire et passent de la mère au fœtus.

Dans l'organisme infecté, le pouvoir agglutinant du sérum commence à se montrer en général vers la fin du premier septénaire ou au début du second. Il persiste pendant toute la durée de la maladie et peut lui survivre durant un temps variant de quelques mois à plusieurs années, suivant les cas et suivant les infections. Elles permettent parfois ainsi un diagnostic rétrospectif.

Origine. — On est encore mal renseigné sur l'origine des agglu-

tinines spécifiques. Pour Bordet, elles reconnaîtraient une origine leucocytaire, et cependant des leucocytes séparés du plasma par centrifugation en paraissent presque complètement dépourvus.

Kraus et Schiffmann pensent qu'elles proviennent de l'endothélium vasculaire, Pfeiffer et Dieudonné de la rate.

Mécanisme de l'agglutination. — Le mécanisme de l'agglutination a été et est toujours très discuté :

Grüber pensait que, sous l'influence du sérum agglutinant, la couche superficielle des bactéries se gonflait, devenait visqueuse, ce qui permettait l'adhérence avec les microbes voisins. En réalité, nul n'a pu constater au microscope l'existence de cette tuméfaction.

Rappelons pour mémoire l'hypothèse inadmissible de Danner, d'après qui l'agglutination serait due à l'enchevêtrement des cils. Or de nombreux microbes sont agglutinables et sont cependant dépourvus de cils vibratils.

Pour Kraus, la substance agglutinable n'est pas contenue dans le corps microbien. En ajoutant, en effet, un antisérum à une culture filtrée de microbes correspondants, on observe un précipité floconneux, comme si l'on avait fait agir le sérum sur une culture non filtrée. Par conséquent, la substance agglutinable existerait dans le liquide de la culture. Cette expérience est tout à fait analogue à celle que l'on pratique pour obtenir les précipitines (p. 67) ; or, on discute encore actuellement pour savoir si les précipitines doivent ou non être confondues avec les agglutinines.

Agglutinines non spécifiques. — A côté des agglutinines spécifiques, n'exerçant leur action que sur les cellules ou bactéries ayant infecté l'organisme, il y a place pour des agglutinines dépourvues de spécificité.

Agglutinines des sérums normaux. — Certains sérums normaux, en effet, sont naturellement agglutinants pour certaines bactéries. Le fait se présente surtout pour le sérum de cheval, qui peut agglutiner, en de faibles proportions il est vrai, le Colibacille, le Bacille tétanique, le *Vibrio Metchnikowi*, parfois le Bacille typhique, le Bacille dysentérique du type Flexner.

Le sérum humain est parfois agglutinant à 1/10, 1/20 pour le bacille d'Eberth ; il l'est souvent pour le Colibacille, ou plutôt certains échantillons de Colibacille, même à 1/300, pour le Bacille de Flexner à 1/50 et même 1/60, pour le *M. melitensis*.

Enfin plusieurs auteurs ont pu constater des agglutinations, en additionnant les cultures de diverses substances chimiques : sublimé à 0,07 p. 1 000, formol, alcool, solutions de vésuvine, safranine à

1 p. 1 000, acide lactique, acide acétique, eau oxygénée, sulfate d'ammoniaque. Malvoz a ainsi provoqué des agglutinations nettes pour le bacille typhique ; de même Blachstens pour le Vibrion cholérique avec la chrysoïdine. Il est bien évident que les agglutinations ainsi obtenues ne peuvent revêtir aucun caractère de spécificité.

Agglutinines de groupe ou coagglutinines. — Le sérum d'un animal vacciné contre un microbe donné contient parfois, outre l'agglutinine spécifique correspondant à ces derniers, des agglutinines exerçant leur action sur des germes voisins du premier. C'est pour cette raison qu'on leur a donné le nom d'*agglutinines de groupe*, ou *coagglutinines*, ou encore *hétéro-agglutinines*.

Citons quelques exemples : le sérum anticholérique agglutine spécifiquement le Vibrion cholérique, mais il peut agglutiner aussi les Vibrions voisins du Vibrion de Koch. Il en est de même du sérum antityphique et des germes voisins du Bacille typhique : colibacilles, éberthiformes, voire même des paratyphiques.

Le sérum antiméningococcique contient des agglutinines spécifiques pour le méningocoque, mais aussi parfois des coagglutinines pour les germes similaires et même le gonocoque.

En général, c'est le sérum de cheval qui est le plus riche en coagglutinines : le sérum de lapin en est à peu près dépourvu.

Ces agglutinines de groupe se retrouvent encore parfois, mais plus rarement, dans les *sérums humains* ; le sérum des typhiques agglutine parfois, outre le Bacille d'Eberth, les Bacilles paratyphiques, le Colibacille, etc. Nègre et Raynaud ont fait récemment connaître des coagglutinations du *M. melitensis* avec le sérum de sujets atteints d'une affection étrangère à la fièvre de Malte.

Un bel exemple de faits identiques a été fourni par Widal, Abrami, Joltrain et Brissaud en étudiant le sérum de sporotrichosique et son action sur divers champignons pathogènes de l'homme. Ce sérum agglutine les spores de *Sporotrichum*, mais il possède aussi des coagglutinines pour divers *Oospora*, l'*Endomyces albicans*, des *Oidium*, des *Tricophyton*. De même le sérum des actinomycosiques coagglutine les spores du *Sporotrichum*.

Caractères. — On connaît assez mal les caractères de ces coagglutinines. On sait cependant qu'elles sont en général beaucoup moins abondantes dans un immunsérum que les agglutinines spécifiques. Pour prendre l'exemple du sérum anticholérique : si ce dernier agglutine le Vibrion cholérique à 1 p. 4 000 par exemple, la coagglutination de Vibrions similaires ne s'effectuera qu'à des taux beaucoup plus minimes : 1 p. 100, 1 p. 300.

Nègre et Raynaud ont montré que le chauffage à 55° pendant cinquante minutes faisait perdre à certains sérums leur pouvoir coagglutinant vis-à-vis du *M. melitensis*, ce sérum conservant toujours son pouvoir agglutinant spécifique. Cette propriété ne peut s'étendre à toutes les coagglutinines, car le chauffage reste sans influence sur celles que contiennent parfois les sérums antityphique, anticholérique, etc.

Applications pratiques. — ***Technique de l'agglutination.*** — Divers procédés sont employés, suivant les microbes, pour la recherche de l'agglutination et la constatation des amas qui la caractérisent.

Procédé extemporané, microscopique. — C'est celui que Widal a fait connaître pour la recherche de l'agglutination du Bacille typhique par le sérum des typhoïdiques :

Dans un verre de montre, on verse, par exemple, XL gouttes de culture de bouillon âgée de vingt-quatre heures, ou d'une émulsion d'une culture de même âge en gélose raclée dans l'eau physiologique. On y ajoute I goutte du sérum à l'étude. On mélange bien pour obtenir une dilution homogène.

On prélève ensuite une goutte de ce mélange ; on la dépose entre lame et lamelle, et on observe avec un objectif à sec. Alors que dans la culture témoin, sans addition de sérum, les bacilles restent isolés et mobiles, dans le mélange culture-sérum, au contraire, les bacilles perdent d'abord leur mobilité, puis s'agglutinent entre eux ; on perçoit en effet des amas microbiens plus ou moins volumineux.

Il faut avoir soin de vérifier au microscope si la culture employée est bien homogène et ne présente pas de faux amas. S'il en existe, il suffit de filtrer grossièrement la culture sur un filtre de papier qui retient ces amas.

Pour que l'agglutination puisse être déclarée positive, il faut que le microscope fasse découvrir des amas bien formés, avec peu ou pas de bacilles mobiles libres dans l'intervalle.

Procédés macroscopiques. — On peut réaliser l'agglutination macroscopique de différentes façons :

I. — Dans deux tubes de bouillon, on ensemence du bacille typhique, et, dans l'un d'eux, on ajoute une ou plusieurs gouttes d'antisérum. On porte à l'étuve à 37° ; après seize à vingt heures, on observe ; dans le tube contenant la culture seule, celle-ci a poussé en formant le trouble homogène classique ; dans celui qui a reçu du sérum, le milieu est clair, mais le fond est envahi par des amas microbiens : les bacilles typhiques, en effet, au fur et à mesure de leur multiplication, se sont agglutinés.

C'est ce procédé qu'ont employé Bezançon et Griffon pour la recherche de l'agglutination avec le sérum de sujets atteints d'affections pneumococciques.

II. — On mélange dans des tubes étroits 1 centimètre cube d'une dilution donnée de sérum anticholérique et une émulsion de Vibrions cholériques. On laisse à la température du laboratoire, ou on porte à l'étuve à

37° : dans les tubes témoins ne contenant que l'émulsion microbienne, le liquide reste trouble, sans dépôt ; dans le tube en expérience, le liquide devient clair, et les amas tombent au fond.

On effectue une technique semblable pour le méningocoque et le sérum antiméningococcique. Mais ici, pour apprécier l'agglutination, il est indispensable d'agiter légèrement le tube ; on voit nettement les grumeaux qui se sont formés.

Dans toutes ces expériences, il est indispensable d'utiliser deux tubes témoins, l'un ne contenant que l'émulsion microbienne, l'autre contenant la même émulsion additionnée de sérum normal.

Mensuration du taux agglutinatif d'un sérum. — Les épreuves d'agglutination en vue des séro-diagnostics exigent la mensuration du taux agglutinatif. Ce dernier est important à connaître pour essayer, à première vue, de différencier une agglutinine spécifique d'une coagglutinine. On sait en effet que l'agglutination de groupe s'exerce à un taux plus minime que l'agglutination spécifique.

Dans ce but, il faut utiliser les dilutions successives :

Avec le *procédé microscopique*, rien n'est plus simple : dans plusieurs verres de montre on verse respectivement 19, 29, 49, 79, 99 gouttes de culture, et on y ajoute une goutte égale du sérum, ce qui donne des dilutions à 1/20, 1/30, 1/50, 1/80, 1/100 et au delà. Pour éviter de compter un aussi grand nombre de gouttes, on peut diluer le sérum avec de l'eau physiologique et employer le nombre de gouttes de cette dilution et de la culture pour obtenir les taux désirés. On observe alors l'agglutination au microscope, comme précédemment, et l'agglutination est dite positive à 1/100, 1/200, etc., quand à ce taux correspondent les limites de l'agglutinabilité.

Il faut avoir soin d'utiliser des gouttes de volume rigoureusement identique de sérum et de culture. Pour cela, il faut se servir de pipettes de calibre bien égal. Widal conseille d'étirer à la flamme un tube de verre, de casser par le milieu la partie étirée : les deux pipettes qui résultent de cette opération sont égales.

Avec le *procédé macroscopique*, on prépare des dilutions successives de sérum à 1/100, 1/200, 1/300,... 1/1000, etc. On en verse dans chaque tube 1 centimètre cube; on y ajoute une même quantité d'émulsion. Il est facile de voir au bout d'un certain temps, par la formation des amas et la clarification du liquide, à quel taux s'arrête l'agglutination.

Détermination de la nature spécifique ou non des agglutinines. — On peut reconnaître la nature d'une agglutinine, douée ou non de spécificité, par l'*épreuve de Castellani*, dite encore épreuve de *saturation* ou d'*absorption des agglutinines*.

Soit l'exemple d'un sérum qui agglutine à la fois et à un taux sensiblement égal le Bacille d'Eberth et un Bacille paratyphique. On en verse 4 à 5 centimètres cubes dans deux tubes A et B. Dans le tube A, on émulsionne trois à quatre fois de suite, à intervalles de trente minutes

au moins, le produit de raclage d'une culture de Bacille d'Eberth sur gélose ; dans le tube B, on opère de même avec le Bacille paratyphique envisagé. Après le dernier passage, on centrifuge, on décante le sérum devenu clair.

L'agglutination est recherchée à nouveau sur les deux microbes avec les deux sérums décantés.

Supposons que le sérum décanté du tube B reste inactif sur le Bacille paratyphique et agglutine encore le Bacille typhique, et que le sérum du tube A soit inactif sur les deux germes. Voici ce qui s'est passé :

Le bacille typhique a fixé toutes les agglutinines et « saturé » le pouvoir agglutinant du sérum à l'égard des deux microbes, bacille typhique et bacille paratyphique ; au contraire, le bacille paratyphique a fixé seulement les agglutinines qui agissaient sur lui, mais il n'a pas modifié le pouvoir agglutinant du sérum à l'égard du bacille typhique.

Conclusion : le bacille infectant est le bacille typhique. L'action du sérum sur le bacille paratyphique relève de la coagglutination.

On observe des résultats identiques dans les autres exemples de coagglutination.

Les applications pratiques du séro-diagnostic, basé sur cette propriété agglutinante des immun-sérums, seront traitées à propos de l'étude particulière des microbes.

POUVOIR PRÉCIPITANT. — PRÉCIPITATION.

Prenons une culture en bouillon de bacille typhique ; filtrons-la sur bougie Chamberland ; versons 2 à 3 centimètres cubes du filtrat dans deux tubes à essai ; à l'un deux ajoutons une à plusieurs gouttes de sérum antityphique, à l'autre une même quantité de sérum normal.

Voici le phénomène qui se produit immédiatement :

Dans le tube contenant le filtrat et le sérum antityphique, un trouble prend naissance ; si l'expérience se prolonge, des flocons apparaissent, sorte de précipité qui tombe petit à petit au fond du tube, le liquide surnageant devenant clair et limpide.

Dans le tube contenant le filtrat et le sérum normal, il ne se produit aucun trouble : pas de précipitation. Telle est la réaction type des précipitines, dite *réaction de Kraus*.

Elle peut s'obtenir avec tous les microbes connus mis en présence de leur antisérum ; l'expérience en a été faite surtout avec les cultures filtrées de Vibrion cholérique, de Bacille pesteux ; on suppose que cette précipitation est due à la présence de substances spéciales contenues dans les antisérums ; on les a nommées des *précipitines*. Dopter a constaté leur existence dans le sérum des animaux vaccinés contre le Bacille dysentérique, le Méningocoque, le Gonocoque, etc.

Bonome a tenté d'utiliser cette réaction pour distinguer les bacilles

tuberculeux d'origine humaine et bovine : il fait agir le sérum des malades sur des extraits microbiens ou des extraits d'organes tuberculeux. Bezançon et de Serbonne n'ont pu confirmer ces résultats.

Ces précipitines ne sont pas spéciales aux sérums d'animaux vaccinés contre les bactéries ; elles prennent encore naissance quand l'animal a été immunisé contre les toxines ; enfin on les observe aussi dans le sérum des animaux traités par le sang, l'albumine, le sperme et diverses humeurs de l'organisme.

Ainsi le sérum d'un lapin qui a reçu dans le péritoine du sang humain défibriné, mis en présence *in vitro* de sérum humain, est précipitant pour ce dernier.

Uhlenhuth a tiré parti de la spécificité relative de cette réaction pour l'appliquer à certaines catégories de recherches médico-légales, destinées à déceler l'origine du sang provenant de taches découvertes sur un linge, d'albumines diverses, d'origine humaine ou animale.

Elle a été appliquée aussi au diagnostic de l'échinococcose, le sérum de malades atteints de kyste hydatique étant souvent précipitant pour le liquide hydatique.

Caractères généraux. — On connaît peu les caractères généraux des précipitines : elles ont été en effet moins étudiées que les agglutinines.

L'action précipitante des sérums semble se manifester mieux à 38° qu'à la température du laboratoire ; on discute encore pour savoir à quelle température elle ne se manifeste plus : les avis ne sont pas concordants. Les uns fixent 58° comme température limite, d'autres 70°.

D'après les auteurs, les précipitines ne seraient douées que d'une spécificité relative. En effet : quand on inocule à un animal le sang d'une espèce différente, son sérum précipite celui de cette espèce, mais aussi quelque peu celui des espèces très voisines. Ainsi, on prépare un mouton avec du sérum de lapin ; le sérum de ce mouton précipite fortement le sérum de lapin, mais aussi, quoique d'une façon moins intense, le sérum de cobaye.

Il en est de même pour les bactério-précipitines. Ainsi le sérum antiméningococcique précipite avec intensité l'extrait autolytique de méningocoque, mais aussi, bien que moins fortement, l'extrait des germes similaires : *D. crassus*, *D. pharyngis*, *Flavus*, *M. catarrhalis*, le Paraméningocoque, le Gonocoque.

On en a conclu que la spécificité de ces précipitines n'était pas absolue. Dopter a montré cependant que les précipitines se comportaient à cet égard comme les agglutinines, et qu'il existait des *précipitines spécifiques* et des *précipitines de groupe* ou *co-précipitines*.

L'épreuve de l'absorption des précipitines le prouve : le sérum antiméningococcique mélangé à un extrait de pseudo-méningocoques conserve son pouvoir précipitant pour un extrait de Méningocoques; mélangé à un extrait de Méningocoque, il le perd pour un même extrait neuf.

Rapports entre les agglutinines et les précipitines. — La plupart des auteurs ont été frappés de la similitude de production et d'action des agglutinines et des précipitines. Des études comparatives qui ont été faites, les uns ont conclu à l'identité de ces substances, d'autres à leur nature différente. Un sérum agglutinant est en général précipitant, mais un sérum précipitant n'est pas toujours fatalement agglutinant. D'autre part, on sait (V. Bail) qu'un sérum précipitant, après avoir exercé son action sur un extrait microbien, est encore agglutinant au même taux qu'avant l'expérience. Mais, par contre, un sérum ayant servi à l'absorption des agglutinines et ayant perdu ces dernières n'est plus précipitant pour l'extrait du même germe.

Devant des faits aussi contradictoires, il est assez difficile de conclure.

POUVOIR BACTÉRICIDE. — BACTÉRIOLYSE.

L'expérience classique du *phénomène de Pfeiffer* (Voy. p. 553) est assurément celle qui met le mieux en évidence le pouvoir bactéricide du sérum d'un animal vacciné. C'est d'ailleurs elle qui fut le point de départ de toutes les recherches et des découvertes qui furent faites à ce sujet.

La transformation des Vibrions cholériques en granules chez les animaux vaccinés, son absence chez les cobayes témoins prouvent d'une façon manifeste l'existence des propriétés bactériolytiques de l'antisérum, en même temps que leur caractère spécifique.

Il s'agit maintenant de pénétrer le mécanisme de cette bactériolyse.

Mécanisme de la bactériolyse. — Les travaux de Metchnikoff et de Bordet ont permis de comprendre comment et à quelles conditions s'effectue la bactériolyse.

Rappelons l'expérience de Bordet : dans un tube on verse une légère émulsion de Vibrions cholériques, puis un dixième de sérum de cobaye vacciné contre ce germe. Après deux heures de séjour à l'étuve à 37°, examiner une goutte de ce mélange ; les Vibrions ont subi la bactériolyse (transformation en granules).

Au lieu de sérum frais de cobaye vacciné, employons le même sérum *chauffé* à 55° au bain-marie pendant trente minutes ; ajou-

tons-le à une même émulsion de Vibrions cholériques ; la transformation en granules ne se produit pas.

Dans cette dernière expérience, le sérum semble avoir perdu toute activité bactériolytique. Il n'en est rien cependant, car à ce mélange culture-sérum chauffé il suffit d'ajouter une goutte de sérum frais de cobaye neuf pour voir la bactériolyse s'effectuer ; d'après l'expression consacrée, le sérum chauffé a été ainsi *réactivé*.

Avec Metchnikoff, Bordet en déduisit que le pouvoir bactéricide ou bactériolytique du sérum d'un animal immunisé est dû à l'*action combinée* de deux substances ayant des propriétés différentes.

L'une, contenue dans tout sérum, même normal, *thermolabile*, disparaissant par le chauffage à 55° pendant une demi-heure. C'est l'ALEXINE (Buchner), ou CYTASE (Metchnikoff), ou COMPLÉMENT (Ehrlich).

L'autre, qui ne prend naissance dans le sérum que chez les sujets immunisés, *thermostabile*, résistant au chauffage à 55° pendant une demi-heure. Elle possède la propriété de *sensibiliser* les microbes ayant servi à la vaccination, c'est-à-dire de les rendre sensibles à l'action destructive de l'alexine. C'est la SENSIBILISATRICE, ou le FIXATEUR ou l'AMBOCEPTEUR (Ehrlich).

Les microbes sensibilisés conservent fixés à eux-mêmes cette sensibilisatrice, car, si on les débarrasse par lavages successifs du sérum sensibilisateur liquide où ils sont en suspension, ils conservent la propriété d'être détruits si on les met en contact avec l'alexine.

En un mot, cette sensibilisatrice se combine à la fois avec le microbe ayant servi à l'immunisation et avec l'alexine que l'on trouve dans tout sérum. D'après l'expression de Bordet, elle joue le rôle de véritable *mordant*, rendant un tissu apte à subir l'action des matières colorantes.

Enfin cette sensibilisatrice ainsi développée est spécifique, c'est-à-dire qu'elle ne se fixe que sur les germes qui lui correspondent. Mais, comme les autres anticorps (agglutinines, précipitines), la sensibilisatrice ne paraît pas toujours douée d'une spécificité absolue. Widal et ses élèves ont fait connaître des phénomènes de co-sensibilisation dans certaines affections mycosiques : le sérum de sporotrichose sensibilise une culture de *Sporotrichum*, mais co-sensibilise aussi des cultures d'actinomycose et de muguet, et inversement. Dopter a montré que le sérum antiméningococcique co-sensibilise le Paraméningocoque. Il existe donc, à côté des sensibilisatrices spécifiques, des *co-sensibilisatrices* ou *sensibilisatrices de groupe*.

Mise en évidence de la sensibilisatrice par la réaction de fixation du complément. — Bordet avait mis en évidence l'action de la sensibilisatrice par la transformation du Vibrion

cholérique en granules. Mais tous les microbes ne sont pas aussi fragiles que le Vibrion cholérique et ne subissent pas ces métamorphoses facilement constatables au microscope Il fallait donc, pour ces derniers, employer un procédé différent. C'est ce qu'ont fait Bordet et Gengou avec l'épreuve de la *fixation du complément* (improprement appelée *déviation du complément*, car c'est bien une fixation et non une déviation qui se produit).

Notions fondamentales. — Pour bien saisir cette réaction, où entrent des phénomènes de bactériolyse et d'hémolyse, il faut se rappeler les notions fondamentales suivantes :

1° L'hémolyse par le sérum des animaux préparés par injection de sang défibriné d'espèces étrangères s'effectue dans des conditions identiques à celles de la bactériolyse et suivant un mode semblable.

Soit un lapin ayant reçu dans le péritoine plusieurs injections de sang défibriné de mouton, par exemple : son sérum *frais*, mis en contact avec les mêmes hématies lavées, les dissout *in vitro* et produit ainsi l'hémolyse.

Répétons l'expérience avec le même sérum chauffé à 55° pendant une demi-heure ; la dissolution des hématies ne se produit pas. L'hémolyse est nulle. Mais réactivons le mélange à l'aide d'une ou plusieurs gouttes de sérum frais d'un animal normal, l'hémolyse s'effectuera.

Par conséquent, comme pour la bactériolyse, sur laquelle l'hémolyse et la cytolyse en général sont calquées, cette hémolyse est due à l'existence dans le sérum du lapin « préparé » d'une sensibilisatrice spécifique, qui se fixe sur les hématies de mouton ; elle les rend sensibles et aptes à subir l'action destructive de l'alexine qu'il contient normalement. C'est, ici encore, à l'action combinée des deux substances qu'elle doit sa production. Cette sensibilisatrice est spécifique et n'exerce son action, en principe, que sur les hématies de l'espèce animale qui a servi à la préparation du sérum.

2° La bactériolyse et l'hémolyse demandent, pour s'effectuer, des *sensibilisatrices différentes* ; mais une seule et même *alexine* avec laquelle ces substances se combinent est suffisante pour provoquer la destruction des bactéries et des hématies.

Ces notions vont nous permettre de comprendre le mécanisme de la réaction de fixation :

Dans un tube à essai (fig. 18), on verse : 1° du sérum antidysentérique chauffé à 55° pendant trente minutes ; 2° une émulsion de bacilles dysentériques ; 3° quelques gouttes d'alexine (premier temps).

Abandonnons le mélange pendant cinq heures à la température du laboratoire ou une heure à l'étuve à 37° ; pendant ce temps, l'antigène (bacille dysentérique) sensibilisé par l'antisérum corres-

pondant absorbe l'alexine. Dans un deuxième temps, ajoutons le système hémolytique (globules rouges de mouton et sérum de lapin anti-

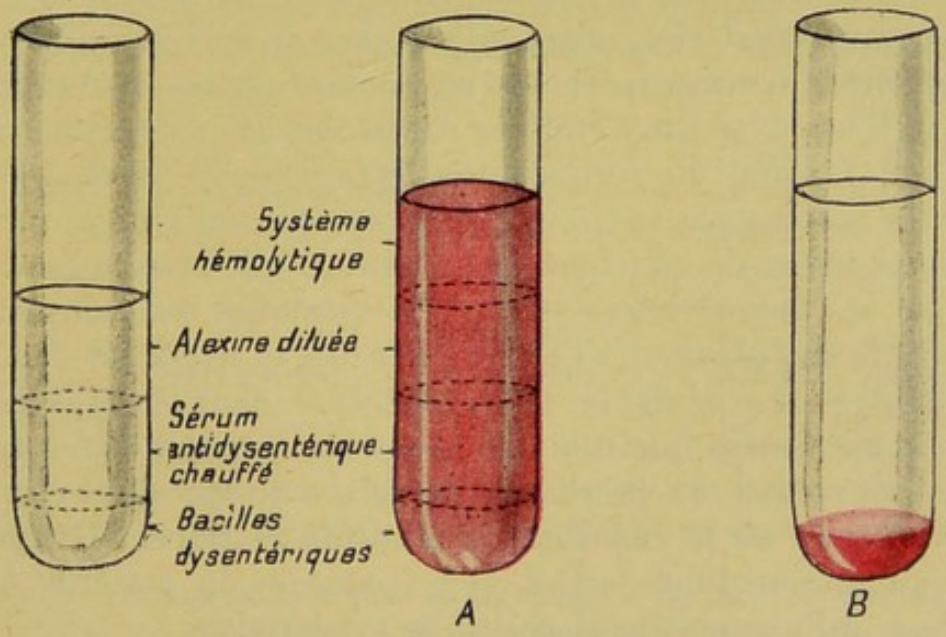


Fig. 18. — Expérience avec un sérum spécifique.
Tube de gauche : p emier temps de la réaction. Tube A et B : deuxième temps. — A, sitôt après le mélange de toutes les substances ; B, réaction terminée : *pas d'hémolyse*.

mouton) ; les hématies sensibilisées par le sérum hémolytique s'agglutineront et se déposeront au fond du tube, mais ne seront pas

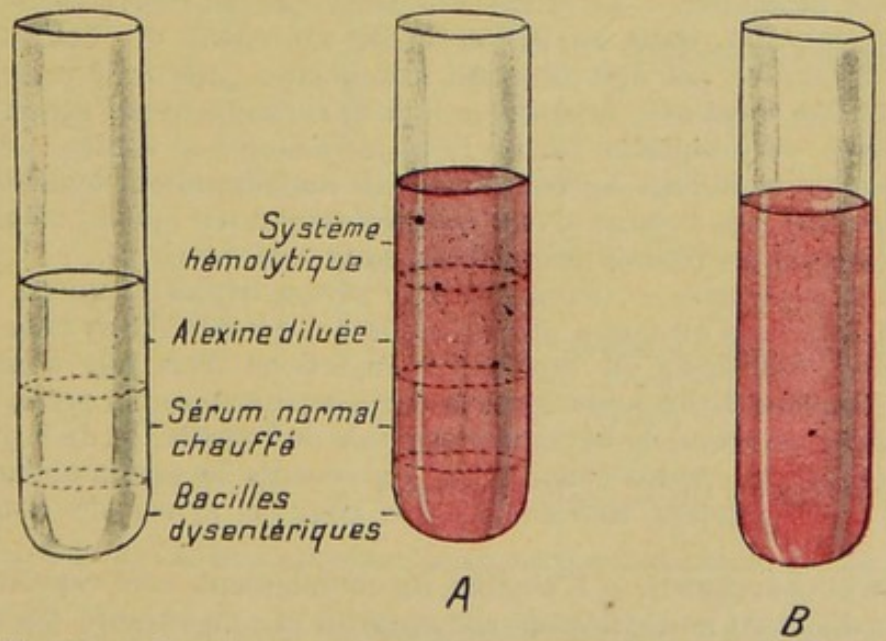


Fig. 19. — Expérience témoin avec sérum normal ou non specifique.
Tube de gauche : premier temps de la réaction. Tubes A et B : deuxième temps. — A, sitôt après mélange de toutes les substances ; B, réaction terminée : *hémolyse*.

dissoutes ; l'hémolyse ne se produit pas ; en effet, pour que l'hémolyse prenne naissance, l'alexine est nécessaire ; or, celle-ci,

absorbée par les microbes sensibilisés, est fixée sur ces derniers et n'existe plus à l'état libre dans la masse liquide. L'absence d'hémolyse constitue donc le témoin indiscutable de la *fixation du complément* par les bactéries, mises en présence de leur sérum spécifique.

Répétons la même expérience en mettant en contact les Bacilles dysentériques avec un sérum ne contenant pas de sensibilisatrices pour ces derniers, du sérum antistreptoccocique par exemple ; les microbes n'ayant pas subi l'influence sensibilisante de ce sérum de spécificité différente ne fixent pas l'alexine ; celle-ci reste donc libre ; ajoutons le système hémolytique : les hématies sensibilisées, rencontrant le complément à l'état de liberté, le fixent, se dissolvent, et l'hémolyse se produit (fig. 19). L'hémolyse, dans le cas particulier, est donc un témoin infaillible de la *non-fixation du complément* pour les bactéries mises en présence d'un sérum de spécificité étrangère.

Technique de la réaction de fixation de Bordet-Gengou. — Nous indiquerons tout d'abord la préparation du matériel d'étude qu'il faut utiliser, puis le dispositif de l'expérience.

Préparation du matériel. — Sérum a l'étude. — On est en possession du sérum dans lequel on se propose de rechercher la sensibilisatrice : sérum d'animal vacciné, ou sérum de malade. On le chauffe au bain-marie à 55° pendant trente minutes pour le dépouiller de son alexine propre. Ce chauffage, on l'a vu plus haut, laisse intacte la sensibilisatrice que l'on veut mettre en évidence.

Hématies de mouton. — Le sang est recueilli, par ponction de la veine jugulaire d'un mouton, dans un ballon stérile contenant des boules de verre pour le défibriner par agitation. On le défibrine, puis on le centrifuge. La centrifugation terminée, décanter le liquide surnageant par aspiration dans une pipette : le remplacer par de l'eau physiologique stérile. Centrifuger et laver ainsi trois fois. Après la dernière centrifugation, émulsionner les hématies dans un volume d'eau physiologique tel que le volume de la masse soit égal au volume primitif du sang total employé.

Sérum hémolytique. — On prépare le sérum hémolytique en injectant dans le péritoine d'un lapin, par exemple, 6 à 8 centimètres cubes de sang de mouton défibriné ; on répète ces injections trois fois à huit jours d'intervalle. Huit à dix jours après la dernière injection, on prélève le sang du lapin par ponction de la veine marginale de l'oreille, ou de la jugulaire, ou de la carotide. Après coagulation, on décante le sérum obtenu ; on le chauffe à 55° pendant une demi-heure pour le priver de son alexine propre.

Alexine ou complément. — L'alexine, ou complément, sera représentée par le sérum d'animal neuf fraîchement recueilli et non chauffé. On utilise de préférence le sérum de *cobaye*, dont l'alexine présente moins de variations que celle du sérum des autres animaux. Le pouvoir alexique de ce sérum, très élevé dès la coagulation, diminue d'intensité dans les jours qui suivent, mais son activité devient plus stable. Nicolle conseille d'employer le sérum huit à dix jours après la saignée. On le titre avant de l'utiliser.

Antigène. — L'antigène varie suivant la recherche à laquelle on se livre ;

il est souvent constitué par des *microbes*. On les prépare de la façon suivante ; on émulsionne une culture sur gélose âgée de vingt-quatre heures dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique, et on en utilise la quantité que le titrage de l'antigène a déterminée comme optima.

En d'autres cas, au lieu d'émulsion microbienne, on emploie l'extrait autolytique d'une culture ; on émulsionne une culture en boîte de Roux âgée de vingt-quatre heures dans 10 centimètres cubes d'eau distillée. On abandonne le produit, qu'on laisse macérer à la température du laboratoire pendant vingt-quatre à quarante-huit heures ; on peut le soumettre encore à l'action d'un agitateur mécanique. Puis on centrifuge : le liquide clair qui surnage est cet extrait autolytique qu'on prend pour antigène. Comme les cultures, il demande à être titré soigneusement.

On verra que, pour la réaction de fixation de la syphilis, on emploie couramment l'extrait d'organes syphilitiques (Voy. *syphilis* ; *réaction de Wassermann*).

Titrage des substances à employer. — La plupart des substances précédentes demandent à être titrées exactement, car, si elles sont utilisées en quantité trop forte ou trop faible, la réaction ne saurait plus avoir la moindre valeur.

Titrage du système hémolytique. — Dans une série de tubes, on verse une même quantité de globules de mouton, une même quantité de complément ou alexine, enfin des quantités variables de sérum hémolytique chauffé, complétées par des quantités inversement correspondantes d'eau physiologique. On porte à l'étuve à 37° pendant quinze à trente minutes. La lecture du tableau indique la technique à suivre mieux que toute description.

	ÉMULSION de globules rouges à 5 p. 100.	SÉRUM hémolytique.	COMPLÉMENT.	EAU physiologique.	RÉSULTATS OBTENUS.
	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	
1	1	0,5	0,1	0,4	Hémolyse totale en 15′.
2	1	0,4	0,1	0,5	—
3	1	0,3	0,1	0,6	—
4	1	0,2	0,1	0,7	Hémolyse partielle en 30′, totale en 30′.
5	1	0,1	0,1	0,8	Hémolyse partielle en 30′.
6	1	0,05	0,1	0,85	Hémolyse incomplète.
7	1	0,01	0,1	0,9	Hémolyse = 0.
8 (témoin).	1	»	0,1	0,9	Hémolyse = 0.

Dans cette expérience, les proportions à prendre de préférence sont celles du tube n° 4 où l'hémolyse est partielle en quinze minutes, mais totale en trente minutes. Il constitue la limite en deçà de laquelle l'activité du sérum est insuffisante et au delà de laquelle elle est trop forte.

Titrage du complément. — Comme il a été dit plus haut, le complément ou alexine sera fourni par du sérum récent de cobaye non chauffé. Son titrage est important, car, supposons qu'il soit en excès, l'antigène ne pourra

pas toujours le fixer en totalité : il en restera à l'état libre pour permettre l'hémolyse.

On verse dans les tubes à essai une même quantité respective d'hématies et de sérum hémolytique, puis des doses variables d'alexine et d'eau physiologique dans les proportions indiquées par le tableau ci-joint :

TUBES.	ÉMULSION d'hématies à 5 p. 100.	SÉRUM hémolytique chauffé.	ALEXINE ou complément.	EAU physiologique.	RÉSULTATS après séjour de 30 minutes à 37°.
	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	
1	1	0,1	0,5	0,4	Hémolyse totale.
2	1	0,1	0,3	0,6	—
3	1	0,1	0,1	0,8	Hémolyse partielle.
4	1	0,1	0,05	0,85	—
5	1	0,1	0,02	0,9	—

Dans l'expérience d'essai figurée par ce tableau, c'est la dose indiquée au tube n° 2 qu'il conviendra d'employer : c'est la dose minima amenant l'hémolyse totale en trente minutes à 37°.

Titrage de l'antigène. — Les microbes ou leurs extraits fixent toujours, même sans l'aide d'anticorps spécifiques, une petite quantité de complément. Si l'antigène est en excès, il peut donc empêcher l'hémolyse. C'est donc la dose minima qu'il faut déterminer pour que l'hémolyse ne se produise pas.

On opère comme dans les expériences précédentes, en mettant en présence d'un même volume d'hématies, de complément et de sérum hémolytique chauffé, des quantités variables d'antigène.

TUBES.	ÉMULSION microbienne ou extrait.	EAU physiologique.	COMPLÉMENT.	ÉMULSION d'hématies à 5 p. 100.	SÉRUM hémolytique chauffé.	RÉSULTATS.
	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	c. c.	
1	0,1	0,6	0,2	1	0,1	Hémolyse totale.
2	0,2	0,5	0,2	1	0,1	—
3	0,3	0,4	0,2	1	0,1	Hémolyse partielle.
4	0,4	0,3	0,2	1	0,1	—
5	0,5	0,2	0,2	1	0,1	—

La dose à adopter dans le cas particulier est celle du tube 2, dose limite au-dessous de laquelle l'hémolyse est empêchée.

Dispositif et marche de la réaction. — On dispose sur un râtelier une série de tubes où l'on verse successivement les différents matériaux précédents, titrés comme il a été dit :

1° Le sérum, chauffé à 55° pendant une demi-heure, où l'on cherche la présence de la sensibilisatrice vis-à-vis du microbe envisagé ;

2° L'émulsion microbienne, provenant d'un tube de culture sur gélose raclée dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique, ou d'extrait microbien ;

3° L'alexine ;

4° L'eau physiologique en quantité suffisante pour que le volume total égale 2 centimètres cubes.

Après agitation de chaque tube pour opérer un mélange homogène, on porte à l'étuve à 37° pendant deux à trois heures.

On a préparé en même temps une série de *tubes témoins* (Voy. le tableau) où le sérum supposé sensibilisateur est remplacé dans l'un par du *sérum normal*, également chauffé, dans l'autre par de l'*eau physiologique*. Dans d'autres témoins, l'émulsion microbienne ou l'extrait, l'alexine seront remplacés par de l'eau physiologique.

On ne saurait trop, pour éviter les causes d'erreur, multiplier les témoins.

Après les deux à trois heures de séjour à l'étuve, on ajoute à chaque tube le système hémolytique. On replace à l'étuve pendant une heure environ, et l'on observe les résultats.

NUMÉROS.	ÉMULSION microbienne.	SÉRUM supposé sensibilisateur.	ALEXINE.	EAU physiologique.	Étuve à 37° pendant 2 à 3 h.	HÉMATIES à 5 p. 100.	SÉRUM hémolytique.	Étuve à 37° pend. 1/2 h. à 1 h.	RÉSULTATS.
						c. c.			
1	0,2	0,1	0,05	0,55		1	0,1		Pas d'hémolyse.
2	0,3	0,1	0,05	0,45		1	0,1		—
3	0,2	0,2	0,05	0,45		1	0,1		—
4	0,3	0,2	0,05	0,35		1	0,1		—
5 (témoin).	0,3	0,1 (sér. normal.)	0,05	0,45		1	0,1		Hémolyse totale.
6 (témoin).	0,3	0,2 (sér. normal.)	0,05	0,35		1	0,1		—
7 (témoin).	0,3	»	0,05	0,55		1	0,1		—
8 (témoin).	»	»	0,05	0,85		1	0,1		—
9 (témoin).	»	»	»	0,90		1	0,1		Pas d'hémolyse.

On voit ainsi que, dans les quatre premiers tubes, où l'antigène a été mis en présence du sérum supposé sensibilisateur, l'hémolyse a été empêchée. D'où cette déduction naturelle que l'antigène a fixé le complément : par conséquent, le sérum contenait une sensibilisa-

trice spécifique vis-à-vis de cet antigène. La réaction s'est régulièrement effectuée, sans cause d'erreur, car nous voyons l'hémolyse se présenter dans tous les tubes témoins. Dans le tube n° 9 seul, ne contenant que le système hémolytique, l'hémolyse ne s'est pas produite, car l'alexine était absente.

Applications pratiques. — La réaction de fixation de Bordet-Gengou a été appliquée en maintes circonstances à la pratique bactériologique journalière.

Diagnostic des maladies infectieuses. — On peut, par ce procédé, faire le diagnostic d'un certain nombre de maladies infectieuses en mettant en présence du sérum chauffé de malades les bactéries que l'on suppose avoir infecté ces derniers et avoir, par conséquent, engendré dans ce sérum les anticorps correspondants.

C'est ainsi que Widal et Le Sourd ont imaginé une méthode de diagnostic de la *fièvre typhoïde*, en mettant en évidence, par la réaction de fixation, la sensibilisatrice vis-à-vis du bacille typhique. Dopter a procédé de la même façon pour la *dysenterie bacillaire*, Ch. Nicolle et Sicre pour la *fièvre de Malte*. C'est aussi sur cette épreuve qu'est basée la réaction dite de Wassermann pour le diagnostic de la *syphilis*. Widal et ses élèves l'ont appliquée au diagnostic de la *sporotrichose* et de diverses *mycoses* ; Bordet et Gengou au diagnostic de la *coqueluche* ; Weinberg et Parvu en ont tiré parti pour reconnaître chez un sujet l'existence de l'*échinococcose*. Des recherches en ce sens ont été faites ainsi avec le bacille tuberculeux et les paratuberculeux.

Identification des microbes. — Cette réaction de fixation peut être utilisée dans un but tout différent. En partant d'un antisérum connu, on peut assurer le diagnostic d'une espèce microbienne. C'est grâce à cette épreuve que certains germes ont été reconnus comme agents pathogènes de maladies infectieuses : témoin le microbe de la coqueluche, auquel Bordet et Gengou ont pu ainsi attribuer le rôle spécifique dans l'étiologie de cette affection.

Dosage des sérums. — Enfin cette réaction a permis à Wassermann d'imaginer une méthode de dosage du sérum antiméningococcique, en en utilisant des doses progressivement décroissantes et en déterminant ainsi la quantité minima de sérum nécessaire pour empêcher l'hémolyse.

POUVOIR OPSONISANT, OPSONINES, BACTÉRIOTROPINES.

Wright a fait connaître, sous le nom d'*opsonines*, des substances qu'il croyait spéciales, contenues dans les sérums normaux et surtout les sérums spécifiques, qui prépareraient les bactéries à subir la pha-

gocytose ; elles avaient pour effet d'exagérer cette dernière et de la rendre plus efficace. Pour Wright, les opsonines étaient indispensables à la phagocytose : sans elles, la phagocytose ne pouvait s'exercer (*opsono* : *je prépare pour l'alimentation*).

En réalité, la phagocytose spontanée existe. Bordet, dès 1895, l'avait démontrée dans les expériences *in vitro*, où il mettait en présence des leucocytes et du Vibrion cholérique, du Streptocoque, du *Proteus vulgaris*, etc., sans addition de sérum opsonisant. Metchnikoff avait aussi constaté la phagocytose de la bactéridie charbonneuse par des leucocytes en suspension dans l'humeur aqueuse bouillie, et dépourvue de substances pouvant l'inciter à se produire.

Les recherches de Wright et Douglas démontrèrent par contre que les *sérums frais provenant d'animaux normaux* étaient doués d'un certain degré de pouvoir opsonisant, car ils favorisent la phagocytose. Leurs expériences sur le Vibrion cholérique, le Bacille typhique, le Bacille pesteux, le Staphylocoque et le Streptocoque, etc., étaient très probantes à cet égard. Haktœn a montré depuis que les Trypanosomes se laissent aisément influencer de la même façon. Il en est de même des Spirilles, d'après Levaditi et Roché. Mais les sérums normaux ne seraient pas doués de ce pouvoir vis-à-vis de tous les germes : le Bacille diphtérique, le Bacille de la xérose ne subissent aucunement son influence.

Quant aux *sérums spécifiques*, ils jouissent d'un pouvoir opsonisant beaucoup plus élevé que celui des sérums normaux. Dès 1895, bien avant Wright, Denys et Leclef avaient observé que le sérum d'un lapin vacciné contre le streptocoque, mélangé *in vitro* à des leucocytes et des streptocoques, exerçait sur ces derniers une phagocytose intense, alors que le sérum normal était presque inactif. On ne pouvait pas mieux mettre en évidence les propriétés opsonisantes d'un sérum spécifique. Mennes fit des constatations identiques sur le Pneumocoque, Sawtchenko sur le Spirille de la fièvre récurrente et le sérum antispirillaire. Ces données essentielles furent reprises par Wright et interprétées comme afférentes au pouvoir opsonisant des sérums spécifiques. Neufeld et Rimpau les confirmèrent, mais en dénommant *bactériotropines* les opsonines spécifiques de Wright.

Nature des opsonines. — Wright, avons-nous dit, avait pensé que les opsonines étaient des substances spéciales existant dans tout sérum normal, mais dont la production était exagérée dans les sérums spécifiques, sous l'influence de la vaccination. Les recherches ultérieures ont montré qu'il n'en était pas ainsi ; d'après les travaux récents, il y a lieu de distinguer, à cet égard, les opsonines des sérums normaux et des sérums spécifiques.

Opsonines des sérums normaux. — D'après Becher, Neufeld, Levaditi et Inmann, le pouvoir opsonisant des sérums normaux serait lié à l'alexine ou complément. En effet, comme l'alexine, cette opsonine est thermolabile; elle disparaît sous l'action du chauffage à 55°. Puis on peut réaliser avec l'opsonine toutes les recherches de fixation que l'on effectue avec l'alexine. En réalité, il ne s'agit pas là d'une nouvelle substance, mais d'une fonction nouvelle de l'alexine, différente de la réactivation des sensibilisatrices ou ambocepteurs, mais influençant l'englobement des bactéries par les leucocytes.

Opsonines des sérums spécifiques. — Elles diffèrent notablement des opsonines des sérums normaux; contrairement à ces dernières, elles résistent au chauffage à 56°; elles sont donc *thermostabiles*. D'autre part, l'opsonine normale se fixe indifféremment sur tout corps bactérien; les opsonines spécifiques ne sont au contraire absorbées et fixées que par les germes ayant servi à la vaccination de l'animal d'où provient le sérum. Par ces propriétés les opsonines spécifiques doivent être assimilées aux sensibilisatrices ou ambocepteurs spécifiques des immun-sérums.

Ces sensibilisatrices, d'après cette conception, non seulement auraient la fonction de sensibiliser et de bactériolyser l'antigène, mais encore seraient capables de provoquer la phagocytose quand elles se trouvent en présence des leucocytes frais et des bactéries ayant servi à sa préparation.

Neufeld, cependant, établit une distinction entre la sensibilisatrice et l'opsonine spécifique, qu'il a baptisée *bactériotropine*. Pour lui, des sérums spécifiques peuvent être riches en ambocepteurs et pauvres en bactériotropines, et inversement. Il est vrai d'ajouter qu'un sérum peut ne pas posséder les trois fonctions au même degré.

Recherche des opsonines. — ***Préparation du matériel nécessaire.*** — Toute recherche d'opsonines exige la préparation : 1° de sérum; 2° de leucocytes; 3° d'émulsion microbienne.

Récolte du sérum. — On recueille le sérum à examiner en piquant simplement l'extrémité du doigt ou le lobule de l'oreille, de préférence en dehors de la période digestive. On le laisse s'écouler dans un petit tube où il se coagule; on aspire le sérum dans une pipette fine.

Recueillir de la même façon et au même moment du sérum de sujet normal.

Ces deux sérums doivent être mis à l'étude le plus tôt possible, car l'activité des opsonines qu'ils contiennent baisse rapidement.

Préparation des leucocytes. — Pour avoir des leucocytes normaux, on recueille du sang de préférence chez l'homme sain. Serrer la racine du pouce à l'aide d'une bande; désinfecter, puis pratiquer sur la face dorsale

une série de piqûres ; les piqûres seront faites de préférence avec une pointe de verre effilée à la lampe. Laisser le sang s'écouler goutte à goutte dans un tube à centrifugation, où l'on a préalablement versé environ 10 centimètres cubes d'eau salée à 8 p. 1 000 et citratée (2 p. 100 de citrate de soude) pour empêcher la coagulation.

Bien mélanger et centrifuger pendant un quart d'heure. Quand la centrifugation est terminée, décanter et ajouter un même volume du liquide

Fig. 20. — Pipette de Wright.

précédent. Recentrifuger, redécanter, et laisser reposer le tube un peu incliné ; on perçoit à la surface une couche blanchâtre constituée en grande partie par des leucocytes ; c'est dans cette couche qu'à l'aide d'une pipette spéciale (fig. 20) on puisera pour recueillir ces éléments.

Préparation de l'émulsion microbienne. — A l'aide d'une anse de platine, prélever une parcelle d'une culture jeune sur gélose inclinée, âgée de vingt-quatre heures au plus ; délayer cette parcelle dans un petit tube

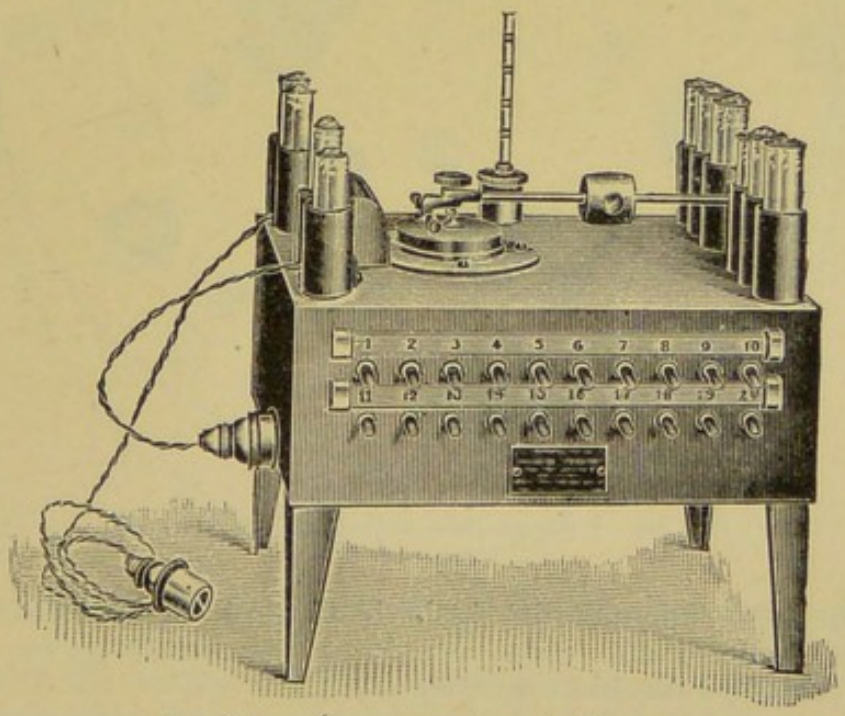


Fig. 21. — Étuve opsonique de Hearson.

contenant 1 à 2 centimètres cubes d'eau physiologique et l'émulsionner d'une façon très homogène en évitant les grumeaux. L'émulsion ainsi obtenue devra être légèrement louche ; une émulsion trop épaisse contient trop de microbes, et le résultat final est difficilement appréciable.

Quand on opère sur le bacille tuberculeux, il faut choisir une culture en bouillon de quatre à six semaines. Stériliser à 110°, filtrer sur papier, et laver dans l'eau physiologique. Broyer le dépôt dans un mortier et émulsionner dans de l'eau salée à 1,5 p. 100, ajoutée goutte à goutte. Répartir en tubes

et stériliser à 115°. Dans la réaction, éviter de prélever les grumeaux qui se déposent d'ailleurs dans la partie inférieure des tubes.

Technique de la recherche. — Avoir à sa disposition un tube de verre de 4 à 9 millimètres de diamètre, effilé à la flamme, et pourvu à sa large extrémité d'une tétine de caoutchouc pour assurer l'aspiration (fig. 20). Tracer un trait au crayon gras à 2 centimètres de l'extrémité fine, coupée au couteau à verre.

1° Tremper l'extrémité de cette pipette dans la couche blanche de leucocytes, et aspirer jusqu'à ce que la colonne leucocytaire ainsi puisée s'arrête au trait marqué ; laisser pénétrer une petite bulle d'air. Puis aspirer

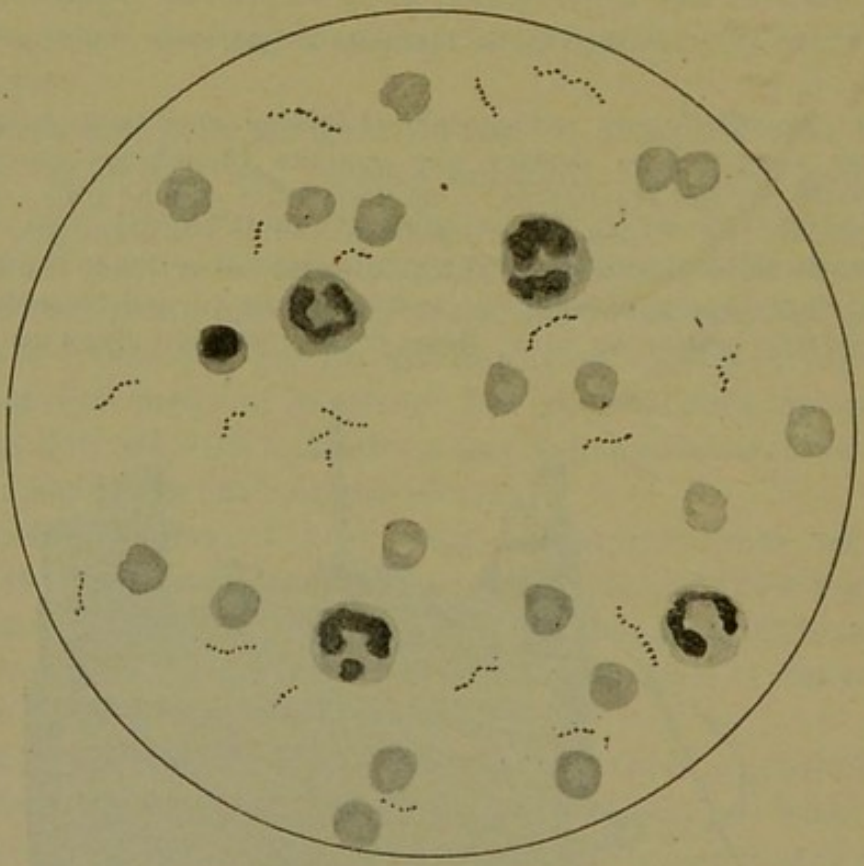


Fig. 22. — Phagocytose absente (sérum normal).

de la même façon une quantité égale du sérum à l'étude ; laisser pénétrer une petite bulle d'air ; enfin introduire toujours jusqu'au trait une troisième colonne d'émulsion microbienne.

2° Par pression de la tétine, chasser ensuite sur une lame de verre, où elles se mélangent, les trois colonnes obtenues, et aspirer à nouveau ce mélange dans la pipette. Sceller à la flamme l'extrémité fine de cette dernière.

On répète cette technique point par point en remplaçant le sérum à expertiser par du sérum normal.

3° Porter les tubes ainsi préparés à l'étuve à 38°. On se sert avec avantage d'une étuve dite « étuve opsonique » de Hearson (fig. 21). On les y laisse pendant quinze minutes.

4° Après brisure de l'extrémité de la pipette, mélanger à nouveau sur une lame le contenu de chaque pipette et faire des frottis sur lame comme on pratique habituellement les étalements de sang.

5° Fixer les frottis par l'alcool ou la chaleur. Colorer par la thionine phéniquée ou le colorant de Leishmann. Pour les bacilles tuberculeux, colorer par la méthode de Ziehl.

Observer ensuite au microscope avec l'objectif à immersion ; quand le sérum est doué de propriétés opsonisantes, on constate qu'un grand nombre de germes sont phagocytés (fig. 23) ; avec le sérum normal, la plupart sont libres et perceptibles entre les leucocytes (fig. 22).

Détermination de l'indice opsonique. — L'*indice opsonique* ne peut être déterminé qu'en comparant le pouvoir opsonisant ou

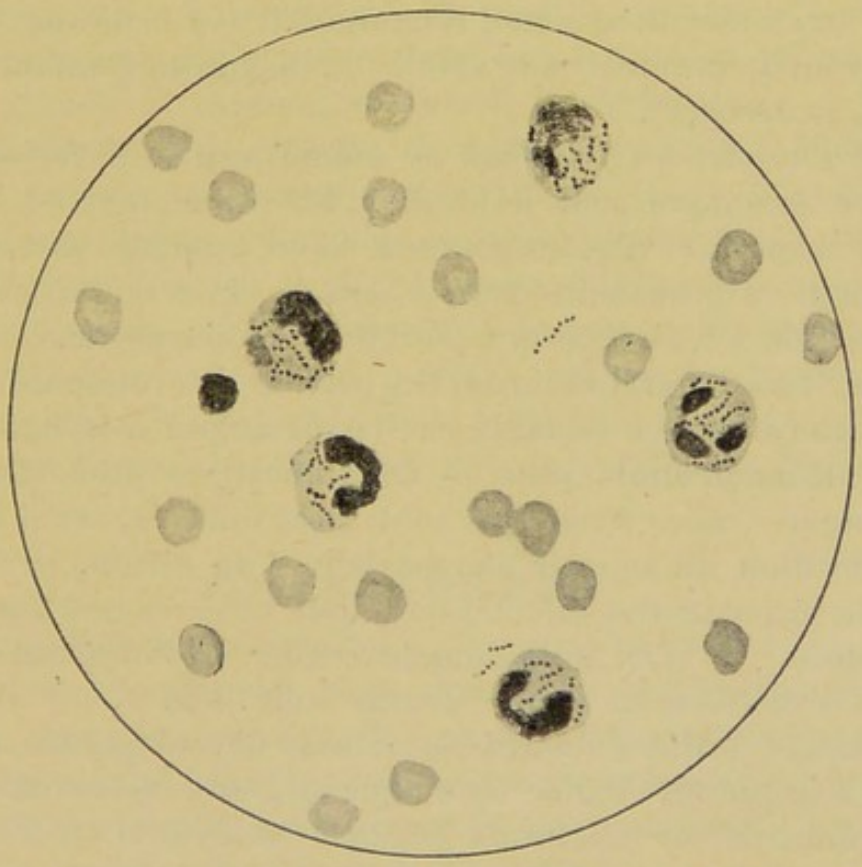


Fig. 23. — Phagocytose de streptocoques obtenue avec un sérum pourvu d'opsonines.

phagocytaire du sérum supposé spécifique et du sérum normal. C'est, en somme, le rapport existant entre les deux. Voici comment on procède :

On compte tout d'abord le nombre des bactéries incluses dans 100 leucocytes. On en trouve par exemple 182. Le pouvoir opsonique de ce sérum est par conséquent égal à $\frac{182}{100} = 1,82$.

On répète le même calcul avec le sérum normal. Supposons que le pouvoir opsonique de ce dernier soit égal à 1,10.

Le rapport entre ces deux chiffres sera l'index opsonique, soit :

$$\frac{1,82}{1,10} = 1,50.$$

Dans cet essai, l'indice opsonique égale 1,50.

Applications pratiques. — ***Indications diagnostiques.*** — Les données précédentes permettent de comprendre comment la détermination de l'index opsonique d'un sérum de malade peut aider au diagnostic de certaines maladies infectieuses. On sait que, suivant telle ou telle infection, l'index opsonique est supérieur ou inférieur à la normale.

Ainsi, le sérum des sujets non tuberculeux présente pour le bacille de Koch un indice opsonique variant de 0,90 à 1. Chez un sujet atteint de tuberculose circonscrite, l'index s'abaisse à 0,8 à 0,3 ; s'il s'agit d'une tuberculose aiguë, il monte à 1,20 à 2. Ce sont des bases qui peuvent assurément faire établir un diagnostic hésitant (Wright, Bulloch, Sauerbeck).

Milhit a montré qu'il en était de même pour la fièvre typhoïde : un indice opsonique pour le bacille d'Eberth supérieur à 1,70 chez un sujet suspect, et n'ayant pas eu de fièvre typhoïde antérieure, est un élément de probabilité dans le sens de l'infection typhoïde. Inférieur à 1 ou à 1,20, il permet de rejeter ce diagnostic.

Taylor, Houston et Rankin ont tiré parti de l'élévation de cet indice pour diagnostiquer en certains cas la méningite méningococcique.

Indications pronostiques. — Les indications pronostiques que peut donner l'indice opsonique sont assez limitées, car il ne reflète que l'élévation du pouvoir phagocytaire d'un sérum. Or, dans le pronostic des maladies infectieuses, tout ne se résume pas dans la phagocytose ; il faut tenir compte encore de l'intoxication pour laquelle la méthode ne donne aucune indication.

Néanmoins, Milhit a montré que, dans la fièvre typhoïde, un abaissement brusque de l'indice opsonique au cours de la maladie peut venir confirmer un diagnostic hésitant de perforation intestinale. De même, pendant la défervescence ou la convalescence, une chute analogue peut indiquer une reprise ou une rechute imminente.

De même encore, au cours de la tuberculose, un index stable prouverait que l'affection se circonscrit ; s'il présente des oscillations, on peut penser à la possibilité d'une généralisation.

Indications thérapeutiques. — Wright a utilisé la réaction des opsonines pour contrôler les effets de sa méthode vaccinothérapique et permettre de la diriger à bon escient.

On sait que, pour lutter contre les infections staphylococciques, tuberculeuses, gonococciques, etc., Wright a imaginé d'injecter au malade des émulsions progressivement concentrées des germes correspondants, tués par la chaleur. Mais, pour juger de la quantité de microbes à utiliser pour chaque injection, il fallait se rendre compte des réactions humorales provoquées par ces vaccins ; la

recherche de l'indice opsonique lui a permis d'apprécier l'activité phagocytaire du sérum du malade en traitement.

Il a constaté ainsi que la première vaccination était suivie d'une *phase dite négative*, au cours de laquelle l'indice opsonique était notablement abaissé, puis d'une *phase positive*, où il était plus élevé, pour diminuer ensuite à nouveau. Or il remarqua qu'une deuxième vaccination pendant la phase positive augmentait notablement la valeur de l'indice ; une vaccination trop énergique au contraire pouvait provoquer une phase négative prononcée, mettant le sujet en état de moindre résistance. La recherche de l'indice opsonique était donc utile, indispensable même, pour doser la quantité de vaccin à employer et choisir le moment propice de l'intervention.

Indications pour le dosage de certains sérums thérapeutiques. — Certains auteurs se sont servis de l'indice opsonique de certains sérums thérapeutiques pour doser leur activité curative. Flexner et Jobling, Kraus et Bæcher en ont fait l'essai pour le sérum antiméningococcique. La recherche et le dosage des opsonines ne donnent cependant en ce cas que des indications limitées uniquement au pouvoir phagocytaire de ce sérum ; il faut tenir compte aussi de son pouvoir antitoxique, que ne révèle pas l'épreuve en question.

POUVOIR ANTITOXIQUE.

Behring et Kitasato ont montré qu'on peut immuniser un animal contre un grand nombre de doses mortelles de toxine diphtérique et tétanique, injectées en quantité progressivement croissante. Le sérum de cet animal ainsi vacciné présente des propriétés antitoxiques incontestables. Ces faits constituèrent les premières bases de la sérothérapie antidiphtérique et antitétanique.

Pour obtenir ces propriétés antitoxiques du sérum, l'injection de toxine n'est pas toujours nécessaire : les vaccinations effectuées à l'aide de microbes seuls, tués ou à l'état vivant, développent des propriétés identiques ; c'est le cas du bacille dysentérique, du Méningocoque, du Gonocoque, dont le poison élaboré est retenu dans le corps microbien lui-même (endotoxine) ; le sérum des animaux ainsi traités acquiert alors en même temps des propriétés antimirobiennes et anti-endotoxiques.

Enfin on peut faire naître dans le sérum des propriétés antitoxiques avec des toxines étrangères aux toxines microbiennes : l'abrine, la ricine (Ehrlich), le venin de serpent (Calmette), le sérum d'anguille (Richet et Héricourt), etc.

Comme les toxines, les antitoxines sont sensibles à la tempéra-

ture ; elles sont précipitées par l'alcool et ont été assimilées à des diastases dont elles présenteraient les propriétés essentielles.

Mélangées *in vitro* avec la toxine correspondante, elles annihilent l'action de cette dernière. Le fait s'observe ainsi *in vivo* : on injecte à un animal sensible en proportion déterminée, et simultanément, de la toxine tétanique et de l'antitoxine tétanique (sérum antitétanique) : l'animal survit, alors que les témoins succombent.

Behring et Kitasato avaient pensé que l'antitoxine neutralisait la toxine et agissait ainsi à la manière d'un acide vis-à-vis d'une base, ou inversement. Roux puis Calmette ont démontré que, dans le mélange antitoxine-toxine, les effets de la toxine sont en effet annihilés, mais la toxine n'est pas détruite, car on peut la mettre en évidence et lui faire récupérer son activité par des moyens artificiels (Voy. *Immunité*, p. 45). L'antitoxine se fixe donc sur la toxine, mais ne la détruit pas.

POUVOIR PRÉVENTIF ET POUVOIR CURATIF.

Pouvoir préventif. — Injectons sous la peau d'une souris du sérum antipesteux, puis une dose de culture de bacille pesteux, mortelle pour les témoins : l'animal survivra, alors que les témoins n'ayant reçu que la culture succomberont invariablement.

Cette expérience, au milieu de tant d'autres effectuées avec des sérums différents et les bactéries ou toxines correspondantes, prouve nettement le pouvoir préventif d'un sérum spécifique.

De semblables faits rentrent dans le cadre de l'*immunité* dite *passive*. Mais cette immunité est passagère, et la préservation conférée par l'injection préalable d'antisérum ne dure que douze à quinze jours.

Pouvoir curatif. — Soit un lapin inoculé sous la peau à l'aide d'une dose sûrement mortelle de bacille dysentérique ; le lendemain, on lui injecte sous la peau, en un point différent, ou dans les veines, du sérum antidysentérique : il survit, alors que les témoins succombent en trois à quatre jours.

Il en est de même pour d'autres sérums dont les propriétés curatives sont indéniables, non seulement chez l'animal, mais chez l'homme. Les effets merveilleux de la méthode sérothérapique dans le traitement des maladies infectieuses en constituent des preuves indiscutables. Au fur et à mesure de l'étude des diverses bactéries, nous ferons connaître les propriétés curatives des sérums destinés à lutter contre les infections ou intoxications qu'elles provoquent.

CHAPITRE V

ANAPHYLAXIE

Il était admis qu'un poison, une toxine, introduits dans l'organisme d'un animal à doses progressivement croissantes, arrivaient à créer chez ce dernier une grande résistance, autrement dit l'immunité. Or, en 1902, Ch. Richet a montré que cette règle comporte des exceptions. Il a observé que certaines catégories de poisons (actino-congestine notamment), loin d'immuniser, rendaient au contraire l'animal plus sensible que jamais à son action, au point de le faire succomber rapidement avec une dose infinitésimale, incapable de le tuer lors de la première injection. Cet état particulier d'*hypersensibilité*, il l'a nommé *anaphylaxie* (ἀνα-φυλασσειν, *contre-protéger*).

Cette découverte a été le point de départ de travaux innombrables, qui permirent de comprendre une foule de phénomènes restés inexplicables dans le domaine de la bactériologie et de la biologie.

Manifestations expérimentales de l'anaphylaxie. — ***Expériences de MM. Richet et Portier sur l'actino-congestine.*** — Ch. Richet et Portier, étudiant l'actino-congestine (précipité alcoolique de macération aqueuse de tentacules d'actinies), ont établi que l'injection chez le chien de 0^{gr},08 de cette substance par kilogramme d'animal provoque de l'abattement, de la diarrhée avec ténesme, puis un affaiblissement progressif, de l'hypothermie aboutissant à la mort en trois jours environ. Ils avaient noté l'absence complète de troubles nerveux.

Or à une dose moindre (0^{gr},05 par kilogramme), les symptômes sont plus légers, et, au bout de dix à douze jours, quoique très amaigri, l'animal se rétablit complètement, au point qu'il ne peut être distingué d'un animal normal.

Cependant si, trois semaines après la première injection, on lui inocule une dose vingt fois moindre que la dose initiale (0^{gr},0025 dixièmes de milligramme), il présente immédiatement des troubles graves (vomissements, dyspnée intense, hypotension artérielle, dépression du système nerveux, paraplégie, etc.), qui peuvent entraîner rapidement la mort.

Ch. Richet et Portier notèrent expressément que ces symptômes différaient totalement de ceux que l'animal présentait lors de la première injection, même à dose mortelle. Enfin ces troubles n'apparaissent pas quand la deuxième injection suit de près la première; pour qu'ils se produisent, il faut comme une période d'incubation de deux à trois semaines, et c'est vers la sixième semaine que l'état d'hypersensibilité atteint son maximum.

Enfin le sérum d'un chien sensibilisé par une première injection, injecté à un chien neuf, provoque immédiatement des troubles identiques.

Ch. Richet et Portier, répétant ces expériences avec d'autres substances, obtinrent des résultats analogues avec divers poisons extraits du corps de moules, huîtres, crevettes, etc., la *mytilo-congestine*, la *crépitine*.

Expériences et phénomène d'Arthus. — Ch. Richet et Portier avaient opéré sur des substances naturellement toxiques. Arthus, dans une série de nouvelles expériences, montra que des phénomènes d'hypersensibilité pouvaient être obtenus avec des produits dénués de toute toxicité, notamment des albumines et particulièrement le sérum de cheval.

On peut injecter impunément au lapin, sous la peau ou dans le péritoine, de fortes doses de sérum de cheval (10 à 12 centimètres cubes, par exemple) sans provoquer le moindre trouble.

Mais, si on pratique chez cet animal, tous les quatre à cinq jours, des injections de 5 centimètres cubes du même sérum, on observe tout d'abord une réaction locale, minime : un peu d'œdème se développe au point de la dernière inoculation ; après la troisième ou quatrième injection, cette réaction augmente d'intensité, au point de provoquer un *œdème pseudo-phlegmoneux* (stérile à l'ensemencement), et au bout de la cinquième ou sixième injection, il se produit de la *gangrène* et de la *nécrose aseptique*.

C'est l'ensemble de ces troubles particuliers que l'on caractérise actuellement sous le nom de *phénomène d'Arthus*.

Si, chez un lapin qui a reçu sous la peau six à huit injections semblables, on pratique une injection intraveineuse de 2 centimètres cubes du même sérum, des phénomènes nerveux (dyspnée, paraplégie, coma, etc.) se déclarent immédiatement : l'animal succombe rapidement ; s'il se remet, il devient cachectique et meurt en quatre à cinq semaines.

Phénomène de Theobald Smith. — A ces faits, Th. Smith ajouta les données suivantes : il constata que les cobayes ayant servi au dosage du sérum antidiphtérique, inoculés par conséquent avec

le mélange toxine-sérum, étaient très sensibles à l'injection sous-cutanée ou intrapéritonéale d'une nouvelle dose de sérum ; en effet, la plupart succombent rapidement après cette dernière, même quand la dose est minime. Dans ces expériences, il est à remarquer que l'état d'anaphylaxie est créé par une seule injection de sérum de cheval, en raison sans doute de l'injection concomitante de toxine diphtérique.

Les travaux d'Otto, de Rosenau et d'Anderson, de Besredka ont confirmé ces notions ; ils ont montré en outre que ces troubles sont bien spécifiques pour le sérum de cheval, car, si à la deuxième injection les cobayes reçoivent un sérum d'espèces étrangères (sérum de bœuf, de mouton, par exemple), ils ne se produisent pas. De plus, la réaction apparaît d'autant plus rapidement que la dose initiale de sérum est plus faible : avec 1/100 de centimètre cube, on sensibilise le cobaye beaucoup mieux qu'avec 1 centimètre cube. Enfin, pour que l'état anaphylactique apparaisse, une période d'incubation est nécessaire ; on l'estime en général à dix ou douze jours.

Besredka enfin a montré que l'injection intracérébrale était le meilleur procédé pour mettre en évidence l'anaphylaxie du cobaye au sérum.

Soit, par exemple, un cobaye neuf, qui a reçu sous la peau 1/100 de centimètre cube de sérum de cheval ; quinze jours après, on lui injecte sous la dure-mère ou dans le cerveau 1/20 de centimètre cube du même sérum ; il est pris immédiatement des troubles classiques : toux, dyspnée, soubresauts, convulsions, puis apnée, et il meurt en trois à cinq minutes. Un cobaye neuf peut supporter impunément dans le cerveau $0^{cc},5$ de sérum.

Des phénomènes anaphylactiques identiques peuvent être obtenus dans les mêmes conditions avec différentes substances : *albumine du blanc d'œuf*, *lait*, *peptone*, *sperme* (expériences de Minet et Leclercq, chez le cobaye, avec le sperme humain).

Manifestations anaphylactiques chez l'homme. — ***Anaphylaxie sérique.*** — Depuis un certain nombre d'années, on s'est mis à étudier les troubles survenant après les injections des sérums utilisés en sérothérapie. Ils diffèrent suivant la voie d'introduction.

Injections sous-cutanées. — Un sujet qui a reçu une injection sous-cutanée de sérum thérapeutique quelconque n'en éprouve habituellement aucun dommage : parfois cependant, dans 14 ou 15 p. 100 des cas, suivant Weill-Hallé et Lemaire, vers le huitième ou dixième jour, apparaissent les *accidents* dits *sériques* caractérisés par des érythèmes ortiés, ou l'érythème marginé aberrant de Marfan, des arthralgies diverses, troubles accompagnés ou non de fièvre.

A côté de ces faits, Von Pirquet et Schick ont décrit, sous le nom de *maladie du sérum*, des phénomènes qui surviennent après une *réinjection* de sérum, pratiquée au moins sept à huit jours après la première. En ce cas, les accidents surviennent sans période d'incubation, immédiatement ou quelques heures après la deuxième injection ; ils consistent en une réaction locale assez marquée, avec rougeur, tuméfaction, suivie d'une éruption ortiée prurigineuse. Celle-ci se généralise rapidement, s'accompagnant de bouffissure de la face, des paupières, de la langue. Il peut se produire de la toux, de l'angoisse précordiale, de l'albuminurie ; le plus souvent la température s'élève à 38° ou 39°. Ces troubles ne durent pas plus de vingt-quatre à quarante-huit heures.

Les ganglions afférents au territoire inoculé s'engorgent fréquemment. Si les injections sont encore répétées, on finit par observer au point d'inoculation un œdème pseudo-phlegmoneux et même de la gangrène et de la nécrose. Von Pirquet et Schick, Marfan ont assimilé, à juste titre, ces accidents au phénomène d'Arthus, décrit chez le lapin.

Injections intraveineuses. — Si la deuxième injection est pratiquée dans les veines, il n'existe pas de réaction locale, mais on constate immédiatement après, parfois même pendant l'injection, une rougeur généralisée, voire même de la cyanose ; les yeux sont exorbités, l'angoisse précordiale est intense ; parfois un état syncopal se déclare ; ces accidents durent dix minutes à un quart d'heure et disparaissent.

Injections intrarachidiennes. — Les réinjections intrarachidiennes de sérum pratiquées chez les malades atteints de méningite cérébro-spinale provoquent parfois des accidents de deux catégories.

En certains cas, il se produit une véritable *méningite sérique*.

En effet, trois à quatre heures après une nouvelle injection de sérum, la céphalée s'accroît et, avec elle, la rachialgie ; les signes méningés augmentent. La température s'élève à 39° ou 39°,5. Ces phénomènes disparaissent au bout de douze heures, mais se reproduisent régulièrement et s'exagèrent même de plus en plus à chaque nouvelle intervention. Ils cessent, au contraire, si l'on cesse la sérothérapie. Cette constatation fournit donc la preuve la plus évidente que la réaction méningée en question est provoquée par l'introduction du sérum dans la cavité rachidienne (Sicard et Salin).

De plus, le liquide céphalo-rachidien devient jaunâtre, de teinte ambrée, due à de petites hémorragies capillaires provenant de la méningite. Chez certains sujets, il devient même louche, trouble ; le microscope révèle une polynucléose plus ou moins marquée

mais les polynucléaires sont dans un état d'intégrité parfaite.

Pour Hutinel et Darré, cette réaction locale, qui reste cantonnée à la méninge, est due, selon toute vraisemblance, à un véritable phénomène d'Arthus.

Dans une deuxième catégorie de faits, on assiste au tableau clinique, décrit plus haut, de l'*anaphylaxie* proprement dite. Les symptômes éclosent en général très rapidement, parfois même pendant la réinjection. Ils sont souvent bénins, mais peuvent, en certains cas, prendre une intensité marquée, capable d'entraîner la mort (Hutinel et Darré). Cette gravité tient à ce que le sérum est mis en contact direct avec l'axe nerveux, rappelant un peu les expériences de Besredka sur l'introduction sous-dure-mérienne du sérum chez le cobaye.

Anaphylaxie à la tuberculine et à la malléine. — Von Pirquet, à la suite de ses observations sur la maladie du sérum, avait rapporté à un trouble de même nature les réactions vaccinales abortives que l'on constate chez les sujets en état d'immunité vaccinale, et décrites jusqu'alors sous le nom de fausse vaccine. Il établit le même rapprochement avec les réactions générales, mais passagères, que provoque une injection de tuberculine chez les tuberculeux. Il les interpréta comme des réactions anaphylactiques. C'est alors que, dans un but diagnostique, il réalisa l'anaphylaxie tuberculeuse locale, en provoquant la *cuti-réaction*, bientôt suivie de l'*ophtalmo-réaction* (Calmette) et plus tard de l'*intradermo-réaction* (Mantoux).

Ces phénomènes seront décrits lors de l'étude du bacille de la tuberculose; ils relèvent de l'anaphylaxie à la tuberculine.

Il en est de même de la réaction à la malléine chez les animaux morveux (Voy. *Morve*).

Anaphylaxie au liquide de kyste hydatique. — Chauffard et Boidin ont rapporté avec juste raison à l'anaphylaxie les accidents que l'on observe à la suite de l'issue du liquide hydatique hors du kyste, lors d'une ponction exploratrice ou d'une opération chirurgicale sur ce kyste. Ces accidents se caractérisent par un malaise subit avec angoisse, prurit, attaques épileptiformes et même mort rapide par collapsus cardiaque. Et cependant, expérimentalement, le liquide hydatique n'est pas toxique, mais une première injection inoffensive sensibilise l'animal, qui présente des accidents anaphylactiques lors d'une deuxième injection intracérébrale pratiquée quinze jours après.

Anaphylaxie alimentaire. — Hutinel a montré que, chez le nourrisson, le *lait de vache* provoque parfois des accidents (vomis-

sements, diarrhée, refroidissement, pouls filiforme, éruptions ortiées) ; il les attribue à l'anaphylaxie.

Les *œufs* (particulièrement le jaune d'œuf) donnent lieu à des troubles de même nature (Lesné). Il en est de même de la *viande de veau* ou *de porc*.

L'ingestion de *poissons*, *crustacés*, *mollusques* et notamment de moules, détermine souvent des troubles identiques qu'on rapporte à la même cause.

Enfin les *graisses* seraient responsables de phénomènes de même nature.

Mécanisme de l'anaphylaxie. — Le mécanisme de l'anaphylaxie a été envisagé de différentes façons par les auteurs.

Théorie de Ch. Richet. — Ch. Richet, se basant sur ce fait que l'anaphylaxie ne se produit qu'après une période d'incubation, affirme que ce phénomène ne peut être dû qu'à l'accumulation d'un poison dans l'organisme. Il estime qu'il se prépare dans l'organisme une substance nouvelle, non toxique par elle-même, mais pouvant devenir très toxique en présence d'une nouvelle dose du produit inoculé. Cette substance nouvelle se rencontre dans le sang, car l'injection à un animal neuf du sérum d'animal anaphylactisé sensibilise le premier, comme s'il avait reçu préalablement une injection du produit sensibilisant ; une seconde injection de ce dernier déchaîne les accidents dits anaphylactiques. Il nomme cette substance la *toxogénine*. Lors d'une deuxième injection du produit sensibilisant, ce dernier se combine avec la toxogénine pour former une autre substance de nature différente, l'*apotoxine*, très toxique, poison du système nerveux, et donnant lieu à une symptomatologie spéciale, celle du choc anaphylactique.

Achard et Flandin ont montré dans la suite que cette apotoxine de Richet siégeait au niveau des centres nerveux : les extraits de bulbe d'un cobaye mort de choc anaphylactique, injectés dans le cerveau de cobayes neufs, produisent chez ces derniers des accidents rappelant le choc anaphylactique.

Théorie de von Pirquet et Schick. — D'après von Pirquet et Schick, l'injection du produit sensibilisant (le sérum de cheval dans leurs expériences) agit en qualité d'antigène et détermine la formation d'anticorps. Lors d'une deuxième injection de sérum de cheval, pratiquée douze jours après la première, il se produit une combinaison brusque entre l'antigène et l'anticorps, d'où résulteraient le choc anaphylactique et les accidents qui le caractérisent.

Théorie de Besredka. — D'après Besredka, la première injection d'antigène détermine dans l'organisme la production d'un

anticorps qui se développe en dix à douze jours; il le nomme *sensibilisine*, correspondant à la toxogénine de Ch. Richet. Cette sensibilisine se fixe, au fur et à mesure de sa formation, sur la cellule nerveuse. Ce serait au niveau de cette dernière que la rencontre de l'antigène et de la sensibilisine s'opérerait pour déterminer le choc anaphylactique. Cette hypothèse expliquerait la sévérité de l'injection intracérébrale, et aussi ce fait que la narcose par l'éther, le chloroforme, empêche l'anaphylaxie de se produire, en annihilant les fonctions réceptrices de la cellule nerveuse vis-à-vis des poisons.

Mais les phénomènes se passeraient d'une façon plus complexe. Pour expliquer que les faibles doses d'antigène sont plus anaphylactisantes que les fortes doses, Besredka admet que la sensibilisine, dans ce dernier cas, est neutralisée par une antisensibilisine; pour lui, tout sérum de cheval contiendrait deux substances : la première, qu'il nomme *sensibilisinogène*, thermostabile, et donnant naissance à la sensibilisine; la seconde, *antisensibilisine*, thermolabile. Et ce serait la rencontre subite de la sensibilisine et de l'antisensibilisine au niveau de la cellule nerveuse qui provoquerait le choc auquel on assiste lors de l'injection intracérébrale.

Théorie de M. Nicolle. — M. Nicolle admet que l'injection d'un antigène quelconque détermine dans l'organisme la production de deux sortes d'anticorps, les uns coagulants, les autres « décoagulants » ou lytiques. Et suivant que les premiers ou les seconds prédominent, coagulines ou lysines, on assiste à la production de phénomènes d'immunité ou d'hypersensibilité. Dans l'anaphylaxie, les lysines agiraient directement, sans l'aide préalable des coagulines, et opéreraient la dissolution brutale des cellules, microbes, toxines ou albumines agissant en qualité de corps sensibilisants. Les phénomènes anaphylactiques seraient analogues à ceux que déterminent les « poisons de Vaughan », c'est-à-dire les poisons contenus au sein des albuminoïdes et des cellules les plus diverses, et obtenus en les traitant par l'action de la soude en solution alcoolique.

Pour M. Nicolle, l'anti-anaphylaxie, qui sera étudiée plus loin, résulterait de la baisse du pouvoir lytique du sérum.

Théorie de Vaughan. — Vaughan et Wichler, partant de leurs expériences sur l'albumine de l'œuf, pensent que la première injection d'ovalbumine (blanc d'œuf) au cobaye développe dans l'organisme la production d'un ferment (zymogène). Lors de la deuxième injection, ce ferment mettrait en liberté, comme le fait l'alcool sodique dans les expériences précitées, et par dédoublement ou clivage de la molécule d'albumine, un produit toxique ayant une affinité particulière pour le système nerveux.

Théorie de Biedl et Kraus. — Bield et Kraus, frappés par l'analogie des troubles constatés dans l'anaphylaxie avec ceux que détermine une injection de peptone chez le chien (chute brusque de la tension artérielle et incoagulabilité du sang), pensent que le sérum d'animal sensibilisé possède le pouvoir de transformer la substance sensibilisante en un produit nouveau, qui serait une peptone ou une variété de peptone. Cette substance provoquerait une vasodilatation périphérique et de l'hypotension artérielle : le rôle du système nerveux central serait nul.

Nombre d'autres théories ont été proposées; mais on ne saurait s'étendre outre mesure sur ce sujet, dont nous avons exposé les interprétations principales.

Spécificité de l'anaphylaxie.— La question de la spécificité de l'anaphylaxie a soulevé de nombreuses discussions. Pour les uns, Ch. Richet entre autres, cette spécificité est absolue. On constate en effet que le sérum de cheval anaphylactise le cobaye uniquement pour le sérum du cheval. On a même tiré un parti élégant de cette spécificité dans les expertises de médecine légale.

Yamanouchi a vu que le cobaye anaphylactisé au sérum humain ou au sérum de chimpanzé ne réagit pas au sérum du singe inférieur.

Pour d'autres (Rosenau et Anderson), la spécificité serait relative, des cobayes préparés avec du sérum de vache réagissant dans une certaine mesure au sérum de cheval et de mouton (Bruynoghe).

D'une façon générale, une substance albuminoïde anaphylactise surtout et parfois exclusivement vis-à-vis de la même substance prise comme antigène, ou du moins vis-à-vis de substances très rapprochées.

Pour Arthus, l'anaphylaxie serait dénuée de spécificité, car un cobaye anaphylactisé au sérum de cheval, inoculé avec de l'ovalbumine, subit le choc anaphylactique; la réciproque serait vraie.

Anti-anaphylaxie. — Rosenau et Anderson, Besredka ont montré qu'on pouvait empêcher l'anaphylaxie sérique chez un animal, en injectant des doses massives (5 centimètres cubes) et répétées tous les six jours. Après trois à quatre injections semblables, l'injection d'épreuve, dite déchaînante, n'est suivie d'aucun trouble anaphylactique.

Plus tard, reprenant la question sur une autre base, Besredka injecte dans le péritoine d'un cobaye sensibilisé au sérum de cheval une dose non mortelle du même sérum, soit 1/50 à 1/100 de centimètre cube ; puis, *une ou deux heures après*, dans le cerveau, une dose qui devrait le tuer sûrement, soit 1/8 de centimètre cube : le choc anaphylactique ne se produit pas.

On obtient ainsi sûrement l'*anti-anaphylaxie*, c'est-à-dire l'immunité contre les accidents anaphylactiques. Cette immunité s'établit plus ou moins rapidement suivant le point où l'on porte le produit destiné à vacciner. Chez le cobaye, elle est, en général, obtenue quatre heures après l'injection sous la peau, une à deux heures après l'injection dans le péritoine ou par la voie rachidienne; elle est parfois instantanée quand on opère par voie veineuse.

Dans les expériences précédentes, les doses employées ne permettent d'obtenir la préservation que contre une ou deux doses mortelles de sérum. Pour préserver contre un nombre plus considérable de ces dernières, Besredka a imaginé le procédé des *vaccinations subintrantes*.

Au lieu d'une seule injection de sérum dans les veines, on en pratique deux, trois, voire même quatre, à trois ou cinq minutes d'intervalle, en augmentant chaque fois la dose de sérum. Un cobaye anaphylactisé peut ainsi recevoir impunément, tout d'abord, 1/40 de centimètre cube (dose non mortelle), puis 1/10 de centimètre cube (dose deux fois mortelle, la dose mortelle étant de 1/20 de centimètre cube), puis 1/4 de centimètre cube, puis 1 centimètre cube (dose vingt fois mortelle). Besredka est arrivé ainsi à faire supporter au cobaye des doses cent ou mille fois mortelles.

Aussi recommande-t-il d'employer ce procédé en thérapeutique humaine, quand on peut craindre les accidents d'anaphylaxie sérique, surtout quand le sérum curateur doit être introduit dans la cavité rachidienne.

On peut alors injecter préventivement le sérum sous la peau, quatre heures avant l'injection thérapeutique, ou bien deux heures avant quand on opère la vaccination dans le rachis. Si on veut effectuer cette dernière par voie veineuse, Besredka conseille d'injecter 1/4 de centimètre cube, puis dix minutes après 1 centimètre cube, et, quinze minutes après, on peut impunément faire l'injection thérapeutique dans la cavité rachidienne.

LIBRARY OF THE BRITISH MEDICAL ASSOCIATION
PRESENTED BY THE EDITOR OF B. M. J.

CHAPITRE VI

STÉRILISATION

La stérilisation, c'est-à-dire la destruction des germes vivants, est une des bases de la bactériologie.

En effet, pour étudier un microbe, il faut l'obtenir à l'état de pureté et le maintenir tel; or, les milieux qui nous entourent, de même que les objets, instruments, aliments, etc., dont le bactériologiste doit à chaque instant faire usage, sont peuplés de microbes variés. Ces microbes, il faut les tuer, sous peine de rendre toute étude impossible ; tel est le but essentiel de la stérilisation.

Les *procédés de stérilisation* les plus employés sont basés sur l'emploi de la chaleur : chaleur sèche ou chaleur humide; dans quelques circonstances, on a recours à la filtration ; dans d'autres, aux antiseptiques.

I. — STÉRILISATION PAR LA CHALEUR SÈCHE.

Chauffage direct. — Le fil de platine, d'usage universel en bactériologie, est rapidement stérilisé par chauffage dans la flamme du bec Bunsen (fig. 24), ou toute autre flamme très chauffante; prolonger le chauffage jusqu'au blanc (environ 1 300°).

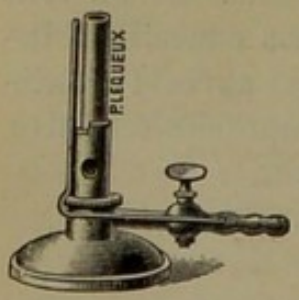


Fig. 24. — Bec Bunsen.

C'est cette propriété de supporter le rouge sans dommage qui a amené l'emploi, aujourd'hui généralisé, du fil de platine.

Si le fil est mince, il refroidit instantanément; s'il est un peu gros, le refroidissement est plus lent; attendre quelques secondes (plusieurs minutes avec des fils très gros) avant d'en faire usage.

Le même procédé s'applique aux palettes de platine, aux vaccinostyles, etc.

Flambage. — Certains objets lisses : effilures de pipettes, baguettes de verre, embouchures de tubes ou de fioles, etc., sont rapidement stérilisés en passant trois ou quatre fois de suite,

lentement (comme en coupant du pain), dans une flamme très chauffante.

Le même procédé peut être utilisé pour stériliser divers instruments, en particulier l'extrémité des pinces à dissection. Il convient peu aux instruments coupants, dont il altère le tranchant.

Si l'objet est difficile à déplacer, tel un grand ballon, on peut stériliser l'orifice en promenant sur lui la flamme du bec Bunsen, tenu à la main.

Flambage au four. — La plupart des objets ne peuvent être stérilisés qu'à l'aide d'appareils spéciaux : les fours à flamber.

Ces appareils sont spécialement *indiqués* pour la stérilisation des objets de verrerie (pipettes, tubes vides, fioles, boîtes de Petri, etc.) ou de porcelaine, des filtres, des instruments, etc.

Préparation des objets à stériliser. — Il ne suffit pas de stériliser les objets, il est en outre nécessaire de les préserver ultérieurement de toute souillure, et spécialement des contaminations atmosphériques. Il suffit pour cela de les fermer au préalable, avant la stérilisation, avec des substances qui laissent filtrer l'air tout en arrêtant les germes : coton ordinaire ou papier.

Bouchage au coton. — Les objets à ouverture étroite, tels que tubes, flacons, fioles, sont bouchés au *coton ordinaire* (non hydrophile). On opère comme suit (fig. 25) : prendre un fragment de coton, le disposer au-dessus de l'orifice en faisant déborder largement, enfoncer le centre à l'aide d'une pointe mousse (crayon, par exemple). Le bouchon sera modérément serré : il plongera de 2 à 4 centimètres dans le récipient, suivant la hauteur de ce dernier.

Fig. 25. — Bouchage d'un tube au coton.

Couverture de papier. — Les boites, verres à expérience, cristallisoirs, et tous objets à ouverture large seront enveloppés ou recouverts de papier. Le papier-filtre ordinaire est préférable, parce qu'il est moins cassant; mais le papier d'emballage est plus économique et suffit le plus souvent.

Envelopper complètement les boîtes dans plusieurs doubles de papier.

Pour les verres (fig. 26), on se contente de les couvrir ; il est bon d'assujettir un peu les rebords à l'aide d'un tour de ficelle. Si le verre présente un ou deux becs, attention à ne pas déchirer le papier à leur niveau ; on peut utilement les protéger à l'aide d'un très léger tampon de coton.

Le plus répandu des fours à flamber est le four Pasteur.

Four Pasteur. — L'appareil est conçu d'après le principe suivant : *dans l'air ambiant, un chauffage à 170°, maintenu pendant trente minutes, suffit à détruire sûrement tous les germes.*

L'appareil (fig. 27) se compose :

D'un cylindre en tôle, à triple paroi, la moyenne moins haute : dispositif qui détermine deux espaces concentriques communiquant par le haut;

D'un panier en toile métallique, placé dans la cavité du cylindre;

D'un brûleur à gaz, en couronne;

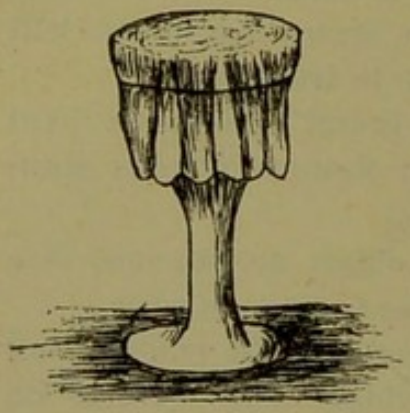


Fig. 26. —Verre à pied stérilisé.

D'un couvercle, avec douille pour le thermomètre.

Fonctionnement. — Les objets à stériliser sont desséchés complètement; la moindre trace d'eau provoquerait la casse. On les munit ensuite de coton ou de papier, comme il a été dit.

Les introduire alors dans le panier métallique.

En raison même de la disposition du four, la température est sensiblement plus élevée au fond; des briques, des tuiles, un support métallique quelconque, placés au fond, empêcheront le contact immédiat des objets avec la paroi inférieure, directement chauffée par le gaz.

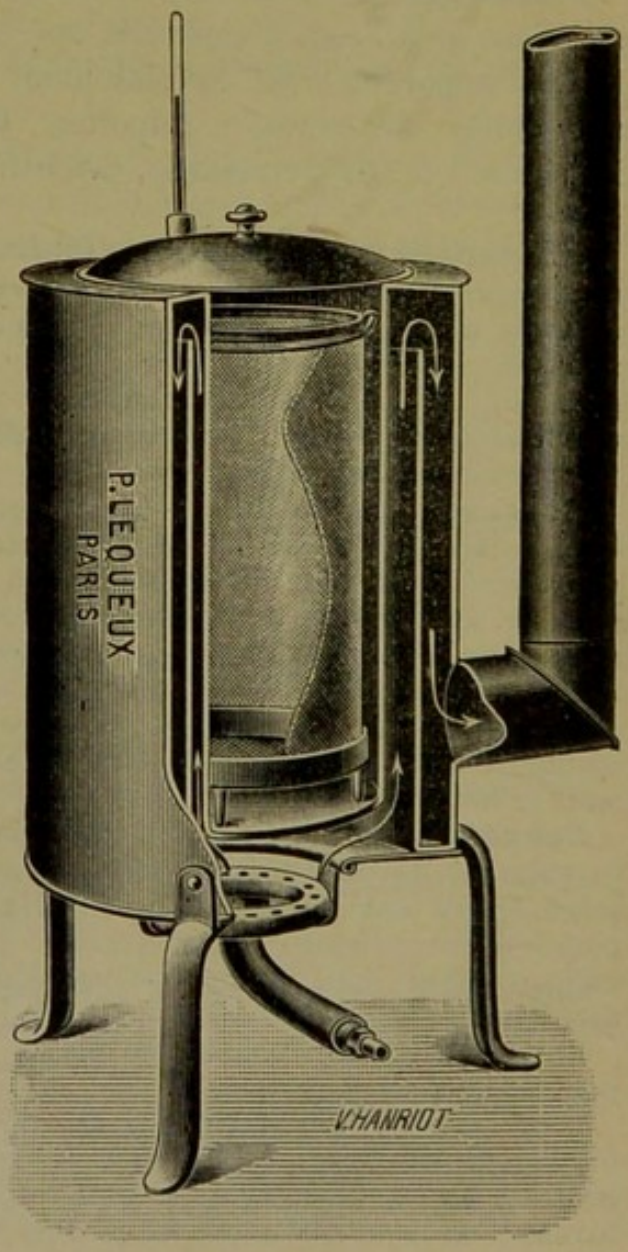


Fig. 27. — Four Pasteur.

Placer le couvercle, enfoncer le thermomètre à travers un bouchon de liège. — Allumer le gaz; chauffer doucement, pour ne rien casser,— d'autant plus doucement que les objets sont plus épais. Une fois atteinte la température de 170° baisser le gaz « en veilleuse » ; ouvrir ou baisser plus ou moins pour ne pas trop s'écarter du degré voulu; éteindre après trente minutes.

Laisser refroidir complètement avant de retirer les objets; n'enlever le couvercle qu'après refroidissement complet.

En enlevant le couvercle ou en retirant les objets trop hâtivement, on les exposerait à l'air frais, qui aurait tôt fait de les casser.

Contrôle de la stérilisation. — En pratique, il suffit de vérifier l'aspect du coton : il doit être légèrement roussi.

Quelques précautions. — *a.* Pour *allumer* le gaz, approcher d'abord du bec une flamme (allumeur à alcool, par exemple), puis ouvrir le robinet et attendre l'allumage. En ouvrant le robinet sans présenter l'allumeur, le gaz se répandrait dans le cylindre, et le contact ultérieur de la flamme pourrait provoquer une explosion. Une fois le gaz allumé, voir si la flamme est bleue (non blanche) comme elle doit l'être ; si elle est blanche, le gaz brûle en dedans : il faut alors éteindre et rallumer correctement.

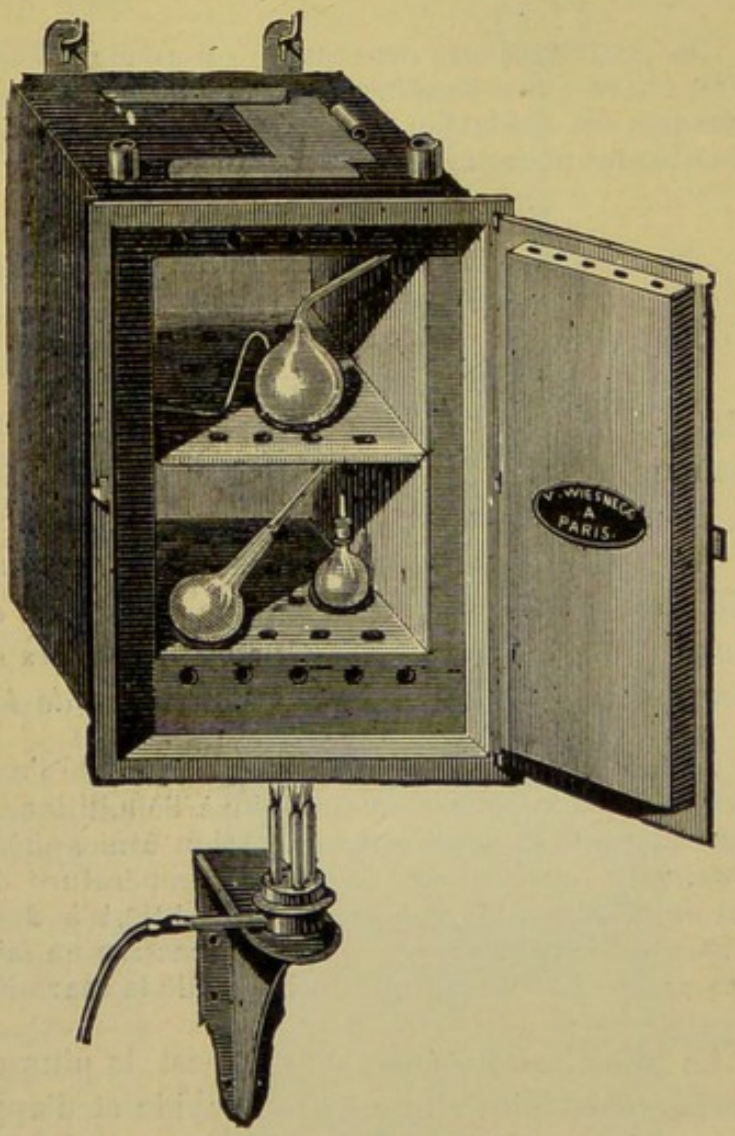


Fig. 28. — Stérilisateur à air de Chantemesse.

b. Pour *régler* le gaz, on a souvent quelques difficultés ; les mouvements de la main sont trop brusques et on éteint. Le réglage est plus facile quand on manie le robinet non avec les doigts directement, mais en le frappant à petits coups secs avec un objet pesant, clef d'autoclave ou instrument analogue.

c. Ne pas chauffer au delà du degré voulu, sans quoi le coton ou le papier se carbonisent et dégagent des produits huileux légèrement antiseptiques, qui coulent sur les récipients et les tachent.

De plus, le coton en partie détruit et le papier devenu cassant bouchent ou protègent mal leurs récipients.

d. Ne pas ouvrir le four pendant l'opération ; le contact de l'air frais peut suffir à casser la verrerie.

e. Surveiller constamment la marche de l'appareil, et surtout *ne jamais abandonner l'appareil en fonctionnement.*

Autres appareils. — Le *stérilisateur de Chantemesse* (fig. 28) a le même but que le four Pasteur. Son mode de fonctionnement et sa structure sont très analogues.

Les *stérilisateurs de chirurgie :* stérilisateurs de Péan, de Poupinel, etc., sont spécialement utilisables pour les instruments ou les petits objets.

On peut toujours construire soi-même un appareil à stérilisation par l'air chaud : une simple caisse métallique, chauffée par un foyer quelconque, est suffisante. Mais les appareils spéciaux sont infiniment plus commodes pour un laboratoire un peu actif.

II. — STÉRILISATION PAR LA CHALEUR HUMIDE.

Elle comporte quatre modalités différentes :

Par la vapeur d'eau sous pression ; — par chauffage continu dans la vapeur d'eau à 100° ; — par chauffage discontinu dans la vapeur d'eau à 100° ; — par chauffage discontinu vers 56°.

Nous dirons en outre quelques mots de l'ébullition.

A. Stérilisation par la vapeur d'eau sous pression. — Elle est basée sur le principe suivant : *dans une atmosphère de vapeur d'eau, exempte d'air, tous les germes sont tués par exposition pendant vingt minutes à une température de 115°.*

On sait que la température d'ébullition de l'eau, et par suite la température de la vapeur d'eau produite à l'ébullition, varie suivant la pression que supporte le liquide. A la pression atmosphérique, l'eau bout à 100°. Quand la pression augmente, la température d'ébullition s'élève : elle est de 112°,2 à 1,5 atmosphère ; de 121°,4 à 2 atmosphères ; de 135°,1 à 3 atmosphères. On peut élever la pression en faisant bouillir l'eau dans des vases clos, basés sur le principe de la marmite de Papin.

La stérilisation sous pression est la plus couramment employée en bactériologie ; elle est sûre, rapide et d'application facile.

Elle est spécialement *indiquée* :

Pour les milieux de culture (exception faite pour ceux qui ne supportent pas les températures élevées : sérum, gélatine) ; — pour les seringues destinées aux prélèvements ou aux injections ; — pour les récipients susceptibles d'être bouchés au coton ; — pour les objets en caoutchouc ; — pour les cultures de microbes pathogènes, dont on veut se débarrasser, et qu'il serait dangereux d'abandonner sans stérilisation préalable.

On emploie presque toujours l'*autoclave Chamberland.*

Autoclave Chamberland. — Il se compose (fig. 29) :

D'une chaudière cylindrique A, en cuivre rouge brasé, portant à

sa partie supérieure un rebord aplati ; — d'un couvercle, fermant la chaudière, reposant sur elle par un rebord plat ; entre les rebords de la chaudière et du couvercle s'interpose un anneau de caoutchouc, destiné à assurer une fermeture hermétique. Des boulons mobiles permettent d'assujettir l'un à l'autre les deux rebords. Ce couvercle porte en outre : un manomètre, indiquant la pression et la température dans l'appareil ; un robinet d'échappement d'air et de vapeur ; une soupape de sûreté ; — d'un panier en toile métallique, P, reposant par des pieds sur le fond de la chaudière ; — d'un manchon cylindrique en tôle, F, enveloppant la chaudière ; — d'une ou deux couronnes de becs de gaz, placées sous la chaudière, dans l'enveloppe.

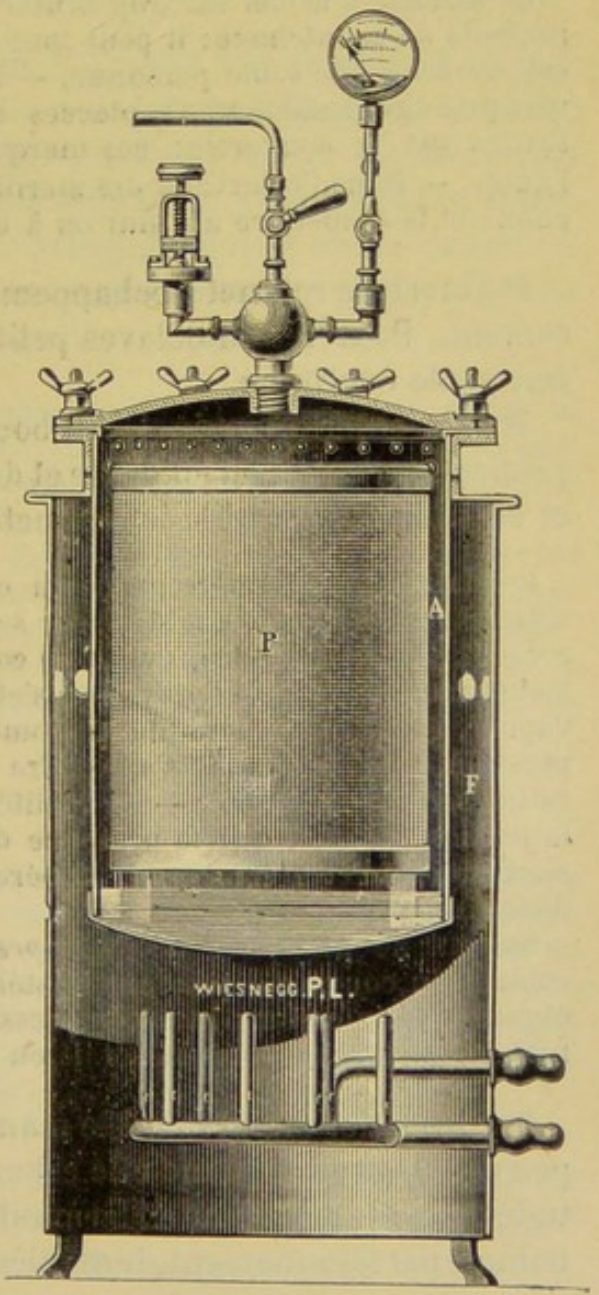


Fig. 29. — Autoclave Chamberland.

Certains appareils portent en outre une charnière ou un levier, permettant de soulever le couvercle sans l'enlever ; d'autres possèdent un régulateur automatique de température.

Le gaz peut être remplacé par de fortes lampes à alcool ou à pétrole.

Préparation des objets à stériliser. — Boucher comme page 95. Il est bon de couvrir au préalable les bouchons d'un cornet de papier ou d'une compresse épaisse ; sans quoi la vapeur d'eau se condense sur eux et les mouille. Dans les récipients stérilisés vides, on laissera toujours un peu d'eau. Les objets non bouchés à la ouate seront enveloppés de plusieurs doubles de papier ordinaire. — Disposer ensuite les objets dans le panier, ouverture en haut. Éviter de mettre leurs orifices au contact des parois latérales du panier, où l'eau va se condenser.

Fonctionnement. — 1° Verser dans la chaudière de l'eau en quantité suffisante. Mettre en place le panier, chargé.

Le niveau de l'eau doit arriver un peu au-dessous du fond du

panier. Si l'eau encrasse (eaux calcaires), employer l'eau distillée.

2° Poser la rondelle de caoutchouc ; placer ensuite le couvercle. Serrer modérément les écrous deux à deux (les deux placés aux extrémités d'un même diamètre), à la main.

Le serrage à la clef est trop brutal ; il met rapidement hors d'usage la rondelle de caoutchouc ; il peut toujours être supprimé quand l'autoclave est confié à une seule personne. — La plupart des appareils portent deux marques (généralement O) placées l'une sur le rebord de la chaudière, l'autre sur le couvercle ; ces marques seront placées vis-à-vis l'une de l'autre. — Dans l'intervalle des stérilisations, enlever la rondelle de caoutchouc et la suspendre au mur ou à un écrou, pour éviter l'aplatissement.

3° Ouvrir le robinet d'échappement. Allumer le gaz, chauffer doucement. Pour les autoclaves petits ou moyens, il suffit d'allumer une seule couronne.

4° Surveiller le robinet. Au bout de quelques minutes, la vapeur s'échappe, d'abord en jet faible et discontinu ; plus tard, en jet continu et en sifflant. Quand le jet est nettement continu, fermer le robinet.

Pendant cette première partie du chauffage, l'air contenu dans la chaudière et dans les objets à stériliser se dilate peu à peu et s'échappe par le robinet. Il faut attendre, avant de commencer la stérilisation, que l'air soit évacué ; sans quoi l'opération s'effectuerait dans un mélange d'air et de vapeur, et les indications du manomètre seraient fausses, trop élevées, la pression de l'air venant s'adjoindre à celle de la vapeur d'eau ; la stérilisation serait inopérante. — En réalité, il reste toujours un peu d'air, mais la pratique montre que la présence de cet air résiduel n'empêche pas la stérilisation d'être efficace, si l'opération a été conduite comme il vient d'être indiqué.

Surtout ne pas faire de *décompressions*, en ouvrant brusquement le robinet du couvercle pendant la stérilisation, comme on le fait avec les étuves à désinfection ; la décompression amènerait une ébullition tumultueuse des liquides et chasserait ou au moins inonderait les bouchons.

5° Surveiller maintenant le manomètre. L'aiguille se déplace peu à peu vers la droite. Quand elle est arrivée au degré voulu (115° d'habitude), baisser la flamme en fermant plus ou moins le robinet ; régler la flamme par tâtonnement, de manière à maintenir la température à 115°.

Pour régler le gaz, voyez page 97. — Si, au début, on avait allumé deux couronnes, une seule serait maintenue allumée pour le réglage. — La flamme aura en moyenne 10 à 15 millimètres de hauteur une fois l'appareil réglé. — Éviter les courants d'air, qui éteignent facilement le brûleur.

6° Maintenir la température au degré indiqué pendant le temps nécessaire : généralement vingt minutes. Éteindre le gaz.

Ce temps est très variable. Il dépend de la nature des milieux, de leur épaisseur, des récipients, etc. Les conditions indiquées (vingt minutes à 115°)

sont valables pour la plupart des milieux ordinaires en tubes : bouillon, gélose, etc., de même que pour les objets. Les milieux qui demeurent solides à température élevée, comme la pomme de terre, demandent un temps plus long ou une température plus haute (120°). Il en sera de même d'un ballon de gélose solidifiée avant stérilisation, car il faut compter le temps nécessaire à la liquéfaction. En réalité, la stérilisation commence seulement quand toute la masse a été portée à la température voulue.

7° Laisser refroidir jusqu'à ce que l'aiguille soit au zéro. A ce moment, ouvrir le robinet du couvercle pour laisser échapper la vapeur ; puis dévisser les boulons ; enlever le couvercle ; retirer les objets, les poser sur un corps mauvais conducteur de la chaleur (bois, linge, papier) pour éviter de les refroidir brusquement et de les casser. Si un peu d'eau s'est condensée sur les bouchons ou enveloppes, porter quelques heures à l'étuve pour sécher.

Ne jamais ouvrir avant la chute complète de l'aiguille, pour éviter la décompression et ses inconvénients (Voy. plus haut, 4°). — Ouvrir le robinet avant de dévisser les boulons, sans quoi la vapeur filtre sous le couvercle et peut brûler l'opérateur.

Contrôle de la stérilisation. — La stérilisation étant le plus souvent confiée aux aides, il est bon de pouvoir la contrôler. On peut placer avec les objets à stériliser des substances fusibles à températures connues : soufre, antipyrine à 114° ; résorcine à 119°. Ou bien on emploiera le mélange suivant, dans lequel la coloration apparaît seulement si la fusion a eu lieu (Demandre) :

Pour 110°.	Benzonaphtol	100 grammes.
	Safranine	0gr,01.

Mais tous ces procédés indiquent seulement si la température voulue a été atteinte, sans préciser pendant combien de temps on l'a maintenue. Mieux vaut ajouter à chaque fournée de stérilisation un ou deux tubes de bouillon, artificiellement souillés d'une trace de terre ou de poussière (*tubes témoins*) ; on porte vingt-quatre heures à l'étuve à 37° après la stérilisation. Si cette dernière est imparfaite, les tubes donnent lieu au développement de germes, le plus souvent *B. subtilis* ou *B. mesentericus*.

Autres appareils. — A défaut d'autoclaves de bactériologie, on peut utiliser les autoclaves de chirurgie (autoclaves Sorel), en ayant soin toutefois, de ne jamais opérer de décompression.

Pour des objets très volumineux ou pour des chargements exceptionnellement importants, on utilisera avec avantage les grandes étuves à désinfection (systèmes Geneste et Herscher, Vaillard et Besson).

B. **Stérilisation par chauffage dans la vapeur d'eau à 100°.** — Elle est peu utilisée en France, où on la réserve généralement pour la gélatine, qui supporte mal les températures plus élevées. Pour obtenir une stérilisation absolue, le chauffage à 100° doit être prolongé pendant longtemps, ou bien, — ce qui vaut mieux, — on le

répète trois jours de suite (Voy. plus loin, *Chauffage discontinu*).

Stérilisateur à vapeur d'eau à 100°. — Il est très employé en Allemagne pour la stérilisation des milieux d'usage courant, en place de l'autoclave, mais sans avantage connu sur ce dernier. Il comprend (fig. 30) : un bouilleur en cuivre D, pouvant contenir 2 à 3 litres d'eau, avec tube à niveau d'eau sur le côté;

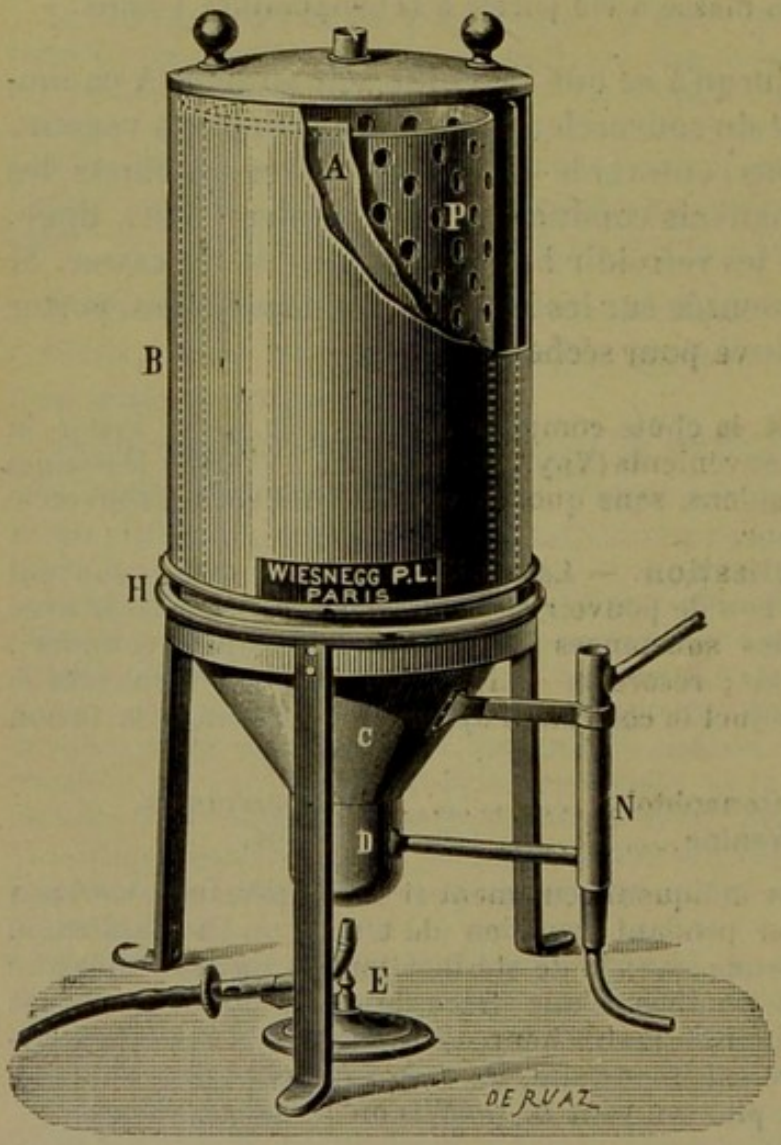


Fig. 30. — Stérilisateur à vapeur à 100°.

Surmontant le bouilleur, deux cylindres concentriques, l'extérieur B ouvert en bas, l'intérieur A ouvert en haut. En dedans de A, un panier métallique P, destiné à contenir les objets à stériliser.

Un foyer de chaleur au-dessous du bouilleur.

Pour *faire fonctionner* l'appareil : Verser de l'eau dans le bouilleur ; placer le panier, le cylindre, puis le thermomètre. Allumer. La vapeur passe en P, se condense sur la paroi B, et l'eau condensée tombe en CD. Quand le thermomètre atteint 100°, prolonger l'opération pendant le temps voulu, deux à trois heures pour la stérilisation en une seule séance.

Les bouchons d'ouate sont très mouillés ; il faut sécher à l'étuve.

C. **Stérilisation par chauffage discontinu dans la vapeur d'eau à 100°.** — Indiquée surtout pour stérilisation de la gélatine

Principe. — Le principe est dû à Tyndall : *des bactéries qui résistent à une séance de chauffage faite dans des conditions déterminées peuvent*

être détruites quand on répète à intervalles espacés et à plusieurs reprises la même opération.

Une infusion de foin, qui renferme toujours, on le sait, les spores très résistantes du *B. subtilis*, n'est pas stérilisée par un chauffage à 100° ; mais on assure la stérilisation en répétant trois fois le même chauffage, à un jour d'intervalle. — Tyndall supposait que le premier chauffage détruit les bactéries, en respectant les spores ; celles-ci germent ensuite, et un nouveau chauffage à 100° assure la destruction des bactéries nouvellement formées ; une nouvelle incubation complète la germination et un troisième chauffage complète la stérilisation. Après Duclaux, on admet plutôt aujourd'hui que l'action prolongée de la chaleur modifie les spores, en les hydratant, et les rend moins résistantes.

La température de 100° est celle de la vapeur d'eau, quand l'ébullition se fait à l'air libre.

Dans tous les cas, la stérilisation comporte au moins trois séances, de trente minutes chacune en moyenne, séparées par un intervalle de vingt-quatre heures.

Application. — La stérilisation discontinue à 100° est assurée par :

L'autoclave Chamberland fonctionnant sans pression ;

Le stérilisateur à vapeur à 100° (Voy. plus haut) ;

Ou simplement un appariteur improvisé, comportant une bassine d'eau, surmontée d'un cylindre disposé pour recevoir les objets, et chauffée par une forte flamme.

Fonctionnement de l'autoclave comme appareil à vapeur sans pression (à 100°). — Nous connaissons déjà l'autoclave.

On effectuera les temps 1° à 4° ci-dessus (p. 99) ; mais, à la fin du temps 4°, on laissera le robinet ouvert ; l'aiguille du manomètre restera au zéro, la vapeur sera à 100°. Baisser ensuite le gaz de manière à obtenir un dégagement de vapeur continu, mais léger. Maintenir le temps voulu, au plus trente à quarante minutes ; au bout de ce temps, il ne reste plus guère d'eau dans la chaudière. Éteindre, ouvrir l'appareil, traiter les objets comme ci-dessus.

D. **Stérilisation par chauffage discontinu vers 56°.** — Elle est indiquée spécialement pour le sérum sanguin, quand il n'a pu être recueilli aseptiquement.

Le sérum se coagule (ou se solidifie) vers 65°-68°. Il faut le stériliser à une température nettement inférieure, 56° à 57°.

Principe de la méthode. — Voyez ci-dessus.

Préparation du liquide à stériliser. — Le liquide devant être plongé dans l'eau sera placé en récipients scellés. On emploie généralement des ballons à long col, scellés après remplissage.

L'appareil ordinairement utilisé est le bain-marie à régulateur automatique de d'Arsonval.

Bain-marie à stérilisation de sérum. — L'appareil (fig. 31) se compose d'une chaudière en cuivre, A, communiquant latéralement avec un cylindre plus petit, C, muni d'un régulateur métallique de Roux, R (p. 144) ; dans le réservoir, un panier métallique, D, fermé en haut par un disque grillagé, E, mobile sur un axe médian. Couvercle avec thermomètre ; brûleur à gaz et conduite de gaz.

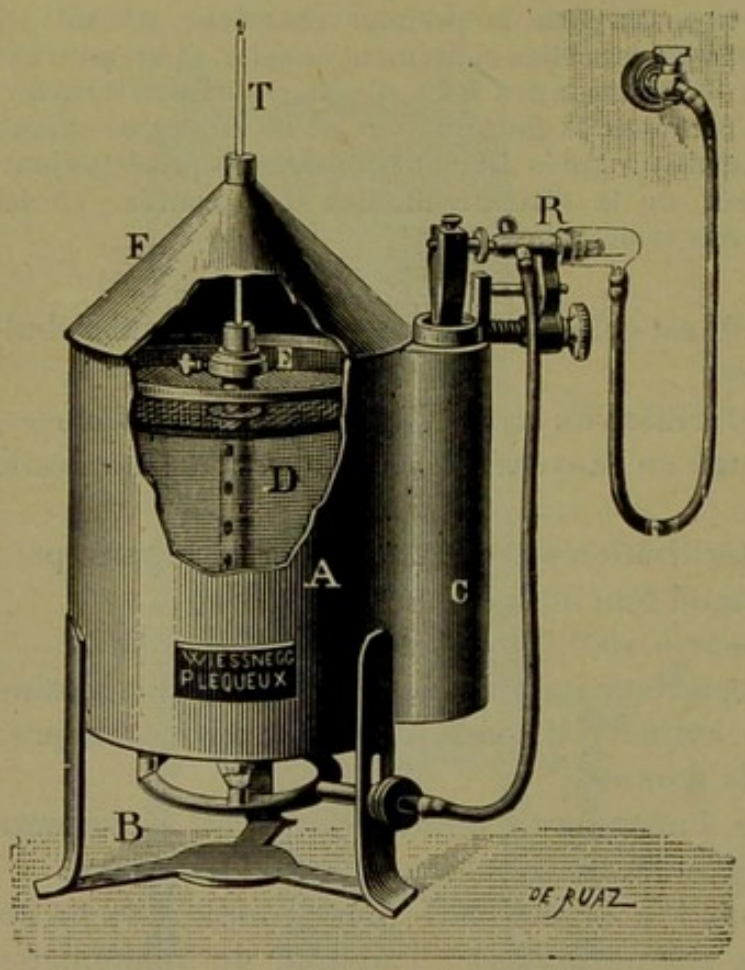


Fig 31. — Bain-marie à stérilisation de sérum.

Pour le fonctionnement : remplir d'eau aux trois quarts le réservoir ; placer les ballons (scellés à la lampe) remplis de sérum, les tenir immergés à l'aide du disque. Placer le couvercle, allumer le gaz ; surveiller le thermomètre. Quand la température atteint 58°, régler le régulateur pour cette température (Voy. p. 43 le maniement du régulateur) ; maintenir pendant une heure.

Laisser les ballons dans le bain-marie ; recommencer la même opération le lendemain, et ainsi de suite pendant sept jours.

L'appareil est réglé une fois pour toutes à la température voulue. Il suffit de surveiller de temps à autre son fonctionnement.

Nous avons supposé qu'on stérilisait le sérum en ballons. On peut également le stériliser en tubes ; dans ce cas, verser l'eau de manière que son niveau supérieur demeure assez loin des bouchons des tubes. Protéger les bouchons par plusieurs doubles de papier.

Ce procédé n'est guère valable que pour le sérum, peu favorable à la culture des saprophytes. Il serait insuffisant dans la plupart des autres cas.

E. **Ébullition.**— L'ébullition dans l'eau ordinaire assure mal une stérilisation absolue. En effet, d'après Miquel et Lafraye, il faudrait

cinq heures d'ébullition pour tuer toutes les spores du *B. subtilis*, saprophyte extrêmement répandu.

Néanmoin l'ébullition est suffisante pour désinfecter ; quelques minutes d'ébullition suffisent à détruire les microbes pathogènes. Seules persistent les spores de quelques saprophytes (*B. subtilis*, entre autres). Aussi l'ébullition est-elle utilisable dans quelques cas :

Pour tuer des cultures de microbes pathogènes, qu'il serait imprudent d'abandonner au hasard dans un laboratoire ; pour désinfecter les instruments qui doivent servir à une opération aseptique de laboratoire.

Une pratique simple consiste à disposer chaque matin un vase métallique assez large, renfermant de l'eau, pour y jeter au cours des manipulations les objets souillés hors d'usage (pipettes après prélèvements, tubes ou ballons de culture) de même que les instruments ayant servi à des prélèvements de produits pathologiques; on fait bouillir quelques minutes le soir, ou plus souvent si besoin.

On peut élever la température d'ébullition en ajoutant à l'eau certaines substances; en solution saturée, le carbonate de soude élève le point d'ébullition à 104°,6, le carbonate de potasse à 135°. Pasteur se servait d'un bain-marie à chlorure de calcium (104°). En pratique, l'usage de telles solutions salines est à peu près abandonné.

III. — STÉRILISATION PAR FILTRATION.

Dans certaines circonstances, on opère la stérilisation à travers des filtres, susceptibles de laisser passer les liquides en arrêtant les germes y contenus.

Principales indications : stérilisation de l'eau (on doit toujours posséder de l'eau stérile dans les laboratoires) ; — stérilisation des milieux liquides qui supportent mal la chaleur (sérum sanguin, sérosité d'ascite, bouillon lactosé) ; — séparation des microbes contenus dans un milieu de culture liquide, dans le but de débarrasser cette culture des corps microbiens. Il est bon de savoir que les filtres arrêtent une certaine quantité de substances organiques et albuminoïdes ; le liquide filtré peut donc différer sensiblement du liquide original.

Pour la stérilisation, on s'adresse aux bougies filtrantes.

Règles générales. — a. *Les bougies, les raccords, etc., seront toujours stérilisés au préalable.*

b. *Les liquides filtrés seront receuillis aseptiquement dans des vases stériles.*

c. *Quand le liquide à filtrer est septique, l'appareil et la bougie seront stérilisés sitôt après usage.*

Les bougies filtrantes. — Les plus usitées sont les bougies Chamberland et les bougies Berkefeld.

Les *bougies Chamberland* (fig. 32) sont en pâte de porcelaine dégourdie. Il en existe plusieurs modèles; le plus répandu est constitué par un cylindre de porcelaine dégourdie, épais de 3 à 4 millimètres en moyenne; fermé à une extrémité, le cylindre est ouvert à l'autre extrémité par une tétine en porcelaine émaillée, reliée au corps de la bougie par un anneau de même substance. Ce modèle comporte deux types différents, B et F; la pâte de la bougie B est plus compacte et par suite se laisse traverser plus difficilement; cette bougie convient aux filtrations de liquides non albumineux sous pression de plusieurs atmosphères, alors que la bougie F, plus perméable, est indiquée pour les filtrations par aspiration, ou sous pression faible, et pour les liquides albumineux.

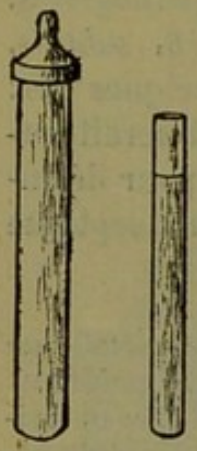


Fig. 32. — Bougies Chamberland.

Il existe en outre, pour l'usage des laboratoires, d'autres *bougies de laboratoire*, plus petites que les précédentes, en forme de cylindre ouvert à un bout, sans tétine.

Les *bougies Berkefeld* sont constituées par de la terre d'infusoires. Il en existe des modèles très variés; la plupart ont la forme des bougies Chamberland, la tétine étant remplacée par un tube métallique creux, soudé à la bougie par un ciment. Quelques modèles très petits, à marque variable suivant leur perméabilité, sont spécialement construits pour les laboratoires.

En dehors des précédentes, il existe d'autres bonnes bougies filtrantes : *bougie Garros*, en porcelaine d'amiante; *bougie Mallié*, analogue à la bougie Chamberland.

Il est bon de connaître les *avantages* et les *inconvénients* des bougies les plus employées.

La bougie Chamberland est solide, à peu près inusable, supporte bien les stérilisations et régénérations; elle est de plus peu coûteuse. Mais elle se prête difficilement à la filtration des liquides albumineux, et son débit est faible si la pression n'est pas élevée.

La bougie Berkefeld présente un débit plus considérable et filtre assez vite même sans pression; mais elle est onéreuse, extrêmement frágile, s'use vite, supporte mal la plupart des procédés de régénération et de stérilisation.

Dans tous les cas où elle peut être employée, la bougie Chamberland est préférable.

Vérification des bougies. — Il peut arriver qu'une bougie, même neuve, présente des solutions de continuité minimes, imperceptibles à l'œil nu ; au niveau de ces solutions, le liquide passerait sans filtrer, et la filtration serait inopérante. Aussi est-il nécessaire de vérifier l'étanchéité des bougies avant l'emploi, soit à l'état neuf, soit quand elles ont été soumises à l'action de la chaleur sèche.

Pour vérifier les bougies, on procède comme suit (fig. 33) : Adapter à la tétine ou au tube un tube de caoutchouc ; à l'autre extrémité de ce dernier, adapter un appareil à compression : pompe de Potain, poire de Richardson ; plonger la bougie dans un récipient plein d'eau. Comprimer l'eau dans la bougie, en manœuvrant la pompe ou la poire ; surveiller le récipient. Si la bougie est fêlée, des bulles d'air se dégagent et montent à la surface. *Une bougie fêlée est inutilisable.*

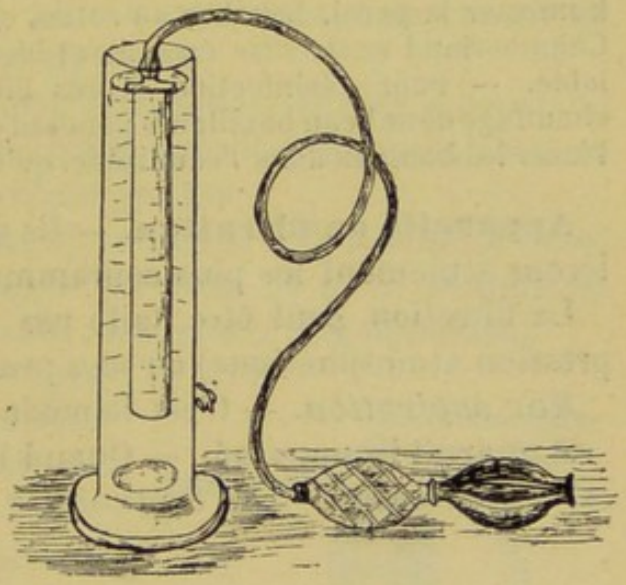


Fig. 33. — Vérification d'une bougie filtrante.

Pour certaines bougies de laboratoire, sans tétine et sans tube, on modifie un peu l'expérience : introduire dans la cavité de la bougie un bouchon en caoutchouc, entrant à frottement, et traversé par un tube de verre creux débordant des deux côtés ; relier le tube de verre à un appareil à compression, et opérer ensuite comme ci-dessus.

Entretien des bougies. — Même quand elles filtrent de l'eau claire, les bougies se colmatent ; les particules solides forment boue à la surface externe, d'autres obstruent les pores plus ou moins profondément (*encrassement*) ; on constate l'encrassement par la diminution du débit. La rapidité d'encrassement varie beaucoup suivant la qualité de l'eau et suivant la vitesse de filtration ; en moyenne, il faut nettoyer les bougies (en surface) tous les deux ou trois jours, les régénérer (en profondeur) tous les dix jours. Les mêmes opérations devront être faites chaque fois que la bougie aura filtré un liquide nutritif quelconque (bouillon, sérum).

Pour *nettoyer* les bougies : les brosser à grande eau. On peut brosser durement les bougies Chamberland ; il faut brosser doucement les bougies Berkefeld.

Pour *régénérer les bougies Chamberland*, le mieux est de les porter à haute température, de préférence au four à moufle, sinon dans la flamme du bec Bunsen ou du chalumeau ; ces procédés régénèrent très bien, le premier surtout, mais ils exposent beaucoup aux fêlures. On évitera généralement ces dernières, en séchant soigneusement les bougies à l'étuve avant de les soumettre à la régénération. Toute bougie régénérée par la chaleur sera vérifiée au point de vue étanchéité. — On peut s'adresser aux procédés chimiques : *a.* plonger les bougies pendant quelques heures, tétine surnageant, dans une solution de permanganate de potasse à 1 p. 100, puis dans une solution d'hyposulfite de soude à 5 p. 100 ; enfin laisser séjourner dans une grande bassine d'eau, pour enlever l'hy-

posulfite; *b.* on gagne du temps en procédant par aspiration (Voy. ci-dessous) : faire passer d'abord du permanganate, puis du bisulfite, puis de l'eau distillée; *c.* plonger vingt-quatre heures, tétine surnageant, dans l'acide chlorhydrique au tiers; rincer ensuite en laissant quelques heures dans l'eau.

La *régénération des bougies Berkefeld* est beaucoup plus délicate. On peut y faire passer, après brossage, une solution de carbonate de soude ou de l'eau ammoniacale (Nicolle et Remlinger).

Stérilisation des bougies. — Elle sera faite de préférence à l'autoclave; humecter la paroi, boucher au coton, envelopper de papier. — La bougie Chamberland se stérilise également bien au four Pasteur; sécher au préalable. — Pour désinfection (après filtration des liquides septiques), le chauffage dans l'eau bouillante pendant quinze minutes suffit généralement. Placer les bougies dans l'eau froide, qu'on portera peu à peu à l'ébullition.

Appareils de filtration. — Ils sont très nombreux. Nous signalerons seulement les plus couramment employés.

La filtration peut être faite *par aspiration* (c'est-à-dire sous la pression atmosphérique) ou *sous pression.*

Par aspiration. — C'est le mode d'emploi le plus fréquent.

Appareil improvisé. — Quand la quantité de liquide à filtrer est assez grande (100 centimètres cubes au moins), il est facile d'improviser un appareil (fig. 34).

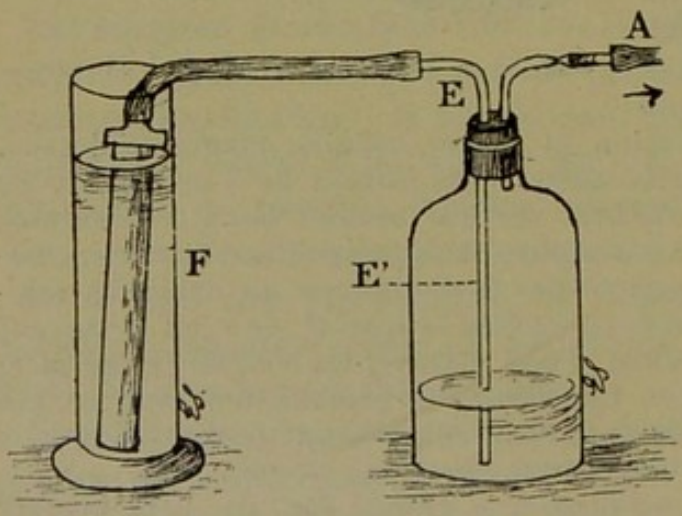


Fig. 34. — Appareil improvisé pour filtration.

Disposition. — Employer un flacon à ouverture assez large, fermer avec un bouchon en caoutchouc à deux trous, traversés chacun par un tube coudé à angle droit; l'un des tubes EE′ plonge dans le flacon (tube d'écoulement), l'autre dépasse à peine sous le bouchon (tube d'aspiration); ce dernier est muni d'un tampon de coton un peu serré, entre deux étranglements.

Prendre d'autre part un tube en caoutchouc épais; adapter une extrémité à la tétine de la bougie F, l'autre extrémité au tube d'écoulement; serrer les deux ajutages au fil fort ou au fil métallique. Stériliser le tout à l'autoclave, largement entouré de papier.

Fonctionnement. — 1° Développer l'appareil, refroidi. Verser le liquide à filtrer dans une éprouvette large. Placer la bougie dans l'éprouvette, en faisant déborder la tétine.

2° Relier le tube d'aspiration A à un appareil d'aspiration, généralement trompe à eau (p. 174; on peut utiliser la pompe de Potain). Le vide se fait dans l'ensemble de l'appareil, et le liquide filtre à travers la bougie; il s'écoule dans le flacon seulement après quelque temps, quand la bougie a été remplie. Ajouter de temps à autre le liquide à filtrer dans l'éprouvette.

3° Quand la quantité de filtrat est suffisante, arrêter la trompe à eau, enlever le caoutchouc du tube d'aspiration; l'air rentre en sifflant, mais filtré par le tampon de coton.

4° Avec les précautions d'asepsie habituelles, enlever le bouchon; le remplacer par un tampon de coton (stérilisé au préalable) ou par un bouchon de flacon répartiteur (p. 139).

Si le liquide est rare ou précieux, recueillir à la pipette le filtrat qui remplit la cavité de la bougie (environ 50 à 75 centimètres cubes pour la bougie Chamberland); transvaser aseptiquement.

Le flacon sera toujours en verre épais. Les récipients à paroi mince se brisent souvent sous l'effort de la pression atmosphérique.

On pourrait se servir d'un flacon à deux tubulures.

Répartition du liquide stérile. — Voyez, page 138, *l'usage des matras ou flacons répartiteurs.*

Dispositif a double usage. — On peut d'emblée disposer l'appareil (fig. 35) de manière à permettre d'abord la filtration, puis la répartition, sans avoir besoin de changer les bouchons : dans ce but, on ferme avec un bouchon à trois trous (ou on emploie un flacon à trois tubulures), donnant passage à trois tubes : deux disposés comme ci-dessus (écoulement et aspiration); le troisième, R, tube de répartition, plonge presque au fond et se termine à l'extérieur par une branche à angle aigu, effilée à l'extrémité, fermée. La filtration terminée, on condamne le tube d'écoulement en scellant à la lampe. La disposition du flacon est alors celle du flacon répartiteur, que nous retrouvons plus loin (p. 139).

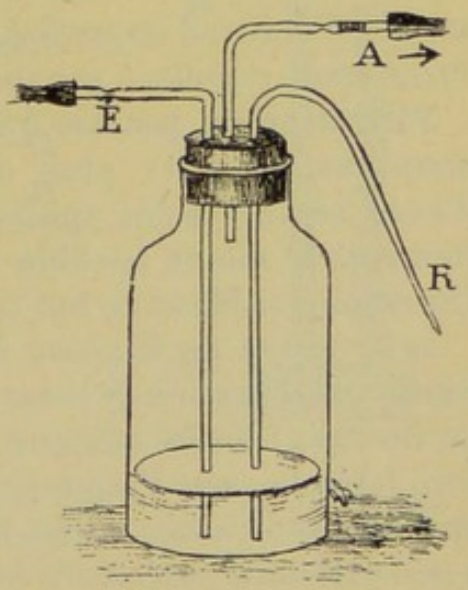


Fig. 35. — Dispositif à double usage pour filtration.

Appareils spéciaux. — La description précédente nous permettra d'être brefs sur les appareils construits spécialement.

Le mode d'emploi du filtre Martin (fig. 36) est facile à comprendre

d'après la figure. La bougie Chamberland, contenue dans une armature Chamberland (Voy. plus loin : *Filtration de l'eau*) communique par un tube de caoutchouc épais, E, avec un ballon à trois tubulures, C ; un entonnoir métallique, D, est vissé sur le fond de l'armature. La tubulure supérieure du ballon est mise en communication avec l'appareil à aspiration ; le liquide, versé dans l'entonnoir, traverse la bougie de dehors en dedans. Après filtration, le liquide peut être réparti à l'aide de la tubulure latérale, dont on cassera la pointe. Ce modèle a l'avantage d'être facilement stérilisable et de permettre une filtration continue.

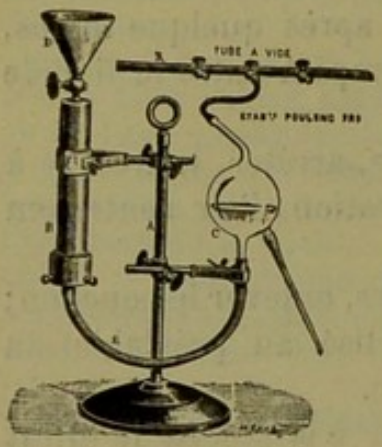


Fig. 36. — Appareil à filtration de Martin.

L'appareil de Chamberland est analogue au modèle d'appareil improvisé décrit ci-dessus, le flacon à trois tubulures étant remplacé par un ballon à trois effilures.

Filtration de petites quantités de liquide. — Pour de petites quantités, il est plus avantageux d'avoir recours à des appareils qui retiennent le moins possible de liquide. On emploiera dans ce but :

a. Le filtre de Kitasato (fig. 37). — Simple modification de la carafe à filtrer de Duclaux : flacon conique avec tubulure latérale pour l'aspiration ; le bouchon en caoutchouc, à trou large, porte à son extrémité inférieure une bougie, à son extrémité supérieure un bouchon plus petit, traversé par l'extrémité d'un entonnoir en verre.

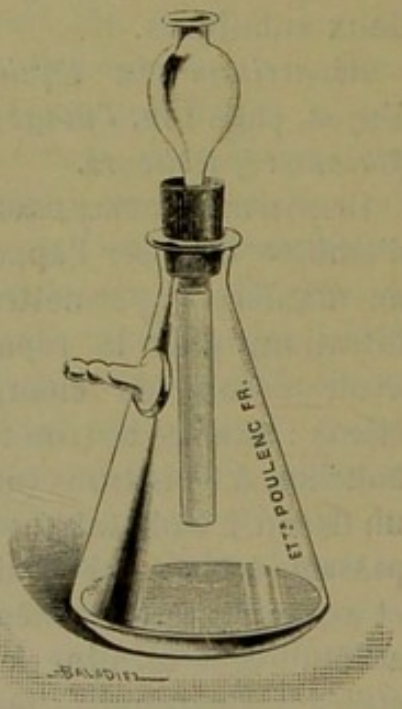


Fig. 37. — Filtre de Kitasato.

Cet entonnoir n'est pas indispensable : on peut verser directement le liquide à filtrer dans la bougie, à la pipette. Toute bougie sans tête peut être utilisée (modèles Chamberland ou Berkefeld). Remarquer que la filtration se fait ici de dedans en dehors ; l'encrassement intéresse surtout la paroi interne ; il est alors très difficile de nettoyer la bougie, il faut la régénérer (Voy. plus haut). Ne pas oublier de munir la tubulure latérale d'un tampon de coton un peu serré.

b. L'appareil dit pour essais de Martin (fig. 38). — Il comprend

une bougie de laboratoire, A, fermée en haut par un bouchon à un trou et suspendue dans un tube à essai, B; le tout est placé à l'intérieur d'un large cylindre en verre, C, portant une tubulure latérale, D, pour l'aspiration, et fermé par un bouchon à un trou. L'effilure d'un entonnoir traverse les deux bouchons et débouche dans la cavité de la bougie. En faisant le vide, le liquide versé dans l'entonnoir filtre de dedans en dehors et vient se collecter dans le tube à essai. Appareil très pratique, facilement stérilisable en totalité.

Filtration sous pression. — Son application habituelle est la filtration de l'eau. La filtration des liquides visqueux, un peu lente quand on emploie l'aspiration, est facilitée par l'emploi d'un appareil à compression (appareil de Chamberland).

Filtration de l'eau. — Pour filtrer l'eau, on peut s'adresser à l'une quelconque des bougies filtrantes signalées plus haut (1). Nous parlerons seulement du filtre Chamberland, le plus employé (fig. 39).

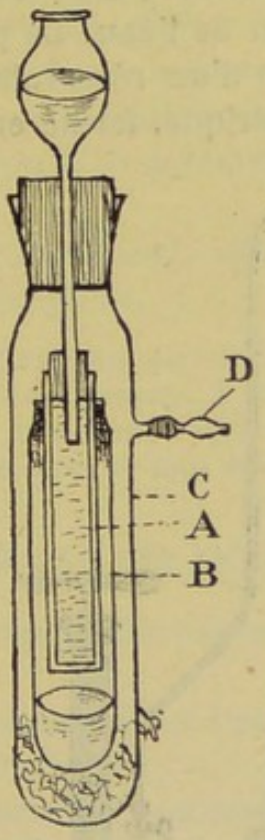


Fig. 38. — Filtre dit pour essais de Martin.

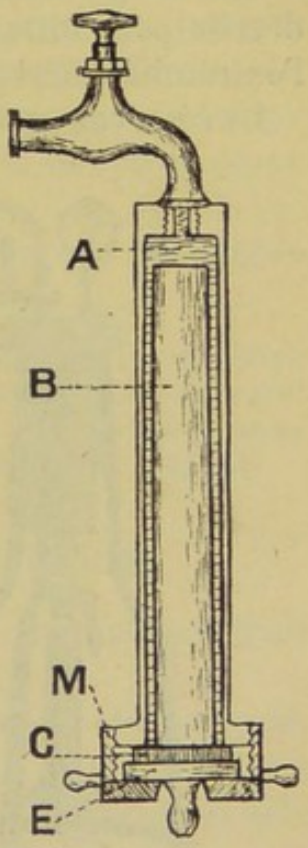


Fig. 39. — Filtration de l'eau.

La bougie, marque B, portant un anneau de caoutchouc, C, qui vient se superposer à l'embase de la tétine, E, est disposée tétine en bas dans un cylindre métallique. Ce cylindre porte à une extrémité un pas de vis, qui s'emboîte exactement sur un robinet de canalisation (robinet spécialement construit pour cet usage); l'autre extrémité, ouverte, porte à l'extérieur un autre pas de vis. Sur ce dernier, on visse une bague métallique à écrou, M, perforée pour laisser passer la tétine. En serrant fortement la bague, on comprime l'anneau de caoutchouc, qui fait joint hermétique.

Ouvrons le robinet : l'eau passe entre l'armature et la bougie, puis filtre à travers la bougie sous l'influence de la pression de la canalisation et s'échappe par la tétine.

(1) Voy. sur ce point *Précis d'hygiène*, par Macaigne, même collection.

Ne pas oublier que la bougie s'encrasse toujours au bout de quelque temps ; il faut la nettoyer et la régénérer. En outre, elle s'infecte ; les germes pénètrent peu à peu à travers la paroi, et l'eau qui passe est alors toujours infectée. Il faut donc régénérer et stériliser de temps à autre.

Appareil Chamberland pour filtration par compression. — Cet appareil comporte (fig. 40) :

Une bougie Chamberland, avec la même armature qui vient d'être décrite pour filtration de l'eau. Le pas de vis supérieur s'adapte à l'extrémité inférieure d'un réservoir cylindrique ;

Le réservoir, cylindrique, fermé en haut par un couvercle à rondelle de caoutchouc et à écrous (comme l'autoclave). Le couvercle est muni d'un orifice pour le manomètre et d'un autre relié à un appareil de compression

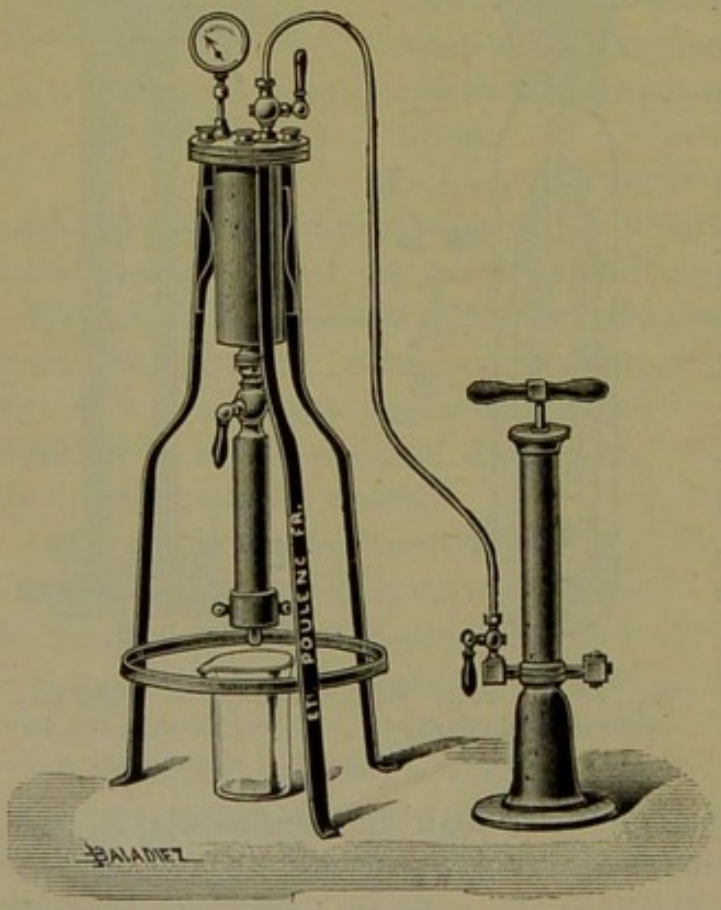


Fig. 40. — Appareil Chamberland pour filtration par compression.

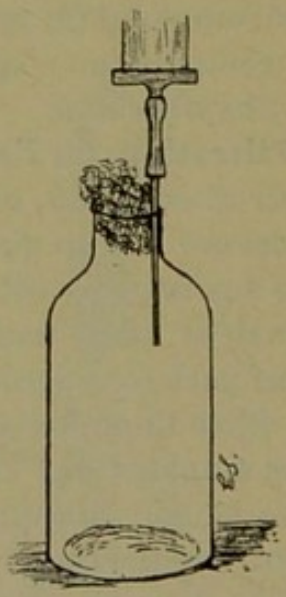


Fig. 41. — Dispositif pour recueillir les filtrats.

Un tube métallique à robinet, reliant le réservoir à l'armature; une pompe reliée au réservoir par un tube ; un support.

Le liquide filtré doit être recueilli stérilement. Entre autres procédés, on peut recommander les deux suivants :

a. Adapter à la tétine un tube de caoutchouc muni d'un tube de verre ; insinuer le tube de verre entre le goulot et le bouchon de coton d'un flacon stérilisé placé sous la bougie (fig. 41);

b. Adapter à la tétine un tube de caoutchouc; le relier à un flacon à trois tubulures, ballon de l'appareil Martin à aspiration, ou flacon improvisé de la figure 34.

Pour stériliser, il est bon de mettre à l'autoclave la bougie (avec la bague de l'armature et sa rondelle de caoutchouc) adaptée au flacon récepteur.

Fonctionnement. — Adapter la bougie dans l'armature, comme pour la filtration de l'eau; visser l'armature au tube de raccord; ouvrir le robinet de ce dernier. Verser le liquide à filtrer dans le réservoir sans remplir. Adapter le couvercle. Faire compression, jusqu'à ce que le manomètre marque 2 ou 3 atmosphères; fermer le robinet. Maintenir la pression à ce niveau en comprimant de temps à autre. Le liquide sous pression filtre à travers la bougie et passe dans le flacon récepteur.

L'opération terminée, fermer le robinet, attendre que le liquide cesse de couler dans le flacon récepteur.

Pour séparer le flacon récepteur, la manœuvre est facile si on a employé un flacon à 3 tubulures : sceller l'étranglement à la lampe. S'est-on servi d'un flacon ordinaire : enlever le bouchon, retirer le tube de verre sans mouiller la paroi, replacer le bouchon, le tout stérilement et très vite.

IV. — STÉRILISATION PAR LES ANTISEPTIQUES:

Elle occupe en bactériologie une place modeste. Les antiseptiques peuvent être employés :

1° Pour désinfecter les téguments. C'est l'antisepsie chirurgicale, qui ne présente ici rien de particulier.

2° Pour désinfecter les instruments, comme en chirurgie : la stérilisation par la chaleur est préférable.

3° Pour stériliser des récipients peu accessibles aux modes habituels de stérilisation : cloches par exemple. On lave alors les parois avec un antiseptique non volatil (sublimé à 1 p. 1 000).

4° Pour maintenir stériles certaines substances thérapeutiques : sérums antitoxiques, vaccins bactériens (addition de phénol, acide thymique, camphre, tricrésol).

5° Pour stériliser certains microbes sans altérer sensiblement leurs cultures. On emploiera alors des antiseptiques volatils, susceptibles d'être éliminés après avoir agi, comme l'a indiqué E. Roux (éther, chloroforme, essences d'ail, de moutarde).

6° Pour stériliser les cultures qu'on ne veut pas conserver vivantes : tous les antiseptiques sont utilisables.

7° Pour fixer des cultures à un stade donné, sans leur permettre de pousser davantage (pour collections par exemple) : les vapeurs de formol suffisent.

CHAPITRE VII

MILIEUX DE CULTURE

Les microbes, pour se développer, ont besoin d'aliments. Dans les laboratoires, ces aliments leur sont fournis par nos milieux nutritifs, ou milieux de culture.

Les milieux de culture sont très nombreux. Certains peuvent être utilisés pour la plupart des espèces; nous les étudierons dans ce chapitre. Les milieux spéciaux à tel ou tel microbe seront décrits avec ce microbe (Voy. *Bactériologie spéciale*).

Classification. — *a*. Nous étudierons les *milieux non albumineux* et les *milieux albumineux*, — suivant l'absence ou la présence d'une albumine coagulable par la chaleur. Le mode d'obtention et de stérilisation de ces deux catégories de milieux est, en effet, essentiellement différent.

b. Les uns et les autres comprennent des milieux *liquides* et des milieux *solides*. — Toutefois, cette distinction n'est utile que pour les milieux non albumineux. Les milieux albumineux solides les plus habituels ne diffèrent en effet des milieux liquides que par leur état physique, non par leur composition.

c. Les milieux albumineux peuvent être employés tels quels (*milieux albumineux purs*), ou additionnés d'autres substances (*milieux albumineux composés*).

d. La plupart des milieux non albumineux sont *artificiels* ; quelques-uns seulement sont *naturels*, c'est-à-dire employés tels qu'ils existent dans la nature.

Au contraire, tous les milieux albumineux purs sont *naturels*.

Nous étudierons les milieux de culture dans l'ordre suivant :

I. — *Milieux non albumineux liquides.* { artificiels. { animaux. / végétaux. / définis. ; naturels. }

II. — *Milieux non albumineux solides.* { artificiels. ; naturels. }

III. — *Milieux albumineux purs.*

IV. — *Milieux albumineux composés.*

Répartition des milieux de culture. — Une fois préparés, les milieux de culture sont *répartis* dans des récipients, variables suivant leur destination, et qui seront indiqués en temps utile, spécialement aux chapitres IX et X. Pour le moment, nous supposons que la répartition est toujours faite en tubes à essais.

PRÉPARATION.

I. — MILIEUX NON ALBUMINEUX LIQUIDES.

Milieux artificiels.

Pour la clarté de l'exposition, il est commode de distinguer les milieux *animaux*, les milieux *végétaux* et les milieux *à composition chimique définie*.

Milieux animaux. — Le plus important, de beaucoup, est le bouillon peptoné salé, généralement appelé « bouillon » purement et simplement; il est journellement employé dans tous les laboratoires.

Bouillon peptoné salé (bouillon ordinaire). — On le prépare habituellement de la manière suivante :

a. Prendre 500 grammes de viande, débarrassée des os, tendons, aponévroses et de la graisse. Hacher finement, à l'aide du hachoir ou d'un hache-viande.

b. Mélanger avec 1 000 grammes d'eau. Laisser macérer à froid (glacière en été) pendant douze heures. — Si l'on est pressé, faire macérer à chaud (50° à 55°), une demi-heure.

c. Porter ensuite sur le feu. Amener lentement à l'ébullition et faire bouillir à feu doux pendant dix minutes, en agitant constamment. Cette opération a pour but de coaguler les albuminoïdes.

d. Verser le mélange sur un linge propre, blanc; exprimer fortement et recueillir le liquide dans une marmite émaillée.

e. Ajouter, pour 1 000 grammes :

Peptone.....	20 grammes.
Chlorure de sodium.....	5 —

Faire dissoudre à feu doux en agitant constamment.

On recommande souvent d'ajouter également 1 gramme de phosphate de soude.

f. Passer sur filtre Chardin mouillé (pour arrêter les graisses), sur un entonnoir en verre.

g. Alcaliniser légèrement. Pour cela, verser petit à petit une solu-

tion de soude pure au dixième, en vérifiant sans cesse la réaction au papier de tournesol. Quand les deux papiers rouge et bleu ne virent plus, ajouter encore un peu de soude, de manière à obtenir une réaction légèrement alcaline. — L'alcalinisation est le temps le plus délicat. Ne pas la confier aux aides, à moins qu'ils ne soient très exercés.

On peut employer, au lieu de soude, le carbonate de soude.

h. Porter à l'autoclave, en boîte à lait (sinon en ballon ou matras) ; chauffer à 117° pendant quinze minutes.

Ce premier chauffage précipite les phosphates terreux, qui troublent le milieu. Couvrir le récipient pour le chauffage.

i. Au sortir de l'autoclave, filtrer à nouveau sur papier Chardin. Recueillir dans des ballons ou vases à précipiter.

Ramener à 1 000 centimètres cubes par addition d'eau distillée.

j. Répartir en tubes ou ballons, boucher, stériliser.

k. La *stérilisation* sera faite à 115° pendant vingt minutes. Prendre garde de ne pas dépasser la température atteinte pendant le temps *h*, sans quoi le bouillon se troublerait à nouveau.

Le milieu obtenu doit être clair, jaune brunâtre.

Bouillons de cheval, de veau, de poule, etc. — Ils se préparent exactement de la même manière que le précédent, en substituant à la viande de bœuf respectivement les viandes de cheval, de veau ou de poule.

Le bouillon de cheval est souvent utilisé parce que la viande de cheval coûte généralement moins cher que toute autre. Ce bouillon est plus riche que les autres en sucre ; si on veut l'utiliser pour préparation des milieux sucrés, il faut le désucrer au préalable (Voy. plus loin, *Bouillon Martin*).

Bouillons de viscères. — Ils sont fabriqués comme le bouillon ordinaire, en substituant à la viande des viscères hachés : foie, rate, muqueuse intestinale, etc. ; ces bouillons demeurent presque toujours opalescents.

Bouillon aux extraits de viande. — Très employé en Allemagne, il a l'avantage d'être rapidement prêt, mais sa valeur nutritive est généralement moindre que celle du bouillon ordinaire ; sa teneur en sel est parfois assez élevée (il est toujours facile de s'en assurer). L'*extrait Liebig* est le plus utilisé.

Peser 5 grammes d'extrait, faire dissoudre à chaud dans 1 litre d'eau. Vérifier la réaction, alcaliniser si besoin. Chauffer cinq minutes à 117°. Passer à chaud sur filtre épais mouillé. Répartir et stériliser à 115°.

Il est bon d'ajouter, au premier temps, peptone et sel marin.

Toutes les substances animales se prêtent à la fabrication des bouillons, sur les mêmes bases que ci-dessus : poissons, moules, etc. Usage restreint.

Bouillons sucrés. — Ajouter au bouillon ordinaire 2 p. 100 de sucre : *glucose*, *lactose*, *dulcite*, *mannite*, etc.

L'addition pourra être faite pendant la fabrication des bouillons, au temps *i*, ou bien on ajoutera le sucre au bouillon tout préparé.

Pour des recherches précises, il faut d'abord faire disparaître les sucres normalement contenus dans la viande. On peut se contenter de laisser la viande à macérer à 37° (au lieu de faire macérer à froid), ou bien ensemencer le filtrat d'une culture de colibacilles typiques et mettre quelques heures à l'étuve.

Bouillon glycériné. — Préparer comme les précédents, en substituant aux sucres 6 p. 100 de glycérine neutre.

Bouillons sucrés carbonatés. — Répartir en tubes le bouillon sucré; ajouter à chaque tube une pincée de carbonate de chaux. Boucher et stériliser.

On emploie surtout les bouillons carbonatés, *lactosé* et *glucosé*.

Eau peptonée. — Pour 1 000 grammes d'eau, ajouter :

Peptone	10 grammes.
Sel marin	5 —

On emploie généralement les peptones Chapoteaut ou Defresne.

Faire dissoudre à feu doux, en agitant. Porter à l'ébullition.

Répartir et stériliser à l'autoclave.

L'alcalinisation est en général inutile, le milieu étant un peu alcalin, mais il est toujours prudent de vérifier.

Voyez, pour d'autres solutions peptonées, *Vibrion cholérique*, *Colibacille* et *Bacille typhique*.

Bouillon Martin. — Primitivement destiné à l'obtention de la toxine du bacille diphtérique, il est aujourd'hui couramment employé pour un grand nombre d'autres germes, spécialement en vue d'étudier les toxines.

On prépare d'abord une solution de peptone et une macération de viande.

Préparation de la solution de peptone. — 1° Prendre cinq estomacs de porcs, laver, hacher finement muqueuse et musculeuse;

2° Faire le mélange suivant :

Estomac de porc haché	200 grammes.
HCl à 16° B.	10 centimètres cubes.
Eau à 50°	1 000 — —

Il n'y a aucun inconvénient à ajouter de la viande, ou des fragments de viscères ; la valeur nutritive est plus grande.

3° Placer douze à vingt-quatre heures à 50°. La pepsine (provenant de la muqueuse stomacale) digère plus activement à cette température.

4° Chauffer à 100° (pour détruire la pepsine). Passer sur tamis ou sur coton hydrophile.

5° Alcaliniser à 80° environ ; filtrer sur papier-filtre.

Préparation de la macération de viande. — 1° Hacher 500 grammes de viande, mélanger à 1 litre d'eau.

2° Chauffer à 37° et maintenir vingt heures à l'étuve à 37°.

A 37°, la viande fermente légèrement, et les sucres sont détruits : le bouillon est désucré.

3° Exprimer, recueillir le liquide.

4° Ajouter 5 grammes de sel marin.

Mélange. — 1° Mélanger à parties égales la solution de peptone et la macération de viande, préparées comme il vient d'être dit. Chauffer à 70°.

2° Filtrer sur papier Chardin. Neutraliser exactement, à la soude.

3° Le liquide étant neutre au tournesol, ajouter, par litre, 7 centimètres cubes de solution normale de soude (à 40 p. 1 000).

4° Porter à l'autoclave à 117° pendant quinze minutes. Filtrer au sortir de l'autoclave.

5° Répartir, stériliser à 115°.

Il est parfois préférable de stériliser par filtration sur bougie après le temps 3.

Macération de viande. — Rarement employée aujourd'hui.

Faire macérer à froid, pendant douze heures, 500 grammes de viande dans 1 litre d'eau. Exprimer, filtrer sur papier-filtre épais. Ajouter 0,5 p. 100 de sel marin. Chauffer doucement à 60°. Stériliser par filtration.

Milieux végétaux. — Ils sont peu utilisés, leurs qualités nutritives étant généralement assez faibles. Principales préparations :

Infusion de foin et de paille. — Hacher 15 à 20 grammes de foin ou de paille, laisser macérer deux heures dans 1 litre d'eau. Faire bouillir quelques minutes. Filtrer. Répartir. Stériliser.

Infusion de pommes de terre ou de carottes. — Râper pommes de terre ou carottes. Faire macérer 10 à 20 grammes de pulpe dans 500 grammes d'eau, pendant deux heures. Exprimer sur un linge. Faire bouillir. Filtrer sur papier. Répartir. Stériliser à l'autoclave.

Eau de malt. — A 100 grammes d'eau, ajouter 10 grammes d'orge germée, préalablement broyée. Chauffer une heure à 55°-58° ; la diastase transforme l'amidon en maltose (ne pas dépasser 58°, pour ne pas détruire la diastase). Faire bouillir quelques minutes. Filtrer. Répartir. Stériliser à l'autoclave.

Infusion de touraillons. — A 100 grammes d'eau, ajouter

5 grammes de touraillons (plantules d'orge germée). Le reste de la préparation, comme pour l'eau de malt.

Eau de levure. — Délayer la levure dans dix fois son poids d'eau. Faire bouillir en agitant. Filtrer, répartir et stériliser.

Bouillon de haricots. — Incorporer à 1 litre d'eau 50 à 60 grammes de haricots blancs. Faire macérer quelques heures. Porter à l'ébullition, maintenir pendant trente minutes. Passer sur tamis. Ajouter 2 p. 100 de saccharose, 1 p. 100 de sel marin et un peu (traces) de bicarbonate de soude. Filtrer. Répartir. Stériliser.

Milieux chimiquement définis. — Les milieux d'usage courant, issus de la viande, des végétaux, des produits organiques, ont une constitution complexe ; leur formule chimique est ignorée. Dans le but d'étudier de plus près la biologie des microbes, il peut être utile de posséder des milieux de culture de composition chimique définie ; les modifications survenues dans ces milieux, à la suite du développement des germes, seraient alors plus facilement appréciables. Malheureusement, la plupart des milieux de cet ordre conviennent surtout aux champignons, fort peu aux microbes ; aussi leur usage en bactériologie est-il actuellement fort restreint. Quelques-uns d'entre eux seulement se prêtent au développement de plusieurs espèces microbiennes ; c'est à ces derniers que nous nous limiterons, en y ajoutant quelques milieux d'un intérêt historique.

Leur préparation, une fois la formule connue, ne demande qu'une chose : respecter la formule.

Liquide de Pasteur.

Eau	100 grammes.
Sucre candi	10 —
Tartrate d'ammoniaque	0gr,10
Cendres de levure	0gr,075

Liquide de Cohn.

Eau distillée	100 grammes.
Phosphate de potasse	0gr,50
Phosphate tricalcique	0gr,05
Sulfate de magnésie	0gr,05
Après dissolution, ajouter :	
Tartrate d'ammoniaque	1 gramme.

Liquide d'Ouchinsky.

Eau	1000 grammes.
Glycérine	30 à 40 —
Chlorure de sodium	5 à 7 —

Chlorure de calcium	0gr,1
Sulfate de magnésie	0gr,02 à 0gr,4
Phosphate bipotassique	2 gr. à 2gr,5
Lactate d'ammoniaque	6 à 7 grammes.
paragine	3 à 4 —

Liquide de Frænkel et Voges.

Lactate d'ammoniaque	6 grammes.
Chlorure de sodium	5 —
Asparagine	4 —
Phosphate neutre de soude	2 —
Eau distillée	1000 —

Milieux naturels.

Lait. — Il est très employé. Il se prépare habituellement de la manière suivante :

1° Prendre 500 grammes de lait ; vérifier la réaction, qui doit être neutre ou légèrement alcaline.

Le lait du commerce est plus ou moins acide, ce qui est dû à la pullulation de bactéries dédoublant la lactose, largement répandues dans la nature. Un lait acide est inutilisable, parce que les altérations produites par ces bactéries peuvent gêner le développement ultérieur des autres microbes.

2° Répartir en tubes de 8 à 15 centimètres cubes.

3° Boucher, stériliser à l'autoclave.

Maintenir les tubes stérilisés pendant quarante-huit heures à l'étuve ; la stérilisation habituelle (quinze minutes à 115°) est parfois insuffisante, et un chauffage plus énergique altérerait sensiblement le milieu. La non-stérilité serait démontrée par la coagulation des tubes non stériles.

Pour certains microbes délicats, on peut avoir intérêt à ne pas chauffer à 115°, ni même à 100°. On stérilisera alors par chauffage discontinu à 58°, comme pour le sérum, mais ce procédé de stérilisation n'est pas bien sûr pour le lait. En dehors du chauffage à 115°, la stérilisation ne serait bien assurée que par chauffage discontinu à 100°.

On recommande souvent aussi de prélever le lait aseptiquement, de manière à pouvoir l'employer cru et stérile, sans qu'il soit besoin d'une stérilisation ultérieure. Il est prudent de n'accorder à cette méthode qu'un crédit limité ; la traite véritablement aseptique n'est guère réalisable, même en faisant usage d'appareils à mulsion stérilisables.

Lait tournesolé. — Au lait cru, ajouter la quantité de teinture

de tournesol sensible nécessaire pour donner une teinte nettement violacée. Opérer ensuite comme ci-dessus.

Petit-lait. — Employé surtout après addition de tournesol : *petit-lait tournesolé* (milieu de Pouuschky).

1° Prendre 1 100 grammes de lait.

2° En prélever 100 grammes; porter à l'ébullition et l'y maintenir; ajouter petit à petit une solution d'acide chlorhydrique au dixième contenue dans une éprouvette de Mohr. Agiter constamment. Arrêter quand la coagulation apparaît. Constater quelle quantité exacte, *a*, de la solution chlorhydrique a été employée.

3° Dans un autre récipient, porter à l'ébullition les 1 000 grammes restants. Ajouter la quantité de solution chlorhydrique représentant neuf fois *a*. En agitant constamment, ajouter ensuite *goutte à goutte* de la solution, jusqu'à ce que le liquide se coagule.

Cette manière de faire a pour but d'apprécier approximativement, par une épreuve préalable, combien il faut employer d'acide. Il est ensuite plus facile d'ajouter la quantité complémentaire juste suffisante. L'addition d'un excès d'acide serait nuisible, même après neutralisation.

4° Laisser reposer quelques heures à la glacière, puis décanter le liquide exsudé; filtrer. Il faut plusieurs filtrations successives pour obtenir un milieu à peu près clair.

5° Neutraliser. Ajouter la quantité de teinture de tournesol juste nécessaire pour teinter.

6° Répartir en tubes, stériliser par chauffage discontinu à 100°.

On peut également se procurer dans le commerce le petit-lait tournesolé tout préparé.

Urine. — Très employée aux débuts de la bactériologie (notamment par Pasteur), l'urine est à peu près abandonnée aujourd'hui.

Le chauffage modifiant sensiblement sa composition, il est préférable de la stériliser par filtration.

On pourra essayer, sans grand espoir de réussite, d'obtenir une urine stérile par cathétérisme aseptique. En ce cas, vérifier la stérilité en maintenant les tubes deux jours à l'étuve avant usage.

II. — MILIEUX NON ALBUMINEUX SOLIDES.

Milieux artificiels.

Ces milieux représentent les milieux liquides, *solidifiés* par addition de gélatine ou de gélose.

Milieux solides animaux. — *Gélatine.* — En incorporant aux milieux liquides une certaine proportion de gélatine, on obtient des milieux qui demeurent solides au-dessous d'une température déterminée (en moyenne 25°) et se liquéfient au-dessus.

Les milieux à base de gélatine ne supportent pas la température de l'étuve à 37°.

Gélatine ordinaire. — On désigne ainsi, ou encore simplement *gélatine*, le bouillon, solidifié par addition de gélatine.

Procédé de choix. — *a* à *c*. Comme pour le bouillon (Voy. p. 115).

d. Jeter sur un linge propre, exprimer, recueillir dans un vase émaillé.

e. Chauffer doucement (ne pas dépasser 80° environ). Ajouter pour 1 litre :

Peptone.....	20 grammes.
Sel marin.....	5 —
Gélatine.....	120 —

On utilisera exclusivement la gélatine *extra-fine* du commerce.

Faire dissoudre, en agitant constamment, et sans dépasser la température indiquée.

f. Neutraliser. — C'est un temps délicat. Ajouter peu à peu la solution de soude, en vérifiant constamment la réaction au tournesol. S'arrêter quand la réaction est neutre.

g. Porter à l'autoclave ; chauffer dix minutes à 112°. Les albumines de la viande se coagulent et collent le milieu.

h. Au sortir de l'autoclave, filtrer sur papier-filtre ordinaire.

La filtration se fait généralement bien à la température ambiante. Si la gélatine fait prise, filtrer comme il sera dit pour la gélose.

Exceptionnellement, il peut arriver que le liquide filtré ne soit pas clair. Coller alors au blanc d'œuf, comme nous le verrons pour la gélose ; porter à nouveau à l'autoclave et filtrer.

i. Répartir. Stériliser à 110° pendant dix minutes. Ne pas dépasser 110°.

j. Au sortir de l'autoclave, maintenir droits les tubes de gélatine droite ; maintenir inclinés les tubes de gélatine inclinée (Voy. *Gélose*), jusqu'à solidification complète. Conserver au frais.

Variantes. — 1° En été, on peut employer 14 p. 100 ; en hiver, 8 p. 100 de gélatine. Le point de fusion s'élève d'autant plus qu'il y a plus de gélatine. Mais au delà de 15 à 18 p. 100, les colonies microbiennes sont moins typiques.

2° Si l'on a une provision de bouillon, on peut se contenter d'ajouter au bouillon 12 p. 100 de gélatine. Neutraliser (la gélatine est acide). Coller au blanc d'œuf. Le reste comme ci-dessus.

3° Pour la stérilisation, il peut être préférable d'employer le

chauffage discontinu à 100°, qui abaisse le point de fusion moins que le chauffage à 110°.

4° On peut, au lieu de bouillon, utiliser les *extraits de viande* (Voy. *Bouillon aux extraits de viande*), plus 12 p. 100 de gélatine; neutraliser.

Autres milieux à base de gélatine. — En principe, tous les milieux liquides peuvent être solidifiés par addition de gélatine.

En pratique, le seul milieu gélatiné d'usage courant est la gélatine ordinaire, que nous venons de décrire.

D'autres milieux ont été préconisés : milieux d'Elsner (gélatine et purée de pommes de terre), milieu de Grimbert (modification du précédent), milieu de Rémy, milieu de Nœggerath, etc. On en trouvera la description dans tous les traités de bactériologie un peu anciens. Ces milieux étant à peu près inutilisés aujourd'hui, il nous paraît peu nécessaire de les décrire.

Gélose. — La *gélose* est une matière gélatineuse extraite de l'*agar-agar*, produit qui vient d'une algue des mers des Indes, *Gelidium spiniforme*. En pratique, les mots « gélose » et « agar-agar » sont synonymes.

La gélose du commerce se présente sous forme de filaments secs, durs, grisâtres. Elle peut absorber, en se gonflant, une grande quantité d'eau, environ 200 à 250 fois son poids. La *gelée* ainsi produite se liquéfie à chaud, à 65° au 70°; refroidie, elle demeure en surfusion jusque 40° ou 42°, et se solidifie à des températures inférieures. Aussi les milieux à base de gélose supportent-ils toute température inférieure à 65°. Ils permettent en particulier, contrairement à la gélatine, les cultures à 37°, ce qui constitue leur avantage essentiel.

Inconvénients : la gelée est difficile à filtrer. Elle demeure toujours un peu louche, mais le collage assure une transparence très suffisante.

Peu ou pas nutritive, la gélose constitue avant tout un support pour les milieux nutritifs.

Gélose ordinaire. — C'est le bouillon ordinaire, solidifié par addition de gélose.

I. **Procédé de choix.** — *a* à *g*. Comme pour le bouillon ordinaire (p. 115).

h. Peser 15 grammes de gélose sèche. Faire macérer pendant quelques heures dans l'eau. Exprimer.

Ajouter cette gélose (lavée et gonflée) au filtrat, alcalinisé. Porter sur le feu; faire bouillir à feu très doux, en agitant constamment jusqu'à dissolution complète.

Vérifier la réaction. Elle doit être légèrement alcaline (certaines géloses sont acides et pourraient acidifier sensiblement le milieu).

i. Laisser refroidir vers 60°. Casser un œuf, recueillir le blanc dans 50 à 100 centimètres cubes d'eau ; ajouter au liquide refroidi à 60°. Mélanger.

j. Porter à l'autoclave à 118° pendant quinze minutes. Ne pas trop remplir les récipients ; la gélose, très visqueuse, tend à déborder quand on ouvre le robinet de vapeur.

L'albumine de l'œuf se coagule en gros flocons, entraînant les particules solides; c'est le *collage*.

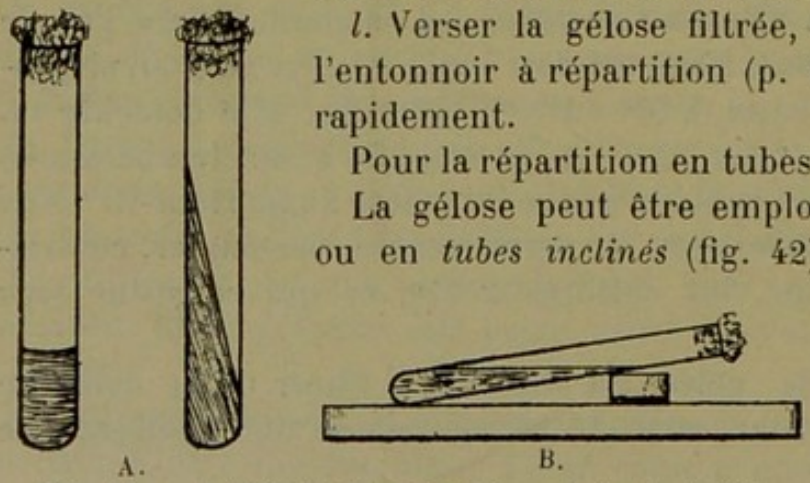
k. Au sortir de l'autoclave, filtrer à chaud sur filtre Chardin mouillé. La gélose se solidifiant facilement, la filtration est difficile à la température ambiante ; on peut opérer ainsi :

Disposer le filtre sur un entonnoir en verre ; placer l'entonnoir sur un récipient (matras à col court, vase à précipiter, etc.) supportant bien la chaleur; mettre le tout dans l'autoclave, encore chaud ; verser la gélose sur le filtre, couvrir (plaques de verre, compresse); poser le couvercle de l'autoclave, sans écrous, robinet ouvert ; chauffer doucement. Ouvrir de temps à autre pour surveiller la marche de la filtration.

l. Verser la gélose filtrée, très chaude, dans l'entonnoir à répartition (p. 139). Répartir très rapidement.

Pour la répartition en tubes :

La gélose peut être employée en *tubes droits* ou en *tubes inclinés* (fig. 42). Verser par tube sur une hauteur de 4 travers de doigt pour les tubes droits, 3 travers de doigt pour les tubes inclinés.



A. B.

Fig. 42. — A. Tube de gélose droit (à gauche) et incliné (à droite). — B. Inclinaison des tubes de gélose.

Si la répartition était trop laborieuse (température très basse), utiliser l'entonnoir à filtration chaude (Voy. ci-dessous).

m. Stériliser à l'autoclave, 115° pendant vingt minutes.

n. Au sortir de l'autoclave :

Maintenir droits les tubes de *gélose droite* ;

Pour les tubes de *gélose inclinée* : les incliner, ouverture en haut, de telle sorte que le bec de la gélose s'arrête à quelques centimètres du bouchon d'ouate (fig. 42).

Se servir comme supports de baguettes de verre, de règles, etc. Maintenir inclinés pendant vingt-quatre heures. Relever ensuite.

Variantes. — 1° Si l'on possède du bouillon tout préparé, simplifier les opérations : les temps *a* à *g* ci-dessus sont supprimés. A partir du temps *h*, comme ci-dessus.

2° La proportion de gélose n'a rien d'immuable. On pourra ajouter depuis 0,4 (milieu à peine solide) jusqu'à 4 p. 100 (milieu très solide), suivant les indications. Si le milieu doit être additionné ultérieurement d'un autre liquide (sérum, sang), employer 3 à 4 p. 100 de gélose.

3° Dans le but de faciliter l'adhérence aux parois, on peut ajouter 2 p. 100 de gélatine (au temps *h*), ou, plus simplement, laisser sécher les bords par séjour à l'étuve. Ce procédé est surtout indiqué pour les cultures dans le vide.

4° Pour faciliter la filtration et la répartition, on peut employer l'**entonnoir à filtration chaude** (fig. 43).

C'est un entonnoir en cuivre, portant une tubulure latérale, elle-même munie d'une branche montante ; placer l'entonnoir en verre dans l'appareil ; assujettir le col de l'entonnoir au col de l'appareil à l'aide d'un bouchon fermant hermétiquement ; remplir d'eau l'espace vide entre l'entonnoir et l'appareil. Chauffer la tubulure latérale sans atteindre l'ébullition. Quand l'entonnoir en verre est chaud, verser la gélose ; continuer à chauffer jusqu'à la fin de l'opération.

Il existe un grand nombre d'autres modèles d'entonnoirs à filtration chaude (avec double paroi ; avec serpentin à circulation de vapeur d'eau ; etc.).

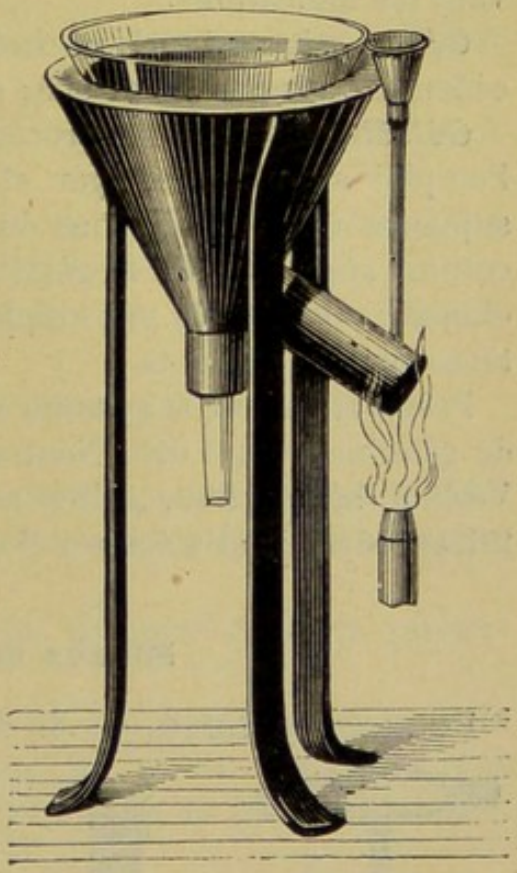


Fig. 43. — Entonnoir à filtration chaude.

5° *Pour éviter la filtration*, l'opération ayant été conduite comme ci-dessus jusqu'au temps *i* inclus, opérer comme suit :

Placer la gélose dans un entonnoir en verre, coupé au ras du col, la petite ouverture obturée par un bouchon de liège ; porter à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes ; ouvrir le robinet de l'autoclave, enlever le couvercle, enlever la rondelle, replacer le couvercle (sans rondelle) ; laisser refroidir dans l'appareil (pendant la nuit par exemple). — La majeure partie des précipités tombent dans l'effilure du cône. — Renverser l'entonnoir ; vider de son contenu, en frappant d'un coup sec ; enlever l'entonnoir. Abraser toute la partie complètement opaque (pointe du cône) ; abraser, patiemment, les dépôts opaques aberrants. — Découper la partie claire, faire fondre, répartir et stériliser.

Avec le milieu ainsi préparé, il y a au fond des tubes un léger dépôt ; le reste du milieu est clair. C'est suffisant pour les cultures courantes.

Si on voulait un milieu très transparent : découper à la surface (base du cône) des fragments bien clairs ; les répartir en tubes ; stériliser.

Cette préparation simplifiée peut être utilisée avantageusement.

Autres milieux à base de gélose. — *Gélose glycérinée.* — Ajouter 4 à 6 p. 100 de glycérine au bouillon ordinaire. Opérer ensuite comme ci-dessus (variante 1°).

Géloses sucrées. — Préparer comme la précédente, en substituant à la glycérine 2 p. 100 de sucre (glucose, lactose, etc.). Pour l'étude des fermentations sucrées, il est prudent d'employer un bouillon privé de sucre (Voy. p. 117). Tubes droits ou inclinés, suivant les indications.

Gélose glucosée glycérinée. — Elle se prépare comme les précédentes : glucose, 2 p. 100; glycérine, 5 p. 100.

Gélatine-agar. — Le procédé mixte, solidification du bouillon par l'emploi simultané d'agar et de gélatine, donne un milieu qui supporte une température de 37°. La gélatine-agar a été indiquée comme succédané de la gélatine ordinaire en été ou dans les pays chauds ; elle est très peu employée, les colonies perdant leurs caractères les plus saillants.

Préparer comme la gélatine ordinaire, temps *a* à *d*, avec 80 grammes de gélatine pour 1 000. Neutraliser. Ajouter 5 grammes de gélose. Vérifier la réaction, coller au blanc d'œuf, porter à l'autoclave, filtrer, répartir et stériliser (Voy. *Gélose*).

Milieux solides naturels.

Pomme de terre. — 1. **Procédé de choix.** — *a.* Prendre des pommes de terre assez grosses, bien mûres, de variété blanche. Nettoyer la surface dans l'eau, éplucher.

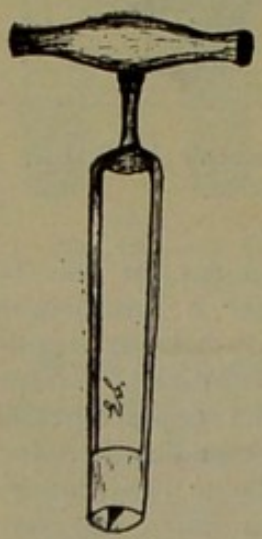


Fig. 44. — Emporte-pièce pour préparation des pommes de terre.

Fig. 45. — Tube à pomme de terre.

b. Avec l'emporte-pièce spécial (fig. 44), découper des morceaux demi-cylindriques. Laver largement à l'eau, essuyer au papier-filtre.

c. Mettre en tubes de Roux (fig. 45). La pomme de terre se pose sur l'étranglement; l'eau d'exsudation tombe au fond.

d. Stériliser (vingt minutes à 120°).

e. Au sortir de l'autoclave, disposer les tubes de manière que la face plane soit en bas; si la face convexe adhère au tube, la détacher en frappant un coup sec sur le tube. Laisser vingt-quatre heures dans cette position, relever ensuite.

Cette manœuvre a pour but d'empêcher la face convexe d'adhérer au tube et de permettre au morceau de se tenir droit ; sans quoi il s'incurverait.

Certaines pommes de terre sont très acides : faire baigner les morceaux pendant plusieurs heures dans une solution de soude à 5 p. 1000.

L'emploi de l'emporte-pièce et du tube de Roux n'est pas absolument indispensable, mais tous deux sont trop commodes pour n'être pas prévus dans les laboratoires.

II. **Autre procédé.** — Pour cultures en large surface, on peut couper de larges rondelles et disposer en boîtes de Petri.

Pommes de terre glycérinées. — Temps *a* et *b*, comme pour la préparation I ci-dessus.

c. Abandonner les pommes de terre dans l'eau glycérinée, 6 à 15 p. 100 de glycérine, pendant quarante-huit heures.

d. Verser au fond du tube de Roux de l'eau glycérinée, jusqu'à ce qu'elle affleure l'étranglement.

e. Placer la pomme de terre dans le tube de Roux. Boucher.

f. Stériliser.

Purée de pommes de terre. — Nettoyer des pommes de terre, faire cuire, passer au presse-purée, répartir en vases plats (cristallisoirs, boîtes de Pétri), stériliser.

Carottes. — Se préparent comme les pommes de terre (préparation I).

Artichaut. — Enlever les feuilles d'un artichaut, mettre à nu le fond, garni de foin. Découper le fond en petits fragments, 1 à 2 centimètres de diamètre. Répartir en tubes de Roux. Stériliser.

III. — MILIEUX ALBUMINEUX PURS.

On emploie le sérum sanguin, le sang, les œufs.

Sérum sanguin. — Le sérum sanguin peut être utilisé à l'état liquide ou après avoir été coagulé par la chaleur ; on désigne généralement le sérum liquide sous le mot *sérum*, sans suffixe ; et le sérum à l'état solide sous le nom de *sérum coagulé* ou *gélatinisé*.

Nous étudierons dans ce chapitre : 1° la préparation du sérum liquide ; 2° la préparation du sérum coagulé, par gélatinisation du sérum liquide.

Préparation du sérum liquide. — Le sérum est obtenu par coagulation du sang. Il faut donc d'abord prélever le sang, puis laisser coaguler, enfin séparer le sérum.

La plupart du temps, l'espèce animale productrice du sérum est

indifférente. On s'adresse aux grands animaux : cheval le plus souvent, sinon bœuf, veau, âne, etc.

Dans quelques circonstances, il est indiqué au contraire d'employer le sérum des animaux de laboratoire (cobaye ou lapin).

Prélèvement chez les grands animaux. — Il y a toujours avantage à recueillir le sérum aseptiquement, chez un animal sain, ou au moins non infecté ; le sérum, recueilli stérile, peut alors être utilisé sans stérilisation ultérieure. A ce but convient le *procédé de choix*.

Mais, dans les petits laboratoires, on n'a pas à sa disposition de grands animaux ; il faut s'adresser à l'abattoir, où il n'est pas

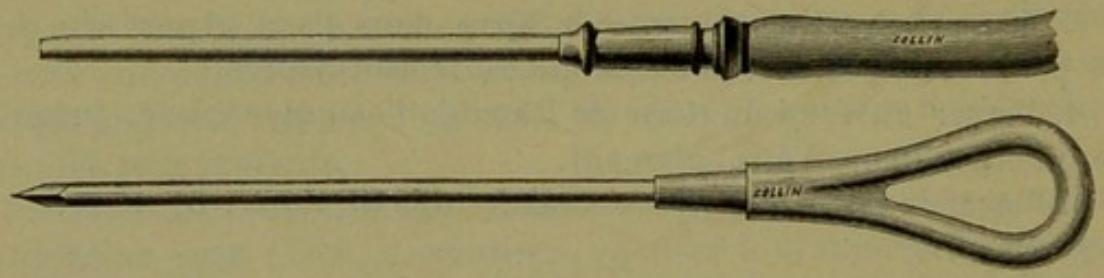


Fig. 46. — Trocart de Roux-Nocard

toujours possible d'assurer une installation qui permette l'asepsie. On aura recours alors au *procédé de nécessité*.

Procédé de choix. — Procédé de Nocard et Roux. — On préparera d'abord les instruments et accessoires nécessaires :

Un trocart, analogue à ceux des appareils Potain ou Dieulafoy ; Le trocart de Roux-Nocard (fig. 46), à manche, est habituellement employé ;

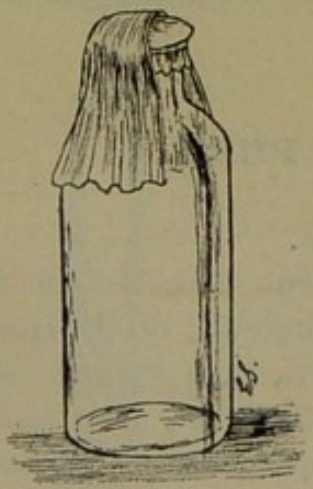


Fig. 47. — Flacon préparé pour recueillir le sang.

Un tube de caoutchouc rouge, long d'environ $0^{m},50$, terminé à un bout par un tube de verre à extrémité libre taillée en bec de flûte, à l'autre bout par un ajutage qui s'adapte à la canule ;

Des flacons pour recueillir le sang. Ordinairement on se contente de grands flacons cylindriques, $0^{l},500$ à 1 litre, à large ouverture (fig. 47) ; l'ouverture est fermée ainsi : obturer avec plusieurs doubles de papier, serrer une ficelle au-dessus du col pour assujettir cette première fermeture ; au-dessus, placer une deuxième fermeture analogue, qu'on assujettira de même avec une deuxième ficelle, placée plus bas que la première ;

Bistouri, ciseaux courbes ;

Ballon-pipette Chamberland, tubes à essais, ou vases de culture.

Stériliser à l'autoclave, séparément : le trocart ; le tube de caoutchouc (enveloppés de papier). Au four Pasteur, le ballon Chamberland, les tubes et vases, le bistouri, les flacons.

Opération. — *a*. Choisir un animal sain, à jeun. On s'adresse le plus souvent au cheval.

Chez le cheval, on prélève sans inconvénient 5 à 6 litres de sang. On peut également utiliser d'autres grands animaux.

La contention des chevaux peut être réalisée au simple tord-nez, mais les bêtes difficiles exigent le travail. Pour les génisses, maintenir sur la table à inoculations vaccinales.

On met à jeun pour éviter l'injection sanguine qui se produit pendant la digestion (Nocard, Dezoubry et Porcher).

b. Repérer la veine jugulaire, raser, désinfecter avec soin.

c. Faire comprimer, par un aide (main droite), la jugulaire à la base du cou (entre la saillie du sterno-mastoïdien et la trachée).

d. Le long de la jugulaire, devenue très visible, pratiquer au bistouri une incision de 3 à 4 centimètres. Dilacérer le tissu conjonctif sous-cutané. Mettre à nu le tissu conjonctif périvasculaire.

e. Saisir le trocart. Le glisser, parallèlement au vaisseau, pointe dirigée vers la tête de l'animal, entre la veine et la peau, sur une longueur de quelques centimètres. Relever le manche du trocart ; d'un coup sec, pénétrer dans la veine ; enfoncer. La pointe est libre dans la cavité, ce dont l'opérateur peut se rendre compte.

f. Faire comprimer la veine au-dessus de la pointe du trocart, par le même aide (main gauche ; compression provisoire). Retirer le manche du trocart. Adapter l'ajutage du caoutchouc à la canule. Maintenir la canule de la main gauche.

g. Un deuxième aide enlève l'enveloppe extérieure d'un flacon, flambe rapidement le tube de verre ; le fait pénétrer, d'un coup sec, à travers l'enveloppe inférieure, dans le flacon, en dirigeant la pointe du biseau vers la paroi.

h. Faire cesser la compression provisoire (main gauche du premier aide). Le sang s'écoule dans le flacon. Continuer jusqu'à ce que le flacon soit plein aux trois quarts ou aux deux tiers.

i. Comprimer le caoutchouc de la main droite. Le deuxième aide enlève le tube de verre du premier flacon et replace l'enveloppe extérieure de ce flacon. Il place le tube dans un deuxième flacon, en opérant comme au temps *g* ci-dessus.

j. Suturer la plaie.

k. Maintenir le flacon au repos pendant vingt-quatre à quarante-

huit heures au frais, mais pas à la glacière (le sérum serait alors laqué).

l. Prélever le sérum à l'aide du ballon pipette Chamberland.

Variantes. — 1° *Trocart.* — Le trocart de Sivori peut remplacer celui de Roux-Nocard. Il est peut-être plus commode, mais aussi plus compliqué comme structure. C'est une modification du trocart de Potain. Pour les animaux moyens (génisse), on peut utiliser le gros trocart du Potain.

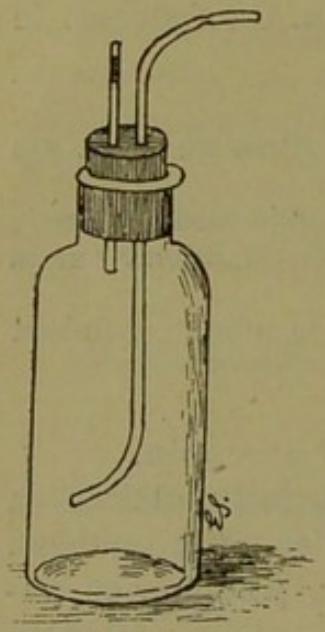


Fig. 48. — Flacon pour recueillir le sang.

2° *Récipients pour recueillir le sang.* — On peut les varier à l'infini. Citons les plus pratiques (outre le modèle décrit ci-dessus).

a. Pour recueillir, par flacon, 100 à 200 centimètres cubes de sang, on utilisera avec avantage les fioles d'Erlenmeyer. Sitôt remplis au point voulu, les incliner à 50° environ ; le caillot se fixe sur la partie déclive. Pour prélever le sérum, replacer le flacon horizontalement. Le sérum forme nappe à côté du caillot.

b. Dans la technique décrite comme type, le flacon est exposé à divers moments aux contaminations atmosphériques. Pour éviter cet inconvénient, on peut employer le flacon (fig. 48) : flacon de 2 à 4 litres ; bouchon à deux tubulures, traversé par deux tubes de verre ; l'un, coudé deux fois à angle obtus dans le flacon, porte à la partie extérieure un étranglement et sera mis en communication avec le tube de caoutchouc adapté au trocart ; l'autre, bouché extérieurement au coton et pénétrant à peine dans le flacon, permettra à l'air de s'échapper à mesure que le flacon se remplira. Stériliser le flacon muni de ses deux tubes de verre et du tube de caoutchouc. — Conduire l'opération comme ci-dessus. L'opération terminée, sceller au niveau de l'étranglement en attendant la décantation du sérum.

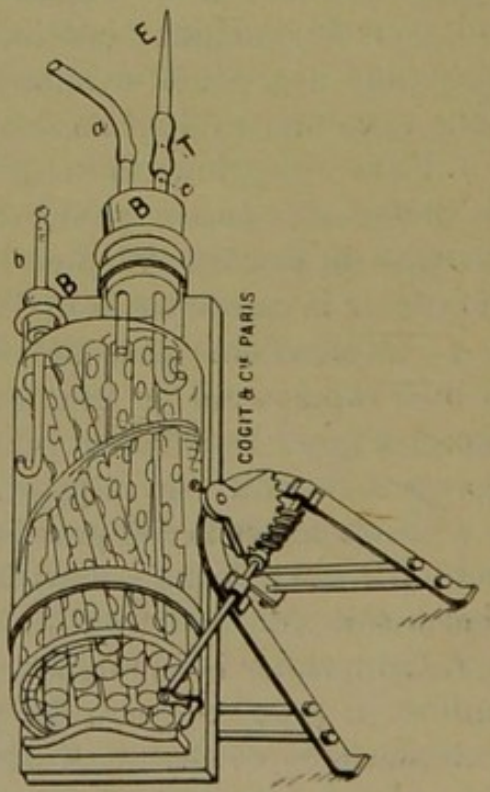


Fig. 49. — Appareil Latapie pour récolte du sérum (grands animaux).

3° *Appareil de Latapie pour grands animaux.* — Cet appareil permet d'obtenir plus de sérum (jusque 80 p. 100 de la masse totale au lieu de 40 à 45 p. 100).

Il se compose (fig. 49) d'un flacon à 3 tubulures, renfermant des tubes de verre à parois perforées (ces baguettes fixent le caillot). Les 3 tubulures laissent passer 3 tubes de verre : l'un, *b*, bouché extérieurement à la ouate, assure la communication avec l'atmosphère. Un deuxième, *a*, muni extérieurement d'un tube de caoutchouc, sera mis en communication avec le

trocart. Le troisième, *c*, pénétrant à peine, et courbé à son extrémité intérieure, porte à l'extérieur un tube de caoutchouc, T, terminé par une pipette fermée, E; le tube de caoutchouc sera muni d'une pince de Mohr. Un support permet de faire basculer.

Fonctionnement. — L'appareil ayant été stérilisé à l'autoclave, le disposer goulot en haut; mettre le tube médian en communication avec la canule de Roux et Nocard, en conduisant la saignée comme ci-dessus. Remplir le flacon à moitié (pas plus); condamner (pince de Mohr) le tube *a*.

Laisser reposer vingt-quatre à trente-six heures. Ensuite, renverser l'appareil, bouchon en bas, en faisant basculer. Le sérum tombe au contact du bouchon. Casser la pointe du tube E, recueillir le sérum en vases stériles.

L'appareil est précieux, mais un peu fragile.

Conduite de l'opération. — Dans l'opération décrite comme type, la manœuvre des flacons expose aux contaminations; l'opérateur aura intérêt à la pratiquer lui-même. Il confiera alors au deuxième aide la canule (puis la compression du tube d'écoulement) et prendra la place assignée dans la description au deuxième aide.

Il va sans dire que toutes les opérations devront être exécutées avec la plus rigoureuse asepsie, le sérum obtenu devant être stérile.

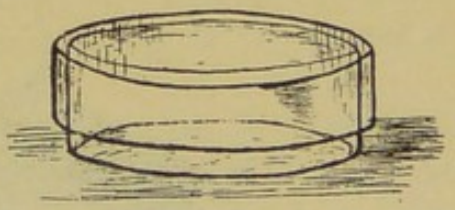


Fig. 50. — Boîte de Koch.

Procédé de nécessité. — Il faut recueillir le sang à l'abattoir ; on ne pourra guère obtenir un sérum stérile ; mais quelques précautions réduiront au minimum les chances de contamination.

Transporter à l'abattoir des boîtes de Koch (fig. 50), stérilisées au préalable à l'autoclave. Elles sont constituées par deux cristallisoirs s'emboîtant l'un dans l'autre; contenance, 2 litres.

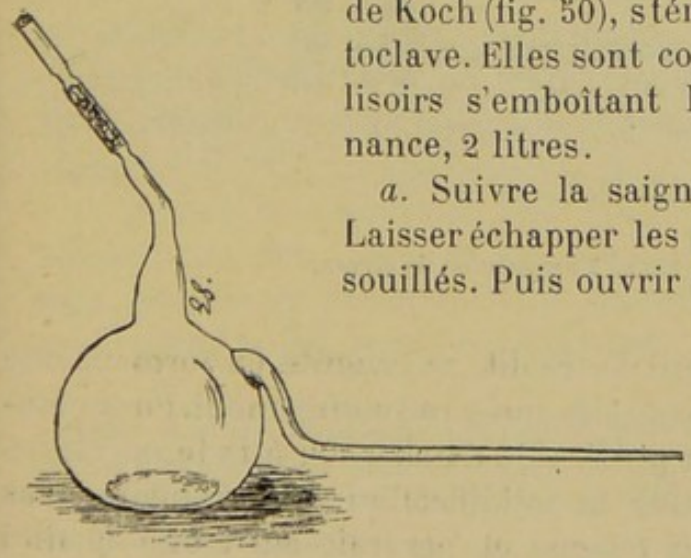


Fig. 51. — Ballon-pipette Chamberland.

a. Suivre la saignée opérée chez le bœuf. Laisser échapper les premiers jets de sang, très souillés. Puis ouvrir une boîte, remplir de sang à moitié, recouvrir. Faire de même avec les autres boîtes.

b. Laisser reposer les boîtes trente-six ou quarante-huit heures dans un endroit frais. Les incliner un peu. Il est préférable de laisser les cristallisoirs à l'abattoir même; le transport au laboratoire immédiatement après la saignée gêne la rétraction du caillot ; le sérum peut être laqué.

c. Replacer les boîtes en position horizontale. Prélever le sérum dans des ballons-pipettes Chamberland (fig. 51).

d. Stériliser par chauffage discontinu ou par filtration.

Prélèvement du sérum chez les petits animaux. — Voy. page 214.

Prélèvement du sérum chez l'homme. — Voy. page 212.

Emploi du sérum à l'état liquide. — Le sérum peut être employé liquide. On aura toujours soin de s'assurer qu'il est stérile, en le maintenant quarante-huit heures à l'étuve avant d'en faire usage; tous les tubes altérés seront rejetés.

Préparation du sérum coagulé. — Chauffé à une température variable suivant les espèces, 68° à 72° en moyenne, le sérum san-

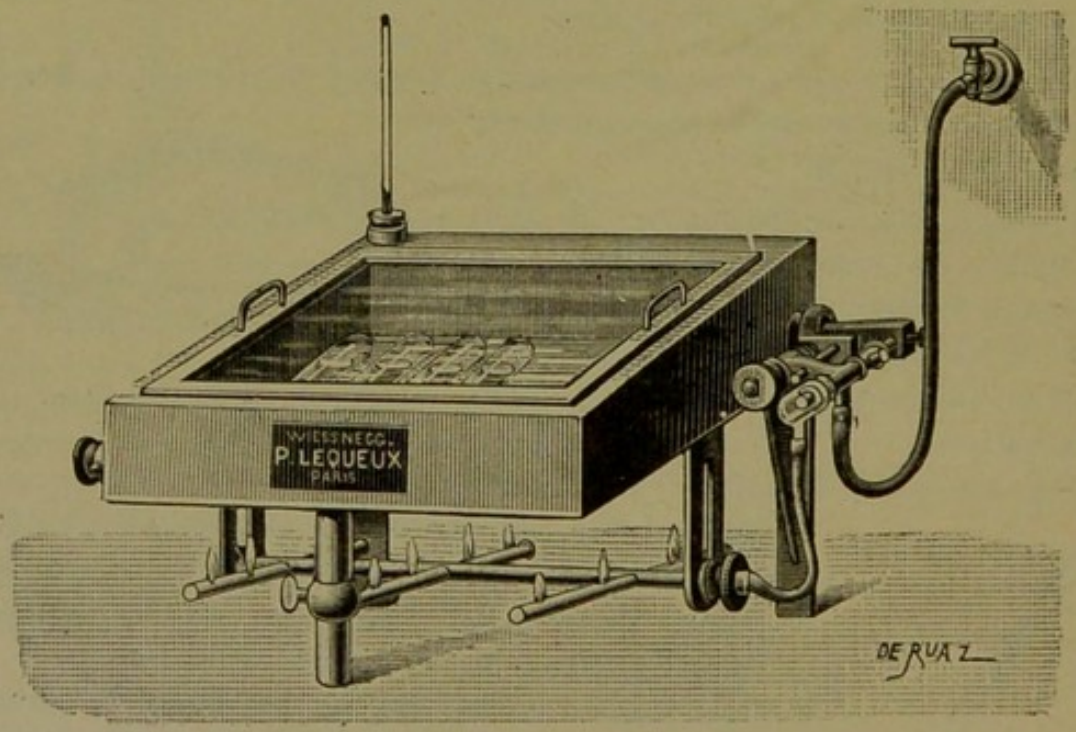


Fig. 52. — Étuve à coagulation de sérum.

guin, prélevé comme il vient d'être dit, se coagule en formant une masse solide, qui se maintient telle après refroidissement. Pour obtenir le sérum coagulé, il est préférable de chauffer à la température minima susceptible d'assurer la solidification; en chauffant plus haut, le sérum deviendrait opaque et perdrait ainsi une qualité essentielle, la transparence.

Procédé de choix. — Utiliser l'*étuve à coagulation de sérum.*

Les modèles actuels (fig. 52) comportent une caisse en cuivre rectangulaire, à double paroi; fermeture supérieure à l'aide d'un couvercle en verre à double paroi, interposant une couche d'air qui

fait corps isolant ; trois ou quatre pieds formant support, l'antérieur ou les deux antérieurs pouvant être allongés ou raccourcis à volonté, pour donner au fond de la caisse l'inclinaison voulue ; brûleur à gaz avec régulateur de Roux. Garnir de sable le fond de la caisse ; remplir d'eau la double paroi.

Un thermomètre peut être plongé dans le matelas d'eau (par un orifice latéral), un second être couché sur le fond de la caisse. Pour la première opération (réglage de l'appareil), les deux thermomètres sont utiles ; dans la suite, une fois l'appareil réglé, on se contentera du second.

Fonctionnement. — *a*. Dans des tubes, stérilisés, verser du sérum liquide sur une hauteur de 6 centimètres environ.

b. Disposer l'appareil de manière que le fond soit légèrement incliné ; coucher les tubes sur le sable de la caisse. Veiller à ce que le sérum n'atteigne pas le bouchon. Fermer le couvercle. Allumer le gaz.

On peut placer sur le sable quelques boîtes de Petri ouvertes, contenant de l'eau. Coagulé en milieu humide, le sérum est plus transparent (Vagedes).

c. Surveiller le thermomètre. Au moment où la température atteint 68° (pour le sérum de bœuf), régler l'appareil (Voy. p. 143). Continuer à surveiller le thermomètre pendant quelque temps, pour s'assurer que le réglage est bien fait, et le rectifier au besoin.

d. Au bout d'une heure et demie environ, soulever le couvercle, prendre l'un des tubes, voir s'il a fait prise : le tube étant placé verticalement, la colonne de sérum solidifié doit rester parfaitement compacte, comme un tube de gélose inclinée. Si la prise n'est pas faite, remettre le tube en place. Renouveler le même essai de temps à autre.

e. Quand le sérum est bien solidifié, éteindre le gaz. Laisser refroidir un peu. Enlever les tubes, les placer en position verticale, couvrir le bouchon d'un capuchon de caoutchouc stérilisé, pour éviter la dessiccation ultérieure.

Pour enlever les tubes, opérer avec précaution ; certains tubes pourraient n'être pas solidifiés complètement. S'il en est ainsi, les remettre en place, après avoir enlevé les tubes déjà solidifiés ; chauffer à nouveau jusqu'à coagulation complète.

Le sérum de bœuf, coagulé, doit être demi-transparent, très légèrement ambré.

L'inclinaison de l'appareil et le réglage de la température sont opérés une fois pour toutes (sauf modification éventuelle).

Autres procédés. — A défaut d'appareil spécial, on peut encore : *a*. Chauffer le sérum dans une étuve réglée à 68°. Les tubes seront alors disposés sur un support spécial (fig. 53) qui permet de les incliner à volonté. Surveiller avec soin.

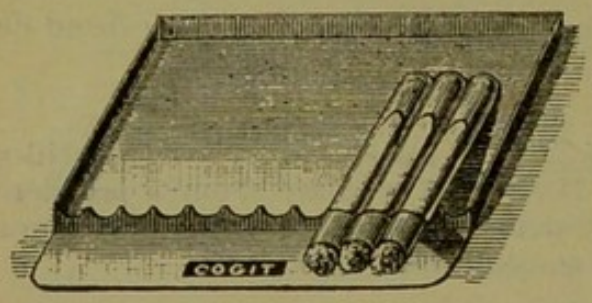


Fig. 53. — Plateau pour coaguler les tubes de sérum.

b. Placer les tubes dans le support précédent ; mettre un peu d'eau au fond du support, couvrir les tubes d'une lame de verre. On dispose alors le support au-dessus d'une marmite contenant de l'eau, qu'on porte à l'ébullition. Surveiller avec soin. Il faut une à deux heures pour la solidification. Le sérum est opaque.

Sérosités albumineuses. — Pour divers usages, il y a intérêt à substituer au sérum animal le sérum humain. Ce dernier étant difficile à obtenir en grandes quantités, on emploie d'habitude des sérosités pathologiques : liquides d'ascite (cirrhoses de préférence), de pleurésie séro-fibrineuse, d'hydrocèle, etc.

Prélèvement. — Opérer suivant les règles habituelles de la technique médicale ; avoir soin de désinfecter sérieusement la peau (teinture d'iode), de stériliser les instruments et récipients.

a. *Pour l'ascite.* — Mettre le trocart (de Potain par exemple, ou tout autre analogue) en communication avec un tube de caoutchouc, long de $0^m,50$ à 1 mètre, terminé par un tube de verre un peu rétréci à son extrémité libre. Stériliser l'ensemble à l'autoclave, entouré de papier.

Préparer d'autre part des flacons, disposés comme pour la récolte du sérum (fig. 47), ou comme pour la récolte des filtrats (fig. 40).

On peut également recueillir le liquide en ballons à long col, préparés comme ci-dessus ; après remplissage, sceller le col dans la flamme.

Le liquide d'ascite ne coagule généralement pas, ou très peu. Même clair en apparence, il laisse souvent déposer à la longue un sédiment blanchâtre, qui n'est pas l'indice d'une souillure. Sa coloration est variable ; les plus clairs sont les plus favorables.

L'*opération* est très simple : désinfecter la peau ; ponctionner, en faisant comprimer le caoutchouc par un aide ; laisser écouler les premiers jets de liquide ; comprimer à nouveau ; flamber le tube de verre, découvrir un récipient, introduire le tube ; remplir aux trois quarts.

Comprimer le caoutchouc, enlever le tube, couvrir le récipient ; flamber le tube, passer à un deuxième récipient, et ainsi de suite.

b. *Pour les liquides pleurétiques.* — Ponctionner au Potain. A la tubu-

lure latérale du trocart, adapter un tube de caoutchouc épais.

Préparer un flacon comme celui de la figure 33, d'une contenance de 1 litre à 2 litres ; relier le trocart à E.

Stériliser à l'autoclave tout l'appareil (entouré de papier). Stériliser en même temps, au four Pasteur, des bouchons d'ouate s'adaptant au flacon.

Mode opératoire : désinfecter la peau. Développer l'appareil.

Enfoncer le trocart. Faire le vide par le tube A. Remplir aux deux tiers. Substituer au bouchon de caoutchouc le bouchon d'ouate préparé d'avance.

Laisser reposer quarante-huit heures (rétraction du caillot). Prélever stérilement le liquide, à l'aide du ballon-pipette ou de la pipette à boule.

Plus simplement : préparer des flacons de 1 litre, dont le col s'adapte au bouchon du Potain, stériliser au four Pasteur, boucher à la ouate ; stériliser l'appareil Potain, trocart, raccord de caoutchouc, bouchon. Au moment de l'opération, substituer au bouchon d'ouate le bouchon du Potain ; ponctionner comme d'habitude. Le flacon rempli, boucher à nouveau le flacon avec le bouchon d'ouate, largement flambé. Procédé moins sûr, généralement suffisant.

Règle. — Avant d'utiliser une sérosité comme milieu de culture, il est indispensable de s'assurer qu'elle est stérile. Pour cela : prélever quelques centimètres cubes, mélanger à 10 centimètres cubes de bouillon stérile, mettre à l'étuve. Le tube devra demeurer stérile.

Si l'on avait des doutes sur la stérilité du liquide, on le stériliserait comme le sérum sanguin (chauffage discontinu ou filtration).

Le sérum et les sérosités servent surtout à préparer des milieux divers (gélose-sérum, etc.) ; nous les retrouverons plus loin.

Sang. — **Prélèvement.** — On opère comme pour la récolte du sérum ; la seule variante porte sur le traitement à faire subir au sang pour empêcher la coagulation.

A. **Récolte à l'état liquide.** — 1° Procédé de choix. — Préparer un matras en verre, de 100 à 200 centimètres cubes, à parois résistantes, renfermant des perles de verre ; ajouter un peu d'eau ; boucher, stériliser à l'autoclave.

Recueillir le sang à la seringue, rapidement, aseptiquement, suivant les procédés indiqués ailleurs ; déboucher le matras, transvaser, reboucher, défibriner en agitant pendant cinq minutes. Transvaser ensuite le sang défibriné avec une pipette à grosse effilure.

On peut substituer aux perles de verre des débris de verre : placer des débris de verre (fragments de tubes, de pipettes, de fioles, etc.) dans

un mortier ; couvrir d'une compresse épaisse ; tasser fortement au pilon. Quand les morceaux ont en moyenne la grosseur voulue, enlever la compresse, porter le mortier sous un robinet d'eau et laver à grande eau, pour enlever la poussière de verre. Recueillir les fragments restants placer en matras ; opérer ensuite comme ci-dessus.

Pour défibriner de petites quantités de sang, on se contentera d'un tube à pomme de terre ; placer au fond des boules ou fragments de verre.

2° Autres procédés. — On peut empêcher le sang de se coaguler : soit en injectant à l'animal vivant de l'extrait de sangsues, ou pour le chien, de la peptone ; soit en additionnant le sang, dès la sortie de l'organisme, de citrate de soude (3 p. 1000) ou d'oxalate neutre de potasse (1 p. 1000).

Dans la plupart des cas, la défibrination est préférable.

B. **Incorporation du sang à d'autres milieux.** — Voy. ci-dessous.

Œuf. — L'œuf peut toujours être infecté, soit avant la ponte, soit après. Le plus souvent, il est stérile. Si le milieu ne doit pas être stérilisé ultérieurement, il est nécessaire de contrôler sa stérilité avant de l'ensemencer.

1° **Blanc d'œuf.** — Chauffer fortement la grosse extrémité ; perforer le point flambé avec une pointe métallique stérilisée.

Introduire par le trou, peu profondément, l'extrémité d'une pipette à boule stérile, à large effilure (liquide visqueux, coule difficilement). Répartir en tubes stériles.

2° **Blanc d'œuf coagulé.** — Opérer comme pour le sérum (p. 134, *Autres procédés*, *b*).

3° **Jaune d'œuf.** — Laisser l'œuf une minute dans l'eau bouillante, flamber une extrémité, perforer. Introduire en plein jaune l'extrémité d'une pipette à boule stérilisée. Aspirer. Répartir.

4° **Œuf entier.** — Agiter fortement un œuf, pour mélanger jaune et blanc. Flamber une extrémité. Perforer. Ensemencer à travers le trou, avec une pipette ou un fil de platine. Boucher à la cire.

5° **Tranches d'œuf.** — Faire cuire dur. Enlever la coquille. Couper en tranches avec un couteau propre. Répartir en boîtes de Pétri. Stériliser à l'autoclave.

IV. — MILIEUX ALBUMINEUX COMPOSÉS.

Bouillon-sérum. — Au bouillon stérile, ajouter le sérum stérile, en proportion variable suivant le but cherché : généralement la moitié, le tiers ou le quart.

Souvent on emploie le *bouillon-ascite*. Même technique.

Gélose-sérum. — 1° Faire fondre de la gélose au bain-marie,

vers 70°; après liquéfaction complète, laisser refroidir vers 45°. Ajouter alors la proportion voulue de sérum, généralement un tiers. Laisser refroidir en position inclinée ou répartir de suite en boîtes stérilisées, suivant les indications.

2° Préparer de même la *gélose-ascite.*

3° On peut se contenter d'ajouter à un tube de gélose inclinée, solide, 0,5 à 1 centimètre cube de sérum ou d'ascite; incliner, de manière que le liquide baigne toute la surface; laisser incliné pendant douze à vingt-quatre heures. Ce procédé ne vaut pas le précédent.

Bouillon-sang. — Opérer comme pour le bouillon-sérum, en substituant au sérum le sang défibriné.

Sang gélosé. — 1° Faire fondre la gélose, laisser refroidir à 42°. Dans chaque tube, recevoir 1 centimètre cube de sang, au sortir de l'artère (Voy. p. 216). Mélanger, incliner, laisser refroidir.

2° Autre technique, plus pratique : à la gélose fondue et refroidie, ajouter la proportion voulue de sang débrifiné.

On peut substituer au sang l'*hémoglobine*, stérilisée par filtration.

Gélose sanglante. — Étaler quelques gouttes de sang à la surface d'un tube de gélose. Incliner (Voy. *Gélose-sérum*, 3°).

Sérum glycériné. — A 100 centimètres cubes de sérum stérile, ajouter 6 à 8 grammes de glycérine neutre stérilisée; répartir en tubes; gélatiniser, comme le sérum ordinaire, mais la température de solidification sera portée à 75°.

Bouillon-sérum glucosé (milieu de Lœffler). — Préparer du bouillon ordinaire, glucosé à 1 p. 100; au bouillon glucosé stérile, ajouter trois fois son poids de sérum stérile; gélatiniser à 70-75°.

CONSERVATION ET TRANSVASEMENT DES MILIEUX.

Conservation. — Dans tous les laboratoires, il est nécessaire de faire des provisions des milieux les plus employés; il faut donc les conserver.

Les milieux seront conservés à l'abri de toute contamination, de l'évaporation, de la lumière solaire.

a. On évite les contaminations en assurant d'abord, suivant les procédés déjà connus, la stérilité du milieu et des récipients qui le contiennent, en protégeant ensuite contre l'accès des germes de l'extérieur. La protection est absolue et définitive quand le récipient est scellé : matras ou ballon à long col, scellé au col. En pratique, le scellement est rarement indispensable; il suffit de disposer les

milieux dans des flacons à ouverture relativement étroite, bien bouchés à la ouate : matras ou ballons, fioles de Vivien, fioles d'Erlenmeyer, fioles de pharmacie, etc.

b. Si le milieu doit être conservé très longtemps dans une atmosphère sèche (étuve), il est prudent de limiter l'évaporation en couvrant le bouchon d'un capuchon de caoutchouc.

Capuchons de caoutchouc. — Les capuchons seront ou bien stérilisés à l'autoclave, puis séchés à l'étuve ; ou bien conservés dans une solution antiseptique (acide phénique à 2 p. 100).

c. Les récipients contenant les milieux seront placés à l'obscurité.

Transvasement. — On répartit les milieux en récipients appropriés à leur destination immédiate et énumérés ailleurs, soit pour conservation (Voy. ci-dessus), soit pour cultures aérobies (p. 159), ou anaérobies (p. 162). La manière de faire est très différente suivant qu'on envisage les milieux non stériles (destinés à être stérilisés ultérieurement) ou les milieux stériles.

Transvasement des milieux non stériles. — Une précaution essentielle : éviter de mouiller le col des récipients. Si le col est mouillé, les bouchons sont humides ; après stérilisation, ils adhèrent à la paroi, s'il s'agit de milieux liquides solidifiés ; de plus ils protègent mal.

Pour répartir en récipients de grande contenance, on se servira d'un entonnoir à longue effilure.

Pour répartir *en tubes à essai* (fig. 54) : adapter à l'extrémité libre d'un entonnoir moyen un tube de caoutchouc, muni d'une pince à pression continue et terminé par un tube de verre effilé ; disposer cet entonnoir sur un support ; verser le liquide, plonger l'effilure dans le tube à essai, assez profondément, ouvrir la pince, remplir au degré voulu, fermer la pince ; passer à un autre tube. — Quand on veut répartir gélatine ou gélose, il est prudent de chauffer d'abord l'entonnoir en y versant de l'eau chaude.

Après répartition, boucher et stériliser les tubes ou récipients.

Transvasement des milieux stériles. — Quand le milieu, stérile ne doit pas être stérilisé après répartition, il est nécessaire d'opérer les transvasements d'une manière absolument aseptique : *opérer aseptiquement et rapidement ; répartir en vases stériles avec des appareils stériles.*

a. De petites quantités seront transvasées avec une simple pipette ou une pipette à boule. Mêmes précautions qu'en *b.*

b. La répartition de quantités appréciables de liquide exige l'emploi d'appareils spéciaux. Le plus employé est le **ballon-pipette Cham-**

berland (fig. 51). Couvrir de papier l'effilure de la pipette, boucher au coton la tubulure supérieure, stériliser au four Pasteur.

En prenant les mêmes précautions d'asepsie que pour l'ensemencement (p. 156), ouvrir l'effilure, plonger la pipette dans le liquide, aspirer, remplir le ballon aux trois quarts, retirer la pipette. Répartir ensuite en tubes ou ballons stérilisés.

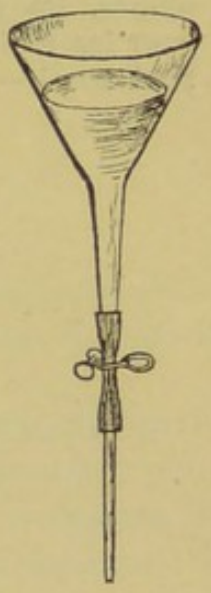


Fig. 54. — Dispositif pour répartition des liquides non stériles.

On prescrit généralement de *sceller* l'effilure des ballons-pipettes ; ce n'est pas indispensable.

c. Un **flacon répartiteur** (fig. 55) convient également. On prépare le bouchon de pissette, s'adaptant au récipient qui contient le liquide stérile : bouchon à deux trous, traversé par deux tubes : l'un, P, coudé à angle droit, bouché au coton entre deux étranglements, plongeant peu (tube de compression) ; l'autre, coudé à angle très aigu, formé de deux branches longues, l'extérieure coupée par un tube de caoutchouc avec pince de Mohr et terminée par une effilure scellée, l'intérieure plongeant presque à fond (tube de répartition). Le bouchon avec ses annexes est stérilisé à l'autoclave.

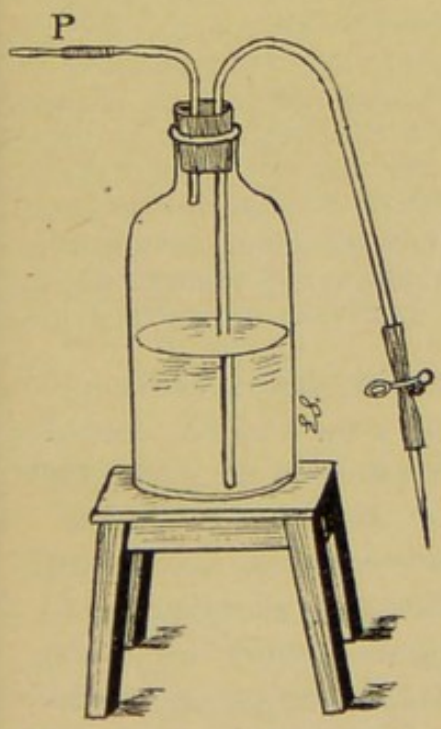


Fig. 55. — Flacon répartiteur.

Pour l'usage : le récipient est placé sur un support ; avec les précautions d'asepsie habituelles, on substitue au bouchon (ouate) du récipient le bouchon préparé ; toujours aseptiquement, on casse l'effilure du tube de répartition, on comprime de l'air (avec une poire) par le tube de compression : le liquide passe et s'écoule ensuite par siphonage ; on active l'écoulement en continuant la compression ; on dispose autour de l'effilure le vase (tube ou ballon stérilisé) destiné à recevoir le liquide.

Quand on veut arrêter la répartition : cesser la compression ; porter l'effilure à proximité de la flamme ; sans déplacer l'effilure, incliner le flacon de telle manière que le niveau du liquide soit plus bas que l'extrémité de l'effilure : le siphon se désamorce, l'air rentre, mais stérilisé par la flamme ; sceller.

Dans la répartition du sérum filtré, on peut simplifier a manœuvre en utilisant le flacon à trois tubulures décrit page 109.

Il ne faut pas multiplier ces répartitions; on frôle inévitablement la contamination. Autant que possible, répartir tout le liquide en une seule séance. En pratique, on ne répartit de cette manière que par nécessité, pour les milieux (sérum, sérosités), qui supportent mal la chaleur, et qui sont aussi — heureusement — peu hospitaliers pour les saprophytes.

CHAPITRE VIII

ÉTUVES ET RÉGULATEURS

Pour les cultures et certaines manipulations, il est indispensable de maintenir les milieux à température constante. C'est la raison d'être des étuves.

Dans les laboratoires, il faut toujours au moins une grande étuve, d'usage courant, réglée à 37°. D'autres étuves sont nécessaires pour cultures ou manipulations, variables suivant les circonstances (le plus souvent 42°, analyses d'eaux; 55°, paraffine, précipitines). Il est bon également de maintenir à 22° les cultures sur gélatine.

Presque toujours, on veut une température **supérieure à la température ambiante**, et par suite il faut chauffer les étuves.

Si la température extérieure est plus élevée que la température cherchée, il devient difficile de régler exactement les étuves. Le cas ne se présente guère que pour les cultures sur gélatine pendant la saison chaude ou dans les pays chauds. On peut se contenter de maintenir les cultures ou les produits dans un espace clos refroidi extérieurement soit par la glace, soit par un courant d'eau. On pourrait dans ce but faire circuler l'eau dans la double paroi des étuves qui s'y prêtent.

Nous verrons ci-dessous un appareil permettant d'abaisser suffisamment la température des parois de l'étuve pour fonctionner ensuite comme une étuve ordinaire, chauffée.

Le *chauffage* des étuves peut être opéré par toutes les sources de chaleur. En pratique, on a tout avantage à se servir du gaz. Éventuellement on peut utiliser l'électricité, le pétrole, etc.

Règles générales. — *a. Toute étuve doit posséder un régulateur automatique de température.*

Le régulateur proprement dit sera toujours placé soit dans l'étuve même, soit dans le matelas d'eau qui l'entoure.

Les annexes peuvent être disposées dans l'étuve même (chambres-étuves) ou en dehors, ce qui est habituel.

b. L'étuve doit être *protégée contre les variations trop grandes de la température extérieure* à l'aide d'une paroi mauvaise conductrice de la chaleur : bois, feutre, couche d'air, matelas d'eau.

c. Il ne faut pas de lumière dans l'étuve (défavorable aux cultures).

La porte vitrée, qui existe presque toujours, sera peinte en noir ou couverte de papier noir.

d. Il est bon de laisser *accès à l'air extérieur* (E. Roux), pour dissiper les gaz de fermentation et provoquer de légers courants d'air qui uniformisent la température dans l'appareil.

e. Un thermomètre (au moins) sera placé à demeure dans l'étuve.

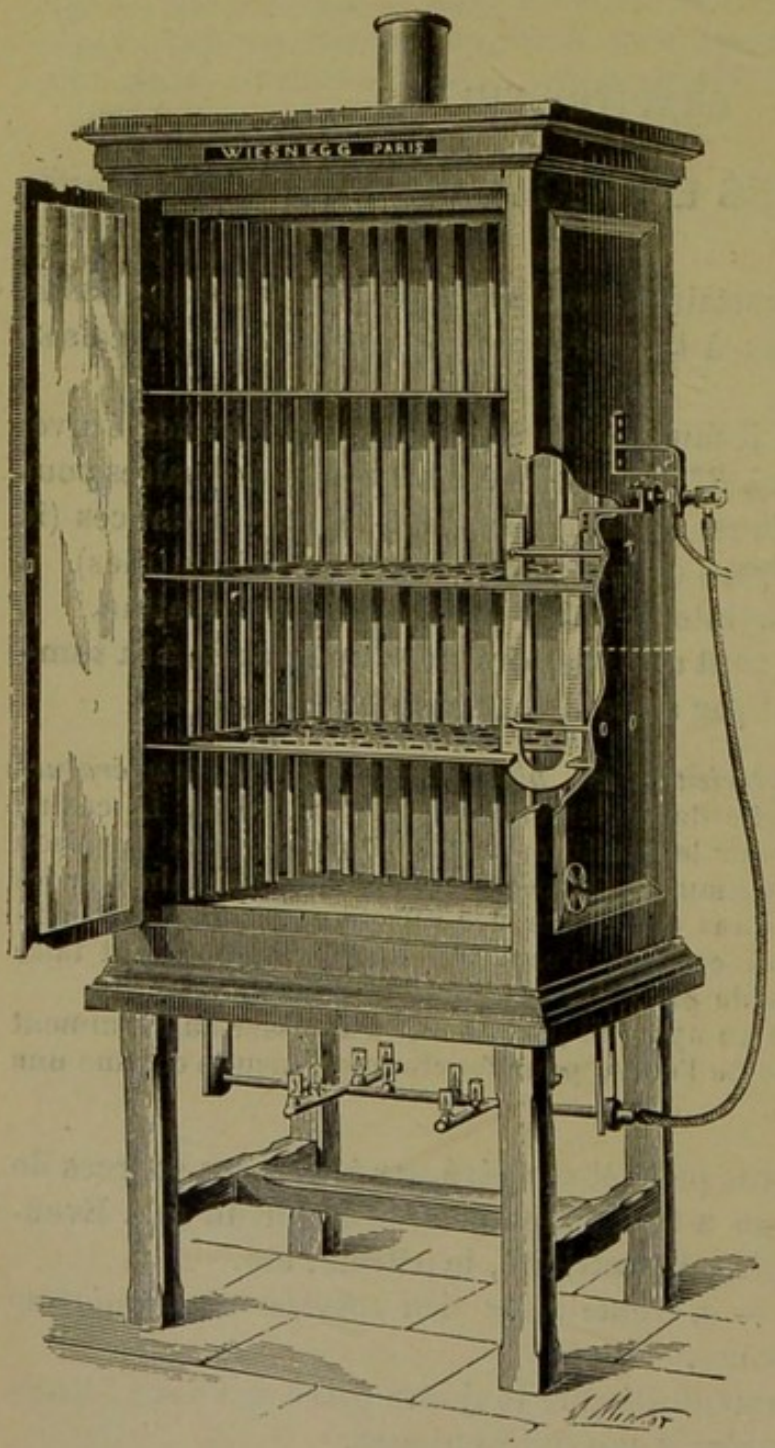


Fig 56. — Étuve de Roux.

I. — Étuves chauffées au gaz.

Étuve de Roux. — C'est le modèle le plus répandu, à juste titre. Elle suffit à tous les besoins du laboratoire.

1° **Corps de l'étuve** (fig. 56). — Il comporte une armoire en bois, avec double porte vitrée, étagères horizontales, portée sur pieds. Contre la paroi interne, des tubes de cuivre traversent toute la hauteur pour aboutir en haut à une cheminée d'évacuation. Le chauffage est obtenu à l'aide d'un brûleur à gaz placé au-dessous de l'appareil.

Les gaz et l'air chaud provenant du brûleur circulent dans les

tubes en cuivre pour s'échapper par la cheminée ; par rayonnement, les tubes en cuivre chauffent l'intérieur de l'étuve. Des ventouses latérales permettent l'accès de l'air.

2° **Régulateur de Roux.** — Il est basé sur le principe de l'inégalité de dilatation des métaux sous l'influence de la chaleur.

a. Le régulateur (fig. 57) a la forme d'un U, formé de deux métaux soudés ensemble : zinc en dehors, acier en dedans. Grâce à cette disposition, les branches tendent à se rapprocher quand la température s'élève, à s'écarter quand elle descend.

b. L'une des branches du régulateur, celle de gauche sur la figure, est fixée à la paroi de l'étuve. La branche droite, seule mobile, se termine à son extrémité libre par une tige rigide (en Z couché) ; les déplacements imprimés au régulateur par les variations de température se trouvent ainsi totalisés à l'extrémité libre du Z.

Les mouvements de la branche mobile commandent la distribution du gaz.

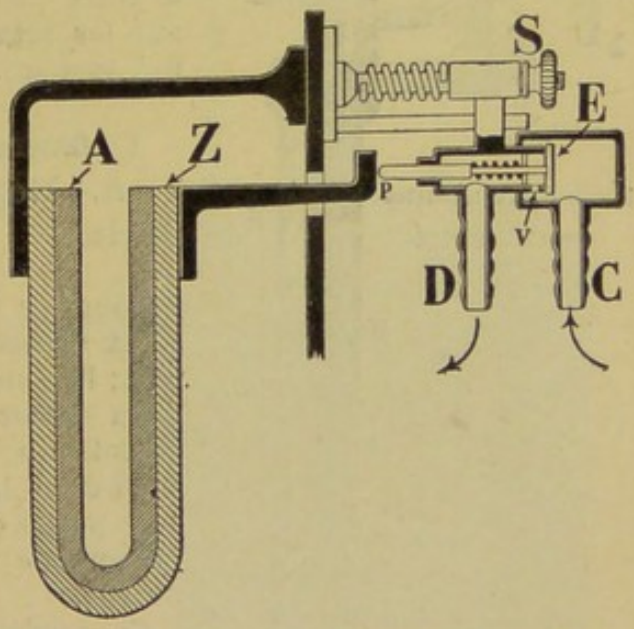


Fig. 57. — Régulateur bimétallique en U.

c. Le gaz est amené par le tuyau C ; pour arriver au tuyau D, qui le conduit au brûleur de l'étuve, il doit trouver passage libre autour du clapet (bouchon en laiton) E : or le clapet s'ouvre ou se ferme, suivant les mouvements du régulateur.

d. En effet, quand la température de l'étuve s'abaisse, la branche mobile de l'U s'écarte, emmenant la tige en Z ; cette dernière repousse la tige qui porte le clapet : passage libre, le gaz peut accéder au brûleur. Si, au contraire, la température s'élève, mouvement inverse : le clapet, sollicité par un ressort à boudin, ferme la communication ; le gaz ne passe plus.

Toutefois, même quand la soupape est fermée, un peu de gaz passe par le trou de veilleuse V, pour permettre au brûleur de ne pas s'éteindre complètement (veilleuse).

3° **Réglage.** — Pour régler à 37° par exemple :

Tourner la vis S, de manière à ouvrir le clapet E ; ouvrir le robinet à gaz ; allumer.

Surveiller la température de l'étuve. Quand elle atteint 36°,5,

tourner la vis en sens inverse, s'arrêter juste au moment où la flamme baisse en veilleuse.

Une fois l'étuve en marche, on peut faire varier la température; pour l'élever, ouvrir le clapet (en tournant la vis), surveiller et opérer comme ci-dessus. Pour l'abaisser, fermer le clapet; surveiller la température, ouvrir à nouveau quand on est à 0°,5 au-dessous de la température désirée.

En réalité, la température peut varier de quelques dixièmes de degré d'un étage à l'autre. Il est bon de vérifier de temps en temps la température des divers étages.

L'étuve est réglée une fois pour toutes; si on l'éteint et qu'on la rallume ensuite, la température doit se fixer au même degré qu'antérieurement.

On aura soin de graisser (vaseline) de temps à autre par les orifices ménagés à cet effe sur les organes de glissement (tige du clapet surtout).

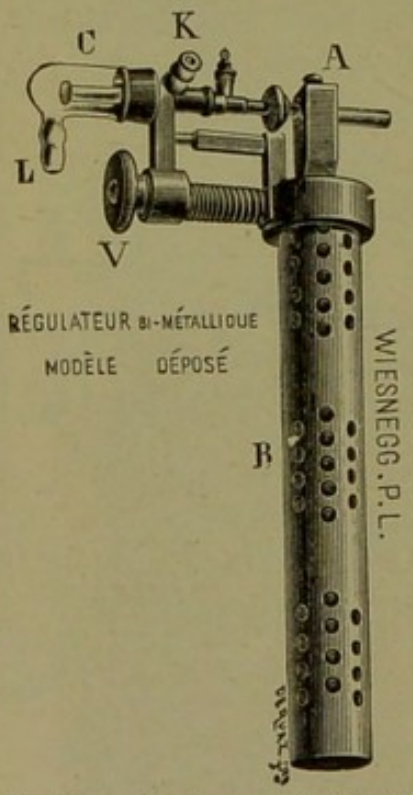


Fig. 58. — Régulateur bimétallique droit.

4° Autres régulateurs métalliques. — A. Régulateur de Roux, forme droite.

Pour les étuves à eau, le régulateur de Roux conserve toujours la même composition; l'agencement est différent (fig. 58) : les deux lames sont soudées, zinc du côté du clapet; une des extrémités est encastrée au fond d'un tube métallique B, perforé sur ses parois; l'autre extrémité, A, libre, commande l'arrivée du gaz comme ci-dessus.

Ce modèle peut être adapté à l'étuve ordinaire (à eau), à l'étuve à coagulation (fig. 52) ou à stérilisation (fig. 30) de sérum.

B. **Régulateur à action directe (Lequeux).** — Ce régulateur comporte un tube A en métal très dilatable par la chaleur, soudé à son extrémité libre avec une tige d'acier B très peu dilatable. Les mouvements de A se trouvent ainsi *directement* (sans coudure) et intégralement transmis, par B, à la vis à écrou I, qui entraîne avec elle la lame d'acier D, encastrée en K et disposée de manière à amplifier les mouvements. L'extrémité libre de D agit sur la tige du clapet qui règle l'admission du gaz.

Le tube est installé dans le milieu dont on veut régler la température. On relie *b* à la prise de gaz et *a* au brûleur.

Pour régler la température : serrer I de manière à placer la lame D perpendiculairement au tube de dilatation; dévisser la vis placée au bas de C; amener la tige du clapet P juste au contact de D, revisser. — Visser I :

la lame D repousse la tige du clapet, le gaz passe ; allumer les brûleurs.

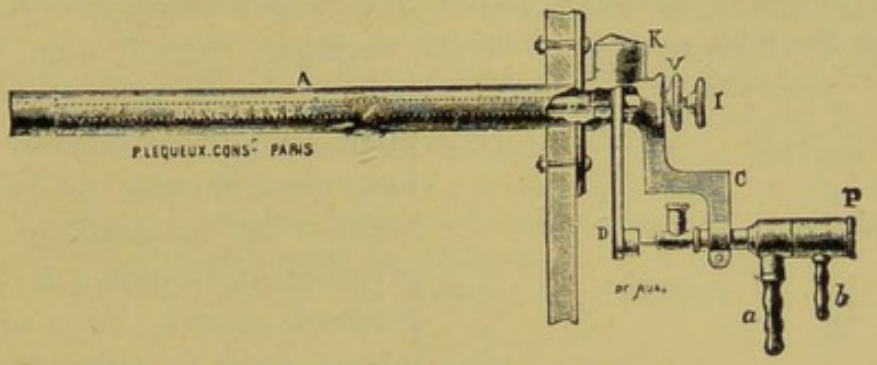


Fig. 59. — Régulateur à action directe.

Surveiller le thermomètre ; régler exactement comme pour le régulateur de Roux.

Les régulateurs métalliques des divers modèles décrits ci-dessus sont très robustes et très sensibles.

Chambre-étuve. — Dans les grands laboratoires, il est utile de posséder une chambre à température constante. Le chauffage sera obtenu par un poêle ou un brûleur à gaz, muni du régulateur métallique de Roux ; calorifère et régulateur sont dans la pièce.

Étuve d'Arsonval. - **1° Corps de l'étuve** (fig. 60). — Il est constitué par deux caisses cylindriques concentriques, en cuivre, à fond bombé. A la partie supérieure, une douille avec trop-plein. Latéralement, le régulateur. Dans l'intervalle entre les deux caisses, de l'eau.

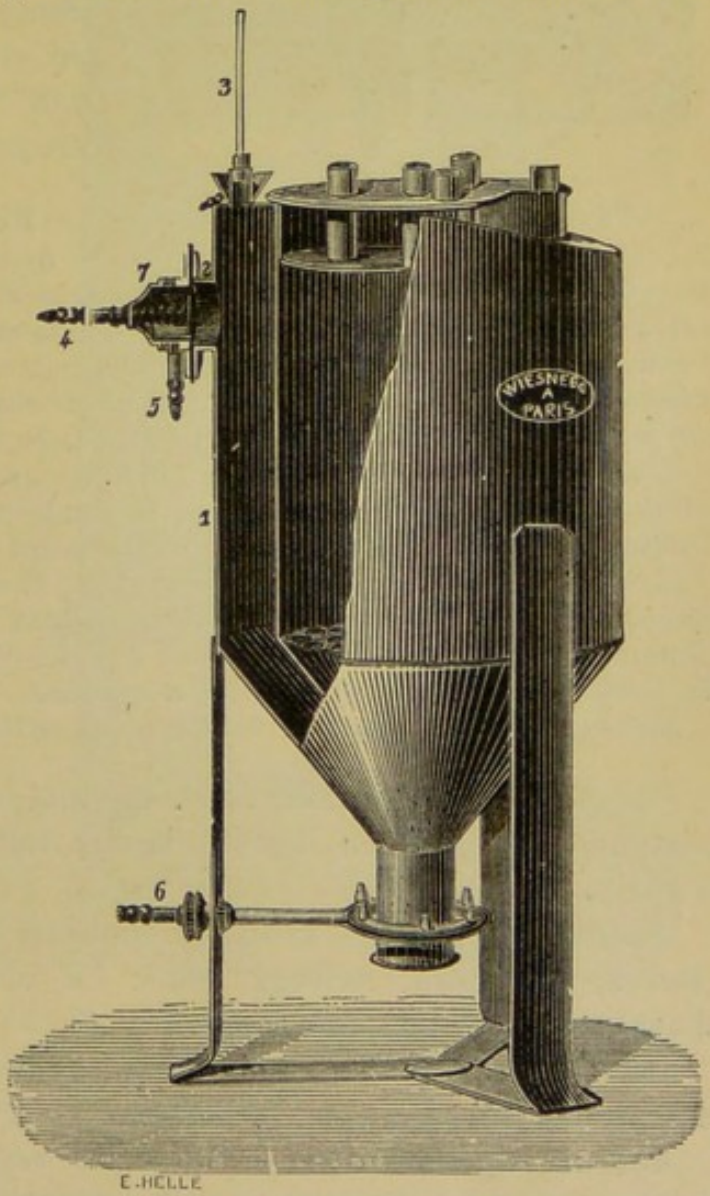


Fig. 60. — Étuve d'Arsonval.

2° **Régulateur** (fig. 61). — Il est basé sur le principe de la dilatabilité des liquides. Il est constitué par une simple membrane B, métallique, très flexible, dont la position, variable, règle le débit du gaz, venant par le tube C, pour gagner ensuite le brûleur par D. Les mouvements de la membrane sont commandés par la pression du liquide : si la température s'élève, l'eau se dilate, monte dans le tube de dilatation, et par suite la pression *h* exercée sur la membrane augmente : la membrane est repoussée et ferme l'amenée de gaz. Tout abaissement de température produira l'effet inverse.

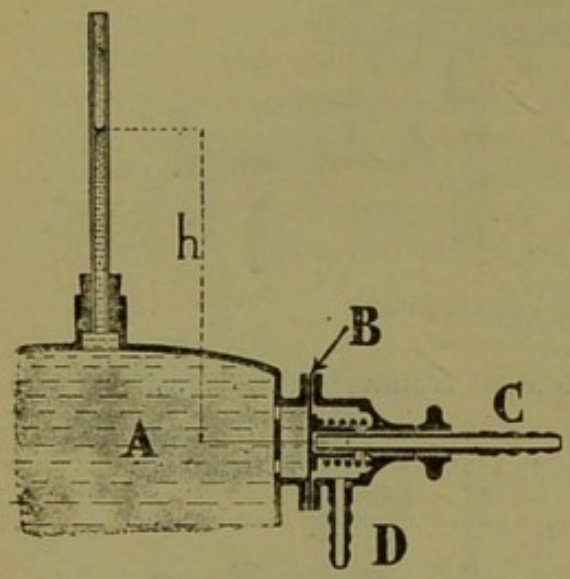


Fig. 61. — Régulateur à membrane.

3° **Fonctionnement et réglage.** — Remplir d'*eau bouillie*, complètement, par la douille supérieure, jusqu'à déversement par le trop-plein, muni au préalable d'un tube de caoutchouc pour écoulement de l'eau en excès. (L'eau bouillie est nécessaire, sans quoi il se dégagerait ultérieurement des gaz, et l'étuve serait déréglée.) Fermer la douille avec un bouchon de caoutchouc, muni d'un tube de verre, 3.

L'orifice du tube C étant ouvert (en dévissant l'écrou placé sur ce tube), allumer. Surveiller l'ascension de la température dans l'étuve; quand le thermomètre arrive à 5° au-dessous du point voulu, visser un peu le tube d'arrivée (baisser la flamme) et fixer par l'écrou; suivre le thermomètre. Une fois atteint le degré voulu, visser jusqu'à veilleuse. Surveiller ensuite, sans impatience ; visser ou dévisser le tube d'arrivée du gaz, suivant que la température est trop haute ou trop basse.

Mettre du pétrole dans le tube 3 pour éviter l'évaporation de l'eau.

Ces étuves fonctionnent bien. Le matelas d'eau est un excellent système de protection. Le régulateur doit être remplacé de temps à autre.

Autres étuves. — Il existe nombre d'autres modèles d'étuve (Babès, Chauveau, Arloing, etc.). La plupart ne présentent pas d'avantages sur les précédents.

Signalons un très bon modèle qui associe au corps d'étuve genre d'Arsonval un régulateur de Roux.

Autres régulateurs. — Outre les régulateurs de Roux et de d'Arsonval, on a utilisé et on utilise parfois encore d'autres modèles qu'il est bon de connaître.

a. Le *régulateur de Chancel* (fig. 62) est peu coûteux, mais fragile (en

verre) et manque de sensibilité ; il permet le réglage à 3° ou 4° près. Il est basé sur la dilatation du mercure sous l'influence de la chaleur.

Le gaz, arrivant par A, parcourt ensuite la branche verticale descendante, pour s'échapper par B. Une vis latérale V permet d'abaisser ou d'élever à volonté le niveau du mercure. — Pour régler : baisser le niveau du mercure (avec la vis) au-dessous de l'orifice inférieur du tube en T ; au voisinage de la température voulue, revisser, jusqu'à ce que le liquide affleure l'orifice. — Une ouverture, visible sur la branche descendante du T, permet toujours la combustion en veilleuse.

b. On a construit des appareils utilisant la dilatabilité de l'éther (Rohrbeck), de l'air (Bohr). Ils n'ont plus d'intérêt actuellement.

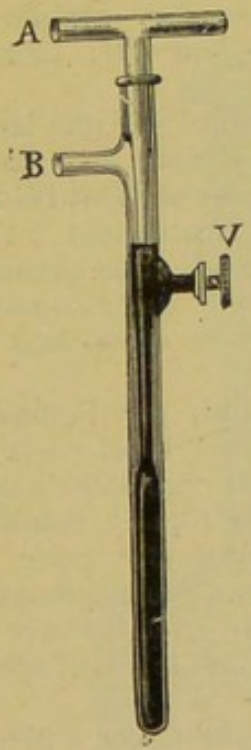


Fig. 62. — Régulateur de Chancel.

II. — Étuves chauffées à l'électricité.

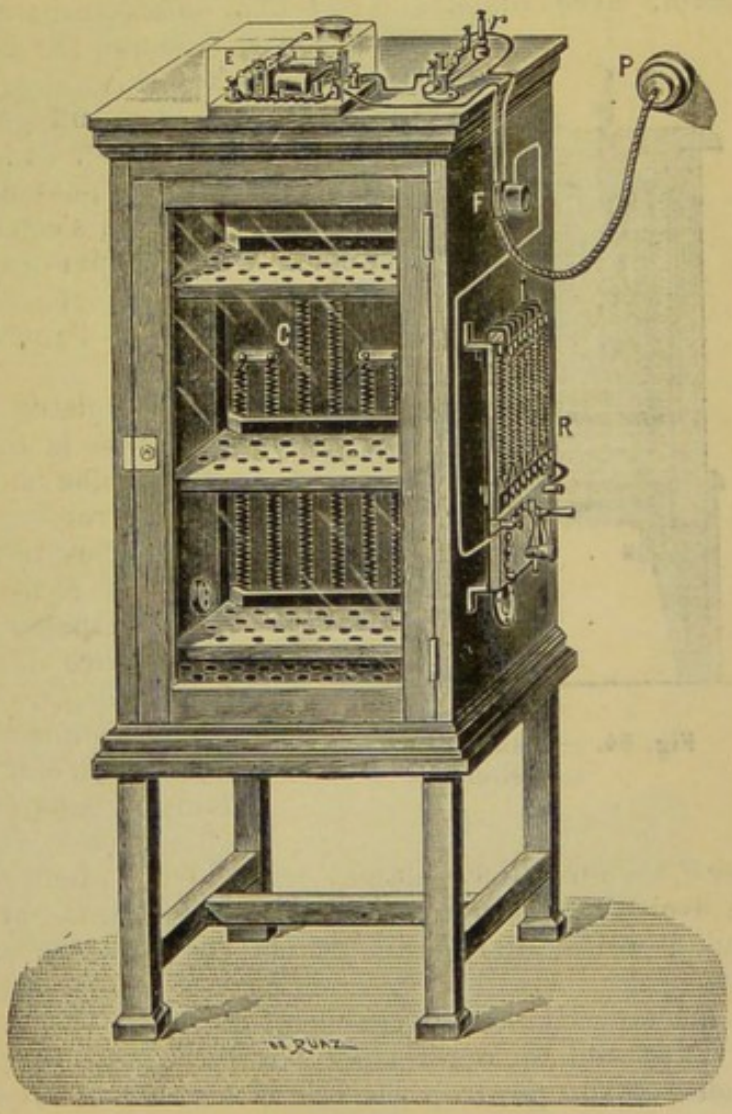


Fig. 63. — Étuve chauffée à l'électricité (Lequeux).

On peut substituer au gaz l'électricité, quand le laboratoire est relié à un secteur électrique.

Il suffit de signaler le modèle représenté sur la figure 63. Le courant électrique échauffe deux séries de résistances : la première série, commandée par la rhéossat R et placée au bas de l'étuve, donne un chauffage constant et joue le rôle de veilleuse. La

deuxième série, en C, est commandée par un régulateur analogue au régulateur bimétallique et chauffe plus ou moins suivant les mouvements de ce dernier.

III. — Étuves chauffées au pétrole.

Ce sont toujours des appareils de nécessité, d'un réglage approximatif. L'un des meilleurs modèles est l'étuve Hearson.

Étuve Hearson. — Le corps de l'étuve comprend une caisse à double paroi, avec matelas d'eau (A), tube d'amenée d'eau (O), robinet de vidange (N) et trop-plein (M); thermomètre, K (fig. 64).

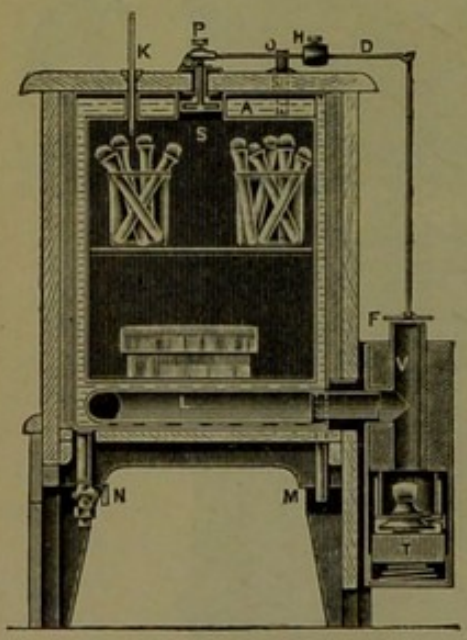


Fig. 64. — Étuve Hearson, au pétrole.

Le chauffage est assuré par une lampe à pétrole, T; les gaz chauds de la lampe ou bien passent en L et chauffent l'étuve, ou bien s'échappent directement à l'extérieur par la cheminée V et ne chauffent pas; c'est le registre F qui commande l'un ou l'autre mode de circulation des gaz.

Ce registre F traduit, par l'intermédiaire de la tige coudée D et de la vis P, les mouvements du régulateur à capsule S, renfermant un liquide bouillant à diverses températures (34° pour les étuves à régler à 37°). Toute dilatation de la capsule a pour effet d'élever F, c'est-à-dire de supprimer le chauffage, et inversement.

Fonctionnement (pour étuve à 37°).— Remplir d'eau chauffée à 30°; placer la lampe; pousser le poids H vers la gauche, à fond; visser P de manière à baisser F. — Surveiller. Quand F se soulève, ramener le poids H un peu vers la droite, pour fermer F. — Continuer ainsi, en déplaçant H, jusqu'à ce qu'on ait atteint la température voulue. A ce moment, fixer H (à l'aide d'une vis).

Recharger la lampe toutes les douze ou vingt-quatre heures.

L'appareil se règle assez bien, à condition que la température de la pièce ne soit pas trop variable et surtout ne s'abaisse pas trop.

IV. — Appareil improvisé.

En l'absence de régulateur, on peut chauffer un espace clos (caisse à double paroi) avec un nombre plus ou moins grand de veilleuses à huile, placées sous la caisse, dans leur position habituelle (en radeau sur une couche d'huile, couvrant elle-même une épaisseur quelconque d'eau; récipient à volonté). On peut régler un peu en variant le nombre des veilleuses et leur éloignement de la caisse (Salomonsen). Extrêmement approximatif.

V. — Étuves à destinations spéciales.

A. *Étuve pour cultures dans le vide.* — Pour les cultures des microbes anaérobies, on fait le vide dans l'étuve même; cette étuve

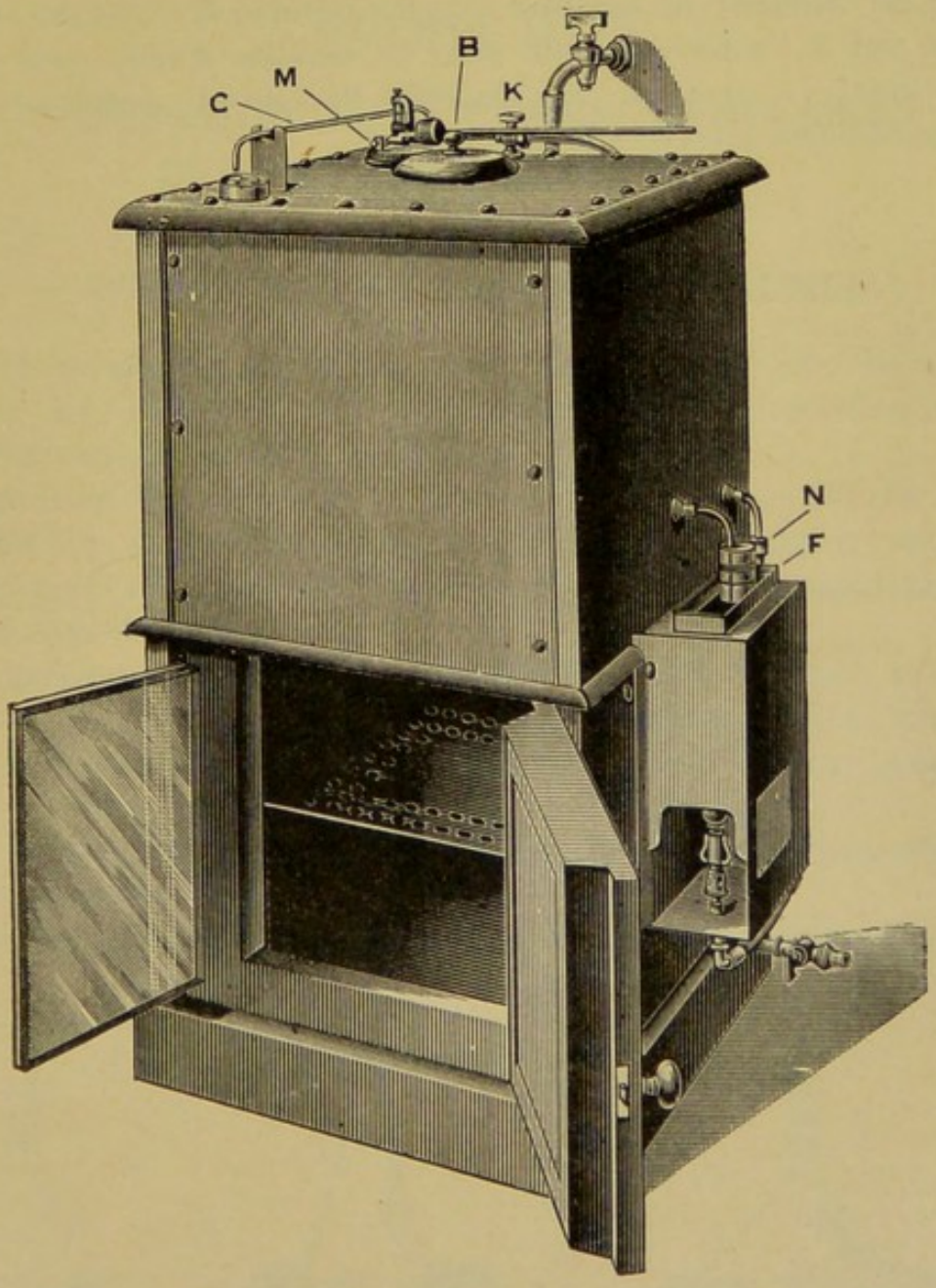


Fig. 65. — Étuve Hearson pour cultures à basse température.

représente un cylindre horizontal (corps de l'étuve) fermé aux deux bouts, avec brûleur à gaz muni d'un régulateur de Roux et tubulure latérale pour faire le vide.

On peut se contenter (L. Martin) d'une cloche métallique hermétiquement close, avec ajutage permettant de faire le vide; la cloche est placée dans une étuve ordinaire, dont elle prend la température.

B. *Étuves pour cultures à basse température* (*à 20°-22°*). — Signalons le modèle *Hearson* (fig. 65). Corps de l'étuve, matelas d'eau et régulateur, comme l'étuve à pétrole ci-dessus. La conduite C amène l'eau de K ; son extrémité libre se dirige vers la droite ou vers la gauche, obéissant aux mouvements du régulateur à capsule M. Suivant la position qu'elle occupe, la conduite déverse l'eau soit à l'extérieur, soit dans le matelas d'eau, après refroidissement à travers la glacière B, ou au contraire après réchauffement à travers la chaudière F.

CHAPITRE IX

PROCÉDÉS DE CULTURE ET ENSEMENCEMENT DES MICROBES AÉROBIES

I. — PROCÉDÉS DE CULTURE HABITUELS.

Le principe général est de cultiver en présence de l'air. On varie la forme des récipients et, éventuellement, la disposition des milieux suivant le but qu'on se propose.

Récipients de cultures. — Les récipients peuvent affecter les formes les plus diverses ; toutefois la pratique a montré les avantages de certains modèles ; il nous suffira de signaler rapidement ceux qui sont d'usage courant.

Pour milieux liquides. — Le récipient le plus employé est le simple *tube à essais.* Diamètre habituel : 15 centimètres × 15 millimètres. Il faut en outre des tubes petits ($0^m,12 \times 0^m,011$) et grands ($0^m,20 \times 0^m,020$).

On y répartira les milieux sur une hauteur de 3 travers de doigt environ (tubes moyens).

Quand on veut pratiquer les cultures en plus grande quantité,

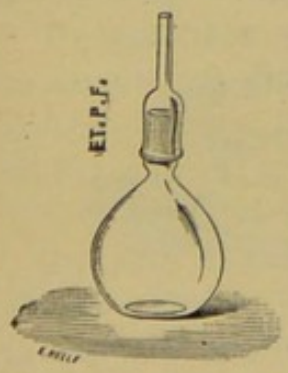


Fig. 66. — Matras Pasteur.

Fig. 67. — Fiole d'Erlenmeyer.

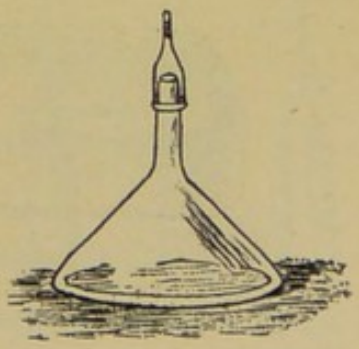


Fig. 68. — Fiole de Gayon.

ou bien donner au milieu plus de surface (plus d'aération), on emploie des ballons ou fioles ; les plus utilisés sont :

Le *matras Pasteur* (fig. 66), bouché à l'émeri, excellent mais fragile ;

La *fiole d'Erlenmeyer* (fig. 67) ;
La *fiole de Gayon* (fig. 68) ;
La *fiole de Vivien* (fig. 69) ;
Les *ballons ordinaires*, *à fond plat* (fig. 70) ou *à fond rond*. Les ballons à fond rond nécessitent des supports spéciaux (valets).

Fig. 69. — Fiole de Vivien.

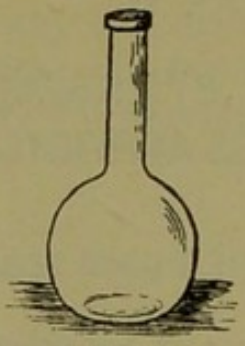


Fig. 70. — Ballon à fond plat.

Dans certains cas, les cultures demandent une aération très large : les dispositifs seront indiqués à propos de la préparation de la toxine diphtérique.

Pour milieux solides. — Ici encore, on emploie le plus souvent le simple tube à essai. La gélatine ou la gélose y seront réparties soit en couche profonde, *tubes droits*, pour ensemencements en piqûres ; soit en large surface, *tubes inclinés*, pour ensemencements en stries, isolements, cultures en masse (Voy. p. 124).

En vue d'appliquer les méthodes d'isolement (Voy. ci-dessous), ou d'obtenir une culture très abondante, il est souvent nécessaire d'ensemencer en large surface. On utilisera alors :

Les fioles de Gayon, d'Erlenmeyer ou de Vivien, citées plus haut ; ou, de préférence :

Les *fioles plates de Roux* (fig. 71) ou analogues, pour cultures massives ;

Les *boîtes de Petri* (fig. 72), pour les isolements. Les boîtes de Petri se prêtent mal aux cultures *prolongées*, parce qu'elles se

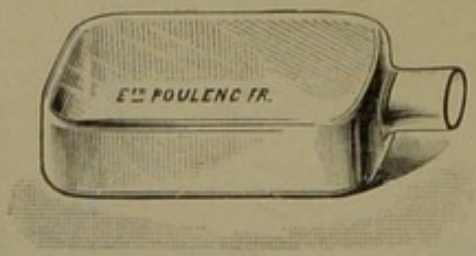


Fig. 71. — Fiole plate de Roux.

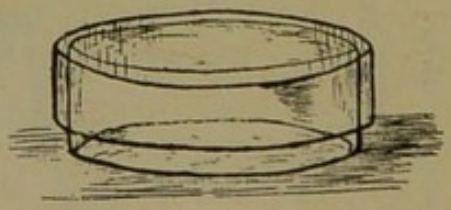


Fig. 72. — Boîte de Petri.

contaminent facilement ; par contre, elles permettent aisément l'observation et le prélèvement des colonies, opérations essentielles dans les isolements.

Les cultures sur pommes de terre demandent des tubes spéciaux (fig. 45).

II. — ENSEMENCEMENTS.

Ensemencer, c'est porter un germe dans un milieu nutritif.

L'ensemencement est une opération tellement courante qu'on ne peut même énumérer en détail ses indications ; citons le *repiquage* des microbes (ou leur transplantation d'une culture ancienne sur un milieu neuf) ; la *recherche* de microbes pathogènes dans les produits pathologiques ; etc.

Suivant les circonstances, les modes d'ensemencement peuvent varier. Mais il est des règles fondamentales qu'il faut toujours observer :

L'ensemencement sera pratiqué sur des milieux stériles, avec des instruments stériles.

Il ne modifiera en rien la semence (ne pas la contaminer ; ne pas la stériliser).

Il sera pratiqué purement, c'est-à-dire qu'on n'introduira dans le milieu neuf rien d'autre que la semence elle-même.

Ne jamais oublier de stériliser le porte-semence (fil de platine, pipette), *sitôt après usage.*

Le débutant doit s'exercer à ensemencer *automatiquement*, suivant les règles voulues.

On se mettra à l'abri de tout courant d'air (portes et fenêtres fermées ; pas de mouvements brusques).

Les ensemencements sont généralement faits au fil de platine ou à la pipette, plus rarement à l'aide d'une spatule d'étalement. On se servira du fil toutes les fois qu'il sera possible ; il est plus maniable et plus facile à stériliser.

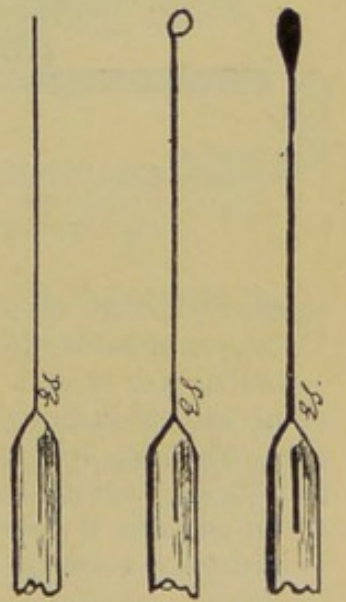


Fig. 73. — Fils de platine droit, en anse, en spatule.

Préparation des fils de platine. — Il existe des fils de platine d'épaisseurs variées ; il faut posséder trois épaisseurs différentes : fil fin, moyen, gros, mesurant environ 3/10, 7/10 et 1 millimètre.

On peut donner aux fils bien des dispositions ; les suivantes (fig. 73) répondent à la plupart des besoins : fil *droit*, mince, et fil droit, moyen ; fil *en anse* (*öse* des Allemands), mince, et fil en anse, moyen ; fil écrasé *en spatule*, gros. On dispose en anse à l'aide d'une pince ; en spatule, en écrasant avec un marteau.

Le fil, bon conducteur de la chaleur, et d'ailleurs toujours trop mince pour être rigide, doit être monté.

Montage des fils. — A. On doit monter soi-même, sur verre.

a. Prendre du verre plein, ou verre en baguettes, de 4 à 6 millimètres d'épaisseur, couper (couteau à verre) des segments de 20 à 25 centimètres de long. — Pour couper le verre : à l'aide du couteau, entailler d'un trait franc, bien transversal ; placer un doigt de chaque côté du trait, briser la baguette.

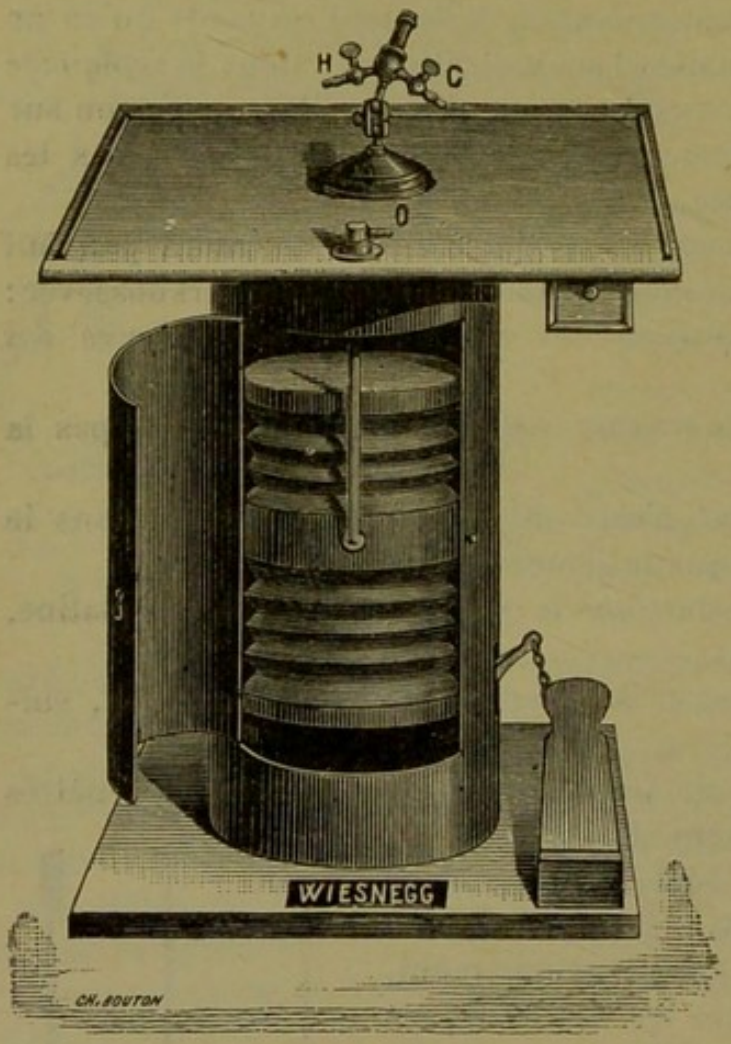


Fig. 74. — Chalumeau à gaz.

Couper d'autre part des fils de platine de longueur voulue (en moyenne 6 à 8 centimètres).

b. De la main gauche, porter dans la flamme chauffante (bleue) du chalumeau (Voy. ci-dessous) l'extrémité d'une baguette sur 1 à 2 centimètres ; tourner constamment ; chauffer jusqu'à ramollissement.

En même temps, de la main droite, prendre avec une pince le fil de platine, porter une extrémité dans la flamme et chauffer au rouge blanc.

c. Toujours dans la flamme, enfonçer le fil dans le verre, ramolli, suivant l'axe du verre, sur 1 centimètre environ. Continuer à chauffer, doucement (flamme blanche), pour laisser refroidir progressivement.

Enlever ensuite ; donner au fil la forme voulue.

Chalumeau à gaz. — On emploie généralement les chalumeaux à gaz et à air sous pression (fig. 74) ; l'air comprimé par la soufflerie (à pédale) s'échappe par le tube O, qu'on raccorde au tube H ; en C, amenée de gaz. On rend la flamme à volonté chauffante (bleue) ou non (blanche), en propulsant plus ou moins d'air par O. D'autre part, on varie également à volonté la hauteur (et la largeur) de la flamme, en ouvrant plus ou moins le robinet d'amenée du gaz. On peut substituer au chalumeau à gaz la lampe de soudeur.

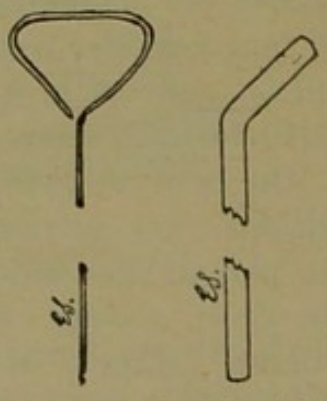


Fig. 75. — Spatule et baguette d'étalement.

B. On trouve dans le commerce des fils de platine montés sur manches métalliques.

Préparation des spatules ou baguettes d'étalement. — a. *Spatules* (fig. 75). — Couper des segments de fil de fer, épaisseur 3 milli-

mètres, longueur 18 centimètres ; disposer comme l'indique la figure. Stériliser.

b. *Baguettes* (fig. 75). — Porter dans la flamme du chalumeau un tube de verre plein, de 4 millimètres d'épaisseur et 20 centimètres de longueur ; couder comme l'indique la figure 75. Stériliser.

Préparation des pipettes Pasteur (fig. 76). — On se sert du verre en tubes du commerce ; diamètres courants, 4 à 10 millimètres. Avoir soin d'exiger un verre suffisamment épais.

a. Couper un tube (longueur, 1 mètre) en quatre segments. Roder les extrémités à une forte flamme, laisser refroidir. Boucher au coton les deux extrémités ; les bouchons ne doivent pas déborder.

b. Porter au four Pasteur, stériliser.

c. Après refroidissement, étirer au chalumeau : saisir la pipette aux deux extrémités, la présenter à la flamme obliquement, de manière à chauffer une assez grande surface, au milieu du tube ; tourner constamment entre les doigts ; chauffer jusqu'à ramollissement.

d. Rapidement : appuyer les coudes, écartés, sur la table ; éloigner le tube de la flamme ; l'étirer, horizontalement, à la longueur désirable : en moyenne, la partie effilée mesurera 30 à 40 centimètres. Maintenir en position jusqu'à refroidissement.

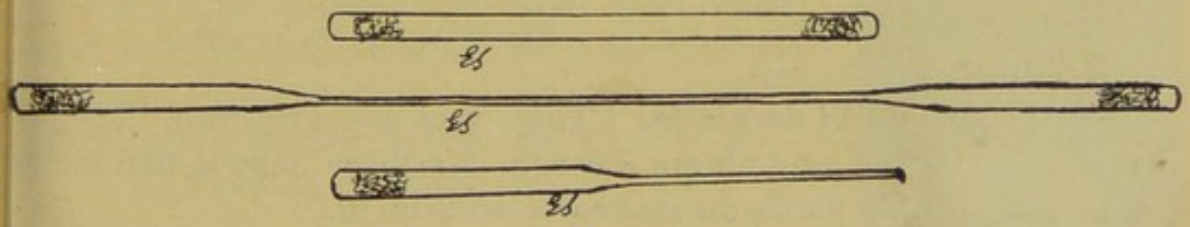


Fig. 76. — Préparation des pipettes Pasteur.

e. Baisser la flamme du chalumeau ; fondre dans la pointe de la flamme le milieu de l'effilure ; séparer les deux pipettes.

Remarques. — 1° La technique précédente donne des pipettes d'effilure moyenne. On peut avoir besoin d'effilures plus petites (augmentation de la capillarité) ou plus grosses (aspiration de liquides visqueux ou grumeleux). Il suffit de modifier le temps *c*.

Pour obtenir des effilures petites : diminuer la surface de chauffe, en présentant le tube presque normalement à la flamme.

Pour obtenir des effilures plus grosses : augmenter la largeur des segments de verre (35 à 40 centimètres) ; au temps *c*, présenter le tube très obliquement.

2° On se sert également de *pipettes à étranglement* (fig. 77). La pipette est d'abord préparée comme ci-dessus ; après refroidissement, porter dans la flamme, sur environ 1 centimètre, la partie sous-jacente au bouchon ; ramollir incomplètement, étirer doucement à longueur voulue.

3° Il est économique de fabriquer soi-même les *pipettes à boule* (fig. 78). Prendre une pipette Pasteur, effilure scellée ; présenter à la flamme chauffante du chalumeau la partie large du tube, en tournant constamment et régulièrement entre les doigts, jusqu'à ramollissement complet ; enlever alors la pipette, souffler progressivement par l'ouverture libre.

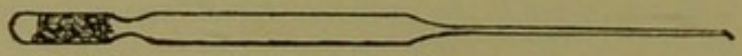


Fig. 77. — Pipette à étranglement.

Ensemencement au fil de platine. — 1° ***Ensemencement de tube liquide à tube liquide*** (fig. 79). — Fil de platine petit, en anse.

a. Prendre dans la main gauche, entre le pouce et l'index, le tube ensemencé ; maintenir le tube en position très inclinée (pour éviter la chute des poussières).

S'assurer que le bouchon est bien libre ; le tirer légèrement.

Fig. 78. — Pipettes à boules.

De la main droite, saisir le manche du fil de platine à anse, vers son extrémité libre ; le maintenir comme une plume à écrire. Stériliser dans la flamme le fil de platine et la partie du manche voisine du fil.

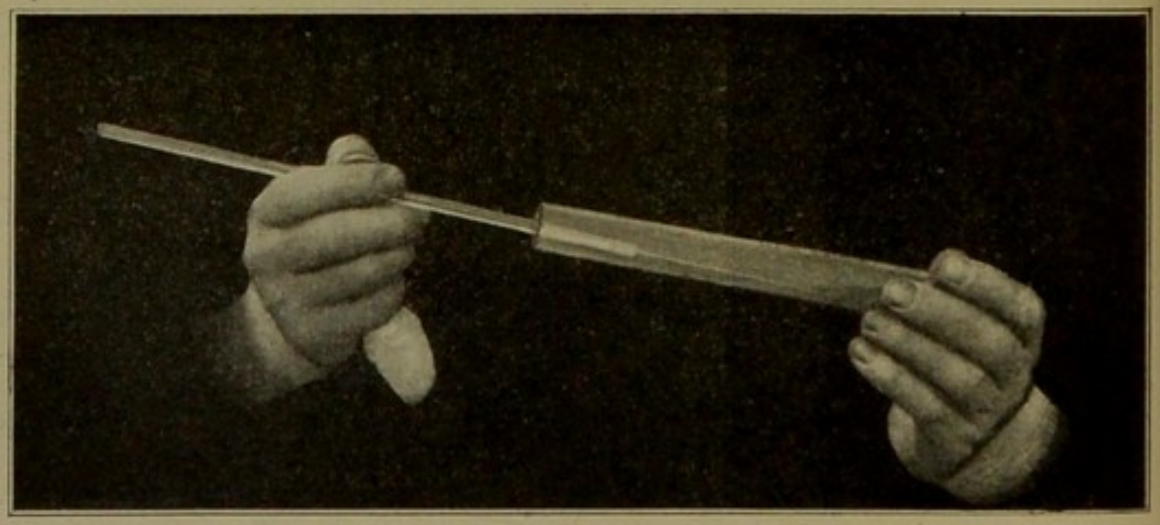


Fig. 79. — Ensemencement d'un tube de bouillon (vue de face).

b. Le fil refroidi, déboucher le tube en prenant et maintenant le bouchon entre l'annulaire fléchi et la paume de la main.

c. Flamber rapidement l'orifice du tube-semence. Plonger l'anse

de platine dans la culture, en veillant à ce que le manche ne touche pas le liquide. Retirer le fil, sans toucher aux bords du tube.

Flamber l'orifice, reboucher, poser le tube.

d. Prendre le tube neuf dans la main gauche, maintenir incliné, déboucher (comme en *a*).

e. Ensemencer (même opération qu'en *b*).

f. Avant d'abandonner le fil de platine, le stériliser.

g. Flamber et assujettir les deux bouchons. Mettre une étiquette (désignation, date, etc.). Porter à l'étuve.

Si les tubes doivent être conservés longtemps, placer un capuchon.

Au lieu d'étiquette, on peut porter les indications sur le tube même, au crayon gras ou à l'encre de vitrier.

2° *Variantes suivant le milieu à ensemencer.* — A. **Ensemencement sur milieux solides, en strie.** — Fil de platine petit, droit.

Temps *a* à *d*, comme ci-dessus. Ne pas trop incliner le tube neuf, pour éviter que l'eau de condensation ne dissémine les germes à la surface.

e. Plonger l'extrémité du fil de platine jusque près du fond du tube. La ramener vers l'orifice, en ligne droite ou sinueuse, en frottant légèrement la surface, sans enfoncer.

f et *g*. Comme ci-dessus.

Pour ensemencer sur *pomme de terre*, il faut prendre un fil moyen ou gros. Certains microbes (tuberculose) doivent être inoculés en plein tubercule et non simplement déposés à la surface.

Pour la *gélatine*, tenir le tube entre le pouce et l'index, au-dessus de la gélatine, non au niveau de cette dernière (pour éviter la fusion).

B. **Ensemencement sur milieux solides en surface.** — Fil de platine petit, en anse.

Comme en A, sauf au temps *e* :

e. Promener le fil sur toute la surface du milieu (barbouiller).

C. **Ensemencement sur milieux solides, en piqûre.** — Fil de platine moyen, droit.

On peut opérer comme en A, sauf au temps *e* :

e. Enfoncer le fil au milieu du cylindre solide, profondément parallèlement au grand axe.

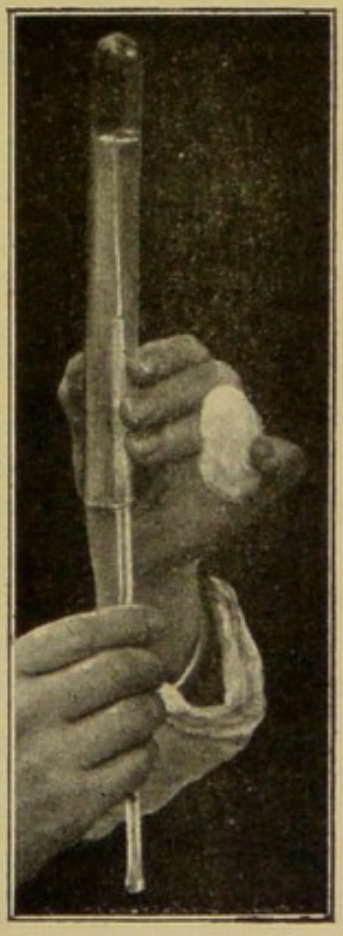


Fig. 80. — Ensemencement d'un tube de gélatine, par piqûre.

La technique suivante est préférable (fig. 80) :

a à *c*. Comme ci-dessus.

d. Prendre le tube neuf dans la main gauche, le placer verticalement, ouverture en bas.

e. Amener le fil de platine, bien vertical, au contact du milieu solide ; le maintenir fixé dans cette position. Laisser glisser le tube entre les doigts, verticalement ; le milieu s'empale sur l'aiguille. Une fois atteinte la profondeur voulue, laisser le fil de platine se dégager seul, en maintenant cette fois le tube.

f et *g*. Comme ci-dessus.

3° *Variante suivant le milieu de prélèvement.* — **Prélèvement sur les milieux solides ; ensemencement et tube de bouillon.** — Fil de platine moyen, en anse ou droit.

Comme en 1° ci-dessus, sauf aux temps *c* et *e* :

c. Porter le fil de platine sur la culture ; en prélever un fragment.

e. Porter l'extrémité du fil sur la paroi du tube neuf, légèrement au-dessus du liquide ; incliner le tube pour amener un peu de liquide au niveau du fil ; frotter ce dernier contre la paroi, pour dissocier la semence et la diluer dans le bouillon.

f et *g*. Comme en 1°.

Ensemencement à la pipette. — Nécessaire pour ensemencer de grandes quantités de milieux liquides en partant d'autres milieux liquides. Suivant la nature et la vitalité des germes, on ensemence par litre de milieu neuf quelques gouttes ou 1 centimètre cube de culture.

Nécessaire également pour les semences contenues dans des pipettes (cultures conservées, produits pathologiques).

Ensemencement de tube liquide à ballon liquide. — *a*. Prendre le tube-semence dans la main gauche.

Dans la main droite, prendre une pipette stérilisée, d'effilure assez longue pour que seule elle ait à pénétrer dans le tube et dans le ballon. Avec une pince flambée, casser la pointe. Flamber l'effilure en passant trois ou quatre fois dans la flamme. Laisser refroidir.

b. Déboucher le tube-semence.

c. Plonger la pipette, aspirer la semence ; appliquer la pulpe de l'index sur l'extrémité libre pour maintenir le liquide aspiré. Retirer la pipette, sans toucher au bord du tube. Reboucher le tube.

d. De la main gauche, soulever le bouchon du ballon, flamber l'orifice ; replacer le bouchon, en laissant à découvert juste la place nécessaire pour insinuer l'effilure de la pipette entre le bouchon et la paroi ; enfoncer l'effilure ; enlever le doigt obturateur. Le liquide tombe. Enlever la pipette.

e. Reboucher le ballon, étiqueter, mettre à l'étuve; stériliser la pipette.

Ensemencement d'un produit contenu dans une pipette. — Couper le tube au milieu du bouchon, casser sans déboucher; flamber l'orifice, enlever le bouchon, prélever le produit avec une pipette, ensemencer.

Ensemencement par étalement (spatule d'étalement ou baguette). — Pour milieux solides en large surface; en boîte de Pétri par exemple.

Déposer la semence sur un point de la périphérie; étaler régulièrement, en badigeonnant toute la surface.

III. — INCUBATION ET OBSERVATION ULTÉRIEURE.

Les cultures ensemencées seront mises à l'étuve à la température voulue (37° pour la plupart des milieux; 22° pour la gélatine).

A défaut d'étuve à 22°, les cultures sur gélatine seront laissées à la température ambiante.

On dispose les tubes dans des paniers métalliques, des cylindres de carton ou des porte-tubes.

Il faut ensuite suivre le développement des cultures, noter leurs caractères. Nous étudierons plus loin les caractères spéciaux à chaque microbe. On pourra suivre d'ordinaire le programme suivant.

Conditions générales de culture. — *Température optima. Températures limites* (supérieure et inférieure) compatibles avec le développement.

Rapidité de développement sur les divers milieux.

Odeur (fade, urineuse, fécaloïde, etc.). L'odeur est généralement plus perceptible sur milieux liquides.

Pouvoir chromogène : colorations verte, rouge, jaune, etc. Ces colorations sont d'ordinaire plus nettes sur milieux solides.

Cultures en milieux liquides. — A. Milieux transparents : bouillon, bouillons sucrés, sérum, etc. — *Modifications apparentes des cultures* en bouillon, prises comme type.

A la surface, il peut exister un *voile* d'épaisseur variable, parfois plissé, humide (*B. subtilis*) ou sec (*B. de Koch*); ou un voile mince, en radeau (Vibrion cholérique); ou une simple collerette sur les bords.

La *masse du liquide* peut être *uniformément trouble*, donnant parfois des ondes moirées par agitation (*Bacille typhique*); ou bien le liquide peut demeurer clair, la culture se manifestant par des *grumeaux* ou des *flocons*, tantôt déposés au fond ou sur la paroi

(*Streptocoque*), tantôt demeurant en suspension (*Bacille pesteux*).

Au fond, il peut se former d'emblée un *dépôt*, parfois très adhérent (*entérocoque*), le plus souvent facile à désagréger par agitation. A la longue, toute culture trouble donne un dépôt.

Le développement s'accompagne parfois d'un *dégagement de gaz*.

Autres modifications. — La *réaction* du milieu, originellement neutre ou légèrement alcaline, peut devenir ou acide (*B. coli*), ou alcaline, ou présenter successivement les deux modifications (*Bacille de Lœffler*). On s'en rendra facilement compte en déposant une goutte de culture sur papier de tournesol.

On peut voir apparaître des produits de désintégration, spécialement l'*indol*.

B. Lait. — Le lait demeure liquide ou *se coagule*. Tout en demeurant liquide, il *s'éclaircit* parfois à la longue. La *réaction* peut devenir acide ou alcaline.

Cultures en milieux solides. — A. Milieux transparents. Gélatine. — Noter avant tout si le milieu est ou n'est pas *liquéfié* ; à quelle date apparaît la liquéfaction. On suivra plus utilement la liquéfaction sur les cultures en piqûre ; la liquéfaction peut se faire en cupule (Vibrion cholérique), en entonnoir (Staphylocoque).

Gélatine, gélose, sérum. — A part la liquéfaction, les caractères généraux de cultures peuvent être esquissés de la même manière. Ces caractères sont presque toujours le plus nets sur gélatine.

Cultures en strie. — La *culture* peut être : transparente (Bacille typhique) ou opaque (*Staphylocoque*) ; saillante ou plane, en ruban ; à surface lisse ou irrégulière; homogène ou non homogène (plus épaisse ou plus opaque au centre ou à la périphérie) ; humide ou sèche; visqueuse (*Pneumobacille*) ou non (prélevée au fil de platine, une culture visqueuse s'étire en filament). Préciser en outre la largeur (en millimètres).

Cultures en piqûre. — La culture peut : être limitée à la piqûre, culture *en trait*; se développer davantage à la surface, culture en *clou* (Pneumobacille) ; se limiter à la surface, plane (en disque) ou bombée, plus ou moins large; présenter dans la profondeur des ramifications, culture *arborescente* (*Bactéridie charbonneuse*).

Certains microbes dégagent des bulles de gaz insolubles ou peu solubles, qui fragmentent le milieu.

B. Pomme de terre. — Mêmes caractères qu'en A, sauf la transparence.

IV. — PROCÉDÉS DE CULTURE EXCEPTIONNELS.

Cultures sous le microscope. — Il y a quelquefois intérêt à suivre sous le microscope le développement d'un germe. En pareil cas, il est nécessaire de faire la culture dans un appareil qui permette l'examen à tout instant, tout en s'opposant à l'évaporation du milieu, en permettant l'accès de l'air et en maintenant autant que possible la température eugénésique.

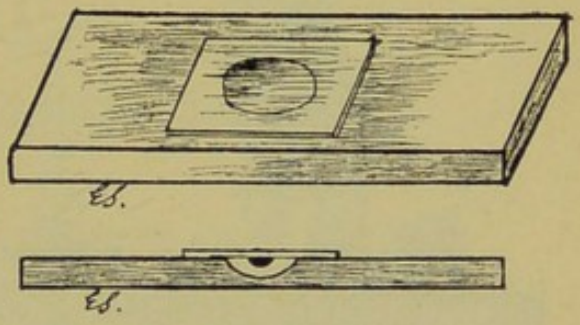


Fig. 81. — Cellule de Koch.

On emploie dans ce but les cultures en cellules.

Cellule de Koch (fig. 81). — C'est une lame porte-objet ordinaire, creusée au centre d'un trou en godet; en couvrant d'une lamelle, on délimite une cellule.

Mode d'emploi. — Nettoyer soigneusement la lamelle avec un linge stérile; achever la stérilisation en chauffant très rapidement; un chauffage prolongé favorise trop l'étalement du liquide. D'autre part, ensemencer une quantité quelconque du milieu choisi.

Déposer au centre de la lamelle une petite goutte du milieu ensemencé; renverser sur la cellule, en évitant que la goutte ne touche nulle part les parois. Luter les bords à la vaseline. Mettre à l'étuve. Examiner en temps opportun. Remettre à l'étuve dans l'intervalle des examens. C'est la culture *en goutte suspendue*.

Fig. 82. — Cellule de Bôttcher.

Cellule de Bôttcher (fig. 82). — C'est un simple anneau de verre qu'on fixe sur une lame ordinaire; fixer à la vaseline ou à la cire. Préparer ensuite la lamelle et le milieu, disposer en goutte suspendue, etc., comme ci-dessus.

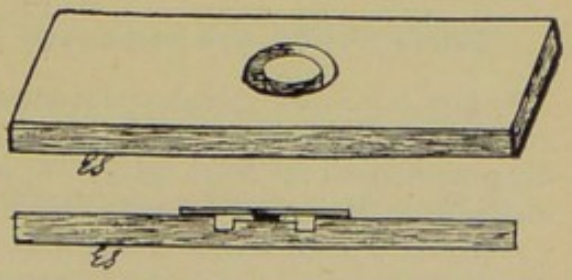


Fig. 83. — Chambre humide de Ranvier.

Chambre humide de Ranvier (fig. 83). — Elle peut servir au même but; la lame est percée d'une rigole circulaire, délimitant un plateau dont la surface est en contre-bas de 10 millimètres par

rapport au reste de la lame. Déposer sur le plateau une petite goutte du milieu ensemencé, couvrir d'une lamelle, luter, etc.

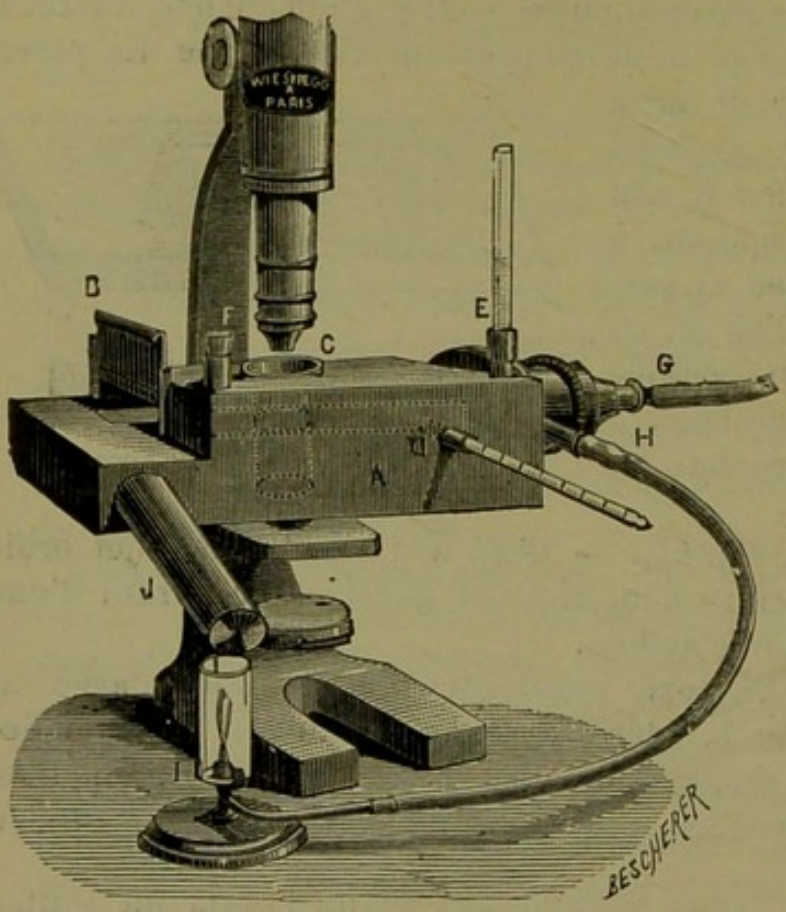


Fig. 84. — Platine chauffante de Vignal.

Les procédés précédents exposent les préparations à la température ambiante et nécessitent des déplacements. Il peut être nécessaire de maintenir pendant l'examen la température de culture (37° le plus souvent), ou de ne pas déplacer le champ soumis à l'observation. On utilise alors les platines chauffantes ; citons celle de Vignal, qui se place sur la platine du microscope.

La *platine chauffante de Vignal* (fig. 84) a l'avantage de constituer une petite étuve à température constante avec régulateur d'Arsonval (p. 46) ; ce n'est d'ailleurs qu'une étuve d'Arsonval modifiée.

La préparation, disposée comme ci-dessus, est glissée sous la porte B ; elle y demeure en permanence.

Cultures en sacs de collodion. — Voyez page 204.

Conservation des semences (*cultures, produits pathologiques*).

a. Les microbes développés dans les milieux de culture peuvent être conservés quelque temps dans le milieu même. En général, la conservation est plus longue au froid (glacière), à l'obscurité, en tubes profonds (gélose en piqûre). Mais il y a des exceptions, qui seront indiquées en temps utile.

b. Il est d'ordinaire préférable de conserver les semences à l'abri de l'air en pipettes scellées. Aspirer la semence dans la partie large d'une pipette à étranglement (p. 55) jusqu'à quelques millimètres de l'étranglement ; obturer avec le doigt l'extrémité libre ; sceller l'effilure, un peu au-dessus de la pointe, dans une petite flamme (veilleuse du bec Bunsen) ; sceller de même au niveau de l'étranglement. Conserver à l'obscurité et au frais.

CHAPITRE X

ISOLEMENT DES MICROBES AÉROBIES

Isoler un microbe, c'est l'obtenir en culture pure.

L'isolement est le premier temps, indispensable, de l'étude et de l'identification des germes. Il doit toujours être pratiqué quand on veut étudier un produit quelconque au point de vue bactériologique, même lorsqu'il s'agit d'un produit pathologique qu'on *suppose* être nfecté par une seule espèce microbienne.

Il existe un grand nombre de méthodes d'isolement.

Tout d'abord des **méthodes générales** applicables dans tous les cas, et seules applicables toutes les fois que l'observateur n'a aucune idée préconçue sur la nature des espèces présentes.

Si, au contraire, on veut chercher telle ou telle espèce déterminée, il peut y avoir intérêt à employer des **méthodes spéciales,** basées sur la connaissance des propriétés biologiques particulières à l'espèce :

Soit des *artifices de séparation* ;

Soit des *milieux de culture électifs* ;

Soit l'*inoculation aux animaux.*

I. — MÉTHODES GÉNÉRALES.

Elles ont pour but de séparer les microbes un à un dans les milieux d'isolement, de telle sorte que chacun d'eux donne naissance à une colonie bien séparée (milieux solides) ou à une culture absolument pure (milieux liquides).

Comme milieux d'isolement, on n'emploie guère que les milieux solides; nous les envisagerons exclusivement dans ce chapitre.

Pour séparer les microbes à l'aide des milieux solides, on peut les répartir :

Ou bien *dans les milieux préalablement liquéfiés.* On s'adresse d'ordinaire à la gélatine, qui est plus favorable aux saprophytes qu'aux pathogènes. Aussi ces procédés sont-ils particulièrement indiqués *pour l'étude des milieux extérieurs* (eaux, etc.) ;

Ou bien, *à la surface des milieux*, en opérant soit *par épuisement*, soit *par dilution*. L'isolement en surface est réalisé à l'aide des milieux à base de gélose (gélose ordinaire, sang gélosé, etc.), ou de sérum coagulé ; il convient particulièrement à la *recherche des microbes pathogènes*.

A. **Isolement à l'aide des milieux solides préalablement liquéfiés.** — Le milieu solide est liquéfié au préalable. A ce milieu liquéfié on incorpore le produit à analyser, pur ou dilué ; on mélange ; on laisse refroidir et on porte à l'étuve après solidification. Chaque microbe est alors enrobé dans le milieu ; il donne naissance à une colonie, qui doit être séparée des voisines si la plaque est bonne.

On opère par *dilutions successives*, de telle sorte que les ensemencements sont de moins en moins riches. Ces dilutions successives sont presque toujours nécessaires, car, le nombre de germes renfermés dans le produit à analyser étant inconnu, un seul ensemencement courrait chance d'être ou trop pauvre, ou trop abondant.

Les milieux utilisables sont la gélatine et la gélose. La gélatine est le plus communément employée.

Avantages et inconvénients de la gélatine. — La gélatine, liquide à température relativement basse, est facilement maniable ; elle donne naissance à des colonies présentant souvent des caractères différentiels nettement tranchés. — Par contre, elle ne supporte pas la température eugénésique des microbes pathogènes, de telle sorte que beaucoup de ces derniers ne s'y développent que mal ou pas du tout ; pour la même raison, elle est difficilement utililisable en été et dans les pays chauds ; le développement est assez lent et demande plusieurs jours ; elle est liquéfiée par certaines espèces, ce qui gêne ou empêche l'observation.

Avantages et inconvénients de la gélose. — La gélose supporte bien la température de 37°. Aussi se prête-t-elle au développement de la plupart des pathogènes. — Mais, solide à température relativement haute — elle fond à 70° et se maintient en surfusion jusque vers 41° ; — elle est moins facilement maniable par le procédé actuel ; on s'adresse plutôt à d'autres procédés (Voy. ci-dessous, B et C).

1° ***Ensemencement en gélatine, en boîtes de Petri.*** — *Bon procédé.* — Préparer des boîtes de Petri et des pipettes stériles.

a. Faire fondre (bain-marie, étuve) trois tubes de gélatine de 10 centimètres cubes ; maintenir vers 30° à 35°.

La gélatine doit être assez refroidie pour que la température ne porte pas atteinte à la vitalité des germes qu'on recherche.

b. En prenant les précautions indiquées plus haut (p. 156), ensemencer un tube de gélatine, 1, avec le produit à analyser. Mélanger.

Pour mélanger : incliner le tube, très fortement — sans mouiller le

bouchon — puis ramener à la verticale; répéter cinq ou six fois de suite. Rouler alors le tube entre les deux mains, en position verticale. Incliner à nouveau, rouler. — Ne jamais agiter comme on le fait en chimie (en secouant), sans quoi le milieu serait encombré de bulles d'air.

c. Avec une pipette à effilure assez large, prélever un peu de gélatine du tube I; répartir III à V gouttes dans le tube II. Mélanger.

d. Prélever un peu de gélatine du tube II; répartir III à V gouttes dans le tube III. Mélanger.

On prépare ainsi trois mélanges à titres décroissants ; avec V gouttes d'une pipette au cinquantième de centimètre cubes (calibre habituel) et 10 centimètres cubes de gélatine par tube, le mélange le plus riche (tube I) est dilué au centième dans le tube II, au dix-millième dans le tube III. Si la semence est déjà diluée au cinq-centième dans le tube I, elle sera diluée au cinq-millionième dans le tube III.

e. Soulever légèrement le couvercle d'une boîte de Petri. Déboucher le tube de gélatine I, flamber l'orifice; couler la gélatine dans la boîte. Incliner la boîte en divers sens, de manière à répartir uniformément.

Il faut aller *très vite* dans la première partie de ce temps : laisser le moins longtemps possible la boîte ouverte à l'extérieur, exposée aux contaminations atmosphériques.

Couler de même, dans une deuxième boîte de Petri, le tube II; dans une troisième, le tube III.

f. Placer les trois boîtes, horizontalement, au frais, pour refroidir et solidifier. Porter ensuite à l'étuve à gélatine, à 20°-22°; à défaut d'étuve, laisser à la température ambiante.

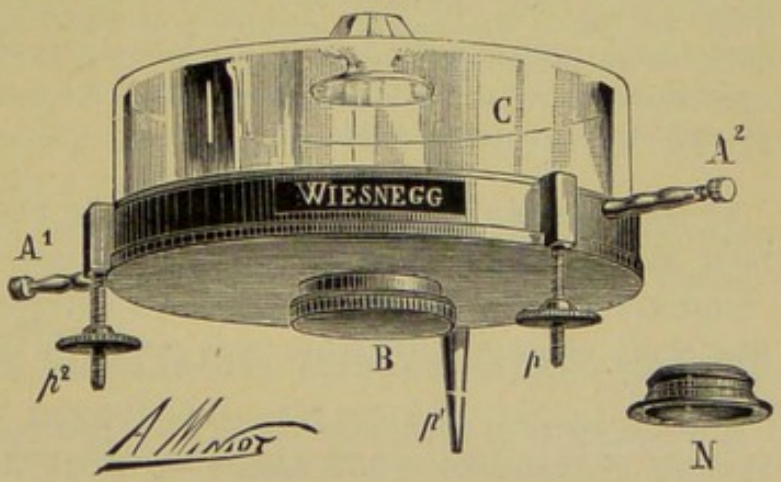


Fig. 85. — Table refroidissante et chauffante.

Pour refroidir, on peut se contenter de poser les boîtes sur une surface froide : plaque de verre, revêtement d'émail, papier-filtre mouillé.

On gagne du temps en posant sur la *table refroidissante* (fig. 85) maintenue bien horizontale. La température de la platine est réglée par l'eau, circulant de A^1 à A^2; on peut en outre introduire de la glace en dévissant B. La platine peut être chauffante, pour d'autres usages.

g. Surveiller tous les jours la marche de la culture, en notant la rapidité de développement des colonies, leur aspect (examen à l'œil nu et à un faible grossissement, loupe ou microscope); repiquer les colonies bien isolées (bouillon, gélose) et étudier ensuite plus complètement les cultures obtenues.

Suivant la richesse microbienne de la semence, les colonies seront suffisamment isolées dans l'une ou l'autre des trois boîtes.

2° ***Ensemencement en gélose fondue, en boîtes de Petri.*** — La gélose faisant prise à une température assez élevée, il faut opérer avec soin pour éviter d'une part une solidification trop rapide, d'autre part un ensemencement à haute température, nuisible aux microbes.

Opérer comme pour la gélatine, sauf des modifications de détail :

a. Faire fondre trois tubes de gélose au bain-marie, à l'ébullition ; laisser refroidir vers 42°.

b, *c*, *d*. Comme ci-dessus ; opérer *très rapidement* ; replacer les tubes au bain-marie dans l'intervalle des opérations.

e. Couler la gélose en boîtes de Petri.

f. Porter à l'étuve à 37°, *couvercle en bas*.

On place le couvercle en bas, afin que l'eau évaporée se condense non pas à la surface du milieu, mais sur le couvercle.

3° ***Plaques de Koch.*** — Procédé historique, inutilisé à l'heure actuelle. C'est le procédé qui fut utilisé tout d'abord par Koch pour les isolements sur milieux solides.

La technique est, dans les grandes lignes, celle décrite ci-dessus pour les ensemencements en gélatine, en boîte de Petri, sauf les modifications suivantes. — Au lieu de boîtes de Petri, on emploie des lames de verre, d'environ 14 × 10 centimètres, stérilisées. — Les plaques sont maintenues, horizontalement, sur un appareil à refroidissement (table refroidissante, par exemple) ; couvrir d'une cloche. Verser sur chacune des plaques la gélatine d'un des tubes, ensemencés comme plus haut. Laisser solidifier. — Disposer alors les plaques, chargées, sur des bancs de verre, dans un cristallisoir stérilisé par lavage au sublimé à 1 p. 1 000 ; maintenir au fond un papier imprégné de sublimé.

4° ***Gélatine en tube d'Esmarch.*** — Ce procédé est peu employé, bien qu'il réduise au minimum les chances de contamination : la technique est plus longue que pour les boîtes de Petri ; d'autre part, une seule colonie liquéfiante peut rendre le tube inutilisable.

a. Préparer trois tubes renfermant de la gélatine sur une faible hauteur, environ 1 centimètre. Faire fondre, maintenir fondus.

b. Ensemencer par dilutions successives : 1 goutte du tube I dans le tube II, 1 goutte du tube II dans le tube III. Mélanger.

c. Boucher les tubes à la ouate. Couvrir d'un capuchon de caoutchouc.

d. Incliner fortement un des tubes, sans mouiller le coton. Rouler doucement entre les doigts, de manière que la gélatine mouille toute la surface, sauf près du bouchon.

e. Porter le tube sous un filet d'eau froide, le rouler très rapidement

en soutenant au fond et à l'orifice. Continuer jusqu'à solidification complète.

Répéter les temps *d* et *e* pour les deux autres tubes.

f. Porter à l'étuve à 22°.

B. **Isolement à la surface des milieux solides par épuisement.** — Le principe est simple : la semence est chargée sur un fil de platine, qu'on promène sur les milieux. En raclant la surface, le fil abandonne peu à peu les microbes dont il est chargé ; les stries ainsi faites, très riches au début, s'appauvrissent peu à peu, et finalement ne donnent plus que des colonies rares, séparées les unes des autres.

La méthode est surtout applicable pour les semences relativement pauvres, ensemencées sur milieux électifs.

1° *Procédé des tubes.* — *Bon procédé.* — Indiqué pour les produits suspects de diphtérie (ensemencement sur sérum coagulé) ; ce procédé sera utilisé avec profit pour l'ensemencement de la plupart des produits pathologiques, en ayant soin de faire les cultures sur un milieu plus favorable aux pathogènes qu'aux saprophytes : sang gélosé ou gélose-ascite. La technique sera la même dans les différents cas.

a. Prélever le produit suspect sur fil de platine fort.

b. Ensemencer un premier tube de sérum coagulé ; commencer par le fond, ramener vers l'orifice en badigeonnant toute la surface.

c. Sans recharger le fil, opérer de même pour un deuxième tube

d. Toujours sans recharger le fil, ensemencer un troisième tube.

e. Mettre les tubes à l'étuve, suivre la culture (Voy. p. 408).

2° *Procédé des plaques.* — Indiqué spécialement pour isoler, sur milieux imparfaitement électifs, des microbes en quelque sorte noyés au milieu d'autres microbes : recherche du méningocoque dans le mucus rhino-pharyngé (gélose-ascite), recherche du bacille typhique dans les excreta (milieu d'Endo et similaires), etc.

Liquéfier le milieu, verser en boîtes de Petri, laisser refroidir, ensemencer comme il a été indiqué plus haut (p. 159). Porter à l'étuve, couvercle en bas.

C. **Isolement à la surface des milieux solides par dilution.** — 1° *Procédé expéditif.* — Le procédé suivant, expéditif, suffit dans la plupart des cas. Les dilutions sont faites dans les tubes même qui doivent servir à la culture.

a. Préparer trois ou quatre grands tubes de gélose, présentant une quantité appréciable d'eau de condensation.

Si les tubes sont secs, on ajoutera 0^{cc},5 à 1 centimètre cube d'eau stérile.

b. Porter la semence dans l'eau de condensation du tube I. Boucher. Incliner à cinq ou six reprises ; l'eau doit lécher toute la surface.

c. Plonger le fil de platine droit dans le liquide du tube I ; porter dans le tube II, le traiter comme en *b*.

d. Porter dans l'eau du tube II l'extrémité du fil de platine ; ensemencer le tube III, traiter comme en *b*.

Si la semence est très riche, ensemencer un quatrième tube.

e. Porter à l'étuve. Maintenir en position à peu près verticale, tant à l'étuve que lors des examens ultérieurs.

2° ***Procédé de Veillon. — Épuisement avec dilution.*** — *a.* Préparer quatre grands tubes de gélose, comme pour le procédé ci-dessus.

b. Charger la semence sur fil de platine droit.

c. Porter le fil dans l'eau d'un premier tube ; sans recharger, porter le fil dans un deuxième tube et continuer ainsi jusqu'au dernier.

d. Incliner les tubes, de manière que l'eau vienne lécher toute la surface et y disséminer les germes. Redresser, porter à l'étuve.

Remarque. — On peut substituer à la gélose ordinaire la gélose additionnée de *sang* ou d'*ascite*, dans l'un ou l'autre des deux procédés qui précèdent.

D. **Observation ultérieure des milieux d'isolement.** — Quel que soit le procédé employé, les milieux ensemencés seront examinés au moins une fois par jour. On notera les caractères des différentes colonies ; s'il y a lieu, par exemple lorsqu'on étudie un produit pathologique, on procédera à l'examen microscopique et au repiquage de toutes les colonies qui paraissent différentes les unes des autres. Dans ces dernières opérations, il sera nécessaire de se conformer aux règles indiquées à propos de chacune d'elles.

II. — MÉTHODES SPÉCIALES.

Artifices de séparation. — Ils sont nombreux, variables suivant les espèces.

Résistance à la chaleur. — Certains microbes, spécialement ceux qui donnent des spores, résistent quelque temps à l'action de températures très élevées.

C'est ainsi que le *B. subtilis*, par exemple, résiste très bien à l'ébullition, prolongée pendant dix minutes ; comme il est répandu à peu près partout, il suffira pour l'obtenir de faire bouillir une infusion de foin, qu'on ensemencera ensuite : le *B. subtilis* poussera seul ; d'où son nom de *Bacille du foin*. On isolerait de même de la pomme de terre le *B. mesentericus*.

Quelques microbes pathogènes, spécialement des anaérobies (Vibrion

septique, tétanos) se prêtent à ce mode de séparation. On pourra le mettre en pratique de la manière suivante :

a. Diluer la semence en milieu liquide. Aspirer dans la partie capillaire d'une pipette ; fermer aux deux bouts.

b. Porter dans l'eau à 95° ; maintenir pendant deux minutes.

Ce temps peut varier suivant les espèces : cinq minutes à 85° pour le charbon sporulé ; quinze minutes d'ébullition pour le *B. mesentericus*, etc.

c. Retirer le tube capillaire. Sécher une extrémité, la flamber et casser aseptiquement avec une pince.

d. Prélever le liquide à l'aide d'une pipette très effilée.

e. Ensemencer dans un milieu approprié.

La méthode, d'application facile, échoue quand la semence renferme plusieurs espèces sporulées, ou quand le liquide est albumineux.

Culture à températures dysgénésiques. — On sait que les microbes peuvent se développer dans des conditions thermiques variables ; leur faculté de végétation s'arrête à une température déterminée, qui peut être suffisante pour permettre l'isolement.

C'est ainsi que le Colibacille et le B. typhique se développent encore à 46° (Chantemesse et Widal), alors que la plupart des germes ne donnent plus de culture au delà de 41° ou 42°. Si l'on ensemence à 43° un produit renfermant du Colibacille, la culture sera positive ; mais rarement on la trouvera pure : car, si une température de 43° empêche le développement de la plupart des germes, elle ne saurait toutefois les détruire. Un repiquage de cette première culture sur d'autres milieux donnerait un mélange de Colibacilles et d'autres bactéries. Aussi est-il préférable de recourir aux *cultures fractionnées* : partant de la première culture, on fait un deuxième ensemencement, qui sera porté également à 43° ; au besoin, on continuera les cultures successives, jusqu'à obtention d'une culture absolument pure.

Certains microbes, les *bactéries thermophiles*, se développent à des températures élevées, 65°-70°, que ne supportent pas les autres espèces ; il est très facile dès lors de les isoler, par culture à 70° environ.

Séparation par filtration. — Les microbes mobiles peuvent traverser une paroi filtrante avec plus ou moins de rapidité. Le procédé sera décrit plus loin (Voy. p. 462).

Milieux de culture spéciaux. — L'idéal pour l'isolement des microbes serait de pouvoir offrir à chacun d'eux un milieu de composition fixe, où il se développe seul, à l'exclusion de tous les

autres. Il est malheureusement bien difficile d'y parvenir; seul jusqu'ici le milieu de Raulin répond à ce but : *Aspergillus niger* s'y développe à l'exclusion de toute autre bactérie. A défaut de semblables milieux, on se contente d'une électivité relative.

Le plus souvent, on ajoute aux milieux ordinaires des substances qui empêchent la culture de la plupart des microbes, sans gêner le microbe qu'on veut chercher. C'est ainsi que, pour la recherche du bacille d'Eberth et des bacilles voisins, on s'adresse aux *acides* dilués (généralement l'acide phénique) ; à certaines *substances colorantes* : fuchsine, vert malachite; à la caféine; etc. De même, les levures et moisissures se développent de préférence sur *milieux acides*.

Certains milieux, bien que peu nutritifs, se prêtent à l'isolement des pathogènes. Ainsi le pepto-gélo-sel est couramment employé pour la recherche du Vibrion cholérique; le sérum coagulé, pour le diagnostic bactériologique de la diphtérie.

Inversement, on peut isoler des microbes un peu délicats à l'aide de milieux très nutritifs : le Méningocoque cultive facilement sur gélose-ascite, le Streptocoque sur bouillon-sérum, etc.

Le mode d'emploi de ces différents milieux sera indiqué ailleurs.

Inoculation aux animaux. — Les animaux sont tellement sensibles à certains microbes qu'ils les sélectionnent, quand on leur inocule un produit même impur. On retrouve alors ces microbes seuls, dans les organes ou les lésions ; les autres microbes ont disparu. C'est ainsi que le cobaye se prête à l'isolement, par inoculation, du bacille tuberculeux, du bacille pesteux, du Vibrion septique ; la souris et le lapin, à l'isolement du Pneumocoque ; le lapin, à l'isolement du Streptocoque, etc. Les très nombreuses applications de cette méthode seront signalées à propos de chaque microbe.

CHAPITRE XI

CULTURE ET ISOLEMENT DES ANAÉROBIES

Les microbes anaérobies ne se développent qu'en l'absence d'oxygène libre. Pour les cultiver, il est donc nécessaire de priver les milieux d'oxygène et de les maintenir tels pendant toute la durée de la culture. Des manipulations et des dispositifs spéciaux sont nécessaires pour y parvenir.

En réalité, il est probable que nous n'arrivons jamais à l'*anaérobiose absolue*, c'est-à-dire que les procédés les meilleurs laissent toujours dans les milieux des traces d'oxygène ; mais l'anaérobiose relative qu'on obtient suffit pour permettre le développement des anaérobies, tout en entravant la culture des aérobies stricts.

La technique étant un peu spéciale, il est bon de s'y habituer. On obtient facilement un microbe d'étude. En inoculant un cobaye sous la peau avec une émulsion de terre de jardin ou de vase, chauffées deux minutes à 100°, l'animal succombe généralement à une infection par le *Vibrion septique*, qu'on pourra récolter de la sérosité péritonéale.

Nous étudierons successivement : 1° les procédés d'éviction de l'oxygène ; 2° les procédés de culture ; 3° les méthodes d'isolement.

I. — PROCÉDÉS D'ÉVICTION DE L'OXYGÈNE.

On fait disparaître l'oxygène des milieux de culture à l'aide de plusieurs procédés, qu'on peut ramener à quatre : ébullition ; substitution de gaz inertes ; extraction par le vide ; fixation par réduction.

A. — Ébullition.

L'ébullition, prolongée pendant quinze à vingt minutes, chasse la plus grande partie de l'air dissous dans les milieux. Il faut ensuite s'opposer à la rédissolution ultérieure d'oxygène : pour cela, refroidir rapidement et empêcher l'absorption d'oxygène par l'un ou l'autre des artifices indiqués plus loin.

Au sortir de l'autoclave, les milieux sont également assez pauvres en oxygène pour permettre les cultures anaérobies.

B. — Substitution de gaz inertes.

Les anaérobies peuvent se développer en présence de certains gaz qu'on dit *inertes*, parce qu'ils n'exercent sur eux aucune action. Un courant de gaz inerte, passant dans les récipients et barbotant dans les milieux, entraîne l'air (avec l'oxygène) qui y était contenu.

La méthode de substitution n'est plus guère employée seule ; on lui demande seulement de compléter les effets du vide.

On a proposé comme gaz inertes l'*hydrogène*, l'*azote*, l'*acide carbonique*, le *gaz d'éclairage*, l'*acétylène*. L'azote est difficile à préparer ; l'acide carbonique est toxique. Le gaz d'éclairage gêne certaines bactéries, mais certaines n'en sont pas incommodées ; on pourra se servir du gaz pour étudier ces dernières.

La plupart du temps, on emploie l'hydrogène, non toxique et facile à préparer. Chacun peut aménager l'appareil de Roux.

Appareil de Roux pour produire l'hydrogène. — L'appareil comprend deux flacons à deux tubulures reliés comme l'indique la figure 86. Au fond du flacon A, du verre (en baguettes ou en morceaux) ; au-dessus de ce dernier, des rognures de zinc. En B, de l'acide sulfurique au sixième.

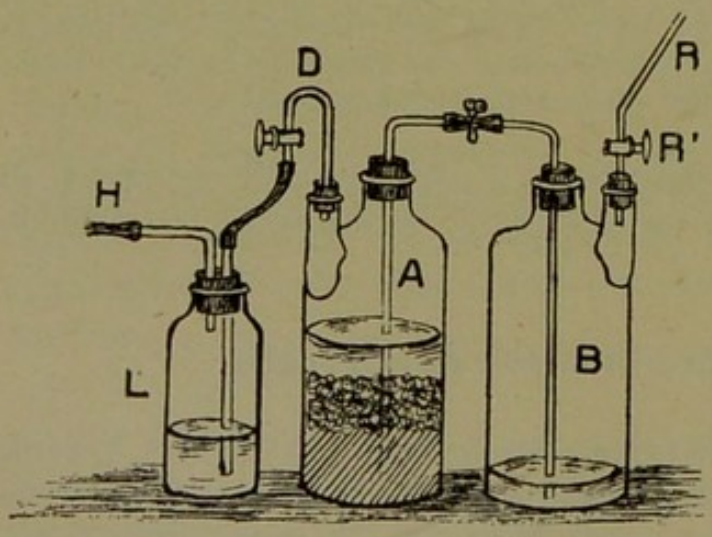


Fig. 86. — Appareil à hydrogène de Roux.

Pour préparer l'acide sulfurique aux sixième : verser peu à peu, avec beaucoup de précaution, lentement, de l'acide sulfurique pur dans cinq fois son poids d'eau.

Au contact du zinc, l'acide sulfurique donne naissance à de l'hydrogène, qui se dégage par le tube D. Au flacon A fait suite un petit flacon laveur, L, destiné à retenir l'oxygène ; y verser la solution indiquée page 176.

Fonctionnement. — 1° Comprimer l'air en B (souffler par R), robinets R′ et D ouverts. Le liquide passe en A.

2° Fermer D. L'hydrogène formé en espace clos fait pression et refoule le liquide vers B. Le dégagement s'arrête.

3° Ouvrir D. Laisser échapper le gaz. Comprimer par R ; recommencer l'opération précédente.

Après trois ou quatre manœuvres semblables, le flacon A est purgé d'air ; il donnera de l'hydrogène pur.

Néanmoins, il est bon de s'assurer que le courant n'est pas mélangé d'oxygène. Pour cela, faire barboter dans une solution d'indigo blanc ; s'il y a de l'oxygène, la solution devient bleue.

4° Une fois le courant débarrassé d'oxygène, raccorder le tube H à l'appareil à vide (Voy. ci-dessous).

5° L'opération terminée, fermer le robinet D. Comme précédemment, l'hydrogène formé refoule le liquide en B; la réaction cesse.

L'appareil est purgé d'air. Dans les opérations ultérieures, il suffira, pour obtenir de l'hydrogène pur, de faire passer le liquide en A.

Variante. — Un autre modèle (fig. 87), plus ancien, facile à improviser, diffère du précédent en ce que le tube de jonction des deux flacons est

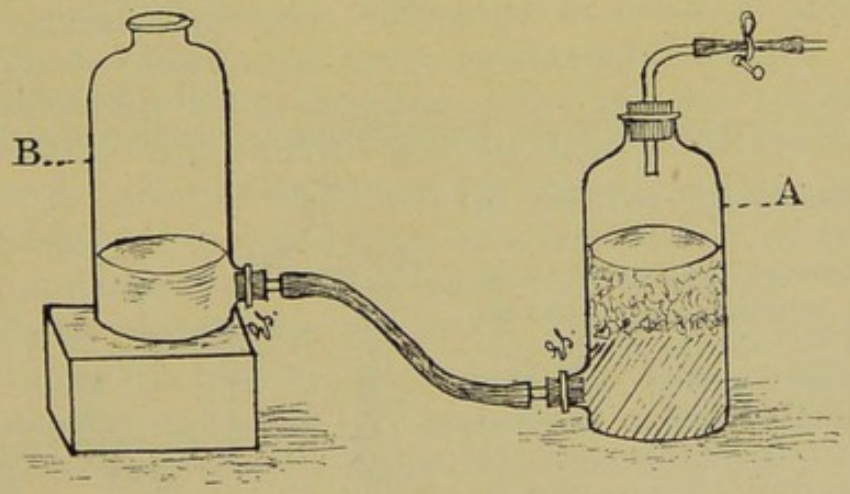


Fig. 87. — Appareil générateur d'hydrogène.

placé à leur partie inférieure ; ce tube est en caoutchouc, ce qui est nécessaire pour permettre les mouvements de B. Pour faire fonctionner : surélever B ; le liquide passe en A. Le caoutchouc s'use à la longue.

C. — Extraction par le vide.

On peut s'adresser à la trompe à eau ou à la pompe à mercure.

Remarques. — 1° Employer des récipients de cultures à parois résistantes, capables de supporter la pression atmosphérique.

2° Faire les raccords avec des tubes de caoutchouc épais (tube à vide ou tube Martin, ce dernier plus souple). — Pour faciliter l'ajustage des tubes de verre au caoutchouc, les effiler un peu à leur extrémité. Au besoin, mouiller légèrement cette extrémité.

3° Après avoir fait le vide dans les récipients, assurer une fermeture hermétique, pour éviter toute rentrée d'air.

4° Les récipients ne seront pas remplis au delà des deux tiers.

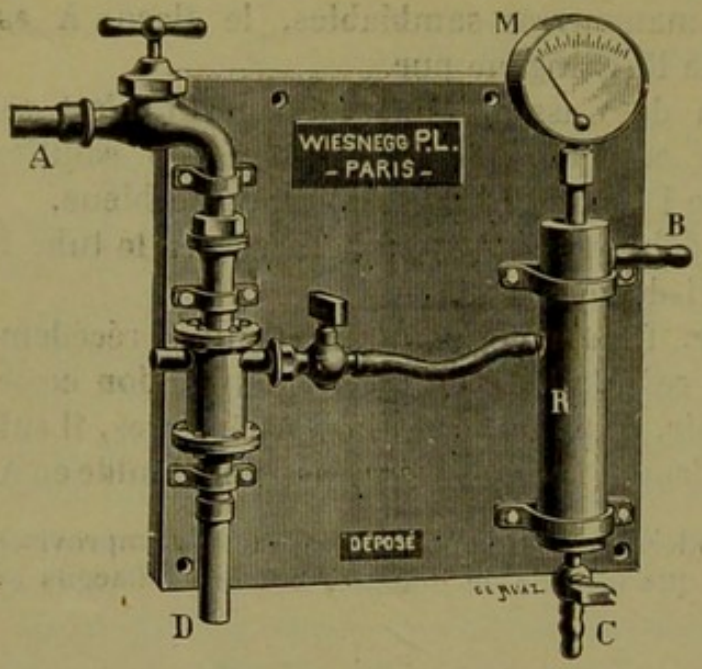


Fig. 88. — Trompe à eau.

Trompe à eau. — C'est l'appareil d'usage courant dans les laboratoires.

Il exige une pression de 8 à 12 mètres d'eau ; si la pression dans la canalisation est trop faible, on réalisera une installation de fortune : surélever le réservoir d'eau, ou inversement faire descendre très bas (en sous-sol) le tuyau de chute. Toute trompe à eau doit comporter comme annexes :

Un *manomètre* (à mercure ou métallique) ;

Un *réservoir de sûreté*, pour éviter les retours d'eau dans les récipients de cultures (ces retours se produisent surtout quand la pression de l'eau baisse inopinément : le vide du récipient fait alors aspiration). Dans nombre de modèles, ce réservoir fait partie de l'appareil (fig. 88). S'il n'existe pas, on l'improvisera à l'aide d'un flacon à deux tubulures (fig. 89).

Il est utile d'y adjoindre un *branchement* terminal *en T* : une branche va à la trompe, une autre au récipient de culture, la troisième à l'appareil producteur d'hydrogène (Voy. ci-dessous).

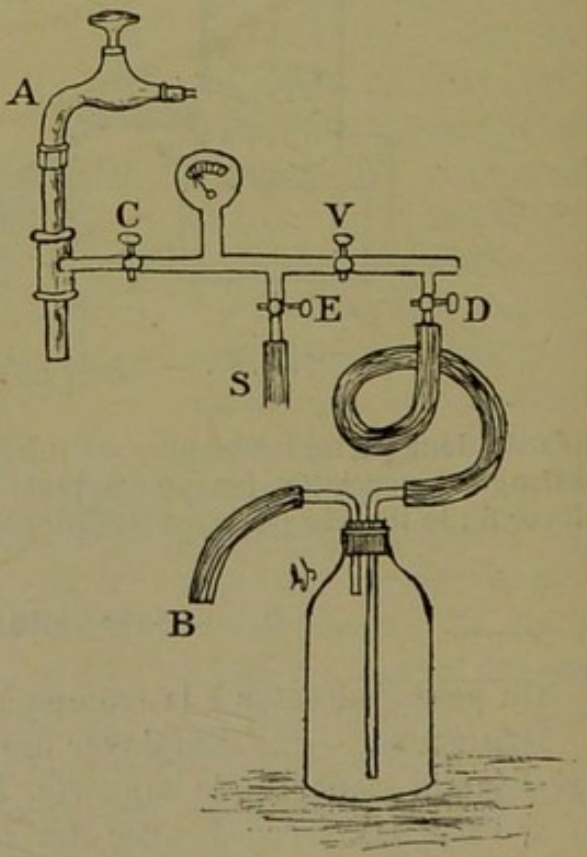


Fig. 89. — Dispositif pour extraction de l'air par le vide.

La trompe à eau permet d'obtenir : le vide ; ou le vide avec lavage à l'hydrogène.

Production du vide. — 1° Adapter le récipient de culture à l'extrémité B. — Ouvrir le robinet d'eau A

2° Ouvrir les robinets : V, à fond ; C, progressivement, en suivant des yeux l'aiguille du manomètre et le récipient de culture.

Le vide se fait dans le récipient; l'aiguille du manomètre s'élève ; quand elle s'immobilise, le vide est à son maximum. Maintenir l'aspiration pendant quelques minutes.

3° En continuant l'aspiration, sceller à la flamme le récipient de culture. Fermer C, puis A. Si, pour une raison quelconque, une aspiration en cours devait être interrompue, se hâter de fermer C.

Variante. — Vide avec ébullition. — Quand le milieu est liquide, on peut le faire bouillir, la température d'ébullition étant très basse, par suite du peu de pression. Dans ce but, opérer comme ci-dessus ; en outre, porter le récipient de culture à 35°-40° : pour une pipette, il suffit de a prendre à pleine main ; ou bien lécher prudemment les parois avec une flamme.

Les bulles formées, aspirées par la trompe, montent vers l'orifice du récipient et tendent à s'échapper. Pour y obvier, chauffer légèrement le récipient, à quelques centimètres au-dessus de la surface du liquide. Les bulles viennent crever sur la paroi chauffée.

Vide avec lavage à l'hydrogène. — Indiqué pour les cultures sur milieux solides ou sur milieux liquides en grande masse.

1° Adapter le récipient de culture à B ; adapter le tube de dégagement d'hydrogène (Voy. ci-dessus) au tube S. Ouvrir A.

2° Comme ci-dessus (Voy. *Production du vide*), E fermé.

3° Une fois le vide réalisé, fermer C. Ouvrir E. L'hydrogène passe dans l'appareil ; l'aiguille du manomètre baisse, jusqu'à zéro.

4° Recommencer le temps 2° (aspiration), puis le temps 3° (lavage) ; répéter les mêmes opérations, chacune trois fois.

5° Sceller comme ci-dessus, soit dans le vide (c'est-à-dire C et V, ouverts, E fermé), soit dans l'hydrogène (E et V ouverts, C fermé), suivant les indications.

Pompe à mercure. — La pompe à mercure est moins employée que la trompe à eau, parce que plus fragile et plus onéreuse ; elle permet cependant d'obtenir un vide plus parfait. Nous ne pouvons insister sur le détail du fonctionnement, qu'on trouvera dans les traités de physique ; pour les applications bactériologiques, on suivra, en outre, les indications données à propos de la trompe à eau.

D. — Emploi de corps réducteurs.

Les corps réducteurs sont de plusieurs ordres :

1° Les uns sont toxiques pour les microbes ; il est, par suite impossible de les incorporer aux milieux nutritifs. On ne peut les

employer que *pour absorber l'oxygène de l'atmosphère ambiante*, dans un espace confiné où l'on disposera les récipients de cultures.

On emploie généralement, dans ce but, la solution suivante :

Acide pyrogallique.....	1 gramme.
Potasse caustique..... ...	1 —
Eau distillée.....	10 centim. cubes.

Pour le dispositif, voir plus loin (p. 177).

Sellards substitue à la solution précédente le phosphore.

2° D'autres réducteurs, ne gênant pas les cultures, *sont incorporés aux milieux nutritifs*. Nous rangeons dans ce groupe certains réducteurs chimiques, des réducteurs tissulaires (tissus) et des réducteurs microbiens (microbes aérobies), bien que le mode d'action des tissus et des microbes soit encore un peu discuté.

Réducteurs chimiques. — Ce sont les plus employés. Couramment on s'adresse à la glucose (Liborius, Veillon). On peut employer également le sulfo-indigotate de soude à 0,1 p. 100 (Salomonsen), le formiate de soude à 0,3 ou 0,5 p. 100 (Kitasato et Weil) ; le sulfate de zinc ammoniacal (Liefmann), la mousse de platine (Pfuhl) auraient des propriétés analogues.

Réducteurs tissulaires. — Tarozzi a constaté qu'il suffit d'ajouter aux milieux ordinaires (bouillon, gélose) un fragment d'organe frais pour les rendre propices au développement des anaérobies.

Des fragments de foie, de rate, de rein, de ganglion lymphatique, peuvent être utilisés avec succès. L'addition de pomme de terre, même stérilisée à 120°, à raison de 1 gramme pour 10 centimètres cubes de bouillon (Wrozek), de même que l'addition de moelle de sureau, de graines de légumineuses (Guillemot et Mlle Syezewinska), de macérations d'organes desséchées et pulvérisées (Baldini), confère au milieu les mêmes propriétés.

Toutefois, d'après Jungano et Distaso, les milieux de Tarrozzi et similaires sont inférieurs aux milieux habituellement employés ; la vitalité des microbes est moindre et les espèces fragiles s'y développent à peine.

Réducteurs microbiens. — Les aérobies stricts absorbent l'oxygène des milieux, et, par suite, peuvent les rendre aptes à la culture des anaérobies. Il suffira d'ensemencer en surface le microbe aérobie et, en profondeur, le microbe anaérobie (Voy. plus loin).

II. — PROCÉDÉS DE CULTURE DES ANAÉROBIES.

La nécessité d'employer l'un ou l'autre des procédés précédents pour évincer l'oxygène oblige à adapter les récipients de culture à des conditions toutes spéciales. L'ingéniosité des auteurs s'est donné libre carrière pour doter la technique de dispositifs variés. En pratique, dans la plupart

des laboratoires, on se contente généralement, pour les milieux liquides, de la pipette de Roux et du tube de Legros, ou du flacon à deux tubulures (suivant la quantité de milieu), et pour les milieux solides, des procédés de Veillon (gélose) ou du tube à essai (gélatine). Il est bon néanmoins de pouvoir au besoin varier la technique.

La plupart des méthodes sont *mixtes*, c'est-à-dire qu'elles combinent plusieurs modes d'éviction de l'oxygène.

A. — Dispositifs applicables indifféremment aux milieux solides et aux milieux liquides.

On peut disposer les tubes à culture dans une atmosphère confinée ; on enlève ensuite l'oxygène de cette dernière.

Il est alors inutile de donner aux tubes une disposition spéciale; on ensemencera sur les tubes décrits plus haut pour les aérobies.

Ces appareils sont peu employés.

Cloche à vide, étuve à vide, etc. — On peut placer les tubes ou boîtes dans une *cloche à vide* ordinaire (fig. 90) ; transporter celle-ci à l'étuve, faire le vide dans la cloche. Au même but sert la cloche Martin. — Diverses *étuves* sont construites pour permettre de faire le vide. — L'évaporation étant très active dans le vide, il est utile de placer au fond des étuves un large récipient contenant de l'eau, ou plutôt la solution réductrice indiquée ci-dessus.

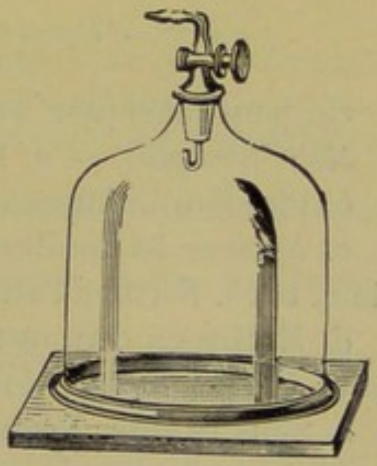


Fig. 90. — Cloche à vide.

Fig. 91. — Tube de Buchner.

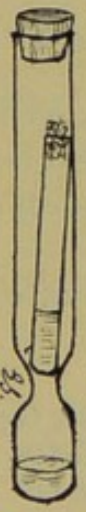


Fig. 92. — Dispositif de Buchner modifié.

Procédé de Buchner. — Le dispositif de Buchner (fig. 91) comporte un tube à essai, un autre tube plus grand, un support. On peut très bien se contenter d'un petit tube à essai disposé dans un grand tube à pomme de terre (fig. 92).

a. Ensemencer le tube de culture (bouillon, gélose, etc.) ;

b. Verser au fond du grand tube quelques centimètres cubes de la solution d'acide pyrogallique (Voy. p. 176), préparée *immédiatement* avant l'emploi. Il faut environ 1 gramme d'acide pyrogallique pour absorber l'oxygène contenu dans 100 cubes d'air. Mais il est prudent d'introduire une dose 4 fois supérieure.

c. Fermer le grand tube à l'aide d'un bouchon de caoutchouc, luté à la cire.

Opérer très vite, pour éviter l'oxydation prématurée du réducteur.

Agiter de temps à autre pour favoriser l'absorption de l'oxygène.

Ce procédé donne une anaérobiose suffisante ; il a l'avantage de pouvoir être improvisé sans difficulté.

Remarque. — On peut substituer au grand tube un autre récipient plus vaste fermant hermétiquement (cloche à vide par exemple).

B. — Dispositifs pour milieux liquides.

Pipette de Roux. — *Procédé de choix*. — La pipette de Roux pour anaérobies (fig. 93) comporte une partie renflée, terminée d'un côté par une effilure de pipette, de l'autre par un tube de verre portant deux étranglements ; entre ces derniers, on interpose un tampon de coton.

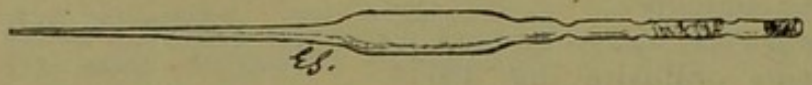


Fig. 93. — Pipette de Roux pour anaérobies.

On peut fabriquer soi-même des pipettes analogues.

Mode d'emploi. — *a*. Ensemencer un tube de bouillon.

b. Flamber l'effilure de la pipette, casser, flamber à nouveau.

c. Aspirer le bouillon dans la pipette ; remplir à moitié ou aux deux tiers. Fermer l'effilure à la flamme.

d. Mettre en communication avec la trompe à eau, faire le vide avec ébullition dans le vide (Voy. p. 175).

e. Sous le vide, fermer à la flamme la pipette, à l'étranglement supérieur. Au besoin, consolider les extrémités avec la cire Golaz.

Une fois la culture obtenue, si l'on veut *faire un prélèvement*, on opérera comme suit.

α. Donner un trait de lime, à la partie supérieure du tampon ; ouvrir.

Au moment où on ouvre le tube, diriger l'orifice de telle façon que la projection, possible, du liquide ne soit pas dangereuse. Cette projection est due à ce que la culture a donné lieu à un dégagement gazeux extrêmement abondant ; elle « saute » alors, comme une bouteille à champagne. C'est d'ailleurs tout à fait exceptionnel. Ordinairement les gaz formés s'échappent sans incident au moment de l'ouverture.

β. Enlever le tampon. Prélever aseptiquement, avec une pipette.

On peut ensuite continuer la culture dans un vide relatif, en opérant ainsi. Chauffer doucement l'espace libre au-dessus

du liquide. L'air chauffé se dilate et sort en grande partie de l'ampoule. Fermer à la flamme.

Variante. — Pour des cultures d'essai, il suffit de très peu de liquide; on pourra alors employer une pipette ordinaire, adaptée à la technique précédente. Étrangler la pipette au-dessus et au-dessous du bouchon. Opérer ensuite comme pour la pipette de Roux.

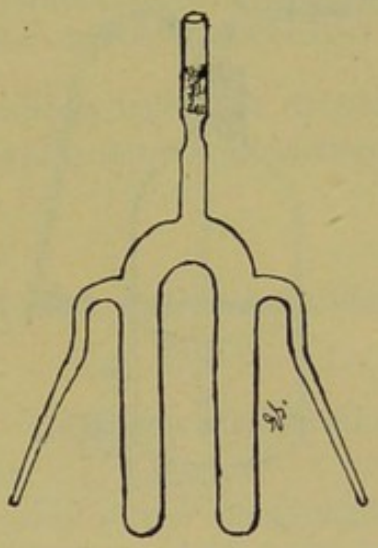


Fig. 94. — Tube double de Pasteur.

Tube double de Pasteur (fig. 94). — Très employé il y a quelques années, il permet de faire deux cultures successives. L'appareil a la forme d'un U renversé, portant une effilure sur chaque face latérale et, au fond, un tube. Préparer d'abord le tube terminal (tampon d'ouate entre deux étranglements.) Les effilures sont généralement trop rapprochées de l'U ; il faut les écarter un peu, en coudant à la flamme. Fermer les effilures, stériliser.

Mode d'emploi. — *a.* Casser la pointe d'une effilure, aspirer du bouillon stérile jusqu'à remplir le tiers de la branche correspondante ; fermer l'effilure.

b. Ensemencer un tube de bouillon. Casser l'autre effilure à la pointe, aspirer le bouillon ensemencé, remplir au tiers la branche correspondante, fermer.

c. Mettre le tube en communication avec la trompe à eau. Faire le vide avec lavage à l'hydrogène.

d. L'opération terminée, fermer au-dessus du tampon. Mettre à l'étuve, verticalement.

Pour faire une deuxième culture, quand la première a poussé : incliner l'appareil de manière qu'une partie du liquide passe dans l'autre branche.

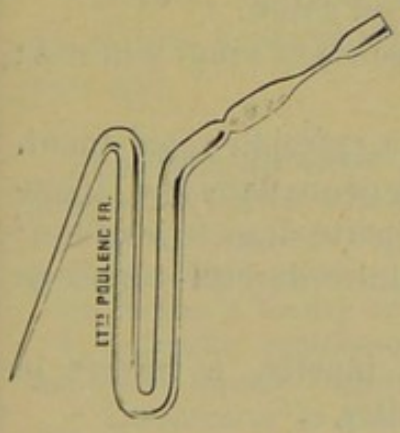


Fig. 95. — Tube de Lacomme.

Tube de Pasteur simple. — C'est le tube précédent, réduit à une branche.

Tube de Lacomme (fig. 95). — Il s'emploie comme le tube double de Pasteur, coûte moins cher.

Culture en flacon (dispositif de Würtz). — *Procédé de choix.* — Ce procédé est indiqué pour cultures en grande masse.

Préparer un flacon de 1 à 2 litres (fig. 96), muni d'un bouchon de caoutchouc à deux trous. Remplir de bouillon à moitié ou aux deux tiers. Deux tubes traversent le bouchon : l'un, A, plonge dans le flacon jusque près du fond; il se termine à l'extérieur par une effilure coudée; l'autre, B, affleure sous le bouchon, sans plonger, et se ter-

mine au dehors par une extrémité coudée à angle droit, portant un tampon de coton entre deux étranglements.

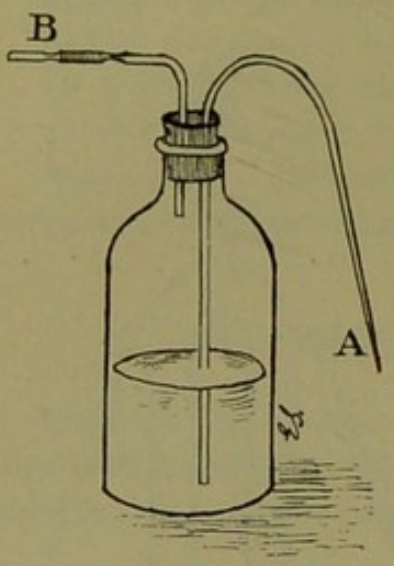


Fig. 96. — Culture en flacon (anaérobies).

Stériliser à l'autoclave, A, scellé. Après refroidissement, sécher le tampon d'ouate. Couvrir de cire Golaz les rainures du bouchon, pour assurer l'étanchéité.

Mode d'emploi. — Préparer la semence.

a. Flambler, puis casser la pointe de A; ensemencer le ballon en plongeant la pointe dans la semence, tout en aspirant par B. Sceller l'effilure à la flamme;

b. Mettre B en communication avec la trompe à eau; faire le vide avec lavage d'hydrogène (Voy. p. 175);

c. Sceller dans l'hydrogène l'étranglement extérieur de B.

Pour opérer un prélèvement, ouvrir l'extrémité de B.F lamber et casser l'extrémité de A. Souffler par B, recueillir le liquide dans un récipient stérile.

Culture sous l'huile de vaseline (Legros). — *Bon procédé.* — L'huile de vaseline ne s'oppose pas au passage des bulles de gaz, mais elle ne dissout pas d'oxygène et, par suite, isole complètement la culture de l'atmosphère extérieure.

a. Dans un grand tube à essai, verser d'abord du bouillon sur une hauteur de 10 à 15 centimètres; au-dessus, de l'huile de vaseline, sur 15 à 20 millimètres d'épaisseur. Boucher au coton.

b. Soumettre à l'ébullition au bain-marie pendant vingt minutes; refroidir rapidement.

Ou, plus simplement : stériliser à l'autoclave, refroidir rapidement.

c. Pour ensemencer le tube : prélever la semence dans une pipette ordinaire; plonger ensuite la pointe de la pipette dans le bouillon; laisser couler. On aura soin de ne pas introduire de bulles d'air en même temps que la semence.

Pour opérer un prélèvement : prélever à la pipette, à travers la couche d'huile, avec les précautions habituelles.

Ce procédé, simple et généralement suffisant, présente un inconvénient au moment du prélèvement; la paroi de la pipette se charge d'huile; celle-ci s'égoutte avec la culture et gêne la coloration. Pour y remédier : essuyer soigneusement la pipette au sortir du tube.

Culture « en tube cacheté » sous lanoline (Rosenthal). — A l'huile de vaseline on peut substituer la lanoline, fusible à 42°.

Préparer comme dans le procédé précédent; au moment de la prépara-

tion, chauffer la lanoline pour la rendre liquide. Liquéfier de même, en chauffant doucement, le bouchon de lanoline au moment des ensemencements et des prélèvements.

Si l'on prévoit un fort dégagement gazeux, il sera prudent d'étrangler un peu le tube au préalable, au niveau qui doit être occupé par la lanoline.

Mêmes avantages et même inconvénient que le procédé précédent.

Milieux de Tarozzi. — A un tube de bouillon ordinaire, ajouter un fragment d'organe (foie, etc.) recueilli aseptiquement. Ensemencer ensuite le milieu sans autre préparation.

C. — Dispositifs pour ensemencement des milieux solides par piqûre.

Tube de Veillon. — *Procédé de choix.* — C'est une modification heureuse d'un procédé antérieur de Liborius.

a. Préparer de la gélose ou de la gélatine ; additionner de glucose, 1,5 p. 100. Répartir en grands tubes, de telle sorte que le cylindre de gélose atteigne 10 à 12 centimètres de hauteur. Stériliser.

b. Faire bouillir les tubes au bain-marie; maintenir l'ébullition pendant quinze à vingt minutes. Laisser solidifier.

c. Ensemencer par piqûre profonde; l'aiguille doit presque toucher le fond.

La partie superficielle du cylindre fait tampon ; elle absorbe un peu d'oxygène, mais elle protège la couche profonde contre l'oxydation. Les anaérobies stricts commencent à pousser seulement à partir de 2 ou 3 centimètres de la surface.

Variante. — Pour certaines espèces, on additionnera la gélose de sérum, après ébullition, quand la température sera descendue vers 45°.

Procédé du tube à essai profond (Gélatine). — Répartir la gélatine en grands tubes, sur une hauteur de 10 à 12 centimètres.

a. Au moment de l'emploi, faire bouillir pendant quinze à vingt minutes. Refroidir rapidement.

On mettra à fondre en même temps un tube de gélose.

b. Refroidir rapidement et solidifier la gélatine. Refroidir la gélose, maintenir liquide vers 45°.

c. Ensemencer la gélatine en piqûre profonde.

d. Verser à la surface de la gélatine quelques centimètres cubes de gélose. Refroidir très rapidement.

Le bouchon de gélose protège la gélatine contre l'oxydation.

Tube de Roux. — On peut utiliser pour piqûres le modèle de tube de Roux destiné aux stries (Voy. ci-dessous).

Fixation d'oxygène par un microbe aérobie (Roux). —

a à *d*. Comme pour le deuxième procédé ci-dessus (procédé du tube à essai profond).

e. Ensemencer à la surface de la gélose un microbe aérobie strict (*B. subtilis* ou *B. mesentericus*).

Pour prélever la culture anaérobie : couper le tube de verre, à distance du bouchon de gélose.

D. — Dispositifs pour ensemencement des milieux solides en strie.

On peut utiliser le **dispositif de Buchner** (Voy. p. 177) ou l'un des suivants.

Tube de Roux (fig. 97). — Il présente la forme d'un tube à essai, surmonté d'un tube en T horizontal. Disposer un tampon de coton filtrant sur la branche horizontale. Remplir au tiers de gélatine, fermer l'extrémité supérieure, stériliser.

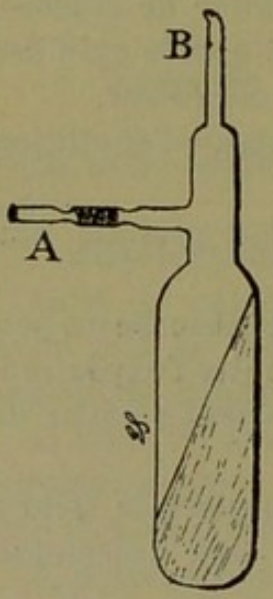


Fig. 97. — Tube de Roux, en T, pour anaérobies.

Au moment de l'emploi, s'assurer d'abord que le tampon de coton est sec. Sinon, sécher en chauffant.

a. Liquéfier la *gélatine*.

On pourrait employer la *gélose* : il faudrait alors maintenir dans un bain-marie à 45° jusqu'au temps *b* inclus.

b. Relier le tube A à la trompe à eau munie de l'appareil à hydrogène; faire le vide avec rinçage à l'hydrogène.

c. L'appareil étant plein d'hydrogène, incliner le tube à culture, laisser refroidir pour faire prise. Attendre la solidification.

d. Ensemencer : ouvrir l'extrémité supérieure, B; ensemencer rapidement à l'aide d'un long fil de platine ; sceller.

L'air ne rentre pas au moment de l'ouverture, parce que l'appareil est plein d'hydrogène, qui s'échappe au dehors à ce moment.

e. Faire le vide, laver à l'hydrogène; sceller l'étranglement à la flamme, dans l'hydrogène.

Il vaut mieux faire les cultures en strie dans une atmosphère d'hydrogène, de manière à éviter autant que possible que le milieu ne se décolle de la paroi, sous l'influence du vide.

Dispositif extemporané. — On peut utiliser un simple tube à essai, à paroi résistante, fermé par un bouchon de caoutchouc traversé par deux tubes, le tout disposé comme l'indique la figure 98.

Remplir le tube de gélose sur un quart de sa hauteur ; fermer O ; stériliser. Après refroidissement, sécher le tampon filtrant.

Au moment de l'emploi, luter le bouchon à la cire Golaz. Opérer ensuite comme dans le procédé précédent ; le tube coudé de cet appareil représente la tubulure latérale du tube de Roux.

Fermer au-dessus du tampon filtrant.

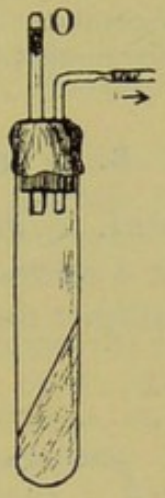


Fig. 98. — Tube pour culture, en strie (anaérobie).

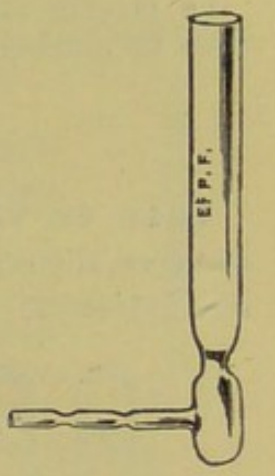


Fig. 99. — Tube pour cultures anaéorobie sur pomme de terre.

Dispositif pour cultures sur pomme de terre. — Employer le tube de Roux pour culture anaérobie sur pomme de terre (fig. 99) ; disposer le milieu et stériliser comme d'habitude.

Pour l'emploi : ensemencer. Sceller le tube, dans la flamme, à son extrémité supérieure. Relier l'effilure latérale à la trompe à eau, faire le vide (avec ou sans rinçage) ; sceller l'effilure.

III. — ISOLEMENT DES ANAÉROBIES.

Comme pour les aérobies (p. 163), il existe des méthodes générales et des méthodes spéciales.

Les *méthodes spéciales* sont les mêmes que nous avons déjà décrites pour les aérobies ; il est donc inutile d'y revenir. Les plus employées sont l'isolement par la chaleur (tétanos) et l'inoculation aux animaux (Vibrion septique).

Les *méthodes générales* utilisent les cultures sur plaques ou les cultures en tubes.

A. — Isolement sur plaques.

Méthode ordinaire des plaques. — On peut employer la méthode ordinaire, telle qu'elle a été décrite précédemment (p. 164) ; après refroidissement, les plaques sont portées sous une cloche, fermant hermétiquement ; placer également sous la cloche la solution réductrice indiquée page 176.

Procédé de Marino. — On dispose des boîtes de Petri de telle manière que le couvercle emboîte le fond ; stériliser dans cette position.

Pour l'usage : ensemencer en tubes de gélose-sérum comme d'ordinaire ; verser le milieu, encore liquide, dans le couvercle de la boîte préparée, comme il vient d'être dit ; laisser solidifier, couvrir le milieu avec le fond

de la boîte. Le milieu de culture se trouve ainsi protégé entre deux parois de verre. Couvrir le tout d'une plaque de verre.

Le procédé est ingénieux ; malheureusement, quand on enlève le fond pour faire des prélèvements, le milieu se trouve souvent disloqué.

B. — Isolement en tubes.

Tube de Vignal. — *Procédé recommandé.* — Préparer un tube de verre, d'environ 1 mètre de long sur 4 millimètres de large ; effiler une extrémité, pratiquer un étranglement près de l'autre extrémité ; boucher au coton l'extrémité large. Stériliser. On facilite les manipulations en soudant le tube en plusieurs segments (fig. 100).

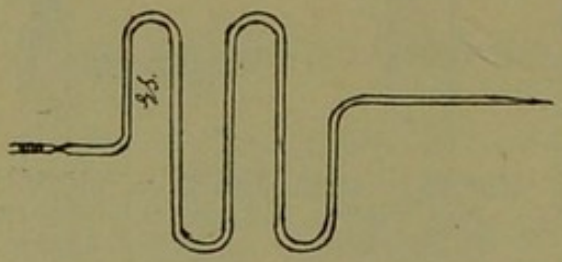


Fig. 100. — Tube de Vignal, pour isolement des anaérobies.

Pour l'emploi :

a. Ajouter à un tube de gélatine quelques gouttes de solution de sulfo-indigotate de soude ; le milieu devient légèrement bleu. Faire bouillir la gélatine pendant quinze à vingt minutes. Refroidir très rapidement (pour éviter l'absorption d'oxygène) sans amener la solidification du milieu. Arrêter le refroidissement quand la température est descendue vers 30°-35°.

b. Ensemencer le tube de gélatine. Mélanger.

c. Casser l'effilure du tube Vignal ; plonger la pointe dans la gélatine ensemencée ; aspirer par l'autre extrémité ; remplir jusqu'à l'étranglement. — On aura soin de plonger l'effilure en pleine gélatine, pour ne pas aspirer de bulles d'air.

d. Sceller d'abord l'effilure, puis l'étranglement.

Les anaérobies se développent en décolorant le milieu (bleui par addition d'indigo), parfois en dégageant des bulles gazeuses.

Pour faire un prélèvement : laver le tube, au niveau de la colonie à prélever, à l'aide d'un antiseptique liquide quelconque ; rincer à l'eau stérile, sécher. Sectionner avec un couteau à verre flambé.

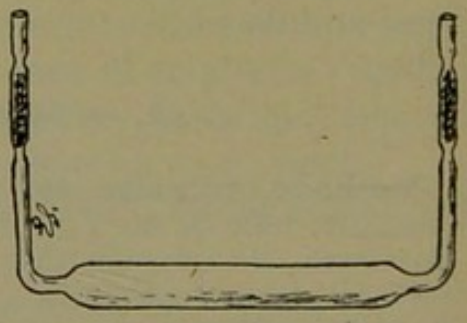


Fig. 101. — Tube en U, de Roux.

Tube en U de Roux. — Cet appareil se compose d'un tube horizontal, terminé aux deux extrémités par deux tubes plus étroits, coudés à angle droit et munis d'un tampon de coton (fig. 101).

Ensemencer un tube de gélatine. Verser la gélatine dans le tube en U,

à l'aide d'un entonnoir à effilure fine, stérilisé. Relier l'une des branches à l'appareil producteur d'hydrogène; faire passer le gaz pendant quelques minutes. Sceller successivement les deux effilures.

Porter le tube sous un courant d'eau froide, en le roulant entre les doigts pour enrouler la gélatine. Attendre la solidification.

Pour prélever : sectionner le tube.

Tube droit de Roux (fig. 102). — C'est un tube à essai, surmonté d'un tube plus petit muni d'un bouchon d'ouate. Remplir de gélatine et stériliser comme d'ordinaire.

Pour l'emploi : liquéfier la gélatine; ensemencer; faire le vide et rincer à l'hydrogène; sceller.

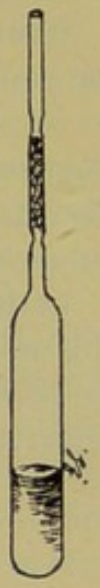


Fig. 102. — Tube droit de Roux (anaérobies).

Tube de Fraenkel. — Tube à essai, fermé par un bouchon à deux tubulures coudées à angle droit, disposées comme l'indique la figure 98. Remplir de gélatine, stériliser.

Mode d'emploi. — Liquéfier la gélatine, ensemencer; relier le tube à l'appareil à hydrogène; faire barboter le gaz pendant quelques minutes, sceller; refroidir sous l'eau, en tournant pour enrouler la gélatine.

Tube de Veillon. — *Procédé de choix.* — Préparer les tubes suivant les indications données plus haut (p. 181), en ajoutant 1 p. 1000 de nitrate de potasse.

Le développement en gélose sucrée s'accompagne communément de dégagement de gaz, surtout d'hydrogène, insoluble; ces gaz disloquent le milieu. En présence du nitrate de potasse, H donne de l'eau en réduisant le nitrate. L'acide carbonique, formé en même temps que H, est très soluble.

a. Faire bouillir au bain-marie une dizaine de tubes de gélose sucrée, pendant quinze minutes environ. Laisser refroidir à 40°; maintenir à cette température.

b. Charger la semence sur l'effilure d'une pipette, *scellée* ; on se sert de cette pipette comme d'un fil de platine. Ensemencer un premier tube en agitant la pipette dans la gélose fondue.

c. Sans recharger l'effilure, ensemencer de même un deuxième tube, et ainsi de suite jusqu'au dernier.

d. Refroidir rapidement les tubes ensemencés; porter à l'étuve.

Les colonies se développent avec une rapidité variable. Il faut surveiller les tubes *tous les jours* et prélever sitôt qu'elles sont bien formées toutes les colonies qui, dans la zone anaérobie (à partir de 2 centimètres de la surface), présentent un aspect différent. Ne pas attendre pour les prélèvements ; car certaines espèces, très fragiles, meurent rapidement.

Pour opérer les prélèvements : A l'aide d'une pipette à fine effilure, aller cueillir la colonie, sans toucher aux colonies voisines. On s'aide de mouvements de va-et-vient ; la gélose monte par capillarité.

Si la colonie est petite et profonde, il est bon de munir la pipette d'un tube de caoutchouc de 30 à 40 centimètres de long; aspirer avec la bouche (Guillemot).

Réensemencer en tube de Veillon, par piqûre (p. 181).

Remarque. — Les colonies développées dans la zone d'anaérobiose ne sont pas nécessairement des anaérobies vrais ; ce peuvent être, — ce sont le plus souvent, — des anaérobies facultatifs. Le réensemencement sur gélose glucosée fait le diagnostic : les anaérobies facultatifs se développeront sur toute la hauteur de la piqûre ; les anaérobies vrais, exclusivement dans la zone d'anaérobiose.

Cette technique reste toujours un peu délicate, il faut s'y habituer. Le mode de prélèvement exige des colonies très séparées; c'est pour cette raison qu'il faut faire des ensemencements nombreux, à dilutions peu espacées les unes des autres.

CHAPITRE XII

INOCULATION DES ANIMAUX

L'expérimentation sur les animaux est employée de manière courante dans les laboratoires. Ses indications sont multiples; il suffira de rappeler les principales :

Reproduction expérimentale d'une maladie constatée chez l'homme ou chez l'animal; détermination de la virulence des microbes; production de lésions spéciales à certaines espèces; renforcement (exceptionnellement, atténuation) des virus; préparation de sérums spécifiques (agglutinants par exemple); préparation de sérums thérapeutiques ; etc.

Nous étudierons successivement :

Les animaux de laboratoire;

Les inoculations.

I. — ANIMAUX DE LABORATOIRE.

On désigne sous ce nom les animaux le plus habituellement employés dans les laboratoires. Ils doivent être autant que possible :

Réceptifs à l'égard de la plupart des virus; faciles à manier; faciles à élever, à entretenir et à observer; peu onéreux.

Deux espèces surtout, le cobaye et le lapin, répondent à ces conditions. Viennent ensuite la souris blanche, plus fragile, et le rat blanc, un peu moins maniable. D'autres animaux sont parfois utilisés pour usages particuliers : la souris grise, le rat gris, le chat, peu commodes à manier ; le chien, les oiseaux (poule, pigeon), la grenouille, peu sensibles à la plupart des infections.

On peut avoir intérêt à s'adresser à d'autres animaux, chèvre, mouton, âne, cheval, singes. L'usage de ces espèces, vu leur prix élevé, est réservé aux Instituts ou aux grands Laboratoires.

Élevage et entretien. — Il est préférable d'élever les animaux d'usage courant au laboratoire même; c'est moins cher, et on est

sûr de la provenance ; les chances de « maladies spontanées » Voy. p. 190) sont réduites au minimum.

Cobaye. — L'élevage est facile. Chaque femelle peut donner trois à cinq portées par an; pour chaque portée, trois à cinq petits. Le mieux est de laisser les animaux par groupes pas trop nombreux (cinq à quinze), surveiller, séparer les femelles pleines. Durée de gestation, deux bons mois.

Parfois les femelles pleines saignent à blanc leurs nouveau-nés, quand la nourriture est trop sèche (prédominance du son); on s'en souviendra.

Comme nourriture : légumes ou débris de légumes (choux, salades, carottes, betteraves, suivant la saison), fourrage vert (trèfle, luzerne, herbe très jeune); son. Le meilleur régime est le mélange de son et de légumes. En l'absence temporaire de légumes ou herbages, mouiller le son. L'alimentation devra toujours être suffisamment aqueuse (légumes verts, son mouillé), mais il est inutile de donner à boire.

Lapin. — Élevage facile, mais les petits sont plus fragiles que les jeunes cobayes. La femelle peut donner trois à cinq portées par an, deux à dix petits par portée. Séparer les femelles une à une dès le début de la gestation (indispensable). La durée de gestation est environ trente-cinq jours.

Nourriture : comme le cobaye, mais se méfier des fourrages verts, surtout au printemps. On donnera de préférence du son et des légumes.

Souris blanche. — Élevage moins facile ; peu sociables, il faut souvent isoler les animaux un à un ; on séparera toujours les femelles pleines.

Nourriture : avoine, son, pain, débris de cuisine.

Toujours laisser une écuelle d'eau.

Rat blanc. — Élevage facile ; en moyenne six à dix petits par portée. Séparer les femelles pleines autant que possible.

Nourriture : comme la souris.

Grenouille. — Conserver dans un bocal large, avec une petite épaisseur d'eau au fond, couvrir de mousseline; gaver (viande, etc.) tous les jours.

Autres animaux. — Pour les autres animaux, chien, chèvre, cheval, etc., on se conformera aux pratiques des éleveurs ou des physiologistes.

Les singes, trop délicats, ne conviennent qu'aux établissements importants. Les conserver en grandes cages (spéciales), en locaux chauffés-nourrir de fruits secs, pain, donner à boire.

Chenil, cages, bocaux. — Il faut au moins un chenil. Quand, on pratique l'élevage, ce qui est utile et économique, il vaut mieux avoir deux chenils séparés, l'un pour animaux en élevage, l'autre pour animaux inoculés.

Le chenil sera tenu avec la plus grande propreté : lavages fréquents à grande eau ; la construction sera faite en conséquence.

Pour le chenil d'élevage de cobayes, lapins et rats blancs, des cagds fixes en brique et ciment sont très commodes ; pour les cobayes, laisser devant les cages un espace libre qui leur permettra de courir librement quand le temps le permet. Assurer par des dispositions convenables l'écoulement des urines. Prévoir un nombre de cages suffisant pour permettre d'interchanger les locaux au moment des lavages. L'élevage peut être fait également en cages métalliques.

Les cobayes, lapins ou rats inoculés seront placés dans des cages métal-

liques (fig. 103), qu'on peut faire construire n'importe où. Ces cages seront autant que possible à double fond, faisant tiroir. Dans la cage, une auge et un râtelier. Extérieurement, une planche porte-étiquette A moins d'indication contraire (élimination par l'intestin de germes très dangereux), placer au fond un peu de paille.

Pour les petits animaux, rats blancs et souris blanches, on peut utiliser des boîtes à biscuits percées de nombreux trous sur deux faces et sur le fond. Remplacer une des faces de la boîte par une vitre (face supérieure de préférence).

Les souris se trouvent bien de simples bocaux en verre de 2 à 4 litres, garnis largement de son et couverts d'un grillage métallique.

Tous ces animaux sont sensibles au froid ; les cobayes ne sont incommodés que par un froid rigoureux. Le chenil devra donc être chauffé l'hiver.

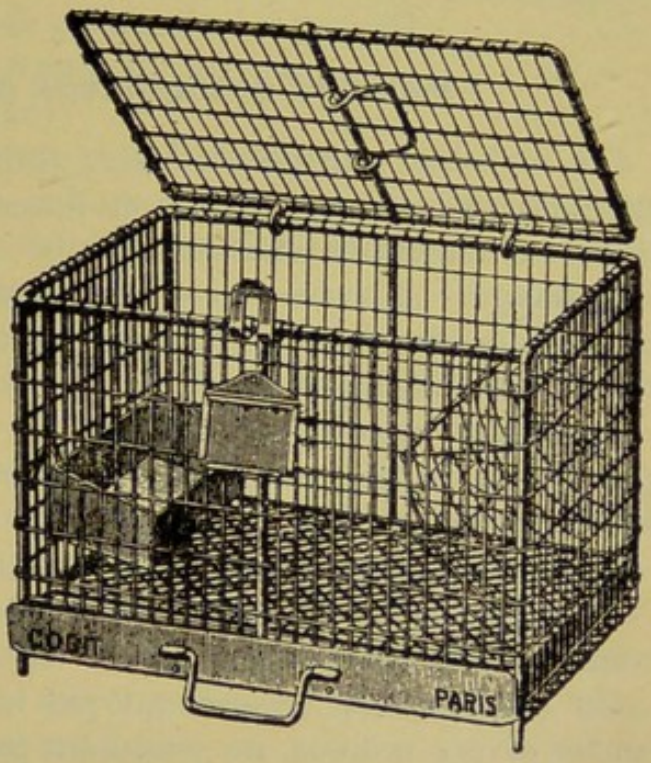


Fig. 103. — Cage pour animaux.

On désinfectera avec le plus grand soin (flambage, solutions antiseptiques) les cages ou bocaux qui viennent d'être habités par des animaux inoculés.

Tout animal mort, qu'il soit ou non inoculé, sera autopsié, en vue de connaître la cause de la mort : ce peut être l'amorce d'une épizootie, et il faut en être prévenu au plus tôt. Si les décès se répètent, procéder à l'isolement et à l'éloignement des « suspects », comme on le fait pour les épidémies ou les épizooties.

Certaines expériences particulièrement dangereuses exigent des précautions spéciales. Les animaux inoculés de peste, par exemple, seront abrités par une paroi susceptible d'arrêter les insectes. Les petits animaux peuvent être placés simplement dans un bocal couvert de grillage fin maintenu solidement, ou dans une caisse étanche (bidon à pétrole, boîte à biscuit) ouverte sur une seule face ; on complète la fermeture avec de la toile de moustiquaire ou de la gaze. Les inoculations du virus pesteux à de grands animaux ne doivent être faites que dans les Instituts spécialement organisés à cet effet.

Marques. — Il faut reconnaître les animaux inoculés. On peut les isoler et se contenter de marquer les cages ou bocaux. Dans une même cage, on distinguera les animaux : en les marquant de couleurs d'aniline variées ou d'acide picrique (surveiller, les couleurs s'effaçant après quelque

temps); en passant des boucles d'oreilles numérotées (se détachent assez souvent); chez le cobaye, en notant les détails multiples de la robe ; chez le lapin, en pratiquant aux ciseaux une ou deux incisions à l'extrémité de l'oreille, et notant en outre la robe. En tout cas, ne jamais oublier de marquer les animaux inoculés.

Maladies des animaux de laboratoire.

Ces maladies sont nombreuses; il faut connaître les plus fréquentes, surtout pour éviter de les confondre avec des infections inoculées expérimentalement.

Cobayes. — Pseudo-tuberculose. — Assez fréquente, contagieuse. Les lésions simulent la tuberculose (tubercules). Nous la retrouverons plus loin (Voy. chap. L).

Affections broncho-pulmonaires. — Fréquentes, aiguës, contagieuses, de nature variée. Entre autres agents pathogènes, on a décrit :

Un diplocoque non capsulé (Weber) ;

Un bacille court, mobile, poussant bien sur gélose, en couche crémeuse (Martini) ;

Un bacille court, ne prenant pas le Gram, cultivant facilement sur les divers milieux, ne coagulant pas le lait (Tartakowski).

Prophylaxie : sacrifier les animaux malades. Séparer les animaux sains, isolément autant que possible, sinon par petits groupes. Désinfecter vigoureusement les cages, mangeoires, etc.

Pasteurellose. — Décrite par Phisalix, elle se traduit avant tout par du jetage et de la dyspnée pendant la vie, par des lésions pulmonaires à l'autopsie. Dans le sang et les viscères, on trouve un bacille présentant les caractères des pasteurelloses (pasteurellose canine, chap. XLIII).

Prophylaxie : comme plus haut.

Trichomonas caviæ. — Ce parasite détermine parfois des épizooties très contagieuses et sévères (Galli-Valerio); entérite. A l'autopsie, parasites en abondance dans la paroi intestinale. Transmissible par ingestion.

Prophylaxie : comme plus haut.

Septicémie a pseudo-pneumocoques. — A la suite d'inoculations diverses, on constate parfois chez le cobaye la présence dans les organes d'un microbe très analogue au pneumocoque (Grenier).

Lapins. — Abcès. — Assez fréquents, particulièrement sous la peau, souvent très volumineux. Non ou peu contagieux. Inciser et traiter comme tout abcès chaud.

Gale. — Très fréquente, très contagieuse ; localisée aux oreilles,

sous forme de croûtes épaisses ; *acarus* visible par examen microscopique. La progression des lésions amène des convulsions, des accidents épileptiformes, et aboutit à la mort.

L'affection est curable au début. Décaper, toucher avec un tampon imprégné de polysulfure de potassium à 5 p. 1 000.

Surveiller souvent le chenil à ce point de vue.

Prophylaxie : comme plus haut.

Pseudo-tuberculose. — Comme pour le cobaye.

Coccidiose. — Le *Coccidium oviforme* détermine la formation de kystes, blanchâtres ou blanc laiteux, ovoïdes, étagés le long des canaux biliaires, à la surface du foie, ou dispersés sur le péritoine viscéral. La ressemblance avec la tuberculose est grossière : kystes à contenu liquide, ou presque, superficiels, renfermant des parasites en quantité.

Septicémies. — Elles sont fréquentes et variées.

Signalons d'abord l'une des plus intéressantes, la *pasteurellose* (Thoinot et Masselin), évoluant tantôt comme une septicémie pure, tantôt comme une bronchopneumonie. L'agent pathogène est une *Pasteurella* non spéciale au lapin (Voy. chap. XLIII). Les pasteurelloses sont contagieuses, à marche aiguë ; pendant la vie, prostration et diarrhée. La mort est fatale.

L'agent décrit par Kraus, sous le nom de *bacille de l'influenza du lapin*, provoque une affection très contagieuse, très grave, avec fièvre, jetage et dyspnée : évolution subaiguë, mort. A l'autopsie, bronchopneumonie, pleurésie, rhinite. L'agent pathogène est un bacille mobile, ne prenant pas le Gram, poussant facilement sur milieux usuels, sans liquéfier la gélatine et sans coaguler le lait ; pathogène pour le lapin, le cobaye, la souris.

D'*autres septicémies* ont été signalées, provoquées par un microbe bien voisin du colibacille (Eberth et Mandry), par un microcoque ne prenant pas le Gram (Daremberg), etc.

Prophylaxie : comme plus haut.

Septicémie a pseudo-pneumocoques. — Comme chez le cobaye.

Rats. — Signalons, chez les *rats gris* (non chez les rats blancs) la présence fréquente de *trypanosomes* ; l'existence, plus rare, de la *lèpre des rats* (chap. XLIX) ; la possibilité d'une infection par le bacille de la *peste*.

Oiseaux. — Il existe tout d'abord des *septicémies contagieuses*, dues au colibacille : septicémie des poules, des pigeons. La *psittacose* (perroquet) reconnaît un agent spécial (Voy. chap. XXXII).

La *poule* est en outre sujette naturellement à nombre d'affections : *choléra des poules* (Voy. chap. XLIII), infection vibrionienne par le

Vibrio Metchnikovi (Gamaleia), etc. ; elle contracte fréquemment une *diphtérie*, contagieuse, provoquée par la bacille de la diphtérie humaine ou par tout autre microbe ; elle présente parfois de la *tuberculose* (tuberculose aviaire, p. 663), ou de la *pseudo-tuberculose* (tuberculose zoogléique, p. 695).

Dans le sang des diverses espèces d'oiseaux, on peut trouver des *hématozoaires* ou des *trypanosomes*.

Préhension, contention et anesthésie des animaux.

Préhension et contention. — Tous les animaux cherchent à se dérober quand on veut les prendre. Certains se défendent et sont difficiles à manier ; ils griffent ou mordent : chats, rats gris, parfois rats blancs. Il faut savoir les prendre, puis les maintenir.

Les animaux d'usage courant, lapin et cobaye, peuvent le plus souvent être maintenus sans appareils spéciaux. Mais certaines opérations, comme la ponction du cœur, la laparatomie, ou l'inoculation de virus dangereux, exigent une contention plus parfaite, instrumentale.

Les opérations sur les autres espèces sont faites de préférence ou nécessairement par contention instrumentale.

Il est bon de s'exercer à opérer seul, sans aide, toutes les fois que cela n'est pas impossible.

Fig. 104. — Contention entre les genoux.

Lapin et cobaye. — Ils ne se défendent pas. Saisir par la peau du dos ou par une patte postérieure (cobaye), par la peau du dos ou par une oreille (lapin).

Contention sans appareils. — *Pour inoculation aux pattes postérieures :* saisir l'animal par une patte postérieure ; le placer ventre en l'air, tête en bas, entre les genoux de l'opérateur, en laissant déborder les pattes postérieures ; serrer doucement, pour maintenir sans écraser.

Pour inoculation intrapéritonéale : placer l'animal comme ci-dessus en laissant déborder l'abdomen et les pattes postérieures ; faire reposer la colonne vertébrale de l'animal sur la cuisse gauche de l'opérateur. Appuyer la face palmaire du

poignet gauche sur les pattes postérieures de l'animal, mouvement qui a en même temps pour effet de tendre l'abdomen (fig. 104).

Contention par un aide. — Cela ne demande pas d'explications.

Contention instrumentale. — a. *Pour inoculations dangereuses au cobaye* (peste), il suffit de suspendre les animaux : utiliser la pince à mors ajourés (fig. 105), suspendre par l'œil d'une des branches.

b. *Pour interventions délicates sur lapins ou cobayes*, il faut maintenir les animaux à l'aide d'appareils spéciaux.

Appareils à contention. — Le plus simple est un *plateau en zinc*, à bords relevés, percés de trous pour fixer les attaches (fig. 107).

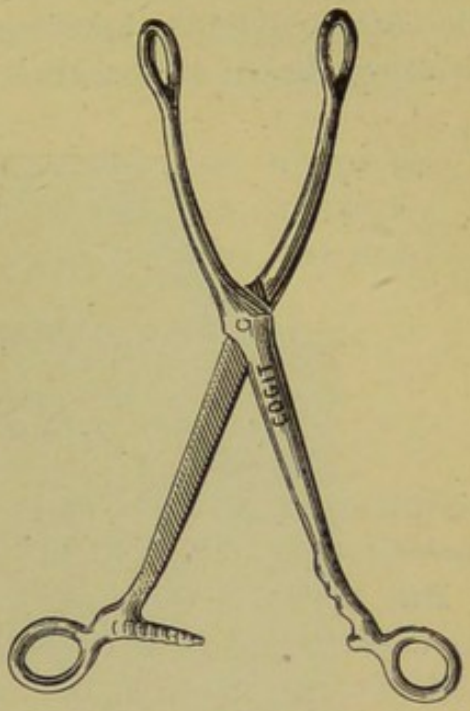


Fig. 105. — Pince à mors ajourés.

Veut-on fixer l'animal sur le dos : préparer quatre lacets en cuir, disposés en nœud coulant; glisser un lacet autour de chaque patte, serrer ; renverser brusquement l'animal, ventre en l'air, sur le plateau; passer rapidement un des lacets postérieurs dans un trou, l'autre lacet dans un

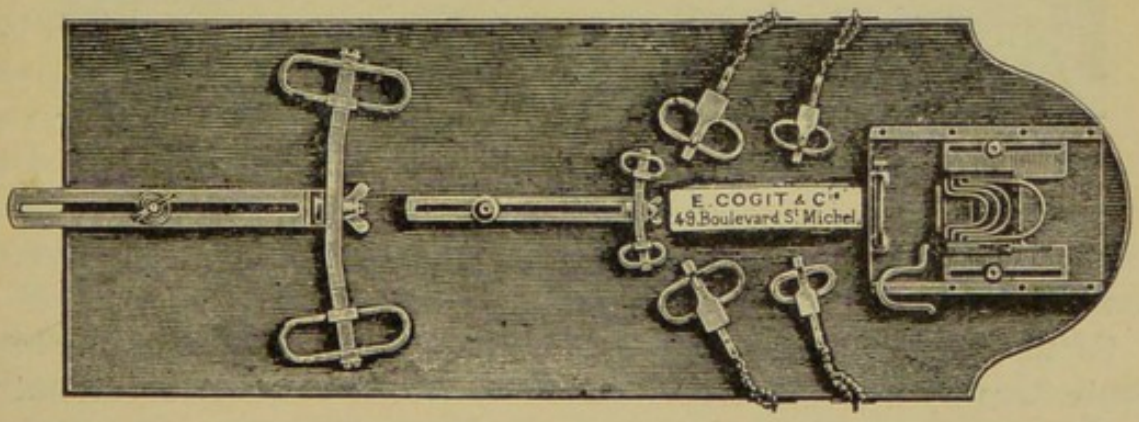


Fig. 106. — Appareil à contention de Latapie.

trou symétrique; les nouer l'un à l'autre ou les assujettir séparément; fixer ensuite les pattes antérieures.

La fixation sur le ventre est très simple.

S'il faut immobiliser la tête, on peut la faire tenir par un aide, ou bien la fixer avec le mors de Malassez (fig. 108), ou tout autre appareil analogue, qu'on fixe au rebord du plateau à l'aide d'un étrier à vis.

Quand on doit faire appel couramment à la contention instru-

mentale, il est beaucoup plus commode de s'adresser à des appareils spéciaux, dont les modèles sont nombreux. Nous citerons l'appareil de Latapie (fig. 106), très ingénieux, mais difficile à désinfecter (plateau en bois); l'appareil à plateau grillagé (fig. 107), commode,

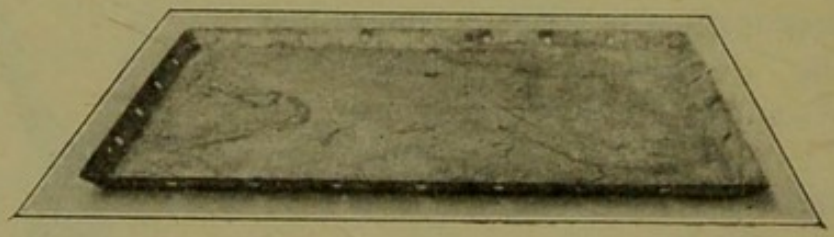


Fig. 107. — Plateau en zinc.

simple et facile à nettoyer; l'appareil de Debrandt, permettant l'immobilisation de tous les animaux de laboratoire.

Rat blanc. — Animal très doux, mais s'effarouche facilement, ne cherche pas à se défendre et peut être pris à la main. La race tachetée est souvent moins commode. S'il est indispensable, on

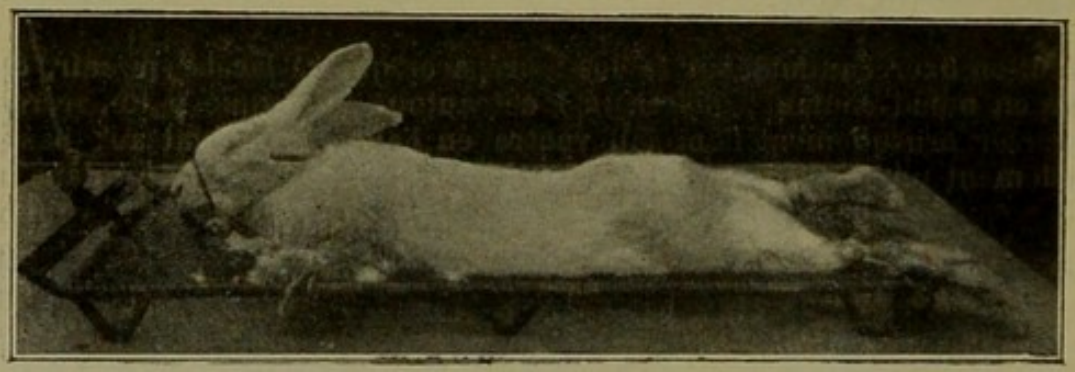


Fig. 108. — Plateau grillagé avec mors de Malassez.

se servira d'une pince pour prendre l'animal : pince à forcipressure, longue; saisir à la nuque.

Contention sans appareil. — Pour inoculer à la queue, on se contentera de placer l'animal sous une cloche, la queue débordant seule sous le bord de la cloche soulevée très légèrement.

Contention instrumentale. — a. *L'inoculation sous-cutanée* n'exige que de suspendre l'animal : saisir à la nuque avec une forte pince à forcipressure; passer l'œil d'une branche dans un crochet fixé au mur (fig. 109). Les deux mains sont libres.

b. *Pour opérations importantes*, on emploiera les appareils spéciaux.

Rat gris. — Animal très méchant; contention instrumentale avec ou sans anesthésie (Voy. *Rat blanc*).

Souris blanche. — Comme le rat blanc.

Chien. — Utiliser les dispositifs des laboratoires de physiologie, ou les appareils indiqués plus haut. Toujours museler l'animal.

Chat. — Toute opération délicate demande l'anesthésie.

Pour inoculations intrarectales, emprisonner dans un petit sac la partie antérieure du corps.

Anesthésie. — L'anesthésie est indispensable pour toutes les opérations délicates ou douloureuses. Les anesthésiques habituellement employés chez l'homme sont utilisables chez les animaux.

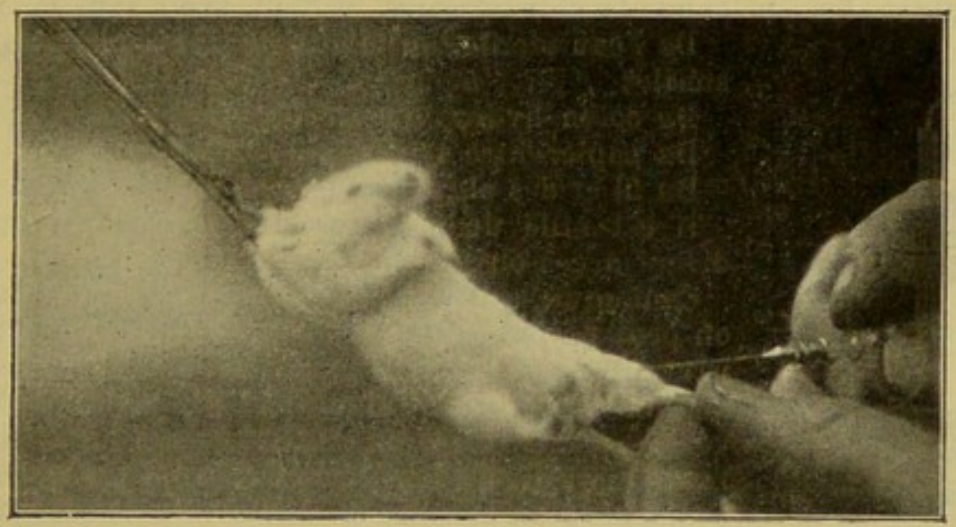


Fig. 109. — Contention de la souris.

Lapin, cobaye. — On s'adressera de préférence au chloroforme ; appliquer devant les narines une compresse (ou un cornet de papier-filtre) imbibée de chloroforme, attendre un instant, jusqu'à ce que l'apnée réflexe du début ait fait place à une respiration normale : l'anesthésie est à peu près immédiate ; écarter la compresse. Au besoin, revenir plus tard à l'anesthésique. Ne pas donner les anesthésiques de la manière lente, plus dangereuse.

Rat, souris, chat. — Ces animaux supportent le chloroforme suffisamment pour une anesthésie rapide, mais l'éther vaut mieux pour les opérations longues.

Placer les animaux sous cloche ; jeter sous la cloche un tampon de coton imbibé d'éther. Enlever l'animal aussitôt qu'on le voit inerte ; il faut surveiller, pour éviter tout accident. Maintenir ensuite l'anesthésie à l'éther suivant les besoins.

II. — LES INOCULATIONS.

Matériel. — Le matériel comporte les instruments et accessoires d'usage courant en médecine ou en médecine vétérinaire ; il nous paraît inutile d'y insister longuement.

L'asepsie est de rigueur. On stérilisera les instruments et les accessoires avant toute inoculation; on désinfectera après.

A. Bistouris, ciseaux plats et courbes, pinces à dissection, pince à forcipressure, sondes cannelées, etc., seront stérilisés, par chauffage à sec à 160° (étuve Poupinel, stérilisateur Chantemesse), ou par un antiseptique. L'ébullition, le chauffage rapide au bec Bunsen, sont applicables aux seuls instruments non coupants ni tranchants. Après les opérations, laver et sécher soigneusement les instruments.

B. Outre les instruments chirurgicaux, il faut avoir sous la main:

De l'eau sterile, ou mieux de l'eau physiologique stérile;

Du coton hydrophile stérile, en petits tampons ;

Du papier-filtre stérile, en petits fragments;

Du fil et des aiguilles stériles.

Il est utile de préparer des provisions de ces divers accessoires.

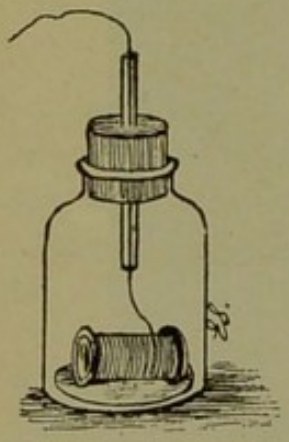


Fig. 110. — Bobine de fil stérile.

Comme fil, utiliser la soie plate tressée (nos 2 ou 3) ; on peut faire bouillir au moment du besoin. Mieux vaut préparer des fils stériles, adaptés ou non à une aiguille à suture; enrouler le fil sur un tube de verre; placer dans un tube à essais ; stériliser à l'autoclave. Le modèle de la figure 110 est également commode ; on stérilise à l'autoclave le flacon renfermant la bobine de fil, disposée comme l'indique la figure. Avant chaque opération, rejeter le bout de fil qui déborde.

C. Les *seringues* seront les mêmes que celles employées d'habitude en clinique.

Pour les besoins de la bactériologie une seringue doit, outre les qualités requises par ailleurs (étanchéité, solidité, facilité d'emploi):

1° Se prêter à des stérilisations répétées, même à l'autoclave;

2° Être graduée exactement.

On pourra toujours, si l'on en possède, utiliser les modèles anciens de Pravaz (piston en acier, ne supportant pas la chaleur) ou de Straus (piston en moelle de sureau, facile à remplacer).

Les seringues tout en métal sont robustes, mais ne permettent pas de suivre l'opération.

On s'adresse de préférence aux suivantes :

La *seringue de Debove* : cylindre en verre, armature métallique extérieure, piston formé de rondelles d'amiante. Grandeurs diverses ;

La *seringue de Roux* (pour sérothérapie) : cylindre de verre, piston en caoutchouc ou en durit (fig. 111). Capacité : 20 centimètres cubes ;

Les *seringues* entièrement *en cristal* (genre Lüer), piston et cylindre (fig. 112). C'est un modèle très pratique, guère plus fragile

que les précédents, avec lequel on suit facilement la marche des injections ; aucune partie ne craint la stérilisation. Grandeurs diverses. On prendra des seringues de 1 ou 2, 5 ou 10 et 20 centimètres cubes.

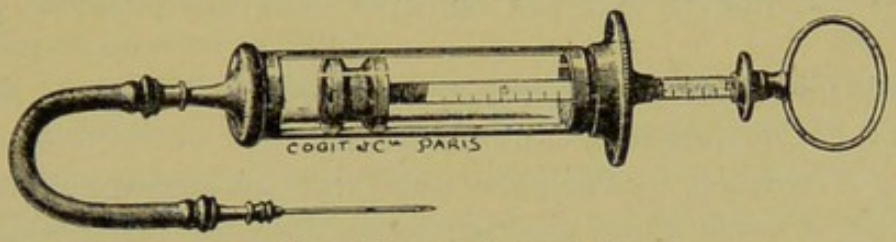


Fig. 111. — Seringue de Roux.

D. Les *aiguilles* sont ou en acier, ou en platine iridié. Les premières, plus rigides, sont préférables le plus souvent. Elles ont le gros inconvénient de rouiller facilement; on les conservera dans l'alcool, ou dans une solution de borate de soude.

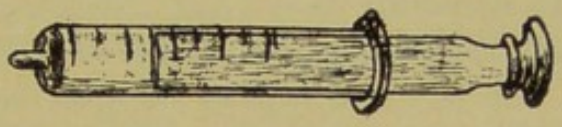


Fig. 112. — Seringue en cristal.

E. Il faut *stériliser* seringues et aiguilles. La simple ébullition suffit pour des inoculations courantes. S'assurer d'abord que l'aiguille s'adapte bien ; aspirer de l'eau avec la seringue pourvue de son aiguille; il ne doit passer aucune bulle d'air. Placer dans l'eau froide, en interposant au fond du récipient un corps isolant, compresse, double fond perforé, etc., chauffer doucement, faire bouillir quelques minutes. Une fois l'inoculation faite, laver la seringue et faire bouillir à nouveau.

Pour prélèvements de produits à ensemencer, il est nécessaire de stériliser à l'autoclave, l'ébullition pouvant laisser vivantes des spores de saprophytes (*B. subtilis*, etc. ; Voy. la technique, p. 212).

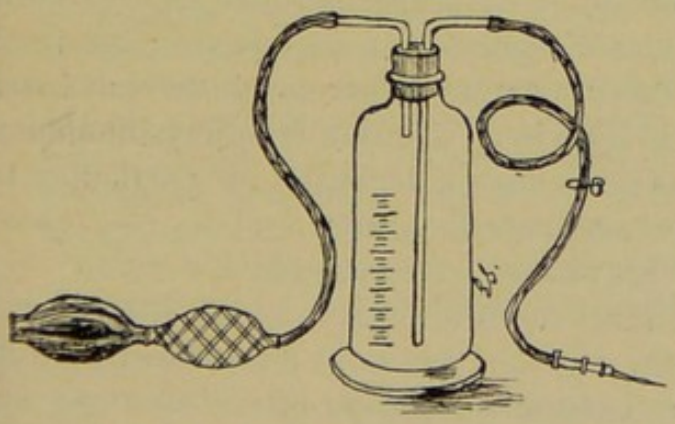


Fig. 113. — Appareil pour inoculations.

F. On peut inoculer *à la pipette*, à défaut de seringue. Effiler l'extrémité et la couder ; perforer la peau au point choisi, avec la pointe d'un bistouri. Opérer ensuite comme avec la seringue, la bouche remplaçant le piston pour aspirer ou refouler.

G. Lorsqu'on a besoin d'inoculer des quantités relativement considérables, il sera plus commode d'employer un appareil de grande

contenance, tel que celui de la figure 113; cette figure ne demande pas d'explications.

Préparation et dosage des virus à inoculer. — Préparation. — On inocule soit des cultures, soit des produits pathologiques.

A moins d'indication contraire, les produits virulents sont inoculés à l'état d'émulsions dans un liquide.

Cultures liquides. — Prélever une quantité largement suffisante de milieu, à l'aide d'une pipette ; verser dans un vase stérile (verre, boîte de Petri); charger la seringue.

Produits pathologiques liquides (sang, pus, sérosités, urines). — Le sang et certaines sérosités (exsudat méningé, épanchement pleural) se coagulent. On peut inoculer de suite après prélèvement. On peut encore défibriner le sang au préalable (Voy. *Analyse du sang*), ou bien le recueillir dans l'eau physiologique additionnée de 1,5 p. 100 de citrate de soude ; 2 parties de sérum citraté pour 1 partie de sang.

Le pus sera injecté tel quel ou dilué dans l'eau physiologique, suivant sa consistance.

Les sérosités et les urines ne renferment généralement qu'un petit nombre de microbes pathogènes ; il faut alors centrifuger, recueillir le dépôt, le diluer dans un peu d'eau physiologique.

Cultures solides. — La plupart des cultures sur milieux solides peuvent être facilement émulsionnées dans un liquide (eau physiologique, bouillon) : verser le liquide dans un verre ; prélever la quantité voulue de culture, la porter sur la paroi du verre, amener à son contact un peu de liquide, émulsionner et mélanger.

Certaines cultures très résistantes (tuberculose) seront traitées comme ci-dessous.

Produits pathologiques solides. — La plupart d'entre eux (produits inflammatoires, parenchymes d'organes) seront écrasés : les disposer au fond d'un verre ; écraser avec un agitateur, à arêtes dures, flambé ; verser peu à peu le liquide de dilution (eau physiologique). Attendre quelques minutes pour laisser décanter les particules les plus grosses, qui pourraient obstruer l'aiguille.

Procéder de même pour les cultures très solides.

Pour les tissus plus résistants (nodules fibreux ou fibro-crétacés) : couper en petits fragments, disposer au fond d'un verre avec du sable lavé stérile ; écraser. Laisser reposer ou filtrer sur linge fin.

Quand on veut obtenir une division plus régulière, on s'adresse à des broyeurs spéciaux : broyeurs Chalyboeus (modèle courant des instituts vaccinogènes), broyeur Borrel, broyeur Latapie.

Les tissus solides peuvent être inoculés tels quels, sans manipu-

lation préalable, par insertion. Mais la dilution après broyage est presque toujours préférable.

Pour charger la seringue. — S'assurer que la seringue fonctionne bien (en aspirant de l'eau stérile) et ne prend pas d'air. Aspirer le liquide en quantité voulue.

S'il passe quelques bulles d'air, on peut s'en débarrasser comme suit : prendre un papier-filtre stérile (celui qui couvre le verre, par exemple) ; renverser la seringue chargée ; avec l'aiguille, traverser le papier de bas en haut ; expurger l'air. Si du liquide s'échappe, il retombe sur le papier. Brûler le papier.

En réalité, la présence de très peu d'air n'a d'importance que lors d'injection intraveineuse (embolie). D'ailleurs une bonne seringue bien chargée ne doit pas renfermer d'air.

Dosage. — Lorsqu'il s'agit de cultures ou de produits liquides, il faut toujours injecter une dose connue.

Pour cultures en milieux liquides, il suffit de s'en rapporter aux graduations de la seringue.

Pour les cultures en milieux solides, on dilue une quantité fixe de culture dans une quantité fixe de liquide : par exemple, une culture de vingt-quatre heures sur tube ordinaire de gélose, dans 15 centimètres cubes d'eau physiologique.

Ces procédés sont très approximatifs, mais suffisants dans la pratique.

Plus exact est le procédé suivant :

Faire une émulsion témoin, en versant quelques gouttes de nitrate d'argent en solution dans une solution de chlorure de sodium à 1 p. 10 000 (dans l'eau distillée). Prendre un tube vide de même diamètre que le témoin ; y émulsionner la culture jusqu'à ce que la turbidité des deux tubes soit identique. Une épreuve (dilution sur plaques, p. 164) faite une fois pour toutes déterminera, pour chaque espèce considérée, le nombre des microbes contenus dans l'unité de volume de l'émulsion type.

On pourrait encore dénombrer les microbes par une technique imitée de celle de Wright-Harrison (pour le vaccin antityphique) : mélanger la culture à une dilution de globules rouges, titrée au préalable ; déterminer au microscope le nombre respectif des microbes et des globules ; le nombre des globules étant connu, un calcul simple donnera le nombre des microbes.

S'il est utile de doser très rigoureusement, on s'adressera de préférence à la méthode des pesées. Il faut des balances extrêmement sensibles.

Technique des inoculations.

On peut inoculer dans les divers organes ou tissus.

Les inoculations peuvent être faites par *injection*, *insertion*, *inhalation* ou *ingestion*. Nous étudierons la technique de l'injection par

les diverses voies, en annexant, chemin faisant, ce qui concerne l'insertion, l'inhalation et l'ingestion.

Les indications essentielles des divers modes d'inoculation seront énumérées plus loin.

Préparation de la région. — Pour injections et inoculations à travers la peau, il faut d'abord mettre la peau à nu et désinfecter.

On se débarrasse des poils, en les coupant et rasant. Chez le cobaye, l'épilation suffit. Chez les oiseaux, enlever les plumes.

On désinfectera — sauf indication contraire — à l'aide de la teinture d'iode, employée seule, peau à sec.

Inoculations superficielles. — Inoculation endermique. — Raser les poils; ne pas désinfecter. Laver à l'eau stérilisée.

Suivant les cas :

a. Ou bien déposer le virus sur la peau rasée;

b. Ou bien pratiquer des scarifications très superficielles. On ne doit pas voir le sang. Déposer le virus à la surface des scarifications, en frictionnant pour assurer l'inoculation.

Inoculation à la surface des muqueuses. — Suivant les cas : excorier, scarifier ou cautériser la surface ; y déposer le virus.

Inoculation dans les tissus cellulaire et musculaire. — Injection sous-cutanée. — Elle se pratique comme chez l'homme. Saisir la peau entre le pouce et l'index gauche, de manière à déterminer un pli ; enfoncer l'aiguille un peu au-dessus de la racine du pli, s'assurer que la pointe est libre dans le tissu cellulaire (éviter de pénétrer dans les vaisseaux ou les muscles), injecter. Pour les virus dangereux, cautériser la plaie.

Choix du lieu d'injection. — Sauf indication contraire :

Chez le cobaye, face interne des cuisses (fig. 121, p. 215, IS), abdomen ;

Chez le lapin, mêmes régions, ou sur le dos ;

Chez le rat et la souris, base de la queue, pattes ou abdomen.

Insertion sous la peau. — Choisir une région à tissu cellulaire très lâche (pli de l'aine par exemple). Pratiquer une boutonnière avec la pointe d'un scalpel; introduire une sonde cannelée, dilacérer le tissu cellulaire ; dans le pertuis ainsi créé, et à l'aide de pinces fines ou d'un fil de platine fort, introduire profondément la pièce à inoculer; suturer la boutonnière.

Injection intramusculaire. — Chez le cobaye et le lapin, dans les muscles de la cuisse, partie externe ; chez les oiseaux, dans les pectoraux. Technique analogue à l'inoculation sous-cutanée, plus profondément.

Inoculation dans les voies circulatoires. — Injection intraveineuse. — Elle se pratique le plus souvent sur le lapin. Elle

peut être faite également chez le cobaye et les gros animaux. On choisira toujours une veine superficielle (sauf indication contraire).

Lapin. — L'injection est facile dans la *veine marginale externe de l'oreille*, située à la partie externe de l'oreille, sur la face velue. On peut s'adresser aussi à la marginale interne, généralement plus petite ; ne pas utiliser la veine médiane, trop mobile.

Les animaux dociles seront inoculés sans aide, posés sur les genoux de l'opérateur. Sinon, faire maintenir par un aide ou placer sur un appareil à contention.

a. La peau étant préparée, placer à la base de l'oreille une pince à pression douce (pince de blanchisseuse), comprimant la

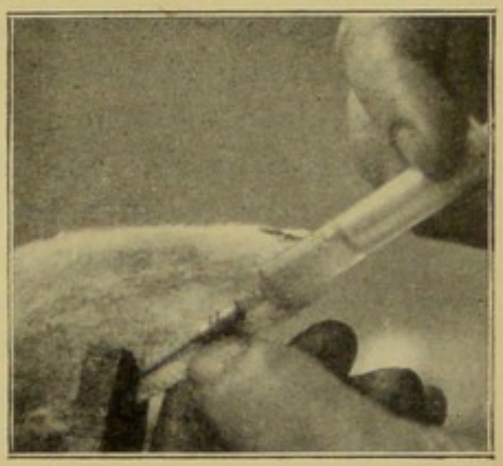


Fig. 114 et 115. — Inoculation intraveineuse : à gauche, premier temps (oreille droite) ; à droite, deuxième temps. — A gauche, sur l'oreille gauche, voir la distribution des veines de l'oreille.

veine ; celle-ci fait saillie. A l'aide de la main gauche, tendre l'oreille.

b. Introduire l'aiguille (biseau court) dans la veine, le plus possible parallèle à cette dernière, pointe dirigée vers la base de l'oreille ; enfoncer de 1 centimètre environ.

c. Enlever la pince. Fixer l'aiguille en place, avec la pince. Pousser l'injection.

Si l'aiguille est bien dans la veine, le liquide passe sans effort en distendant le vaisseau. Sinon, il se forme une boule d'œdème, et l'animal s'agite. Dans ce cas, enlever l'aiguille et recommencer plus bas.

d. Enlever l'aiguille, maintenir un instant la pince en place pour assurer l'écoulement du liquide, puis enlever la pince. Si la plaie saigne, maintenir à son niveau un tampon de coton aseptique ; le comprimer avec la pince.

Cobaye. — On injectera de préférence dans la *veine jugulaire externe*. Elle se dirige dans sa partie accessible presque parallèlement

à l'axe du cou, à 5 millimètres environ en dedans de l'angle du maxillaire inférieur (fig. 121, V). Elle chemine derrière les muscles peauciers, épais à ce niveau, et devant le sterno-mastoïdien qu'elle croise.

Pratiquer une incision longitudinale de 3 à 4 centimètres, suivant la direction indiquée (fig. 121, IV) ; traverser le peaucier. Dénuder à la sonde cannelée, chercher la veine, la soulever légèrement, injecter avec une aiguille très fine, pointe vers le thorax.

Chien. — Inoculer dans les *veines du jarret*, très visibles après compression de la cuisse, croisant le tendon d'Achille.

Fixer ou maintenir l'animal ; comprimer la racine de la patte; inoculer, avec une forte aiguille en acier (résistance des téguments), à travers la peau. Au besoin, inciser la peau au bistouri. Pour le reste, comme ci-dessus.

Oiseaux. — Veine axillaire, à la racine de l'aile. Très visible après compression en aval.

Injection intra-artérielle. — Rarement indiquée, elle se pratique dans la fémorale ou dans la carotide. Se munir d'une aiguille très fine ; cela permet de traverser la paroi artérielle sans risque d'hémorragie (élasticité des parois).

Pour injecter dans la *fémorale* : mettre à nu, largement, le pli de l'aine, par une incision longitudinale le coupant en son milieu. Repérer l'artère, reconnaissable à ses battements. Ouvrir l'aponévrose. Voir l'artère, piquer et injecter. Fermer la plaie, suturer.

Pour inoculation dans la *carotide*, suivre les indications données plus loin (p. 216).

Inoculation intra-oculaire. — On la pratique dans la *chambre antérieure de l'œil.*

Injection. — Fixer l'animal, immobiliser la tête. Maintenir l'œil largement ouvert, en écartant les paupières soit avec les doigts, soit avec un blépharostat. Piquer au niveau du limbe sclérotico-cornéen. Aspirer un peu d'humeur aqueuse; refouler le mélange de virus et d'humeur aqueuse. L'humeur aqueuse devient toujours louche immédiatement.

Insertion. — Disposer l'animal comme ci-dessus; instiller quelques gouttes de cocaïne à 1 p. 50; attendre quelques minutes. Inciser la cornée près du limbe. Insérer la pièce avec une pince à iridectomie ou un stylet.

Inoculation dans les centres nerveux ou leurs enveloppes. — Injection sous-durale. — Elle est pratiquée le plus souvent chez le lapin (rage).

Fixer l'animal, ventre en bas; maintenir la tête appliquée contre

le plateau. Préparer la peau au point voulu. Inciser, jusqu'à l'os, sur la ligne médiane, sur une longueur de 3 centimètres, immédiatement en arrière de l'orbite. Écarter les lèvres de la plaie. Au milieu de l'incision, à quelques millimètres en dehors de la ligne médiane, dénuder l'os, appliquer le trépan (couronne de 5 millimètres) ; tourner avec précaution, jusqu'à ce que la résistance cesse. Enlever alors la rondelle osseuse. On aperçoit la dure-mère dans la profondeur. Injecter, avec une aiguille courbe, en pénétrant très obliquement (ne pas blesser le cerveau).

Chez le chien, on incise très en dehors de la ligne médiane pour éviter le sinus longitudinal supérieur.

Injection intracérébrale. — On peut opérer comme ci-dessus (inoculation sous-durale); mais le simple foret (ou un vieux scalpel) suffit. Une fois le crâne perforé, pousser l'aiguille droite, à la profondeur voulue.

Pour éviter toute erreur sur la profondeur, le mieux est d'utiliser des aiguilles présentant juste la longueur utile.

Injection intrapleurale. — Pour éviter de blesser le poumon, il est nécessaire de *voir* la plèvre.

Fixer l'animal. Préparer la peau au point voulu. A la partie antéro-interne du sixième espace intercostal droit, inciser sur quelques centimètres peau et tissu cellulaire ; sectionner les muscles superficiels, dilacérer les muscles profonds ; voir la plèvre dans la profondeur. Piquer avec une aiguille à biseau court, très obliquement ; injecter.

Inoculation intrapéritonéale. — **Injection**. — Il faut éviter de blesser l'intestin.

a. Placer l'animal sur le dos de telle manière que la paroi abdominale soit fortement tendue. Préparer la peau. Faire pénétrer l'aiguille (biseau court) sous la peau, en la maintenant très oblique. Une fois l'aiguille dans le tissu cellulaire, la relever légèrement, perforer la paroi musculaire; on doit sentir, à la main, ce moment opératoire. Injecter.

b. Ou bien : un aide tient l'animal, ventre en l'air, non tendu ; entre le pouce et l'index gauche, faire un pli comprenant toute l'épaisseur de la paroi. Avec l'aiguille, traverser la base du pli, de part en part. Retirer un peu l'aiguille, en mesurant le trajet pour laisser la pointe dans la cavité péritonéale. Injecter.

Insertion. — L'insertion intrapéritonéale nécessite une laparotomie; il faut opérer très proprement. On saura toutefois que le péritoine de la plupart des animaux de laboratoire (cobaye, chien) s'infecte beaucoup moins facilement que le péritoine humain.

a. Préparer la peau au point voulu. Entourer la région d'un champ opératoire. Une compresse bouillie, fendue au centre, suffit.

b. Pratiquer une incision longitudinale, à gauche de la ligne médiane, en dehors des muscles droits (fig. 121, IL); longueur, 4 à 6 centimètres; inciser couche par couche, en respectant d'abord le péritoine; fixer les lèvres musculaires de la plaie avec des pinces à forcipressure.

c. Faire une boutonnière au péritoine. Le soulever sur une sonde cannelée; ouvrir plus largement (incision juste suffisante).

d. Inciser profondément le produit à inoculer.

e. Suturer en deux plans : péritoine et muscles; peau et tissu cellulaire.

Inclusion en sacs de collodion. — Il faut préparer les sacs, puis les ensemencer, enfin les inclure dans le péritoine.

Préparation des sacs (fig. 116). — On utilisera du collodion ordinaire (sacs plus transparents) ou du collodion riciné (sacs plus élastiques), épaissis jusqu'à consistance sirupeuse. Pour le moulage des sacs, on emploiera des tubes à essai très propres, régulièrement calibrés, sans voussure ni aspérité extérieure. Se rappeler que les sacs se rétractent de telle sorte que leurs dimensions définitives sont d'environ un tiers inférieures à celles du moule.

Préparer en outre des ajutages : tubes de verre étirés en grosse effilure à une extrémité. Ces tubes seront un tiers moins larges que les moules.

a. Disposer le collodion dans un vase cylindrique (vase à précipiter). Éviter, en versant, la production de bulles d'air; sinon, attendre que ces dernières aient disparu.

b. Très doucement, plonger le tube dans le collodion, extrémité fermée en bas, jusqu'à la profondeur voulue (en général, 6 à 10 centimètres); veiller avec soin à n'introduire aucune bulle d'air. Laisser trente à soixante secondes.

Enlever doucement le tube; le sortir complètement. L'excès de collodion s'écoule.

Répéter les mêmes opérations au moins deux ou trois fois, parfois plus, suivant l'épaisseur qu'on désire, en évitant les bulles d'air.

c. Retirer le tube définitivement. Le rouler doucement entre les doigts. Laisser égoutter complètement.

Retourner le tube, orifice en bas; maintenir ainsi jusqu'à ce que le collodion paraisse sec, ce qui demande quelques minutes. Surveiller constamment.

Il faut laisser sécher juste à point; enlevée trop tôt, la couche de collodion se déchire; laissée trop longtemps, elle s'écaille.

Au temps *c*, la couche de collodion ne doit toucher aucun objet. Le tube-support peut être placé, orifice en bas, dans un petit verre à pied.

d. Enlever le sac en dégainant : à l'aide des ongles, détacher en repoussant vers le bas l'extrémité supérieure du collodion; la main droite coiffée d'un linge uni (sarrau) saisit le sac à pleine main sur toute sa hauteur; la main gauche soutient le haut du tube. Tourner les deux mains en sens contraire, la main droite tirant en outre vers le fond : le sac se détache.

Insuffler le sac. S'assurer qu'il est étanche.

En le soulevant légèrement (tige métallique, baguette de verre), l'exposer à la vapeur d'eau bouillante, puis jeter dans l'eau bouillante. Le sac prend alors son volume définitif.

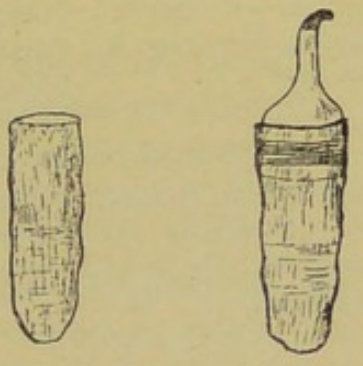


Fig. 116. — Sacs de collodion ; fermeture au verre.

Dans l'orifice, introduire l'ajutage (partie large). Assurer la fermeture à l'aide de quelques tours de fil de soie bien serrés.

Remplir d'eau ; s'assurer que la fermeture est étanche : pour cela, plonger le sac entièrement dans l'eau ; souffler par l'effilure ; il ne doit passer aucune bulle d'air. A l'aide d'un fil, suspendre le sac dans un vase contenant de l'eau; couvrir le vase, stériliser.

Ensemencement des sacs. — Pour utiliser les sacs :

a. A l'aide du fil, retirer le sac du récipient protecteur; le placer dans un verre stérile.

Avec une pipette stérile, le vider de l'eau qu'il contient.

b. Remplacer l'eau par le milieu de culture voulu, ensemencé.

c. Saisir l'ajutage avec une pince; sceller l'effilure.

Variantes. — 1° A l'ajutage, on peut substituer le support de Phisalix (fig. 117), tube perforé ; sert de soutien, évite la rupture des sacs.

Fig. 117. — Tuteur de Physalix.

2° L'ajutage peut consister en un tube non effilé ; on bouche alors l'orifice libre à l'aide de petits bouchons de caoutchouc, stérilisés. Les assujettir en couvrant de collodion.

3° Le procédé suivant (fig. 118) est aussi avantageux que le procédé type.

Préparer les sacs comme ci-dessus (*a* à *d*) ; stériliser pleins d'eau.

Pour l'utilisation : enlever les sacs avec une pince stérile, essuyer extérieurement au papier-filtre stérilisé ; vider. Avec plusieurs doubles de papier-filtre stérilisé, confectionner une petite

corbeille, y poser le sac ; soutenir la corbeille, sans comprimer, entre le pouce et l'index gauche. Assécher l'orifice du sac, à l'aide d'une pince à dissection flambée, puis refroidie incomplètement : placer une branche de la pince dans le sac, l'autre branche en dehors ; rapprocher les deux branches. Répéter l'opération jusqu'à ce que tout l'orifice soit sec. Remplir à moitié de liquide ensemencé.

Fig. 118. — Sac de collodion ; fermeture à la cire.

Fermer à la cire Golaz : fondre avec une tige métallique (manche en bois) ou un agitateur chauffés ; enduire de cire fondue toute la bordure interne de l'orifice ; accoler l'un à l'autre les deux bords de l'orifice en serrant extérieurement entre les mors d'une pince jusqu'à ce que la cire fasse prise par refroidissement. Consolider la fermeture, en obturant de même à la cire le bord externe de l'orifice. Comprimer un peu le fond, pour s'assurer que la fermeture est bien étanche. Les sacs ainsi préparés ne se rompent presque jamais dans le péritoine, même après plusieurs semaines ; ils ne provoquent jamais la mort de l'animal par étranglement intestinal.

Inclusion. — Inclure dans le péritoine par laparotomie.

Traitement ultérieur. — Le sac est laissé en place un temps variable, deux ou trois jours à plusieurs semaines suivant les indications.

Pour l'enlever : sacrifier l'animal. Le sac est libre pendant les premiers jours, mais à la longue il s'entoure d'une gangue conjonctivo-vasculaire, dont il faut le débarrasser avec précaution.

Le sac enlevé, cautériser le fond, ou casser l'effilure après flambage ; aspirer le contenu à l'aide d'une pipette stérile.

Sacs de roseaux. — On s'adresse à la membrane qui tapisse la cavité du roseau. On coupe des fragments de roseau de la longueur voulue ; on fait bouillir quinze minutes si le roseau est frais, sinon on porte le même temps à l'autoclave. Tailler un des bouts de manière à mettre à nu la membrane sur une longueur suffisante pour placer ensuite une ligature sur la partie libérée ; la ligature faite, repousser la membrane dans le roseau, à l'aide d'une baguette de verre, et faire sortir par l'autre bout. Adapter à l'extrémité libre de la membrane un tube de verre comme pour le sac de collodion, lier sur le tube ; placer sur le sac près du verre une ligature lâche (ligature d'attente) ; remplir d'eau, stériliser comme ci-dessus.

Pour utiliser le sac : vider ; introduire le liquide ensemencé ; serrer la ligature d'attente. Détacher du tube de verre, enduire de gomme-laque les deux ligatures. Inclusion et traitement ultérieur, comme pour les sacs de collodion.

Inoculations dans les voies respiratoires. — Injection intratrachéale — *Chez les mammifères* : fixer l'animal sur le dos ; placer un billot sous la nuque pour tendre le cou. Préparer la peau.

Au long du cou, pratiquer une incision médiane d'environ 3 centimètres, peau et tissu cellulaire; ouvrir l'aponévrose sur une sonde cannelée; injecter entre deux anneaux, pointe en bas. Suturer.

Pour les petits animaux, il est souvent utile de passer un fil à travers la trachée pour l'immobiliser.

Chez les oiseaux : ouvrir largement le bec, attirer la langue au dehors; la trachée apparaît sous la langue, béante; y injecter directement.

Inhalation. — On fait inhaler à l'animal soit une émulsion pulvérisée par un appareil approprié (appareil de Richardson par exemple), soit, quand ils supportent la dessiccation, des virus desséchés avec une poudre inerte, charbon animal, poudre de lycopode, etc.; la poudre est injectée à l'aide d'un soufflet.

Le dispositif adopté doit écarter tout danger pour l'opérateur. On se contente généralement d'une boîte métallique pleine, percée de trois trous : deux (avec tampon de coton filtrant) pour la respiration de l'animal, le troisième pour introduire le tube terminal du pulvérisateur ou du soufflet.

Inoculations dans les voies digestives. — Ingestion. — 1° Il suffit le plus souvent de *mélanger la culture aux aliments* : son, légumes, lait, pâtée, suivant les animaux. Il est bon de laisser les animaux à jeun pendant douze à vingt-quatre heures auparavant.

Ou bien, on inclut le virus dans l'intérieur de fragments de pomme de terre (Koch), de capsules de gélatine, etc.

2° On peut également *entonner*, procédé surtout expéditif chez les animaux de petite taille. Prendre un tube de verre à paroi épaisse; y pratiquer une effilure courte, roder l'orifice de l'effilure, boucher au coton l'autre orifice; stériliser, laisser refroidir.

Aspirer la culture; boucher avec un doigt l'extrémité libre; de la main gauche, soutenir la tête de l'animal, nez franchement en l'air; insinuer l'effilure de la pipette entre les dents; laisser couler goutte à goutte, lentement. Patience.

Avec un peu d'habitude, cette technique est expéditive et sûre; elle permet, en outre, un dosage assez rigoureux.

On peut procéder de même chez le veau (entonner à la bouteille); chez les oiseaux : inclure le virus dans des boulettes de farine; les déposer à la base de la langue.

3° Le *cathétérisme de l'œsophage* permet de porter les aliments dans l'estomac. Écarter les mâchoires avec un bâillon : rectangle de liège percé d'un trou au centre, ou simple cadre de fil de fer solide; ou faire écarter par un aide. La sonde (sonde urétrale) sera alors

introduite facilement par l'œsophage jusque dans l'estomac; manœuvrer doucement pour ne pas érailler la muqueuse. Adapter alors l'embout de la seringue à l'orifice libre de la sonde; injecter.

Remarque. — Il est souvent utile d'alcaliniser au préalable l'estomac et aussi de restreindre les mouvements péristaltiques (évacuateurs) de l'intestin. Pour le premier objet : introduire dans l'estomac quelques centimètres cubes de bicarbonate de soude à 5 p. 100. Pour le deuxième : injecter dans le péritoine de la teinture d'opium, $0^{cc},30$ p. 100 grammes du poids de l'animal.

Injection dans le tube digestif. — Pratiquer une laparotomie au point voulu. Laisser sortir ou attirer, avec les doigts, une anse intestinale. Avec une aiguille fine, d'un coup sec, piquer à travers la paroi, injecter; retirer l'aiguille. Fermer la paroi comme d'ordinaire.

L'intestin, très rétractile, aveugle immédiatement la petite plaie.

Pour trouver le *duodénum*, qui est fixe, inciser sur la ligne médiane; repérer l'estomac, suivre l'une des courbures vers la droite. Le duodénum fait suite.

Injection dans le rectum. — Injecter directement avec une sonde à extrémité mousse.

On peut aussi badigeonner le rectum avec un tampon, imbibé de virus, porté sur une baguette de verre ou sur tout autre conducteur.

Inoculation dans la vésicule biliaire (cobaye). — Pratiquer une laparatomie avec incision en L (fig. 121, IB) : branche verticale 4 à 6 centimètres, à partir des fausses côtes ; branche horizontale, à droite, 3 à 4 centimètres, partant de l'extrémité inférieure de la branche verticale. Chercher la vésicule sous le bord inférieur du foie (fig. 121, B et F). Piquer, injecter.

Inoculation dans les voies biliaires. — Chez le lapin et le cobaye : même incision que la précédente; reconnaître l'estomac, puis le duodénum. A droite et en arrière du duodénum, on voit émerger le pédicule porto-biliaire ; reconnaître le cholédoque, blanc, mou. Injecter avec une aiguille très fine.

On trouverait dans le même pédicule la *veine porte*.

Observation des animaux inoculés.

Tout animal inoculé sera suivi chaque jour. On notera les phénomènes pathologiques perceptibles. Signalons les plus importants.

Lésion locale. — Au point d'inoculation : date d'apparition, étendue, forme, couleur. Réaction ganglionnaire.

Poids. — Peser l'animal avant l'inoculation; peser à nouveau au cours de la maladie, à intervalles réguliers.

Température. — Prendre la température rectale, deux fois par

jour, à l'aide de thermomètres spéciaux : petit réservoir, équilibration très rapide. Établir une courbe thermique.

Il faut connaître la température normale des animaux en expérience :

Lapin	39°,5 à 40°
Cobaye	38°,5 à 39°
Oiseaux	41°,5 à 42°,5

Troubles digestifs. — Inappétence, diarrhée, etc.

Troubles nerveux. — Paralysies, convulsions.

État général. — Amaigrissement. Habitus extérieur: excitation ou abattement, prostration. Hérissement des poils.

L'observation sera complétée ultérieurement :

1° Par l'étude des lésions locales après incision ;

2° Éventuellement, par des examens bactériologiques (lésions locales, sang) pratiqués pendant la vie ;

3° Par les constatations d'autopsie ;

4° Par la recherche des microbes et des altérations histologiques sur les tissus ou pièces d'autopsie.

Choix de l'espèce animale à inoculer et du mode d'inoculation.

Quand le virus est indéterminé, il faut l'inoculer aux espèces animales communes par les voies les plus habituelles.

Si, au contraire, le virus est connu, ou si la recherche a pour but de constater la présence ou l'absence d'un microbe déterminé, il faut choisir l'espèce animale à inoculer, de même que le mode d'inoculation.

Le choix de l'espèce animale est lié à la réceptivité des animaux.

Réceptivité des animaux. — Les animaux ne sont pas uniformément réceptifs à l'égard de toutes les bactéries pathogènes. On trouvera à cet égard les notions indispensables à propos de chaque espèce microbienne ; nous signalerons simplement la grande réceptivité des trois espèces animales les plus habituellement employées à l'égard de certains des agents pathogènes les plus communs :

Cobaye. — Charbon bactéridien ; Bacilles de la peste, de la morve (cobaye mâle), de la fièvre typhoïde, Bacilles paratyphiques, Bacilles de la diphtérie, du tétanos, Bacille tuberculeux humain ; Vibrion septique, Vibrion cholérique.

Lapin. — Staphylocoque ; Streptocoque ; Pneumocoque ; Bacilles de la peste, de la fièvre typhoïde, Bacilles tuberculeux bovin et aviaire ; Vibrion cholérique.

Souris blanche. — Pneumocoque, Tétragène; Charbon bactéridien; Bacilles de la peste, de la fièvre typhoïde, du tétanos.

Choix du mode d'inoculation. — Il n'est pas indifférent d'inoculer par telle ou telle voie, les effets produits pouvant être très différents. L'exemple classique à cet égard est constitué par les réactions du lapin à l'égard du streptocoque (Voy. 276), réactions très variables suivant la voie de pénétration du virus.

Nous nous bornerons à résumer les indications essentielles des principaux modes d'inoculation.

L'*inoculation endermique* convient à la production du virus vaccinal (veau, lapin), de même qu'aux inoculations de microbes très infectants contenus dans un milieu très impur : bacille pesteux chez le cobaye, pneumocoque chez la souris.

Les indications des *inoculations sous-cutanées* sont très nombreuses et concernent la presque unanimité des microbes virulents; signalons entre autres la recherche de bacilles infectants dans les produits impurs : tuberculose et morve chez le cobaye, pneumocoque chez le lapin et la souris ; la production de lésions spéciales par suite d'une évolution lente, comme la tuberculose du cobaye ; l'inoculation des anaérobies, l'étude de l'action des toxines ou anticorps, etc.

L'*inoculation intraveineuse* détermine généralement des lésions plus graves ou plus hâtives que l'inoculation sous-cutanée ; citons la réalisation de la tuberculose septicémique par injection de bacille tuberculeux aviaire (lapin), la staphylococcie expérimentale (lapin). Ce mode d'inoculation est employé pour l'étude expérimentale des septicémies ; il est en outre utilisé pour provoquer l'apparition d'anticorps à la suite d'injection de microbes, de toxines, etc.

Plus sévère encore est habituellement l'*injection intrapéritonéale* (péritonite cholérique, typhique, colibacillaire, etc.).

La méthode des *sacs de collodion* convient à la fois à la mise en évidence de certaines toxines (Voy. *Choléra*) et à la culture de certaines espèces particulièrement difficiles.

On s'adressera à l'*ingestion* pour reproduire le choléra intestinal (jeune lapin), les empoisonnements alimentaires (souris, cobaye) ; l'*inhalation* permettra de provoquer la tuberculose chez le cobaye.

Les *injections intracraniennes*, généralement très graves, sont surtout employées pour l'étude de la rage, du tétanos (tétanos cérébral).

LIBRARY OF THE BRITISH MEDICAL ASSOCIATION
PRESENTED BY THE EDITOR OF B. M. J.

CHAPITRE XIII

PRÉLÈVEMENT DES PRODUITS PATHOLOGIQUES

Les prélèvements de produits pathologiques peuvent être opérés chez l'homme ou chez l'animal.

Nous étudierons successivement les prélèvements sur le vivant ; les autopsies ; les prélèvement cadavériques.

Règle générale. — *Dans tous les cas, les produits destinés aux cultures ou inoculations seront recueillis aseptiquement.*

I. — PRÉLÈVEMENTS SUR LE VIVANT.

1. — Chez l'homme.

Sang. — 1° **Piqûre de la peau.** — Pour examen direct (recherche des parasites) ou pour récolter 1 à 2 centimètres cubes en vue d'un séro-diagnostic, la piqûre de la peau suffit.

On choisira de préférence le lobule de l'oreille, moins sensible que la pulpe du doigt.

Laver la peau à l'alcool-éther ; laisser sécher.

a. Pour examen direct, piquer profondément, franchement, avec une épingle ou un vaccino-style flambés; recueillir le sang sur lame, goutte par goutte ; étaler ou couvrir d'une lamelle (p. 866) ;

b. Pour récolte du sérum, même opération ; recueillir le sang dans un petit tube. Masser la région pour faciliter l'écoulement.

Nettoyer la plaie à l'alcool-éther.

2° **Emploi de la ventouse scarifiée.** — Peu recommandable ; le sang n'est pas stérile, et le procédé est douloureux.

Stériliser des ventouses capuchonnées de papier-filtre.

Désinfecter la peau à l'alcool-éther ; laisser sécher, rincer à l'eau stérile. Placer les ventouses et scarifier (bistouri stérilisé) suivant les procédés habituels.

3° **Ponction de veine.** — Quand on veut *cultiver* le sang, il est *indispensable* de le prélever dans une veine superficielle. C'est également le procédé de choix quand on veut en recueillir plusieurs centimètres cubes.

Stériliser à l'autoclave une seringue avec son aiguille. Le mieux est de les placer dans un cylindre de verre (fig. 119), un vase à précipiter, etc. ; mettre au fond du coton hydrophile largement imbibé d'eau ; boucher a la ouate et couvrir de papier.

La stérilisation par ébullition est très aléatoire.

Employer de préférence des aiguilles en acier, de 3 à 5 centimètres, à biseau bien acéré et de large calibre.

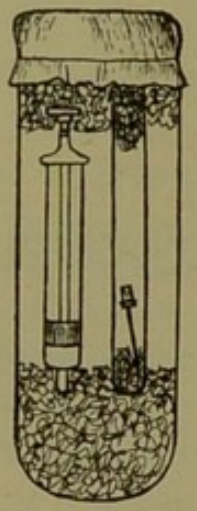


Fig. 119. — Stérilisation des seringues et aiguilles.

a. Mettre à nu le membre supérieur ; le faire reposer, allongé, bien soutenu sur le lit. Placer vers le tiers supérieur du bras une bande modérément serrée. Les veines font saillie.

b. Désinfecter la région du pli du coude à la teinture d'iode.

c. Sur une veine bien turgescente, sans se préoccuper de ses rapports anatomiques, repérer le point de ponction ; éviter de traverser les follicules pilo-sébacés, bien visibles (nids à microbes difficiles à désinfecter) et assez espacés. Pousser l'aiguille, d'un coup sec, la pointe dirigée vers la racine du membre, presque parallèlement à la veine ; la peau traversée, pénétrer dans la veine. Aspirer doucement ; le sang doit venir immédiatement.

d. La seringue remplie, enlever rapidement seringue et aiguille ; séparer l'aiguille, verser le sang dans un récipient stérilisé ; rincer la seringue à l'eau.

Le récipient varie suivant le but cherché. Veut-on simplement récolter le sérum, verser dans un grand tube ou une fiole d'Erlenmeyer stériles. Veut-on pratiquer une hémoculture, on suivra les indications données plus loin (Voy. p. 867).

e. Placer sur la plaie un pansement sec. Jamais de collodion.

Sérum. — Le sang ayant été recueilli comme il vient d'être dit, laisser reposer au frais ; après quelques heures, le sérum est nettement séparé ; après quarante-huit heures, la séparation est complète. Décanter le sérum, recueillir en récipient stérile. S'il est trop rouge, centrifuger.

Quand on est pressé, recueillir le sang, avant coagulation, dans un tube à centrifugation ; centrifuger immédiatement. Le sérum se sépare au cours de la centrifugation.

Sérosités (exsudats pleuraux, péritonéaux, méningés, articulaires, etc.). — Les sérosités seront prélevées suivant les procédés courants en clinique ; on observera les précautions d'asepsie indiquées à propos du sang.

Si les germes sont peu nombreux, il est nécessaire de centrifuger.

Centrifugation. — Répartir le liquide dans des tubes à centrifugation, stérilisés et bouchés. Centrifuger. Les microbes et les éléments cellulaires se déposent au fond, en formant un culot.

a. Pour ensemencer le culot : se munir d'une pipette stérile, à longue effilure, flamber, plonger dans le liquide jusqu'au fond, laisser monter le culot (par capillarité) ; au besoin, aspirer doucement. Retirer la pipette, ensemencer.

On prélèverait de même pour les inoculations.

b. Pour examens directs du culot : on peut opérer comme en *a*. Quand la sérosité est albumineuse (plèvre, péritoine), il vaut mieux décanter le liquide, en ne laissant que le culot; diluer ce dernier dans un peu d'eau; étaler sur lames.

Il existe un grand nombre de modèles de centrifugeurs, à main, à eau, électriques.

Pus. — Sitôt l'abcès ouvert (par le chirurgien), prélever dans la profondeur, à l'aide d'une pipette à effilure large et forte. Éviter le sang autant que possible.

Si l'abcès ne doit pas être ouvert : désinfecter la peau; ponctionner avec une seringue armée d'une aiguille de gros calibre.

Exsudats des muqueuses. — Exsudats des muqueuses superficielles (conjonctive, vulve, etc.). — Ils seront prélevés à la pipette, à la pince ou au fil de platine, suivant leur consistance.

Exsudats pharyngés. — S'il existe des fausses membranes, les détacher à l'aide d'une pince, ou, si elles sont trop friables, les enrouler sur un écouvillon droit ; sécher la fausse membrane avec du papier-filtre stérile avant d'ensemencer.

Le mucus pharyngé sera prélevé, après rinçage de la gorge par gargarisme à l'eau stérile, avec un écouvillon droit (fig. 120).

Exsudats rhino-pharyngés. — La bouche étant largement ouverte, introduire l'extrémité d'un écouvillon coudé (fig. 120) dans le rhino-pharynx, en contournant la face postérieure de la luette ; imprimer à l'écouvillon de légers mouvements de rotation.

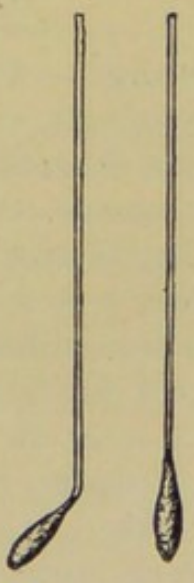


Fig. 120. — Écouvillons coudé et droit.

Urines. — Recueillir par cathétérisme aseptique. Sinon, faire uriner le malade dans trois verres stériles, conserver le dernier pour examen.

Selles. — Le plus souvent, il suffit de recueillir les selles dans un vase flambé.

Si les microbes, rares dans les selles, sont plus abondants dans l'intestin grêle (porteurs de bacilles typhiques, et paratyphiques), il est préférable de vider d'abord le gros intestin par deux lavages à l'eau bouillie; donner ensuite un troisième lavage, recueillir en plusieurs vases flambés ; conserver seulement le dernier pour examen.

Expectoration. — Procédé habituel. — Recueillir les crachats : pour examens directs, dans un vase propre; pour inoculations, dans un vase stérile.

Récolte pour cultures. — Il faut se débarrasser des saprophytes très nombreux provenant du pharynx et de la bouche. On suivra avec profit la technique suivante, imitée de Kitasato : recueillir un crachat dans un verre renfermant du sérum artificiel stérile ; à l'aide d'une pince ou de papier-filtre, porter dans un deuxième verre d'eau physiologique stérile, agiter; laver de même une troisième fois. Prélever une parcelle au centre.

Pièces chirurgicales. — Les pièces destinées aux examens bactériologiques seront recueillies aseptiquement, suivant les procédés chirurgicaux; on évitera l'emploi des antiseptiques; on évitera également de toucher avec les doigts, même désinfectés. La pièce, manipulée avec des instruments stériles, sera reçue dans un vase stérile; on fera ensuite, et *le plus tôt possible après l'extirpation*, les prélèvements et ensemencements, suivant les règles ordinaires.

II. — Chez les animaux de laboratoire.

Sang. — Ponction du cœur. — Ce procédé, d'usage courant en physiologie, est entré depuis quelques années dans la pratique habituelle des laboratoires. Bien conduit, il est inoffensif. Il suffit à tous les besoins. On doit s'y habituer.

Opérer avec des instruments stérilisés : seringue de 20 centimètres cubes, armée d'une aiguille de Roux (lapin); seringue de 2 à 10 centimètres cubes et aiguille de Pravaz (cobaye et rat blanc). On s'assurera que le biseau de l'aiguille est très acéré.

Le cœur du lapin et du cobaye déborde généralement très peu le sternum à gauche (fig. 121, C et PC); il est assez souvent médian.

Pour repérer le point de pénétration, il suffit de percevoir au doigt les battements cardiaques ; on ponctionnera vers la pointe, au ras du sternum. — Voici d'autres repères plus précis : chez le lapin, à 3 millimètres du bord gauche du sternum, dans le troisième espace intercostal, on détermine facilement cet espace en repérant de bas en haut ; c'est le quatrième espace rencontré en remontant à

partir de l'angle chondro-xiphoïdien (Nicolle et Ducloux). Chez le cobaye, à 1 centimètre environ au-dessus de l'angle chondro-xiphoïdien, à gauche, près du sternum (Raybaud et Hawthoorn). Chez le rat blanc, même repère que pour le cobaye.

Au point choisi, raser et aseptiser la peau; enfoncer d'abord l'aiguille à travers les plans superficiels, en ayant soin d'éviter les côtes. Diriger ensuite la pointe légèrement à droite; enfoncer d'un coup sec.

Aspirer très doucement, sans déplacer l'aiguille. Prélever la quantité voulue; on peut prélever sans crainte 20 centimètres cubes chez le lapin, 4 à 6 centimètres cubes chez le cobaye. Retirer ensuite l'aiguille d'un coup brusque.

Séparer l'aiguille ; répartir le sang soit en tubes vides stériles (pour récolte du sérum), soit dans les milieux de culture (pour préparation des milieux sanglants.

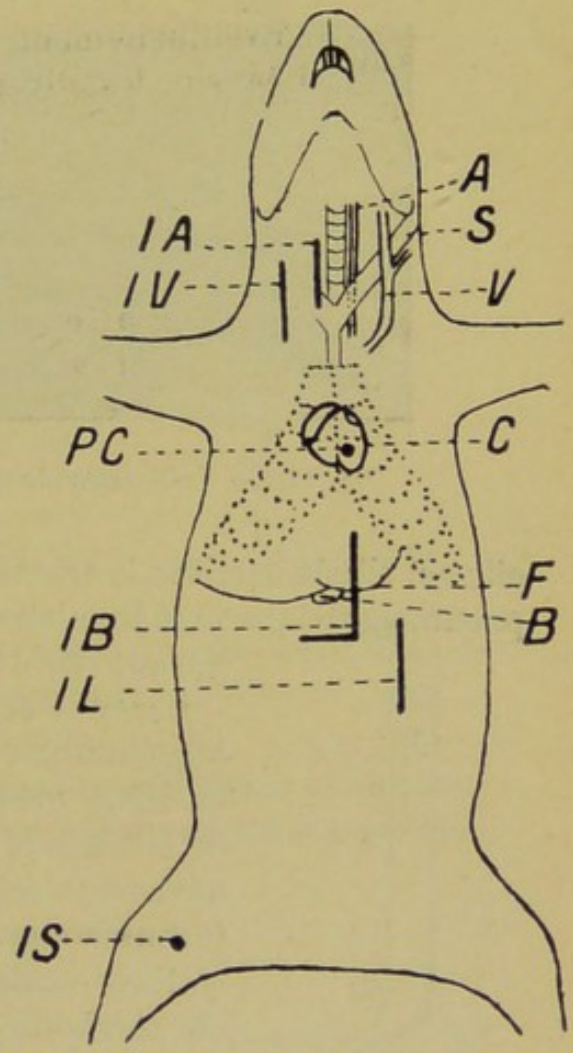


Fig. 121. — Principaux repères opératoires chez le cobaye.

A, carotide ; S, muscle sterno-mastoïdien; V, veine jugulaire externe ; C, cœur ; F, bord inférieur du foie ; B, vésicule biliaire. — IA, incision pour ponction de la carotide; IV, pour injection dans la jugulaire ; IB, pour découverte des voies biliaires ; IL, pour laparatomie ; PC, point d'élection pour ponction du cœur; IS, inoculation sous-cutanée.

Ponction de la veine. — Lapin (fig. 122). — On s'adresse d'ordinaire à la veine marginale de l'oreille. Préparer une pipette coudée, effilée à son extrémité ; casser l'effilure avec une pince flambée; au besoin régulariser les bords, les maintenir bien coupants.

a. Comme *a* (p. 201).

b. Tournant l'effilure de la pipette vers l'extrémité de l'oreille, traverser la peau, pénétrer ensuite dans la veine, très obliquement; enfoncer de quelques millimètres. Le sang monte dans la pipette. Si l'écoulement s'arrête trop tôt, imprimer à la pipette de très légers mouvements.

c. Quand on a prélevé la quantité voulue, enlever la pipette d'un coup sec; sceller l'extrémité.

d. Enlever la pince; placer un tampon antiseptique sur la plaie; le maintenir quelques minutes avec la pince.

Ponction de l'artère. — LAPIN et COBAYE. — On s'adresse en général à la *carotide*, qui ne donne pas de branches collatérales;

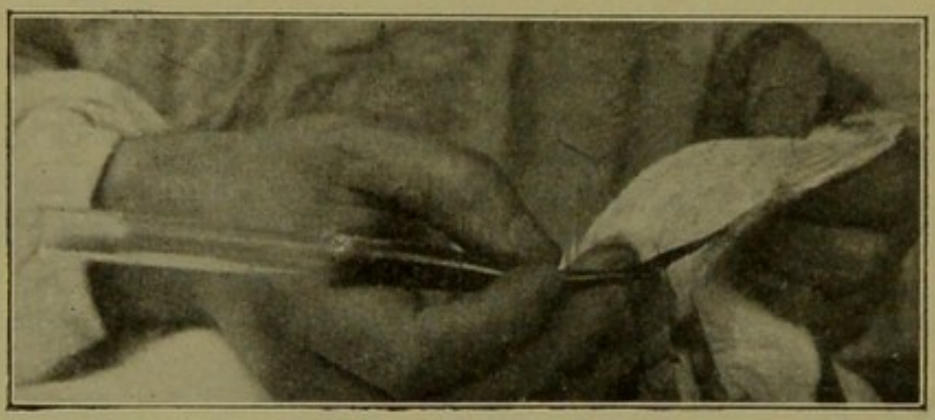


Fig. 122. — Prélèvement de sang dans la veine de l'oreille du lapin.

elle est située derrière la trachée dans une gaine commune avec le pneumogastrique et la jugulaire interne. La sterno-mastoïdien croise devant (fig. 121, A et 1A).

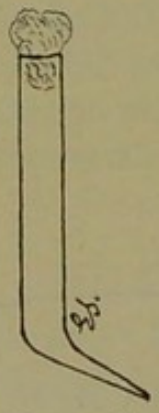


Fig. 123. — Pipette pour ponction artérielle.

Raser et aseptiser la peau. Pratiquer une incision longitudinale de quelques centimètres, près de la ligne médiane, au bord de la trachée ; inciser l'aponévrose ; récliner en dehors le muscle sterno-mastoïdien, récliner également le muscle sterno-thyroïdien appliqué sur la trachée. En dehors et en arrière de la trachée, sentir les battements de l'artère, la dénuder à la sonde cannelée sur 3 ou 4 centimètres. Placer une ligature serrée à sa partie supérieure ; glisser un autre fil sous la partie inférieure, faire un nœud de ligature, sans serrer (ligature d'attente) ; en soulevant et comprimant le bout inférieur de l'artère entre les doigts, introduire l'effilure d'une pipette coudée (fig. 123). Cesser la compression. Le sang monte rapidement. Quand on a prélevé la quantité voulue : serrer la ligature inférieure ; enlever la pipette, sceller.

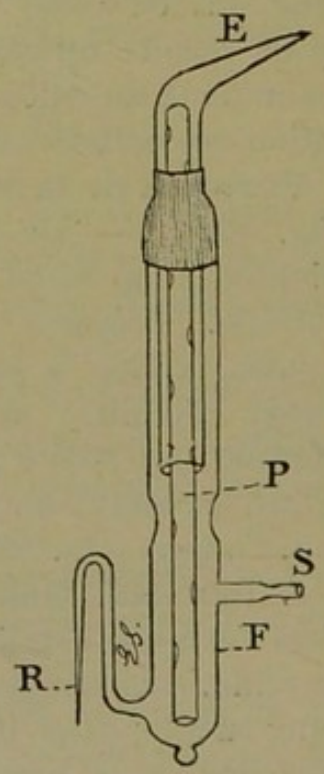


Fig. 124. — Appareil Latapie pour récolte du sang (petits animaux).

Sérum. — Opérer comme chez l'homme (p. 212).

Pour augmenter la quantité de sérum obtenue, on peut employer des appareils spéciaux. Signalons l'*appareil Latapie* (fig. 124) : on coude et effile l'extrémité borgne E d'un tube à essai ; l'autre extrémité est introduite dans un autre tube un peu plus large, portant dans sa partie libre deux tubulures latérales ; dans l'axe, un petit tube de verre percé de trous, P ; une bague de caoutchouc fixe le tube à essai sur le grand tube. Le tout est stérilisé à l'autoclave. — Pour recueillir le sang : disposer l'appareil E en bas, casser E ; prélever dans l'artère ou dans la veine, comme ci-dessus. — Pour récolter le sérum : renverser l'appareil ; le sérum tombe en F, alors que le caillot est retenu par P. Il ne reste plus qu'à faire compression par S pour recueillir le sérum en R.

Au même but sert l'appareil Lumière (fig. 125). On recueille le sang par le bout coudé. Pour récolter le sérum, renverser l'appareil : le sérum s'écoule, pendant que le caillot est retenu par les pointes de verre.

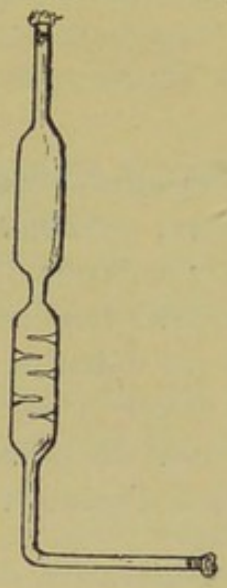


Fig. 125. — Appareil Lumière pour récolte du sérum.

Urines. — Fixer l'animal sur le dos ; laver la région du méat. Asperger le ventre d'eau froide, ce qui provoque la miction. Recueillir l'urine en plusieurs verres ; garder seulement le dernier.

Le prélèvement du *pus*, des *sérosités*, etc., sera pratiqué en suivant les mêmes règles que chez l'homme.

II. — AUTOPSIES.

Remarques générales. — a. Les organes et tissus se laissent envahir après la mort par les microbes préexistants, spécialement le Colibacille et le *Proteus* (Würtz et Hermann). Cette *infection cadavérique* est d'autant plus hâtive que la température extérieure est plus élevée et que l'intestin est altéré. Le foie, puis le sang sont en général les premiers infectés.

b. Par suite, dans les autopsies humaines, faites vingt-quatre heures après la mort, on se souviendra de ces infections cadavériques. La présence des germes signalés peut être un fait normal, sans relation avec la maladie cause du décès.

c. Chez l'animal, l'autopsie sera toujours faite sitôt après la mort. On a même souvent intérêt à le sacrifier (par anesthésie prolongée, par piqûre du bulbe, etc.) et à pratiquer l'autopsie aussitôt.

A. — Chez l'homme.

On pratiquera l'autopsie suivant la technique habituelle en anatomie pathologique ; nous n'avons pas à y insister.

Les prélèvements pour examens bactériologiques porteront spécialement : dans tous les cas, sur le sang du cœur, les parenchymes du foie, de la rate, des reins ;

Éventuellement, suivant les circonstances, sur toute lésion localisée, sur les divers parenchymes, la moelle osseuse, les cavités naturelles (voies biliaires, vessie), les centres nerveux.

B. — Chez l'animal.

Prescriptions absolues. — *Tout animal mort dans un laboratoire, qu'il soit ou non inoculé, sera autopsié* (p. 189).

Les cadavres d'animaux morts de maladies infectieuses seront, après autopsie, toujours détruits; il ne faut ni les abandonner ni les enfouir. On les détruira par combustion dans un four crématoire ou dans un foyer à fort tirage ; sinon, on peut les entailler largement, arroser de pétrole et brûler; à défaut, noyer dans une terrine pleine d'acide sulfurique.

Préparatifs de l'autopsie. — Nous nous occuperons exclusivement des petits animaux (cobaye, lapin, souris, poule, pigeon, etc.).

a. Fixer solidement l'animal sur un plateau à autopsie (fig. 107).

Les cobayes, lapins, rats, seront assujettis par les quatre pattes, à l'aide de forts liens passés dans les trous percés au bord du plateau.

Oiseaux : fixer les deux pattes; fixer la tête par un lac autour du cou.

Souris : opérer comme pour le cobaye; ou bien placer sur une plaque de liège et transfixer les pattes avec des épingles.

b. L'animal est placé ventre en l'air pour l'autopsie générale; ventre en bas pour l'autopsie des centres nerveux.

c. Avant de commencer l'autopsie, arroser avec une solution antiseptique ; couper les poils ou arracher les plumes sur la ligne d'incision.

d. Les instruments (bistouris, ciseaux, pinces) seront stérilisés ou flambés *avant et après* l'autopsie.

I. **Autopsie générale.** — *a.* Procéder d'abord à l'examen extérieur ; constater les lésions, opérer les prélèvements utiles. Insister, le cas échéant, sur le point d'inoculation.

b. Pratiquer l'incision des téguments sur la ligne médiane, du cou au pubis ; prolonger l'incision jusqu'à la racine des membres. Libérer largement les téguments, les rabattre sur les côtés.

c. Si l'on soupçonne un épanchement du péritoine ou de la plèvre, prélever d'abord dans ces cavités avant de les ouvrir.

d. Ouvrir l'abdomen : en soulevant la paroi avec des pinces, pratiquer sur la ligne médiane une simple boutonnière, pour constater l'état du péritoine. S'il y a lieu, opérer un prélèvement. Terminer ensuite l'ouverture du péritoine : inciser sur toute la ligne médiane ; détacher les incisions musculaires costales, en respectant le diaphragme.

e. Examiner successivement : la cavité abdominale, le péritoine

le foie avec les voies biliaires, la rate, les reins, les capsules surrénales, les ganglions mésentériques. Pratiquer des coupes sur chaque organe. Noter les lésions et opérer tous prélèvements utiles.

f. Examiner le tube digestif : placer une ligature au-dessus du cardia, une autre sur le rectum ; détacher en entier, ouvrir aux ciseaux mousses. Voir le contenu et les parois.

g. Passer aux organes du bassin : aspirer l'urine de la vessie, ouvrir la cavité ; examiner et ouvrir les organes génitaux.

h. Ouvrir le thorax : inciser le diaphragme ; couper de bas en haut les côtes, très en dehors, y compris la première ; rabattre en haut et détacher le plastron osseux.

i. Voir d'abord le péricarde ; opérer un prélèvement s'il est indiqué ; ouvrir largement aux ciseaux. Soulever la pointe du cœur avec une pince ; prélever le contenu.

j. Examiner les plèvres, puis le poumon ; étude et prélèvements comme pour les autres viscères.

k. Éventuellement, compléter l'autopsie par l'examen des os, des articulations, etc. — Pour la moelle osseuse : casser le sternum, cautériser la surface de section, prélever dans la profondeur. Ou bien : libérer le fémur, couper (ou scier), cautériser, prélever.

Autopsie des centres nerveux. — *a*. Incision médiane, allant du nez à l'extrémité de la colonne vertébrale. Dénuder le crâne ; détacher les masses musculaires des gouttières vertébrales ; ruginer doucement les os.

b. A l'aide du davier appliqué à la racine du nez, tenir solidement la tête ; avec une cisaille, sectionner les arcades orbitaires ; reprendre le davier, tordre les arcades orbitaires ; sectionner le frontal à sa partie antérieure. Compléter à la cisaille l'ouverture de la boîte cranienne. On arrive alors à la moelle : saisir au davier les apophyses épineuses ; avec la cisaille, couper les lames vertébrales une à une. Il faut opérer prudemment, pour ne pas blesser la moelle.

c. Les centres nerveux étant mis à nu, opérer les prélèvements ou enlever en entier, suivant les indications.

III. — PRÉLÈVEMENTS CADAVÉRIQUES.

Les règles sont les mêmes pour les prélèvements chez l'homme ou sur l'animal.

Prélèvements pour investigations complètes (pour examen direct, cultures et inoculations). — Il faut opérer avec l'asepsie la plus rigoureuse.

A. **Prélèvement de produits liquides (sang, sérosités, liquides d'excrétion, pus, etc.)**. — *a*. Fixer l'organe ou la région à l'aide de pinces.

b. Cautériser fortement la surface.

c. Faire pénétrer à travers l'escarre l'effilure, flambée, d'une pipette. Aspirer, en imprimant à la pipette de légers mouvements de va-et-vient; éviter de transpercer l'organe ou la cavité.

d. Ensemencer immédiatement, par les méthodes d'isolement. Réserver une partie du liquide pour examen direct et inoculation. Au besoin, centrifuger au préalable.

B. **Prélèvement dans les parenchymes (foie, rate, etc.).** — Opérer exactement comme en A. Pour ensemencer et inoculer, dissocier dans un peu de liquide stérile (bouillon, sérum artificiel).

Prélèvements pour simple examen direct. — L'asepsie n'est pas utile. Pour les liquides : prélever à la pipette, porter sur lame; couvrir d'une lamelle ou étaler. Pour les parenchymes : prélever un fragment, porter sur lame ; étaler en écrasant le tissu.

Prélèvements pour examens sur coupes. — Tailler les pièces avec des bistouris ou ciseaux bien tranchants (Voy. p. 248 le traitement ultérieur).

CHAPITRE XIV

MICROSCOPE ET ULTRA-MICROSCOPE

I. — MICROSCOPE.

Un bon microscope (fig. 125) est le premier instrument nécessaire au bactériologiste.

Constitution. — Il faut connaître succinctement sa constitution. Il comprend : un statif, une partie optique.

Statif. — Le statif se compose essentiellement d'un *pied*, surmonté d'une *colonne*. La colonne porte, en avant : à sa partie inférieure, un *miroir*, mobile dans tous les sens ; au-dessus du miroir, un *diaphragme*, puis un *condensateur Abbé*, tous deux mobiles verticalement et latéralement ; au-dessus du condensateur, une *platine* ; à sa partie supérieure, une branche horizontale, terminée par un *pignon* muni d'une *vis à crémaillère*. Le pignon reçoit le *tube* qui porte la partie optique. Il existe en outre une *vis micrométrique*, à ressort.

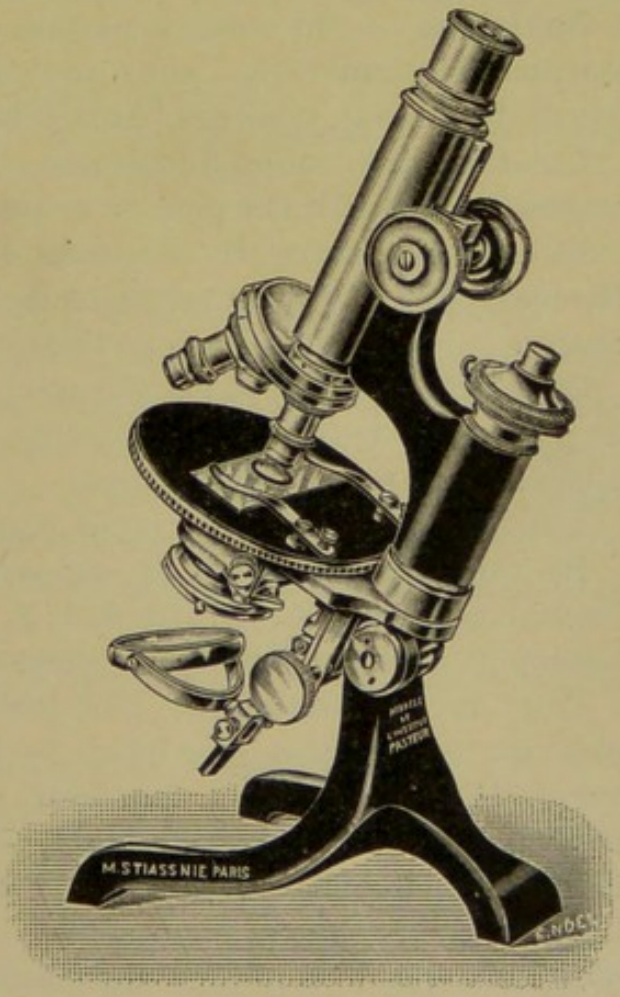


Fig. 126. — Microscope.

Le *pied* sera large et lourd, pour assurer la stabilité.

Il est très utile que la *colonne* soit articulée au pied, pour permettre de donner au tube une inclinaison variable.

Le *miroir* est plan d'un côté, concave de l'autre.

La *platine*, percée au centre d'une large ouverture pour le passage des rayons lumineux réfléchis par le miroir, sert de support aux préparations.

Il est bon qu'elle soit *mobile*, de manière à permettre facilement de faire passer sous l'objectif les divers points des préparations.

On peut modifier l'action utile du faisceau lumineux : par le *condensateur*, qui condense les rayons vers la préparation; par le *diaphragme*, dont l'ouverture varie à volonté. On emploie en général le diaphragme iris.

Le *tube* est formé de deux cylindres emboîtés l'un dans l'autre. Il portera à sa partie inférieure un *revolver porte-objectifs*, pour trois objectifs (ou quatre) ; on y vissera et laissera à demeure les objectifs d'usage courant. Chaque douille du revolver doit porter un numéro indiquant quel objectif il faut y visser; on respectera cette indication, sinon l'appareil pourrait être décentré.

A son orifice supérieur, le tube reçoit les oculaires.

Les *mouvements du tube* sont opérés avec la *vis à crémaillère* (grands déplacements) ou la *vis micrométrique* (déplacements très limités).

Partie optique. — Elle comporte des oculaires et des objectifs.

Oculaires. — On emploie partout l'oculaire de Huyghens : deux lentilles plan-convexes, l'une supérieure (frontale), l'autre inférieure (verre de champ), séparées par un diaphragme.

Les oculaires sont numérotés, par ordre de grossissement croissant : I, II, III. On peut se contenter des n^{os} I et III.

Ils existe en outre des oculaires dits *compensateurs*, souvent préférables pour les forts grossissements. Ils sont construits pour *compenser* les imperfections de l'achromatisme des objectifs.

Objectifs. -- C'est la partie essentielle du microscope. Il y a lieu de distinguer deux sortes d'objectifs : 1° les objectifs à ces; 2° les objectifs à immersion homogène.

Les *objectifs à sec* conviennent pour des grossissements modérés.

Ils sont désignés, chez la plupart des constructeurs (Stiassnie, Nachet, etc.), par les chiffres 0, 1, 2, etc., jusqu'à 9, ordre de grossissement croissant. Numéros correspondants de Zeiss : a^1 à a^3, B à F.

Pour des grossissements plus forts, il vaut mieux employer les *objectifs à immersion homogène.* — En passant successivement du verre (de la préparation) dans l'air, puis dans le verre des objectifs, les rayons lumineux se réfractent, parce que les indices de réfraction de ces divers milieux sont inégaux, d'où perte de netteté et de clarté. On évite cet inconvénient avec les objectifs dits à immersion homogène, en interposant entre la préparation et l'objectif un liquide dont l'indice de réfraction est sensiblement le même que celui du verre de l'objectif. Le liquide employé est aujourd'hui l'*huile de cèdre* (autrefois : l'eau); il est préférable de la demander au fournisseur de l'objectif, l'huile préparée par chaque fabricant étant adaptée à ses objectifs.

Les objectifs à sec ou à immersion actuellement employés sont dits *achromatiques*, c'est-à-dire qu'ils sont constitués de manière à éviter autant que possible la dispersion des couleurs fondamentales du spectre ; la correction, sans être parfaite, est suffisante. Elle est plus complète avec les objectifs dits *apochromatiques*, mais leur prix est très élevé.

On doit demander à tout objectif de laisser voir nettement le contour des objets (*pouvoir définissant*), de même que les objets au-dessus ou au-dessous du foyer (*pouvoir pénétrant*) et des détails délicats (*pouvoir résolvant*). Pour apprécier ces diverses qualités, on peut examiner avec ces objectifs soit des test-objets spéciaux : *Pleurosigma angulatum*, *Amphipleura pellucida*, etc., livrés par les fournisseurs d'instruments ; soit, plus simplement, des préparations de microbes colorés sur coupes (Bacille tuberculeux, organes morveux, etc.).

Mode d'emploi du microscope.

Le bactériologiste utilise le microscope pour examiner : soit des microbes colorés sur lames (cultures ou frottis), soit des microbes non colorés, soit des coupes colorées.

Sauf indication contraire, on examine les premiers avec les objectifs à immersion ; les secondes avec les objectifs à sec (parfois à l'ultra-microscope ; voy. plus loin) ; les dernières, successivement, à sec et avec immersion. — On peut encore examiner, à sec, les colonies microbiennes sur milieux solides.

Dans tous les cas, il faut s'assurer d'un éclairage convenable.

Éclairage. — La lumière diffuse du jour constitue le meilleur éclairage. Si elle ne suffit pas, il faut recourir aux lumières artificielles. La meilleure et la moins fatigante est le bec Auer ; vient ensuite la lampe à albocarbone, puis la lampe électrique. Une simple lampe à pétrole, avec lentille condensatrice, peut suffire. Il est utile d'intercaler entre l'œil et la source éclairante un écran, qui laissera éclairé le miroir seulement.

Remarques. — *Avec l'objectif à sec : miroir concave ; pas de condensateur.*

Avec l'objectif à immersion : miroir plan ; condensateur.

On se rendra compte de la distance qui sépare chaque objectif de la préparation, quand l'objectif est au point. Cette distance — *distance frontale* — est d'autant moindre que l'objectif est plus puissant.

Examen avec l'objectif à immersion. — Mettre en place l'oculaire et l'objectif. Tirer le tube (p. 225), lui donner l'inclinaison la plus favorable pour l'observation. Disposer le miroir, face plane en haut ; mettre en place le condensateur.

a. Fixer la préparation sur la platine ; y déposer, en face l'objectif, une goutte d'huile de cèdre.

Avec la vis à crémaillère, abaisser l'objectif jusqu'à environ 2 millimètres de la préparation.

Placer l'œil sur l'oculaire. Assurer un éclairage convenable (en donnant au miroir l'orientation la plus favorable).

b. Mise au point. — Très doucement, abaisser l'objectif jusqu'à ce que l'objet apparaisse, plus ou moins net, peu importe.

c. A ce moment, saisir la vis micrométrique ; la mouvoir doucement, jusqu'à ce que l'image soit très nette : la mise au point est faite, l'examen commence.

d. Dans la suite de l'examen, les deux mains seront constamment occupées : l'une demeure sur la vis micrométrique, de manière à fouiller en profondeur les plans successifs de l'objet examiné ; l'autre, portée sur les boutons moteurs de la platine, déplace la préparation en temps opportun.

e. L'examen terminé, relever l'objectif (vis à crémaillère) ; enlever la préparation ; nettoyer l'objectif.

Pour nettoyer l'objectif : capuchonner le doigt d'une toile fine, essuyer la lentille ; enlever le reste de l'huile de cèdre avec le même linge (ou une peau de chamois) imbibé d'une petite goutte de xylol.

Examen avec l'objectif à sec. — Employé seul, ce mode d'examen est utilisé surtout pour étude des microbes vivants. On prendra un objectif fort, 7 à 9 ; oculaire I ou III.

Examinés sans coloration, les microbes sont moins visibles qu'après coloration ; ils sont facilement noyés par la lumière, en tout cas ils tranchent peu sur le fond incolore. On fera bien de s'habituer en examinant des microbes mélangés à des corps facilement visibles, globules rouges par exemple.

Placer le miroir face concave en haut ; pas de condensateur.

a. Mettre en place la préparation. — Abaisser l'objectif et éclairer, comme ci-dessus ; diaphragmer si la lumière est trop intense.

C'est seulement par expérience qu'on apprendra à connaître quel degré d'éclairement est le plus favorable.

La distance indiquée, 2 millimètres, convient pour l'objectif 8 ou 9. Pour des grossissements moindres (parasites, etc.), on laisserait une distance plus grande, approximativement égale à la distance focale.

b, c, d. Comme ci-dessus.

Grossissement. — Mensurations.

Pour examiner utilement des microbes, il faut des grossissements de 500 à 1 200 diamètres. Quelques germes, comme le microbe de la

péripneumonie des bovidés (Nocard et Roux), demandent 2 000 diamètres.

Grossissement. — Le grossissement du microscope *dépend du grossissement des deux systèmes optiques, oculaire et objectif, et de la distance qui sépare les deux systèmes.*

a. On ne peut demander à l'oculaire qu'un grossissement modéré, car les oculaires trop puissants diminuent la clarté et la netteté.

b. Il en est de même de la distance entre l'objectif et l'oculaire, distance représentée par la longueur du tube : une longueur trop grande enlève clarté et netteté.

La distance optima est 160 millimètres. On l'obtient en tirant le cylindre supérieur (et interne) du tube jusqu'à la marque 160.

c. C'est à l'objectif qu'il appartient d'assurer la majeure partie du grossissement.

La valeur du grossissement, pour chaque objectif, avec toute la série des oculaires, l'écartement des deux systèmes étant de 160 millimètres, est indiquée par tous les fabricants pour leurs instruments respectifs. Les indications données par les marques connues n'ont pas besoin d'être vérifiées.

Voici, à titre d'exemple, la table des grossissements pour les appareils Stiassnie :

TABLE DES GROSSISSEMENTS.

Numéros des objectifs.	Oculaires.	
	I.	III.
2 (à sec).	34	66
7 —	345	621
9 —	690	1 242
1/12 (à immersion).	625	1 125
1/17 —	960	1 728

Mensuration des microbes. — Les dimensions des microbes, étant très réduites, sont exprimées en millièmes de millimètre, ou en μ (prononcer : *mu*). La mensuration exige l'emploi d'un oculaire micrométrique et d'un micromètre objectif.

L'*oculaire micrométrique* se compose d'un oculaire ordinaire, entre les deux lentilles duquel est intercallé un disque de verre portant une échelle graduée en *dixièmes de millimètre*.

Le *micromètre objectif* est constitué par une lame de verre portant une série rectiligne de traits espacés de *un centième de millimètre*.

a. Mettre l'oculaire micrométrique à la place des oculaires. Disposer le micromètre objectif sur la platine. Examiner, amener les deux échelles graduées au parallélisme, en tournant l'oculaire ; superposer les deux zéros, en déplaçant le micromètre objectif. Parcourir les deux échelles et noter les deux premiers traits qui se confondent.

Supposons que le trait 20 de l'oculaire corresponde au trait 5 de l'objectif; 20 divisions oculaires représentent, sur l'objectif-préparation, 50 μ (5 fois 1/100 de millimètre); 1 division oculaire $= \frac{50\ \mu}{20} = 2\ \mu, 5$.

b. L'objectif micrométrique est enlevé et remplacé par la préparation portant l'objet à mesurer. On constate que l'objet couvre N divisions de l'oculaire.

La longueur L de l'objet est $N \times 2\ \mu, 5$.
Si $N = 3$, en nous reportant à l'exemple précédent, nous aurons :

$$L = 2\ \mu, 5 \times 3 = 7\ \mu, 5.$$

Remarque. — *a*. En pratique, si les mensurations sont exceptionnelles, l'opération peut être faite en sens inverse : déterminer d'abord à combien de divisions oculaires correspond l'objet examiné; chercher ensuite, comme en *a* ci-dessus, la valeur d'une division oculaire.

b. Il est commode de déterminer une fois pour toutes la valeur d'une division oculaire pour chacun des objectifs forts. Un examen et une notation avec l'oculaire micrométrique, suivis d'une multiplication par les chiffres voulus, donnent rapidement les dimensions cherchées.

Entretien du microscope. — Le microscope est un instrument délicat, qui demande à être entretenu avec le plus grand soin.

A. Dans l'intervalle des examens, il sera mis à l'abri des poussières et des vapeurs du laboratoire et des rayons solaires. Dans ce but, on le replacera dans sa boîte ; sinon, il sera couvert d'une large compresse (protégeant objectifs et oculaires) et placé sous une cloche de verre.

B. Les objectifs constituent la partie la plus délicate, d'autant plus que leur puissance est plus grande.

a. Lorsque le champ du microscope est impur, présentant des grains de poussière, on déterminera d'abord si les poussières adhèrent à l'oculaire ou bien à l'objectif ; on fait tourner l'oculaire sur lui-même : si les images se déplacent en même temps, elles proviennent de l'oculaire; sinon, c'est l'objectif qui est sale. Dans ce dernier cas, on nettoiera la lentille extérieure de l'objectif avec un linge fin, comme il a été dit plus haut; si c'est insuffisant, on nettoiera avec un linge imbibé légèrement de xylol, ou d'alcool, puis de xylol. Avoir soin d'employer peu de xylol ; un excès pourrait dissoudre le ciment qui assujettit les lentilles.

b. Si ce nettoyage extérieur ne suffit pas, on adressera les objectifs au fabricant. Ne jamais démonter soi-même les objectifs puissants (obj. 6

à sec, et au delà ; obj. à immersion). On opérera de même si l'objectif est trouble.

On peut au contraire démonter sans danger les objectifs faibles.

c. Avoir soin de ne jamais laisser tremper les objectifs dans le liquide des préparations, surtout si ce liquide est caustique ou albumineux. Si l'accident se produit, nettoyer de suite, comme plus haut.

C. L'oculaire sera essuyé de temps à autre. S'il renferme des poussières (Voy. B, *a*), nettoyer soigneusement les faces extérieures des deux lentilles; si les poussières persistent, dévisser les lentilles, nettoyer les faces intérieures, remettre en place.

Le condensateur, le miroir, la platine seront nettoyés suivant les besoins, par les mêmes procédés.

On lubrifiera de temps à autre les organes de glissement (vis, tube à tirage) avec un peu d'huile de vaseline.

II. — ULTRA-MICROSCOPE.

On connaît le phénomène de Tyndall : lorsque, dans une pièce close, filtre un rayon de soleil, les poussières en suspension dans l'air deviennent visibles, alors qu'elles sont habituellement invisibles, elles deviennent visibles, parce qu'elles réfléchissent la lumière, alors que tout le reste est obscur.

Tout le principe de l'ultra-microscopie est là : dans l'examen ultra-microscopique, on éclaire l'objet, et on n'éclaire que lui ; tout ce qui est autour de l'objet, devant ou derrière lui, doit être obscur. C'est ce qu'on appelle habituellement « l'éclairage sur fond noir ».

On pratique l'examen ultra-microscopique avec les microscopes, objectifs et oculaires habituels, en leur adjoignant des dispositifs particuliers, qu'on peut appeler « appareils à fond noir ».

Ces appareils sont assez anciens, puisque les naturalistes les emploient depuis 1853. Mais, faute d'un éclairage suffisant, ils ne se prêtaient pas aux examens ultra-microscopiques ; c'est seulement dans ces dernières années que l'emploi de lampes très puissantes a permis leur utilisation en bactériologie, après les travaux de Siedentopf et Zsigmondy (1903), Cotton et Mouton, etc. D'autres travaux, en particulier ceux de Gastou, ont montré quel parti on pouvait tirer de l'ultra-microscope, spécialement dans le diagnostic de la syphilis.

Utilisation bactériologique. — L'ultra-microscope est surtout utilisé pour examiner à l'état frais des microbes invisibles (sans coloration) par les procédés habituels. Il est actuellement d'usage courant dans la recherche du Tréponème de la syphilis.

Dispositifs d'ultra-microscopie. — ***Appareils à fond noir.*** — C'est à ces appareils que, par abus de langage, on donne le nom d'ultra-microscopes. Leur but est d'éclairer exclusivement l'objet, en laissant le champ obscur.

Il faut pour cela réaliser l'*éclairage latéral* de l'objet (fig. 127). Les rayons lumineux, arrivant très obliquement sur l'objet, ne pénètrent pas dans l'objectif; l'objet réfléchit la lumière et, le champ étant obscur, devient visible.

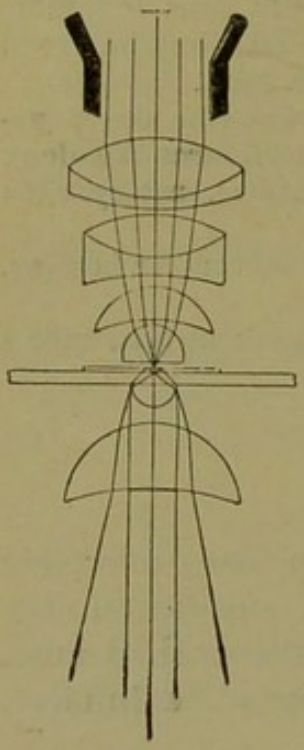


Fig. 127. — Marche des rayons dans l'ultra-microscope Stiassnie.

Chaque constructeur a son appareil. Citons le prisme parallélipédique oblique de Cotton et Mouton, la prisme parabolique de Zeiss, le condensateur sphérique de Leitz, le système lenticulaire de Stiassnie. Certains appareils se placent sous la platine du microscope, à la place du condensateur Abbé; les plus récents (Stiassnie, fig. 128; Leitz) sur la platine, ce qui est plus commode.

Diaphragme d'objectifs. — Malgré les perfectionnements, un certain nombre de rayons peuvent pénétrer dans l'objectif et éclairer le champ. Pour arrêter ces rayons égarés, on intercale au-dessus de la lentille frontale de l'objectif un diaphragme, en forme de petit abat-jour. Le diaphragme de Stiassnie peut être adapté aux objectifs ordinaires. D'autres (Leitz, Zeiss) construisent des objectifs avec diaphragme fixe.

Moyens d'éclairage. — **Source lumineuse**. — Elle doit être très puissante. On emploie communément la lampe électrique de Nernst; le bec à incandescence (fig. 128) avec réflecteur peut suffire.

Condensateur. — Indispensable pour obtenir le maximum d'éclairement.

a. Le condensateur est le plus souvent placé entre la lampe et le miroir : lentille condensatrice (Leitz), boule en verre remplie d'eau (Zeiss). Dans ce cas, le miroir doit être placé exactement au foyer optique de la lentille, qu'on détermine en cherchant avec une feuille de papier le point où se forme l'image des fils de la lampe; ce *repérage* est une petite difficulté.

b. Mieux vaut placer le condensateur ultra-microscopique à la place du condensateur Abbé, comme dans l'appareil Stiassnie.

Importance de certains accessoires. — Il faut des lames et des lamelles extrêmement propres, sans quoi elles produisent des images lumineuses; de l'huile de cèdre bien fluide et homogène. — Pour certains appareils (Zeiss), les lamelles doivent avoir une épaisseur déterminée.

Technique des examens ultra-microscopiques.

Il faut successivement : disposer régulièrement l'ensemble des appareils; centrer l'appareil à fond noir; préparer et mettre en place l'objet à examiner; mettre au point et examiner.

Disposition des appareils. — Adapter au microscope les

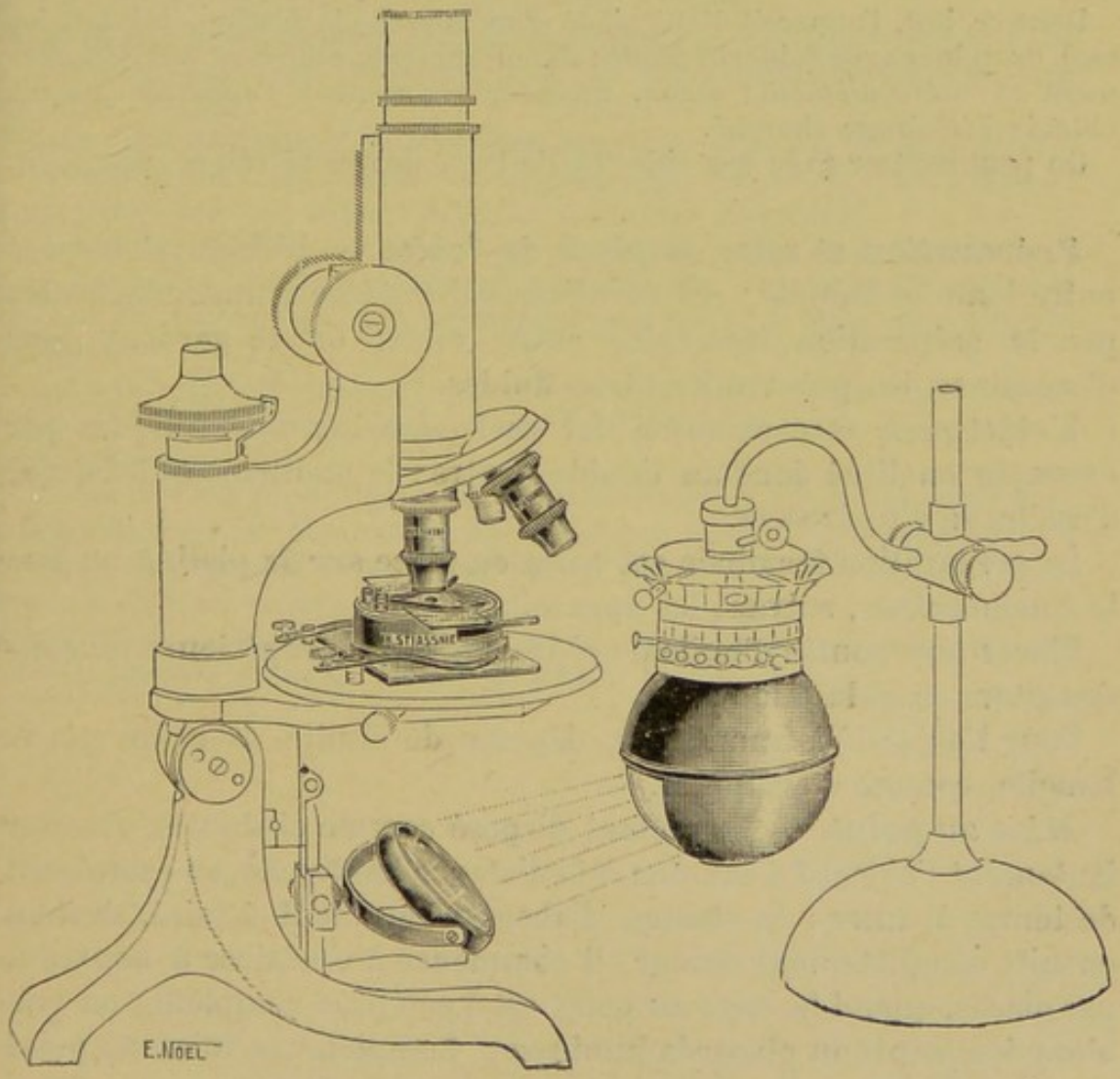


Fig. 128. — Ultra-microscope de Stiassnie.

objectifs voulus : toujours au moins un objectif faible (pour centrage) et un objectif fort (pour examen). Pour les examens, on peut employer soit l'objectif à immersion, soit les objectifs à sec 7, 8 ou 9.

Assurer l'éclairage. C'est très simple avec l'appareil Stiassnie : approcher la lampe du miroir. — Avec les appareils à lentille condensatrice, il faut effectuer une fois pour toutes le repérage

(Voy. ci-dessus) ; le mieux est d'utiliser un banc optique donnant la place de chaque pièce.

Donner au miroir l'inclinaison voulue. Mettre en place l'appareil à fond noir.

Centrage de l'appareil à fond noir. — Les appareils actuels portent à leur face supérieure un diaphragme central. Il faut amener ce diaphragme au centre de l'ouverture de la platine.

Dans ce but, l'appareil étant placé (sur ou sous la platine, suivant les cas), examiner avec l'objectif faible : s'assurer que le centre est éclairé nettement et uniformément ; sinon, déplacer légèrement l'appareil jusqu'à obtenir l'éclairage cherché.

On peut centrer avec des objectifs de force progressivement croissante.

Préparation et mise en place de l'objet. — L'objet est disposé entre lame et lamelle ; ces dernières doivent être tenues adhérentes par la préparation intercalée entre elles; on se gardera donc d'examiner des préparations trop fluides.

L'objet peut être examiné tel quel (sérosités syphilitiques par exemple) ou dilué dans un liquide neutre : le meilleur est le liquide d'ascite ou d'hydrocèle.

La préparation terminée est mise en place sur la platine ou sur le condensateur, suivant les appareils.

Placer une goutte d'huile de cèdre sur la face supérieure du condensateur (sous la lame).

Pour l'objectif à immersion, déposer de l'huile de cèdre sur la lamelle, comme d'ordinaire.

Mise au point. — Tout étant disposé comme ci-dessus, abaisser lentement l'objectif d'examen à la distance habituelle, en examinant de temps à autre : le champ, d'abord légèrement éclairé, devient ensuite complètement obscur ; il commence à s'éclairer à nouveau, par places, quand la mise au point est à peu près complète ; on voit alors des points ou placards lumineux. Compléter la mise au point et suivre l'examen en utilisant la vis micrométrique.

Aspect normal du champ ultra-microscopique. — Sur le fond noir, brillent des images lumineuses de formes diverses : taches, points, granulations, etc. Elles sont mobiles ou immobiles. Le verre (lames et lamelles) de mauvaise qualité provoque des images immobiles. Les liquides albumineux et les tissus présentent des granulations animées de mouvements browniens. Il faut s'habituer à cet aspect *normal*.

III. — LAMES ET LAMELLES.

On emploie les lames dites *porte-objets* et les lamelles dites *couvre-objets*; diamètre habituel des lamelles, 18×18 et 22×22 millimètres.

Les lames et lamelles pour examens microscopiques doivent être rigoureusement propres. Même neuves, lames et lamelles ne sont généralement pas propres. A plus forte raison faut-il nettoyer les lames ou lamelles qui ont servi, avant de les utiliser à nouveau.

Nettoyage des lames et lamelles neuves. — Essuyer avec un linge fin. Si cela ne suffit pas, humecter avec un linge imprégné d'alcool, puis essuyer.

Nettoyage des lames et lamelles usagées. — *a.* Au fur et à mesure des manipulations, les lames et lamelles qui ont servi aux examens seront jetées dans un vase renfermant de l'alcool dénaturé.

b. Au moment voulu, enlever lames et lamelles, égoutter rapidement; placer dans une terrine renfermant une solution de carbonate de soude (*cristaux* du commerce), approximativement 2 à 4 p. 100; faire bouillir 30 minutes.

c. Laisser refroidir, laver largement à l'eau propre; puis faire bouillir 30 minutes dans une solution d'acide chlorhydrique du commerce à 5 p. 100 environ.

d. Laver à l'eau propre, laisser égoutter. Pour les *lames* : essuyer avec un linge fin; sécher complètement; conserver à l'abri des poussières, à sec. Pour les *lamelles* : conserver dans l'alcool à 60° ou dans l'alcool-éther; essuyer au moment du besoin.

Observation. — Pour manier les lamelles, sans les casser : les tenir par les côtés, entre le pouce et l'index gauches.

CHAPITRE XV

EXAMEN MICROSCOPIQUE ET COLORATION DES MICROBES

On peut examiner au microscope les microbes des cultures ou ceux des produits pathologiques.

Cet examen peut être pratiqué : ou bien sans coloration, à l'état humide (à l'état frais) ; ou bien après action des colorants, à l'état humide, à l'état sec ou dans les coupes.

La coloration des microbes sur coupes est étudiée chapitre XVI.

I. — EXAMEN SANS COLORATION A L'ÉTAT HUMIDE.

Ce mode d'examen est surtout indiqué pour apprécier la forme et la disposition réciproque des microbes, de même que leur degré et leur mode de motilité.

Examen des microbes en cultures. — **1° Cultures liquides.** — Préparer une lame et une lamelle très propres.

Avec le fil de platine à anse, prélever aseptiquement une anse de culture ; la disposer sur la lame.

Laisser tomber doucement la lamelle sur la goutte de liquide. Le liquide s'étale en couche très mince entre la lame et la lamelle. Elles doivent adhérer l'une à l'autre par simple capillarité. On évitera l'interposition de grosses bulles d'air.

Examiner avec un objectif à sec, 7 à 9 (p. 224).

Si l'examen doit être prolongé quelque temps, on peut prévenir l'évaporation en lutant à la paraffine : chauffer la pointe d'une tige métallique mince, la plonger dans un bloc de paraffine, la porter rapidement sur un angle de la lamelle ; prélever à nouveau la paraffine, luter progressivement les quatre bords.

Si l'examen doit être très long, utiliser les cellules (p. 161). S'il est nécessaire de maintenir les préparations à température constante, on s'adressera aux platines chauffantes (p. 162).

2° Cultures solides. — Préparer une lame et une lamelle comme ci-dessus. Placer sur la lame une petite goutte d'eau physiologique.

Avec l'extrémité du fil de platine droit, détacher aseptiquement une parcelle de culture. Diluer cette parcelle dans la goutte d'eau.

Opérer ensuite comme ci-dessus.

Cette petite opération est plus délicate que la précédente ; les débutants prélèvent à peu près invariablement une quantité de culture beaucoup trop considérable.

Il faut arriver à obtenir un liquide à peine trouble.

Examen des produits pathologiques. — La technique varie suivant les cas; nous y reviendrons à propos de la technique spéciale (Voy. en particulier *Syphilis*, *Trypanosomes*).

II. — COLORANTS ET SOLUTIONS COLORANTES.

Avant d'étudier l'examen après coloration, il faut faire connaître les colorants et solutions colorantes à employer.

Colorants. — Depuis Ehrlich, on reconnaît, parmi les matières colorantes artificielles, deux groupes: couleurs basiques et couleurs acides.

Les *couleurs basiques* sont ainsi appelées parce que, dans leur constitution, entre une base colorante combinée à un acide non colorant. Elles présentent une affinité élective pour les noyaux.

Les microbes, dont le protoplasma n'est qu'un noyau diffus, sont colorés d'une manière élective par les couleurs basiques.

En pratique, les colorations des microbes sont effectuées exclusivement avec les couleurs basiques.

Les plus importantes d'entre elles sont :

Bleus.	Rouges.	Violets.
Bleu de méthylène,	Fuchsine (ou rubine).	Violet de gentiane.
Bleu de toluidine.	Safranine.	Kristall-violet.
Bleu-azur.	Rouge neutre.	Violet-dahlia.
		Thionine (viol. de Lauth).

Verts.	Bruns.
Vert brillant.	Vésuvine (brun de Bismarck).
Vert de méthyle.	Etc.
Vert-malachite.	

Il faut connaître, en outre, les *couleurs acides*, formées d'un acide colorant combiné à une base incolore. Elles n'ont d'affinité spéciale pour aucun tissu ; elles colorent uniformément les microbes et les noyaux ou le protoplasma cellulaires.

Les principales d'entre elles sont :

L'éosine ;
L'aurantia ;
La fuchsine acide.

Renforcement du pouvoir colorant. — L'action de tous les colorants peut être renforcée :

1° Par la chaleur ; 2° par l'adjonction aux solutions colorantes de certaines substances déterminées empiriquement, et qu'on appelle *mordants*.

Fig. 129. — Flacon compte-gouttes.

Le mordant le plus couramment utilisé est l'acide phénique ; pour certains cas particuliers, le tanin, l'iode, l'aniline, la potasse, etc.

Solutions colorantes. — Il est inutile de multiplier le nombre des solutions colorantes. Mieux vaut se servir constamment de quelques bonnes solutions et apprendre à les bien connaître.

Pour l'usage courant nous recommandons les solutions suivantes.

Solutions hydro-alcooliques phéniquées. — En solution hydro-alcoolique, la plupart des colorants se conservent bien, à condition d'être protégés contre l'évaporation. On les conservera en flacons bien bouchés. Pour l'usage journalier, les flacons compte-gouttes, bouchés à l'émeri (fig. 129, à gauche), sont très commodes.

Fuchsine phéniquée (liquide de Ziehl).

Fuchsine	1 gramme.
Acide phénique neigeux	5 —
Alcool absolu	10 cent. cubes.
Eau distillée	100 —

Triturer dans un mortier la fuchsine et l'alcool ; ajouter l'acide phénique, triturer ; en continuant à mélanger, ajouter petit à petit les deux tiers de l'eau ; verser dans un flacon, rincer le mortier avec le dernier tiers de l'eau, verser l'eau du rinçage dans le même flacon. Attendre vingt-quatre heures ; filtrer ; recueillir en flacon bouché à l'émeri.

Violet de gentiane phéniqué.

Violet de gentiane	1 gramme.
Acide phénique neigeux	2 grammes.
Alcool absolu	10 cent. cubes.
Eau distillée	100 —

Préparer comme la fuchsine phéniquée.

Kristall-violet phéniqué.

On préparerait de même le kristall-violet phéniqué, un peu moins stable que le violet de gentiane.

Thionine phéniquée (M. Nicolle).

Solution saturée de thionine dans l'alcool à 50°.	10 cent. cubes.
Eau phéniquée à 1 p. 100.....	100 —

La thionine, peu soluble dans l'alcool fort, doit être dissoute dans l'alcool à 50°.

Si l'on n'avait pas à sa disposition de thionine de bonne qualité, on pourrait la remplacer par le *bleu de toluidine phéniqué.*

Bleu de toluidine.....	1 gramme.
Acide phénique neigeux.....	4 grammes,
Alcool absolu.....	20 cent. cubes.
Eau distillée.....	200 —

Préparer comme la fuchsine phéniquée.

Bleu de méthylène phéniqué (bleu de Kühne).

Bleu de méthylène.....	2 grammes.
Acide phénique neigeux.....	2 —
Alcool absolu.....	10 cent. cubes.
Eau distillée.....	100 —

Préparer comme la fuchsine phéniquée.

Solutions aqueuses. — La seule solution aqueuse d'usage courant est la *solution d'éosine*:

Éosine (à l'eau).....	1 gramme.
Eau distillée..... .	500 cent. cubes.

La plupart des autres colorants peuvent être utilisés éventuellement sous la même forme : rouge neutre, vésuvine, etc.; le titre de la solution varie suivant les circonstances.

III. — COLORATION A L'ÉTAT FRAIS.

Cette méthode permet d'étudier plus facilement les microbes vivants, grâce à la coloration, qui les teinte sans les tuer.

Il faut employer des solutions colorantes faibles; les solutions aqueuses sont généralement préférables.

Sont utilisables : le vert de méthyle, la fuchsine, le rouge neutre, etc.

Technique. — A. Porter sur lame une goutte de culture.

A côté de la culture, placer une goutte de solution colorante. Mélanger.

Couvrir d'une lamelle et examiner.

B. Autre technique : placer la culture entre lame et lamelle, comme ci-dessus. Porter sur la lame, au contact d'un bord de la lamelle, une trace de solution colorante (moins diluée que dans le cas précédent).

Examiner.

Dans les deux cas, le mélange doit être presque incolore à l'œil nu. Au microscope, les microbes apparaissent colorés sur fond clair.

Le procédé est délicat et ne réussit pas pour tous les microbes.

IV. — COLORATION A L'ÉTAT SEC, SUR LAMES.

La très grande généralité des microbes peuvent et doivent être étudiés à l'aide de deux méthodes :

1° Coloration simple ;

2° Coloration par la méthode de Gram.

Dans certains cas, il faut avoir recours à des méthodes spéciales.

La coloration des capsules, des spores et des cils demande également des méthodes particulières.

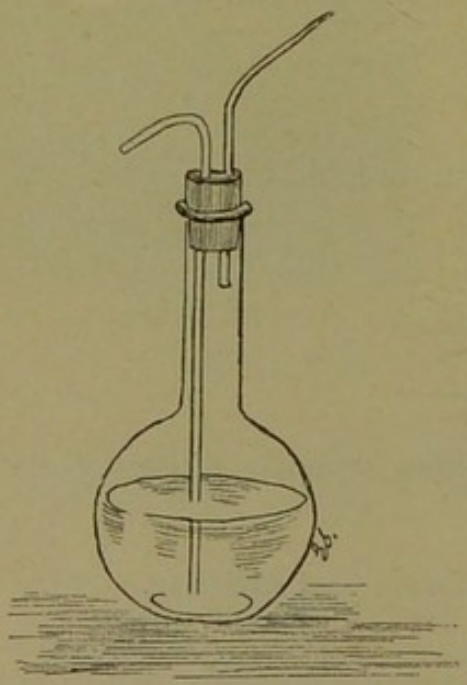


Fig. 130. — Pissette à eau.

Outillage nécessaire. — Il faut avoir à portée de la main :

Les solutions colorantes, en flacons compte-gouttes ;

Divers réactifs (alcool absolu, alcool-éther, solution iodo-iodurée, etc.) ;

Huile de cèdre ;

Lames et lamelles, propres ;

Pipettes et fils de platine ;

Pissette à eau (fig. 130) ;

Cristallisoir, pour les liquides de lavage ;

Compresses, papier-filtre ;

Une flamme chauffante, d'ordinaire bec Bunsen à veilleuse.

Coloration simple.

Choix du colorant. — Pour les colorations simples, on a presque toujours intérêt à colorer par la thionine phéniquée, qui est le colorant microbien le plus électif. A défaut, on peut employer le bleu de toluidine ou le bleu de méthylène phéniqués.

Ces colorants, qui sont très électifs et qui ne surcolorent pas, sont indispensables pour les frottis, où les microbes sont mélangés aux éléments cellulaires et aux débris de tissus.

Exceptionnellement, pour des microbes difficiles à colorer, il est préférable d'employer la fuchsine phéniquée, diluée au 10e dans l'eau.

Coloration des microbes en cultures. — 1° **Méthode directe.** — La méthode directe est applicable avec tous les colorants et à tous les microbes.

a. *Étalement.* — A l'aide du fil de platine, porter sur une lame une anse de culture en milieu liquide, ou une émulsion de culture sur milieu solide, comme il a été indiqué ci-dessus (p. 232). Étaler en couche mince, régulière.

b. *Dessiccation.* — Sécher. Pour hâter la dessiccation, chauffer légèrement à quelque distance au-dessus de la veilleuse; agiter constamment le liquide avec le fil de platine jusqu'à dessiccation complète, pour éviter la formation de cercles concentriques.

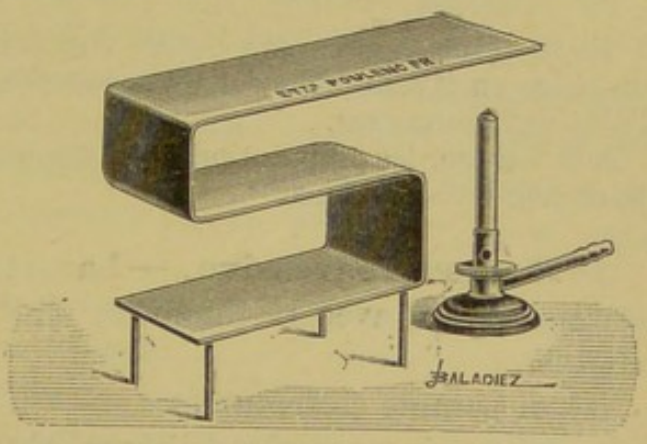


Fig. 131. — Platine chauffante.

Pendant cette opération, chauffer avec prudence pour ne pas déformer les microbes : la température de la lame doit demeurer supportable au contact de la face dorsale des doigts.

On peut également sécher sur la platine chauffante (fig. 131).

c. *Fixation.* — α. Habituellement on fixe *par la chaleur.*

La lame étant tenue par une extrémité, la passer trois fois dans la flamme, face enduite en haut, à vitesse modérée, « comme en coupant du pain ».

Ce temps, sans être délicat, demande un peu d'habitude.

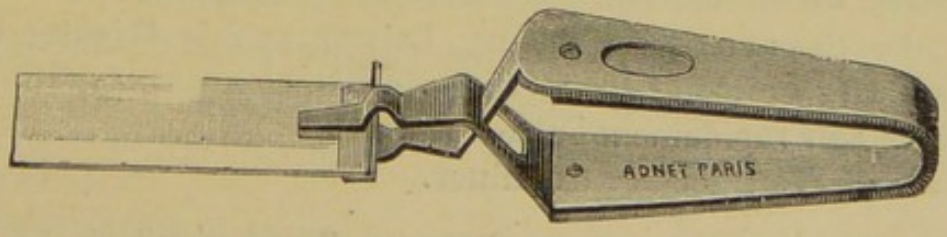


Fig. 132. — Pince de Debrandt.

Pour cette opération et pour les suivantes, on s'exercera à tenir les lames à la main. Sinon on utilisera la pince de Debrandt (fig. 132).

β. On peut fixer par l'*alcool-éther* : parties égales d'alcool absolu et d'éther rectifié. Faire tomber sur la préparation quelques gouttes d'alcool-éther ; laisser évaporer.

d. *Coloration.* — Verser sur la préparation la quantité de thionine phéniquée nécessaire pour couvrir complètement ; laisser agir une demi-minute à une minute. Égoutter le colorant.

Laver rapidement à l'eau avec la pissette.

Sécher. Éponger l'excès d'eau entre deux feuilles de papier-filtre. Compléter la dessiccation comme au temps *b*.

e. *Examen.* — Mettre sur la préparation une goutte d'huile de cèdre. Examiner avec l'objectif à immersion.

Si la préparation doit être conservée, étiqueter. Enlever l'huile de cèdre en lavant au xylol. Conserver dans une boîte à préparations, à l'abri des poussières.

A la longue, les préparations à la thionine se décolorent plus ou moins ; la fuchsine tient mieux.

2° **Méthode régressive.** — La méthode régressive est applicable exclusivement avec la thionine ; elle donne des préparations très claires.

a à *d*. Comme ci-dessus.

e. Faire agir rapidement l'alcool absolu. Laver à l'eau, etc.

Coloration des microbes sur frottis. — La méthode régressive est presque toujours préférable.

a. *Étalement.* — Pour les pulpes d'organes (foie, rate, etc.) : disposer un fragment d'organe sur une lame ; avec une autre lame, écraser et étaler. Pour les produits pathologiques, voir *Analyses du pus, du sang*, etc.

b. *Dessiccation :* Comme ci-dessus.

c. *Fixation.* — Fixer de préférence par l'alcool-éther ou l'alcool absolu, en ayant soin de s'assurer si ce dernier est réellement absolu (Voy. p. 249). La chaleur, altérant beaucoup les éléments cellulaires, est ici inférieure aux fixateurs précédents.

d. *Coloration :* comme ci-dessus. Laisser agir la thionine une à deux minutes, suivant l'épaisseur du frottis.

e. Faire agir rapidement l'alcool absolu.

f. Laver à l'eau, sécher, examiner.

Variantes. — 1° On peut examiner sous l'eau, entre lame et lamelle, ce qui permet parfois de mieux saisir certains détails de morphologie.

Opérer comme ci-dessus, *a* à *d* ; à la fin du temps *d*, laisser sur la préparation une goutte d'eau.

e. Poser sur la goutte d'eau une lamelle, enlever soigneusement l'excès d'eau qui peut déborder de la lamelle (avec du papier-filtre).

f. Mettre sur la lamelle de l'huile de cèdre. Examiner à l'immersion.

2° Certains auteurs, de plus en plus rares, préfèrent colorer sur lamelle. Le procédé est plus délicat et sans avantage.

Saisir la lamelle avec une pince Cornet ou une pince Debrandt. Opérer ensuite comme ci-dessus. Au temps *e*, déposer sur une lame une goutte de baume du Canada ; renverser la lamelle sur le baume ; appuyer légèrement. Déposer une goutte d'huile de cèdre sur la lamelle, examiner.

Coloration par la méthode de Gram.

Indications. — Employée dans un but de diagnostic, elle doit être appliquée invariablement à tout microbe dont on fait l'étude.

Principe. — L'action successive des dérivés basiques de la pararosaniline (on emploie généralement le violet phéniqué) et de la solution iodo-iodurée détermine la formation d'un composé iodé, qui se fixe très énergiquement sur certaines bactéries et ne se fixe pas sur d'autres bactéries, ni sur les tissus. Un lavage ultérieur par un dissolvant approprié ne décolore pas les premières, alors qu'il décolore les seconds.

Coloration des microbes en culture. — *Procédé de choix.* — *a* à *c*, comme pour la coloration simple.

d. Verser sur la préparation la quantité de violet phéniqué (violet de gentiane ou kristal-violet) nécessaire pour couvrir complètement ; laisser agir quinze secondes.

e. Égoutter le colorant. Sans laver, verser quelques gouttes de solution iodo-iodurée forte. Laisser six à huit secondes. Égoutter la solution, reverser une nouvelle quantité, laisser le même temps.

Solution iodo-iodurée forte (Nicolle) ;

Iode	1 gramme.
Iodure de potassium	2 grammes.
Eau distillée	200 —

Dissoudre l'iodure de potassium dans quelques centimètres cubes d'eau ; ajouter l'iode, dissoudre ; ajouter peu à peu le reste de l'eau.

f. Égoutter. Sans laver, en inclinant légèrement la lame, verser goutte à goutte l'alcool absolu ; ce dernier se colore en violet. Continuer le lavage pendant quelques secondes, jusqu'à ce que l'alcool passe incolore.

Ce dernier temps, lavage à l'alcool, est le seul un peu délicat. Il demande un peu d'habitude.

g. A ce moment, *la réaction de Gram est terminée.* Il est presque toujours indiqué de recolorer.

Dans ce but on fait agir pendant cinq à huit secondes la sol tion suivante :

Liquide de Ziehl	1 partie.
Eau distillée	100 parties.

h. Laver. Sécher. Examiner.

Remarques. — Le temps *g* n'est pas indispensable quand on est sûr d'avoir affaire à une culture pure.

En tout autre cas, la recoloration doit être pratiquée.

On peut substituer à la fuchsine un autre colorant de fond, faisant contraste avec le violet (éosine aqueuse, safranine, etc.).

La durée indiquée pour chacun des temps est une moyenne. Certains microbes (Staphylocoque) se colorent et fixent très vite ; d'autres (Bacille de Lœffler) plus lentement. Une erreur assez commune chez les débutants consiste à vouloir opérer trop vite, ce qui peut fausser les résultats.

Certains microbes, difficilement colorables, prennent le Gram à condition de prolonger l'action des réactifs (Voy. p. 655, *Méthode de Much*).

Résultats. — Après application de la technique ci-dessus, certains microbes restent colorés en violet foncé ; on dit qu'*ils prennent le Gram*, qu'*ils restent colorés par la méthode de Gram.*

D'autres microbes ne gardent pas la couleur violet foncé ; si on a pratiqué la recoloration (temps *g*), ils sont colorés en rouge. On dit qu'*ils ne prennent pas le Gram*, qu'*ils se décolorent par la méthode de Gram.*

Prennent le Gram :

Staphylocoque.	Pneumocoque.	Vibrion septique.
Streptocoque.	Bacille diphtérique.	Bacille du tétanos.
Entérocoque.	Bactéridie charbonneuse.	Etc.

Ne prennent pas le Gram :

Gonocoque.	Bacilles paratyphiques.	Bacille dysentérique.
Méningocoque.	Colibacille.	Vibrion cholérique.
Bacille typhique.	Bacille de la peste.	Etc.

Variantes. — 1° La *méthode primitive de Gram* comportait une coloration par le violet aniliné pendant cinq minutes ; puis action de la solution de Lugol :

Iode	1 gramme.
Iodure de potassium	2 grammes.
Eau	300 cent. cubes.

Enfin décoloration par l'alcool.

2° *M. Nicolle* recommande, comme décolorant, la solution suivante, d'action moins brutale que l'alcool absolu :

Alcool absolu.....	5 parties.
Acétone.....	1 partie.

Coloration des microbes sur frottis. — Dans les frottis, les microbes se trouvent généralement englobés dans une substance albuminoïde qui met obstacle à l'action des réactifs ; aussi faut-il laisser agir ces derniers un peu plus longtemps.

De plus, il est toujours indispensable de recolorer le fond de la préparation par une couleur faisant contraste, tant pour apprécier les rapports des microbes avec les cellules que pour permettre de déceler à la fois les microbes qui prennent le Gram et ceux qui ne le prennent pas.

Technique. — *a*, *b*, *c*. Comme ci-dessus.

d. Faire agir le violet phéniqué vingt secondes.

e. Égoutter le colorant. Sans laver, verser quelques gouttes de solution iodo-iodurée forte. Laisser dix secondes. Égoutter, reverser de la solution ; laisser à nouveau dix secondes.

f. Egoutter. Sans laver, décolorer par l'alcool absolu, en versant goutte à goutte jusqu'à ce que ce dernier passe incolore.

Le fond de la préparation ne doit pas garder de teinte violacée.

g. Comme dans l'opération précédente.

Méthode de Claudius. — Les agents de différenciation et de décoloration ne sont pas les mêmes que pour la méthode de Gram, mais les résultats obtenus sont identiques, et la technique n'est pas simplifiée ; aussi la méthode de Claudius n'a-t-elle pas détrôné celle de Gram.

a. Colorer au violet de méthyle (solution aqueuse à 1 p. 100), une minute.

b. Laver à l'eau, étancher au papier-filtre ; faire agir une minute la solution picriquée :

Acide picrique (solution saturée).....	1 partie.
Eau distillée.....	1 —

c. Sécher au papier-filtre. Porter dans un vase clos renfermant du chloroforme ; laisser tant que la décoloration se poursuit.

d. Sécher, monter au baume du Canada.

Méthodes spéciales.

Coloration des bacilles acido-résistants. — *Méthode d'Ehrlich.* — Certains microbes, bacilles de la lèpre, de la tuberculose, etc., *se colorent difficilement par les couleurs d'aniline ; mais, une fois colorés, ils retiennent énergiquement la couleur.*

C'est sur ce principe général, posé par Ehrlich, qu'est basée la

coloration élective de ces microbes. On colore très fortement (à chaud, ou pendant longtemps) à l'aide d'une couleur basique : liquide de Ziehl, violet phéniqué, etc. ; on décolore ensuite avec un agent énergique : acide sulfurique ou azotique dilués, acides organiques, chlorhydrate d'aniline, etc. Dans ces conditions, seuls restent colorés les Bacilles dits acido-résistants.

Les détails de la méthode seront exposés page 654.

Coloration par l'éosine bleu. — Romanowsky a montré qu'en mélangeant en proportions déterminées des solutions d'éosine (à l'eau) et de bleu de méthylène, on obtient un colorant réellement nouveau : le mélange présente les affinités tinctoriales de l'éosine d'une part, du bleu d'autre part, et il colore en outre d'une teinte particulière, gris bleuté, certains éléments parasitaires (entre autres l'hématozoaire du paludisme).

Les détails de la méthode, telle qu'elle est appliquée actuellement (procédés de Laveran, de Giemsa, etc.) seront exposés page 789.

Coloration des capsules.

Divers microbes, Pneumocoque, Pneumobacille, sont entourés d'une zone claire, réfringente, ou capsule.

La capsule est visible à l'état frais, sans coloration.

Un peu réfractaire aux colorants, elle est mise en évidence par application des procédés habituels de coloration, quand le fond de la préparation est albumineux (milieux albumineux, frottis) ; la capsule apparaît alors *incolore* (*capsules négatives*) sur un fond coloré.

On peut, d'autre part, colorer les capsules par divers procédés.

1° **Procédé de choix**. — Préparer les lames comme d'ordinaire.

a. Colorer par la fuchsine phéniquée, une à deux minutes ; laver.

b. Porter vingt à quarante secondes dans une solution d'acide acétique à 1 p. 100.

c. Laver, sécher ; huile de cèdre.

Les microbes sont rouge vif ; les capsules, rosées.

2° On peut se contenter (Nicolle et Remlinger) de colorer par le violet phéniqué pendant quatre à six secondes et de faire agir ensuite rapidement l'alcool-acétone au tiers. — Microbes, violet foncé ; capsules, violet pâle.

3° **Procédé de Ribbert.** — On incorpore à la solution colorante un agent de décoloration (acide acétique) :

Eau distillée.....	100 parties.
Acide acétique.....	1

Alcool absolu..... 50
Violet-dahlia..... A saturation, à chaud.

Colorer rapidement (quelques secondes).

4° Pour les microbes capsulés *prenant le Gram*, on peut utiliser l'un des procédés suivants :

Procédé de Rosenow. — 1° Plonger la lame dans une solution de tanin de 5 à 10 p. 100, dix à vingt secondes.

2° Laver, colorer au violet de gentiane, à chaud, une minute.

3° Laver, faire agir le liquide de Gram, trente secondes.

4° Décolorer par l'alcool à 95°.

5° Recolorer par l'éosine en solution alcoolique saturée, laver.

Le Pneumocoque est brun sombre ; la capsule, rouge.

Procédé de Wadsworth. — Analogue au précédent.

Fixer au formol, deux à cinq minutes. Colorer deux minutes au violet aniliné (p. 656). Traiter deux minutes par le liquide de Gram. Décolorer par l'alcool à 95°. Recolorer par la fuchsine en solution aqueuse.

Coloration des spores.

Les spores, très réfringentes, sont visibles sans coloration.

Sur les préparations colorées par les méthodes courantes, elles demeurent *incolores* et tranchent sur les corps microbiens, colorés.

Elles sont difficiles à colorer ; mais, une fois colorées, elles résistent fortement à la décoloration. Comme la difficulté de coloration est due à la résistance de la membrane d'enveloppe, on doit forcer au préalable cette dernière par un artifice quelconque ; on emploie, dans ce but, la chaleur ou les agents chimiques.

La résistance aux agents décolorants permet d'obtenir une double coloration. Il faut toujours avoir recours à cette dernière, qui met en évidence les caractères nécessaires pour différencier les spores des formes d'involution ou de dégénérescence.

Les procédés de décoloration employés sont les mêmes que pour les bacilles acido-résistants.

Procédé de Mœller. — *Procédé de choix.*

a. Préparer les lames comme d'habitude ; fixer à l'alcool absolu.

b. Plonger pendant cinq minutes dans une solution aqueuse d'acide chromique à 5 p. 100. Laver.

c. Colorer à la fuchsine phéniquée, soit à chaud, pendant cinq à dix minutes vers 60° ; soit à froid, pendant cinq heures.

d. Décolorer par l'aniline chlorhydrique à 2 p. 100 (Voy. p. 655) ; compléter la décoloration par l'alcool absolu, laver ;

e. Recolorer par le bleu de Kühne dilué à 1 p. 3.

Les spores sont rouges ; les corps bactériens sont bleus.

Variantes. — 1° Au temps *d*, on peut sans inconvénient employer comme décolorant soit l'acide sulfurique à 4 ou 5 p. 100 (formule primitive du procédé Mœller), soit l'acide nitrique à 10 ou 20 p. 100. L'alcool absolu suffit pour quelques espèces.

2° On peut substituer à l'acide chromique (temps *b*) d'autres agents chimiques. Pour toutes les méthodes suivantes, les autres temps comme ci-dessus, sauf indication contraire.

Procédé d'Aryesky. — Acide chlorhydrique à 0,5 p. 100, à chaud.

Procédé de Thesing. — Chlorure de platine à 1 p. 100, à chaud.

Procédé d'Orszag :

Salicylate de soude, solution à 0,5 p. 100....	4 parties.
Acide acétique, solution à 5 p. 100.....	1 partie.

Placer une goutte du mélange sur la lame ; y ajouter la culture, délayer, sécher, fixer. Le reste comme plus haut.

3° L'*action de la chaleur* suffit à rendre les spores colorables : traiter par la chaleur humide (autoclave) à 120° pendant une heure (Buchner) ; ou, plus simplement, par la chaleur sèche, en passant dix fois de suite dans la flamme de Bunsen (Hüeppe). Colorer ensuite au violet.

La chaleur, poussée à ce degré, altère sensiblement les corps microbiens, qui se colorent moins que les spores. Le procédé est défectueux.

Coloration des cils.

Les cils de certaines grosses bactéries (sulfo-bactéries) sont visibles à l'examen direct. Au contraire, les cils des espèces pathogènes ne sont visibles qu'après coloration. Ceux du Vibrion cholérique et de quelques espèces voisines peuvent être teintés par une méthode simple ; dans tous les autres cas, il faut s'adresser à des méthodes spéciales.

Méthode simple. — Procédé de Straus. — Le procédé de Straus est applicable *exclusivement aux Vibrions* : Vibrion cholérique, *Vibrio Metchnikovi*, Vibrion de Finkler et Prior. Il ne réussit pas à colorer les cils d'autres espèces, Colibacille, bacille typhique, etc.

Porter sur lame une goutte de culture jeune en bouillon. Ajouter une goutte de fuchsine phéniquée, diluée au cinquième ; mélanger. Couvrir d'une lamelle. Examiner à l'immersion.

Quand la préparation est réussie, on voit les cils faiblement teintés en rose.

Méthodes spéciales. — Sauf le cas précédent, les cils ne peuvent être colorés qu'après mordançage énergique ; toutes les substances organiques de la préparation se colorent en même temps.

Aussi faut-il éliminer autant que possible tout ce qui n'est pas le corps microbien.

Il est prudent d'opérer comme suit :

1° Prélever la surface de cultures jeunes (douze heures au plus) sur gélose, sans entamer le milieu ; diluer dans l'eau de conduite filtrée, en quantité telle que l'émulsion soit *à peine* opalescente.

2° Si l'on a le temps, il vaut mieux émulsionner la culture dans le formol à 3 ou 4 p. 100 ; laisser les microbes se déposer au fond ; décanter, émulsionner le dépôt dans le formol à 1 p. 100 ; laisser déposer, émulsionner le dépôt dans l'eau de conduite, étaler sur lames.

3° On peut saisir la lame à l'un des angles (toujours le même) de l'extrémité libre, ou se servir d'une pince Debrandt: en tout cas, la maintenir inclinée, de manière que les réactifs ne puissent baigner les doigts ou la pince. Éviter surtout que les réactifs ne viennent lécher les doigts (riches en matière organique).

4° Employer des lames d'une rigoureuse propreté ; au besoin, laver à l'acide chlorhydrique, puis rincer à l'eau distillée fraîche ; conserver dans l'alcool ou l'alcool-éther. Au dernier moment, il est bon de les passer une vingtaine de fois dans la partie la plus chauffante du bec Bunsen. Laisser refroidir complètement.

5° Répartir sur la lame des gouttelettes extrêmement fines de l'émulsion, bien séparées ; laisser sécher à la température ambiante, à l'abri des poussières. Si la lame est bien propre, les gouttelettes s'étalent régulièrement.

La fixation peut altérer un peu les cils. On peut ne pas fixer, mais il faudra alors être prudent dans les manipulations ultérieures : les lavages seront effectués très légèrement.

Procédé de Van Ermengem. — Ce procédé donne des résultats réguliers. Il est basé sur la réduction du nitrate d'argent fixé au préalable sur les cils.

a. Plonger la lame pendant trente minutes à froid ou cinq minutes à 60° dans le *bain fixateur* :

Acide osmique à 2 p. 100.....	33 centimètres cubes.
Tanin à 20 p. 100..... ...	66 — —
Acide acétique.....	IV ou V gouttes.

b. Laver soigneusement à l'eau distillée, puis à l'alcool.

c. Faire agir pendant quinze à trente secondes le *sensibilisateur* : solution de nitrate d'argent à 0,5 ou 1 p. 100.

d. Sans laver, plonger une à deux minutes dans le *bain réducteur* :

Acide gallique.....	5 grammes.
Tanin.....	3 —
Acétate de soude fondu.....	10 —
Eau distillée.....	350 centimètres cubes.

e. Plonger dans le bain de nitrate d'argent, jusqu'à ce que le bain noircisse.

f. Laver, sécher, examiner.

Si la coloration n'est pas suffisante, traiter à nouveau d'abord par le réducteur, puis par le sensibilisateur.

Variantes. — **Procédé de Stephens.** — Identique au Van Ermengem, sauf substitution au nitrate d'argent de la largine à 2 p. 100.

Procédé de Zettnov. — *Procédé recommandé.* — Ce procédé, assez long, donne de très belles préparations.

A. *Mordant.* — Il faut dissoudre :

I. 1 gramme de tartre stibié dans 15 centimètres cubes d'eau.

II. 5 grammes de tanin dans 100 centimètres cubes d'eau.

A la solution II tiédie vers 40°, on ajoute peu à peu de la solution I, jusqu'à ce que le précipité qui se forme ne se dissolve plus. Filtrer ensuite sur papier. Le mordant doit être opalescent à froid et transparent à chaud. Il se conserve plusieurs semaines.

B. *Oxyde d'argent.* — Dans 30 centimètres cubes d'eau, faire dissoudre 5 grammes de nitrate d'argent, puis 5 grammes de sulfate de magnésie cristallisé; il se forme un précipité de sulfate d'argent. Laisser reposer trente minutes; décanter, laver trois fois de suite avec 20 centimètres cubes d'eau distillée. On verse alors le précipité dans un flacon opaque, avec 0l,50 d'eau distillée ; on agite très souvent pendant une heure. Ainsi est obtenue une solution saturée de sulfate d'argent; le sel en excès se dépose. Conserver la solution à l'obscurité.

Au moment de l'emploi, prélever la quantité voulue de la solution argentique ; additionner de moitié d'eau ; ajouter goutte à goutte d'une solution aqueuse à 10-30 p. 100 d'éthylamine, jusqu'à ce que le précipité d'oxyde d'argent qui s'est formé se redissolve dans un excès d'éthylamine. — Ajouter alors goutte à goutte de la solution de sulfate d'argent, arrêter au moment où le précipité formé hésite à se redissoudre instantanément.

C. *Renforçateur.* — Chlorure d'or, solution à 1 p. 2000.

D. *Réducteur.* — Comprend deux solutions :

a. Pyrogallol	1 gr.
Alcool	20 cc.
Acide acétique	II gouttes.

b. Soude cristallisée, solution aqueuse à 2 p. 100.

Technique. — 1° Les préparations, fixées par la chaleur après le traitement indiqué ci-dessus (*Méthodes spéciales*, 2°), sont mordancées dans la solution A, pendant dix minutes à 60°-70°; ou, ce qui vaut mieux, on les place dans la solution à 70° et on les y abandonne jusqu'à refroidissement. Laver à l'eau.

2° On traite ensuite par la solution d'oxyde d'argent, une demi-minute à une minute, en chauffant légèrement. Laver rapidement.

3° Faire agir le chlorure d'or, une à deux minutes. Laver.

4° Pour réduire, verser sur la lame deux gouttes de la solution *a* et six gouttes de la solution *b* ; chauffer, laisser une minute. Répéter une deuxième fois la même opération. Laver, sécher, etc.

Procédé de M. Nicolle et Morax. — *Procédé recommandé.* —

Ce procédé est une simplification du procédé de Lœffler. Lœffler ajoutait à son mordant une solution alcaline ou une solution acide, suivant les microbes. Cette addition est inutile.

a. Préparer l'*encre de fuchsine* de Lœffler :

Tanin, solution aqueuse à 20 p. 80.	10 centimètres cubes.
Sulfate ferreux, solution aqueuse saturée à froid.....	5 — —
Fuchsine, solution saturée dans l'alcool absolu.....	1 centimètre cube.

b. Verser sur la préparation une grosse goutte d'encre de fuchsine. Laisser agir deux ou trois minutes à froid. Laver.

c. Verser à nouveau de l'encre de fuchsine. Chauffer doucement jusqu'à dégagement de vapeurs. Incliner la lame pour verser le réactif. Laver.

Recommencer trois fois la même opération. Laver largement.

d. Couvrir la préparation de fuchsine phéniquée ; chauffer jusqu'à production de vapeurs ; laisser dix à quinze secondes ; laver.

Renouveler la même coloration.

e. Laver, laisser sécher, examiner.

Procédé de Remy et Sugg. — Modification du Lœffler, en vue d'éviter les précipités.

Mordancer à l'encre de fuchsine à froid, quinze à trente minutes.

Égoutter ; faire agir le liquide de Gram.

Laver à l'eau, puis à l'alcool.

Colorer trente minutes à 37°, avec :

Eau d'aniline.....	20 centimètres cubes.
Violet de gentiane, sol. alcoolique.	1 goutte.
Eau distillée.....	5 centimètres cubes.

Laver, sécher.

CHAPITRE XVI

COUPES BACTÉRIOLOGIQUES

L'examen bactériologique des coupes a pour but tout à la fois de déceler les microbes et d'étudier les lésions.

Cet examen ne peut être fait utilement qu'après coloration. Il faut d'abord traiter les pièces comme on le fait en histologie : prélever, fixer, inclure ; puis débiter en coupes, coller ces dernières sur lames, enfin colorer.

Prélèvement. — Les pièces qu'on désire couper seront prélevées aussi fraîches que possible : chez l'animal en expérience, sitôt après la mort. Chez l'homme, seules les pièces opératoires peuvent être fraîches ; pour les autopsies, on est forcé de respecter les délais légaux, et les pièces qu'on y prélève présentent toujours des altérations dites cadavériques.

On coupera les fragments avec des instruments très propres. Leur épaisseur ne dépassera jamais 6 ou, au grand maximum, 10 millimètres ; il est presque toujours possible de limiter à 5 ou 6 millimètres. Les deux autres dimensions peuvent atteindre sans inconvénient 1 à 2 centimètres.

Fixation. — Sitôt prélevées, les pièces seront fixées.

Les agents fixateurs doivent respecter à la fois les tissus et les microbes. Certains fixateurs employés en histologie, fixant mal les microbes, ne sont pas applicables. On s'adressera de préférence à l'alcool, au sublimé ou au formol.

Quel que soit le fixateur employé :

Noyer la pièce dans une grande quantité de liquide (au moins vingt-cinq fois son volume) ;

Placer au fond du récipient une couche de coton hydrophile, pour permettre l'imprégnation sur toutes les faces.

Alcool. — *a*. Plonger les pièces pendant vingt-quatre heures dans l'alcool à 60° ou 70° ;

b. Enlever, plonger dans l'alcool à 80° ou 90°, même durée ;

c. Enlever, plonger dans l'alcool absolu, un à deux jours.

L'alcool fixe bien les bactéries, mais assez mal les tissus, qu'il rétracte. De plus il durcit beaucoup, ce qui gêne le débitage des coupes quand le tissu renferme beaucoup de tissu conjonctif dense ou de tissu musculaire. Il est suffisant dans la majorité des cas.

Des fragments très petits peuvent à la rigueur (mauvaise fixation) être placés directement dans l'alcool absolu.

On se méfiera de l'alcool dit « absolu » du commerce. Si l'alcool est absolu, il ne fait pas émulsion quand on le mélange au xylol. On peut déshydrater l'alcool en y plongeant un sachet renfermant du sulfate de cuivre desséché (blanc). En s'hydratant, le sel de cuivre devient bleu.

Sublimé. — C'est le meilleur fixateur. On utilisera de préférence le *sublimé acétique* :

Sublimé		4 à 5 grammes.
Acide acétique glacial		1 centimètre cube.
Eau	100	— —

La solution est instable : à préparer au moment du besoin.

a. Plonger la pièce dans la solution fixatrice; laisser séjourner jusqu'à ce qu'elle soit complètement opaque (temps variable; quelques heures à vingt-quatre heures).

b. Enlever; plonger dans l'alcool à 70° additionné de teinture d'iode jusqu'à teinte brune. L'iode dissout le sublimé en excès. Si l'alcool se décolore, ajouter à nouveau de la teinture d'iode, jusqu'à ce que la coloration persiste. Temps moyen : vingt-quatre heures.

c. Enlever; porter dans l'alcool à 80°.

L'addition d'iode au temps *b* est indispensable, sans quoi le sublimé se dépose dans les coupes et donne des cristaux, gênants pour l'observation.

Pour manipuler, au cours des fixations par le sublimé, faire usage d'instruments non métalliques (corne, bois, verre).

Formol. — Le formol convient à tous les tissus, y compris le système nerveux ; la fixation est imparfaite, mais suffisante pour les besoins courants.

Préparer la solution fixatrice en diluant le formol du commerce dans l'eau salée à 7,5 p. 1000, en proportions variables : 6 à 8 p. 100 dans la plupart des cas; 10 p. 100 pour le système nerveux.

Porter la pièce dans la solution de formol. La fixation est obtenue en six à vingt-quatre heures, suivant le volume du fragment.

Conservation. — Si elles ne sont pas incluses de suite, les pièces fixées par l'alcool ou le sublimé seront conservées dans l'alcool à 80° (non dans l'alcool fort, qui les rend cassantes). Fixées au formol, elles peuvent être conservées ou dans la solution fixatrice même ou dans l'alcool à 80°.

Inclusion à la paraffine. — Pour obtenir des coupes fines utilisables en bactériologie, il faut inclure les pièces, c'est-à-dire

les imbiber d'une substance liquide susceptible d'être solidifiée. On s'adresse à peu près exclusivement à la paraffine; d'autres procédés usités en histologie (collodion et celloïdine entre autres) ne permettent pas d'obtenir des coupes assez fines.

I. Il existe diverses variétés et diverses qualités de paraffine. Les variétés sont caractérisées par leur point de fusion ; il faut se munir de deux échantillons au moins, fusibles l'un vers 45°-50° (*paraffine molle*), l'autre vers 55° (*paraffine demi-molle*). On rejettera toute paraffine non homogène, cassante ; une paraffine de bonne qualité doit être souple.

II. La plupart des échecs dans la pratique des inclusions viennent de ce que les pièces ne sont pas suffisamment déshydratées ; la paraffine, insoluble dans l'eau, les pénètre mal. La déshydratation doit être complète; mieux vaut pécher par excès que par défaut.

III. Certains tissus (derme cutané, tissu conjonctif dense, tissu musculaire) se laissent mal imbiber par les liquides : on augmentera de moitié la durée des temps indiqués ci-dessous ; les fragments seront très petits.

IV. La paraffine est soluble dans le *xylol*, le *toluène*, le *chloroforme*, etc., liquides utilisables pour l'inclusion. On emploie d'ordinaire le xylol.

Technique. — Pour chacun des temps de l'inclusion, nous indiquerons la durée minima approximative de séjour dans chaque liquide pour trois sortes de pièces : petites (environ 1 millimètre de côté), moyennes (5 millimètres), grosses (10 millimètres). — Nous supposons partir d'une pièce placée dans l'alcool à 80°.

Déshydratation. — *a.* Porter dans l'alcool à 90°.

Pièces petites : 6 heures ; moyennes : 12 heures ; grosses : 24 heures.

b. On plonge ensuite dans l'alcool absolu.

Pièces petites : 4 heures ; moyennes : 12 heures ; grosses : 24 heures.

S'assurer au préalable que l'alcool est absolu (Voy. p. 249).

Imbibition par le xylol. — *c.* Au sortir de l'alcool absolu, placer dans le xylol.

Pièces petites : 1 heure et demie ; moyennes : 3 heures ; grosses : 6 heures.

On reconnaît que l'objet est entièrement imprégné de xylol quand il est devenu uniformément translucide. Si les durées indiquées ne suffisent pas, prolonger davantage.

Ces trois temps s'effectuent d'ordinaire à la température ambiante.

Imbibition par la paraffine. — *d.* Porter ensuite dans un mélange de xylol et de paraffine molle, à l'étuve à 37°. Parties égales de chaque substance, ou deux tiers de xylol pour un tiers de paraffine.

Pièces petites : 1 heure ; moyennes : 3 heures ; grosses : 6 heures.

e. Plonger enfin dans la paraffine molle pure, fondue, vers 50°-55° ; porter à l'étuve à 50°-55° ; ne jamais dépasser 60° (coagulation de l'albumine).

Pièces petites : 1 demi-heure ; moyennes : 2 heures ; grosses : 3 heures.

La température nécessaire au temps *e* altère un peu les tissus ; on ne maintiendra pas les pièces au delà de la durée indiquée.

Moulage. — *f*. Reste à enrober la pièce dans un bloc de paraffine. On utilise dans ce but un moule.

Moules à paraffine. — Il est facile de fabriquer les moules soi-même. Prendre un bouchon cylindrique dont le diamètre dépasse du tiers au moins celui de la pièce ; enrouler autour du bord supérieur un papier épais taillé *ad hoc*, de façon à constituer un cylindre de 2 centimètres de hauteur ; fixer avec une épingle ou du fil.

On peut s'ingénier à d'autres expédients : utiliser par exemple des boîtes en papier, ou en carton ; ou des capsules à bouteille, en étain.

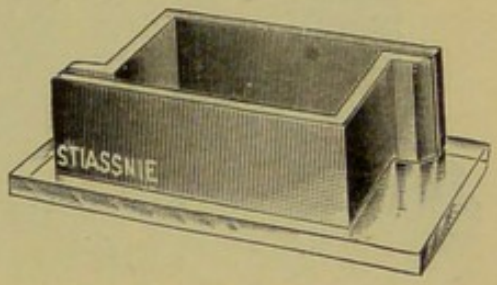


Fig. 133. — Moule à paraffine.

Le mieux est de se servir du moule de Leuckardt (fig. 133) : deux fortes lames métalliques en L. Accolées par leurs petites branches, elles forment une cuve dont on variera la longueur suivant les besoins. Placer le moule sur une large lame de verre, formant fond.

Technique du moulage. — Faire fondre de la paraffine dans une capsule en porcelaine. On prendra en été de la paraffine fusible à 55° ; en hiver, de la paraffine molle. Attendre qu'une pellicule se forme à la surface.

A ce moment, enlever la pièce de l'étuve à 55° ; verser dans le moule la paraffine de la capsule ; y plonger doucement la pièce, et assurer à cette dernière l'orientation voulue à l'aide d'aiguilles chauffées ; au besoin, maintenir les aiguilles en place jusqu'à ce que la paraffine commence à devenir opalescente.

Quand la surface est devenue opalescente, transporter le moule — sans le comprimer — dans un bain d'eau froide (cuvette plate, cristallisoir), en prenant soin de ne pas mouiller la face libre du bloc.

Dès que la masse est devenue solide, écarter le moule. Le bloc, renfermant la pièce, est prêt à être coupé.

Débitage des coupes. — Les pièces incluses dans les moules seront coupées à l'aide des microtomes habituellement employés en histologie. Nous ne pouvons les décrire ; signalons le modèle le plus courant : microtome Minot (fig. 134). Les coupes auront une épaisseur de 1/200 à 1/500 de millimètre.

Collage des coupes ; enlèvement de la paraffine. — Les coupes bactériologiques sont en général trop délicates pour se prêter

à des manipulations directes. Il faut les coller (les fixer) sur une lame porte-objet. Il sera ensuite nécessaire d'enlever la paraffine, pour permettre la pénétration des solutions colorantes.

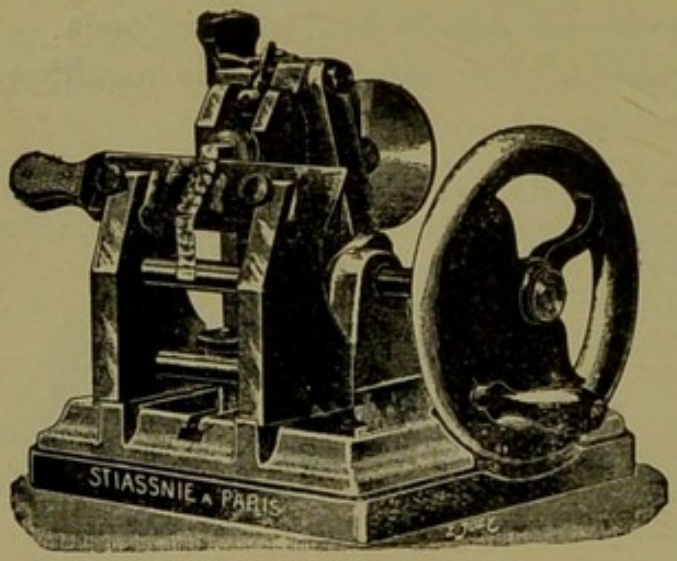


Fig. 134. — Microtome de Minot.

Collage. — On se servira de l'*albumine glycérinée*, *albumine de Mayer*.

Elle se prépare comme suit : prendre un blanc d'œuf, mélanger avec partie égale de glycérine ; battre fortement, mettre à filtrer sur papier-filtre ordinaire (la filtration est très lente, 24 à 48 heures au moins). Ajouter au filtrat un cristal de thymol pour assurer la conservation. Conserver en flacon bien bouché.

On préparera d'autre part : de l'eau chaude (vers 40°-45°), à répartir dans un couvercle de boîte de Petri; du papier de soie (le papier à cigarettes est parfait); du papier-filtre; des aiguilles à dissocier.

a. Enduire les lames, bien sèches, d'une couche extrêmement mince d'albumine glycérinée. Le plus simple est d'y déposer une très petite goutte et d'étaler avec le doigt.

b. Prendre les coupes avec l'aiguille, les déposer à la surface de l'eau chaude. Elles s'étalent, grâce à la chaleur. Avec les aiguilles, séparer les coupes, et au besoin compléter l'étalement.

c. Plonger dans l'eau la moitié inférieure d'une feuille de papier de soie large de 2 à 3 centimètres; amener une coupe sur le papier.

d. Très rapidement, enlever le papier de soie, renverser sur une lame (comme pour décalquer), en ayant soin de ne pas laisser se faire de plis. La coupe est entre la lame et le papier.

e. Sécher à l'aide de papier-filtre posé bien à plat et pressé sur le papier de soie. Enlever le papier-filtre, puis le papier de soie. Si la dessiccation est suffisante, la coupe reste adhérente.

f. Porter au-dessus d'une veilleuse, jusqu'à ce que la chaleur soit insupportable au dos de la main (environ 60°). La fixation est faite.

Le temps *f* est un peu délicat. Si on chauffe trop, des bulles se forment et décollent la coupe ; si on ne chauffe pas assez, l'albumine n'est pas coagulée, et la coupe n'adhère pas. C'est une éducation à faire.

On peut porter dans l'étuve à 55° pendant une demi-heure.

Enlèvement de la paraffine. — Laver, doucement, au xylol, qui dissout la paraffine; la coupe devient transparente. Égoutter.

Laver à l'alcool absolu. La coupe devient opaque.

Plonger dans un petit cristallisoir ou un verre plein d'eau.

On peut commencer alors la coloration.

Coloration.

Dans la coloration d'une coupe bactériologique, on cherche surtout à *voir les microbes*; il faut donc les différencier du tissu où ils se trouvent. Il est souvent indiqué de colorer également le tissu de telle manière qu'on puisse tout au moins apprécier les rapports topographiques des microbes avec les éléments anatomiques.

Il existe des méthodes générales et des méthodes spéciales.

Remarques. — I. Verser les colorants ou réactifs à côté de la coupe (et non directement sur elle); faire glisser sur la coupe en inclinant la lame.

II. Ou bien, porter la lame dans un bain de colorant ou de réactif.

III. Pour les lavages à l'eau: disposer un petit récipient (verre, cristallisoir) plein d'eau; y plonger les coupes.

IV. Une coupe colorée peut être examinée entre lame et lamelle, en intercalant une goutte d'eau. Il vaut mieux monter au baume du Canada.

V. *Montage au baume.* — Avant de monter dans le baume du Canada, il faut d'abord déshydrater, puis enlever l'alcool absolu par le xylol. — Le xylol *éclaircit* les coupes. On peut éclaircir davantage, en faisant agir l'essence de girofle avant le xylol, mais l'essence décolore.

Pour monter, employer le baume du Canada dissous dans le xylol, de consistance sirupeuse. — Déposer une goutte de baume au bord de la préparation; saisir par la tranche une lamelle bien propre, la chauffer légèrement pour enlever toute trace d'eau; poser la lamelle sur le côté libre du baume, laisser tomber par son propre poids; appuyer légèrement pour étaler le baume.

Méthodes générales. — Nous étudierons la coloration simple et la méthode de Gram.

Coloration simple. — Elle est applicable à tous les microbes qui se colorent facilement par les couleurs d'aniline.

A. Procédé de Kuhne. — Colorer pendant un quart d'heure dans le bleu phéniqué; laver dans l'eau distillée; décolorer à l'acide chlorhydrique dilué à 1 p. 1 000, quelques secondes, jusqu'à teinte bleu pâle; rincer dans une solution lithinée :

Carbonate de lithine, sol. aqueuse saturée...	50	centimètres cubes.
Eau distillée.....	1000	— —

Laver à l'eau distillée, sécher au papier de soie; déshydrater par

l'alcool absolu, rapidement (pour ne pas trop décolorer) ; éclaircir à l'essence de girofle ; laver au xylol ; monter dans le baume.

B. Procédé au tanin (M. Nicolle). — *a*. Colorer pendant quelques minutes au bleu phéniqué.

b. Laver à l'eau. Faire agir pendant quelques secondes une solution aqueuse de tanin à 10 p. 100. Le tanin rend à peu près insoluble le colorant fixé sur les microbes ou les tissus.

c. Laver à l'eau. Déshydrater par l'alcool absolu.

d. Passer au xylol, monter.

C. Procédé a la thionine (M. Nicolle). — *Procédé de choix*.

a. Colorer pendant une à deux minutes à la thionine phéniquée.

b. Laver à l'eau. Déshydrater par l'alcool absolu.

c. Passer au xylol, monter.

Ce procédé est excellent. Il faut s'y habituer. On surveillera particulièrement le temps *b* ; l'alcool enlève une partie du colorant. S'il agit trop longtemps, tout peut être décoloré, y compris les microbes ; s'il agit trop peu, le tissu demeure trop coloré, les microbes sont peu visibles. Il est facile de trouver le juste milieu.

Double coloration. — On peut obtenir sans peine une double coloration avec les méthodes précédentes. Pour le procédé à la thionine, on procédera comme suit :

a. Colorer à la thionine phéniquée.

b. Décolorer légèrement par l'alcool, laver à l'eau.

c. Traiter rapidement par l'éosine à 1 p. 1 000 ; laver à l'eau.

d. Déshydrater à l'alcool absolu. — Pour ne pas trop décolorer, éponger d'abord au papier de soie ; déshydrater ensuite.

e. Passer au xylol, monter.

Coloration par la méthode de Gram. — Les microbes prenant le Gram se prêtent facilement aux doubles ou triples colorations.

Double coloration. — *Procédé de choix*. — *a*. Colorer au violet de gentiane phéniqué, cinq à dix secondes (suivant l'épaisseur).

b. Traiter par le liquide de Gram, cinq à dix secondes, en renouvelant deux ou trois fois.

c. Décolorer à l'alcool absolu. Laver à l'eau.

d. Colorer à l'éosine au millième, quinze à trente secondes (teinte rose). Laver à l'eau.

e. Déshydrater à l'alcool absolu.

f. Passer au xylol, monter.

Les microbes, colorés en violet foncé, tranchent sur le fond rouge du tissu. Mais la teinte du fond est uniforme, sans différenciation ; la triple coloration permet de mieux étudier le tissu.

Triple coloration. — *Procédé de M. Nicolle.* — *a.* Traiter pendant quinze minutes par le carmin de Orth alcoolisé :

Carbonate de lithine, à saturation dans l'eau.....	40 centimètres cubes.
Carmin n° 40.....	1 gramme.

Triturer au mortier. Filtrer.
Ajouter un sixième d'alcool absolu.

Laver à l'eau.

b. Colorer au violet de gentiane phéniqué, quatre à six secondes.

c. Traiter par le liquide de Gram, quatre à six secondes.

d. Décolorer par l'alcool-acétone (p. 241).

e. Faire agir l'alcool picriqué quelques secondes :

Alcool absolu.....	150 centimètres cubes.
Acide picrique.....	1 gramme.

f. Déshydrater à l'alcool absolu.

g. Passer au xylol, monter.

Les microbes sont teintés en violet; les noyaux, en rose; le protoplasma, en jaune.

Méthode de Claudius. — On peut employer la méthode de Claudius : faire agir le colorant et la solution picriquée (Voy. p. 241) pendant deux minutes; décolorer à l'essence de girofle, goutte à goutte, jusqu'à ce que la préparation prenne une teinte jaunâtre. Pour double et triple coloration, on opérera comme il a été indiqué pour la méthode de Gram.

Méthodes spéciales. — D'autres méthodes, applicables seulement à quelques espèces, seront décrites dans la bactériologie spéciale. (Voy. en particulier *Tuberculose, Syphilis.*)

CHAPITRE XVII

STAPHYLOCOQUE

Cultivé d'abord par Pasteur en 1880 (pus de furoncle, eau de Seine), le Staphylocoque a été étudié ensuite par Ogston, par Rosen-

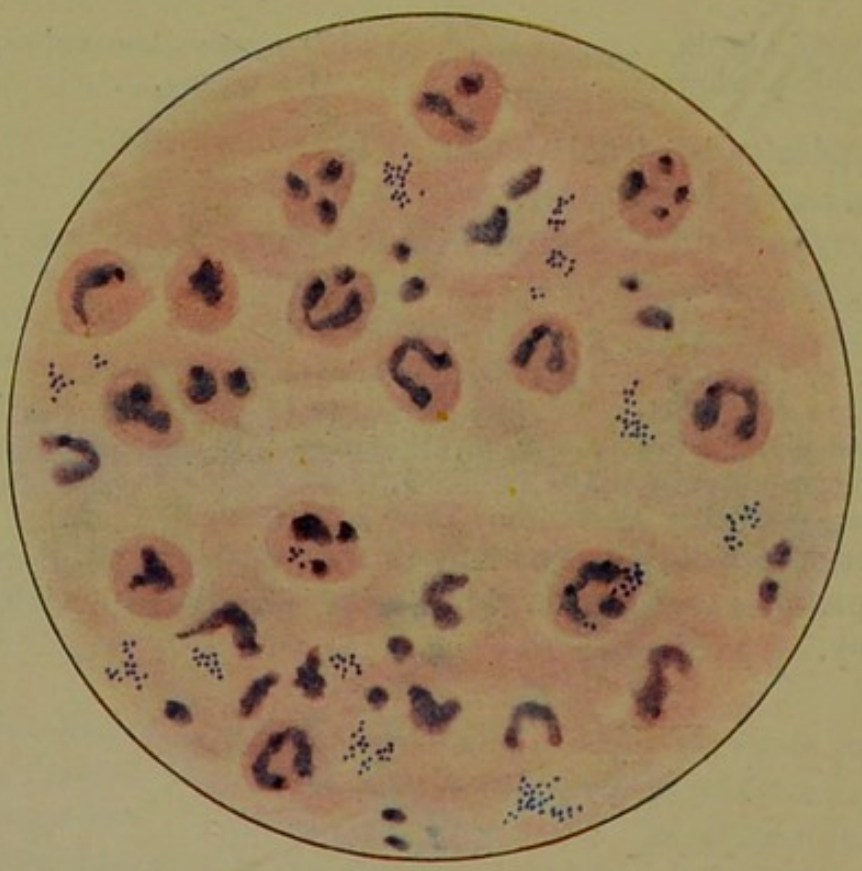


Fig. 135. — Pus à Stapnylocoque (coloration par le Gram).

bach et nombre d'auteurs. D'ordinaire saprophyte, il est fréquemment pathogène et constitue l'agent habituel des suppurations aiguës.

On a voulu démembrer les Staphylocoques en trois espèces, d'après leur pouvoir chromogène : *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Staph. pyog. citreus* et *Staph. pyog. albus*. Il est aujourd'hui admis que l'espèce est une (Rodet et J. Courmont, Netter), le pouvoir chromogène ne constituant pas un caractère fixe ; il existe un *Staph. pyog. aureus*, avec les variétés *citreus* et *albus*.

Nous prendrons comme type le Staphylocoque doré ou *St. aureus*, en notant au passage les particularités concernant les autres variétés.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — L'élément fondamental est un coccus, mesurant en moyenne 1 μ.

Dans les produits pathologiques (pus), les éléments se groupent en courtes chaînettes de trois à quatre éléments, en diplocoques, en petits amas, rarement en amas volumineux (fig. 135).

Dans les cultures (fig. 136), la forme en grappes prédomine, d'où le

Fig. 136. — Staphylocoque; culture en strie sur gélatine, quarante-huit heures.

nom de l'espèce : la plupart des éléments sont tassés les uns contre les autres en amas irréguliers, renfermant 10 à 40 éléments et souvent plus, parfois un peu aplatis par le tassement. — A côté des grappes, on trouve toujours des éléments isolés ou réunis en petit nombre sous des formes variées, diplocoques, courtes chaînettes, tétrades, etc.

Mobilité. — Immobile.

Coloration. — Le Staphylocoque se colore facilement par les couleurs d'aniline. Il *prend le Gram*.

Cils. — Non cilié.

Spores. — Ne donne pas de spores.

CULTURES.

Conditions générales. — Le développement a lieu entre + 10° et + 44°. Température optima : 30° à 37°.

Aérobie facultatif, le Staphylocoque cultive aussi bien en l'absence qu'en présence de l'air.

Il se développe facilement sur les milieux ordinaires.

A. **Staphylococcus pyogenes aureus.** — **Gélatine.** — Culture caractéristique. *La gélatine est liquéfiée.*

1° Colonies isolées sur plaques. — Vers 18° à 20°, au deuxième ou troisième jour, colonies arrondies, grisâtres, à centre jaune ; bords réguliers. Au quatrième ou cinquième jour, la colonie primitive s'est entourée d'un cercle de gélatine liquéfiée, trouble, renfermant des flocons jaunes. La liquéfaction progresse dans la suite. Assez souvent les cultures dégagent une odeur aigrelette.

2° En piqures (fig. 137 et 138). — En vingt-quatre heures, culture d'aspect granuleux, jaunâtre. La liquéfaction débute du deuxième au troisième jour. Vers le sixième jour, aspect typique : sac de liquéfaction tronconique, avec dépôt jaune-orange au fond, liquide trouble au-dessus ; en surface, la liquéfaction atteint le bord du tube. Dans la suite, la liquéfaction progresse lentement ; elle atteint rarement le fond du tube.

La rapidité avec laquelle se produit la liquéfaction est assez variable. Elle peut être retardée au quinzième ou vingtième jour.

3° En strie. — En deux à trois jours, bande luisante, jaune d'or, large de 3 à 5 millimètres. Plus tard, le milieu se liquéfie.

Gélose (fig. 139). — En strie, enduit peu épais, d'apparence grasse. La coloration jaune est souvent nette en deux jours, parfois plus tard.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Pomme de terre. — Couche épaisse, jaune, en deux à trois jours. La coloration jaune est généralement plus intense sur pomme de terre que sur les autres milieux.

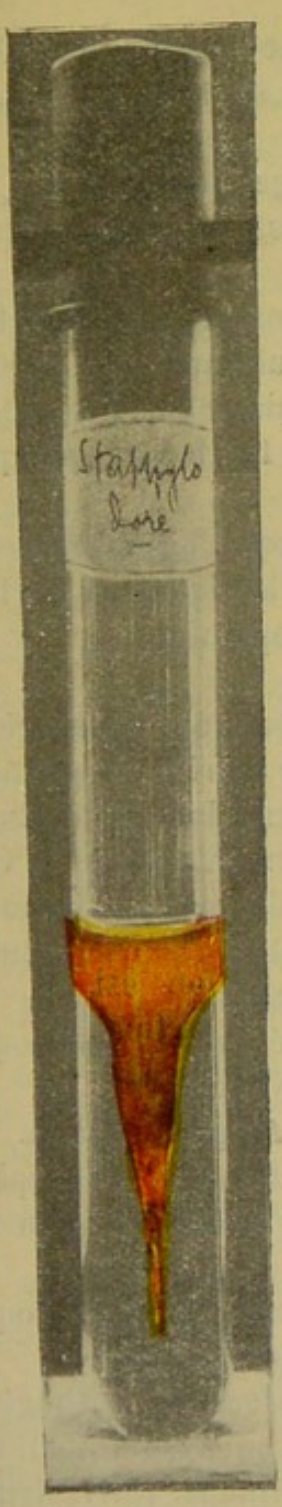
Bouillon. — En vingt-quatre heures, trouble uniforme ; les jours suivants, il se produit au fond un dépôt qui, d'abord blanc, devient jaunâtre dans la suite. Le liquide demeure trouble. La teinte jaune est d'ordinaire moins nette en bouillon que sur les milieux solides.

Lait. — Coagulé.

B. **Staphylococcus pyogenes citreus.** — Les différentes cultures sont jaune clair (citron) ; tous les autres caractères sont les mêmes que ci-dessus.

C. **Staphylococcus pyogenes albus.** — Cette variété ne

produit pas de pigment. Les cultures sur milieux solides sont d'un



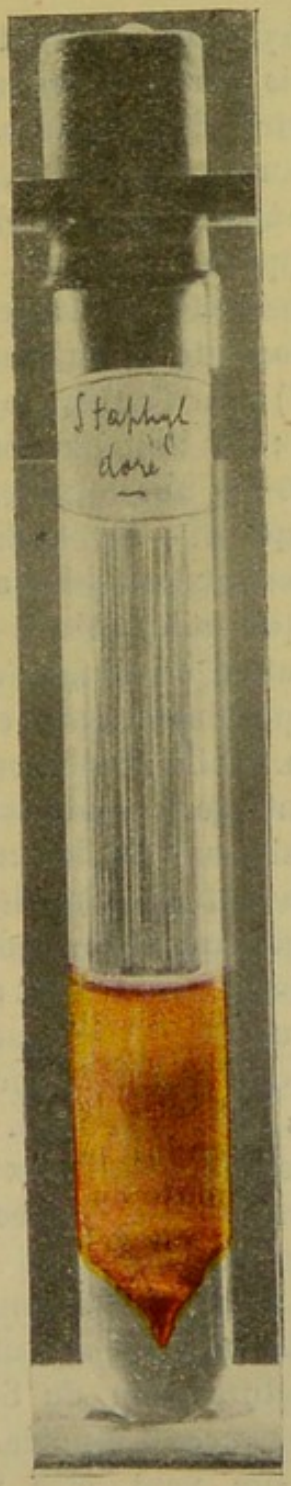


Fig. 137 et 138. — Cultures de Staphylocoque en piqûre sur gélatine : au cinquième jour (à gauche) et au douzième jour (à droite).

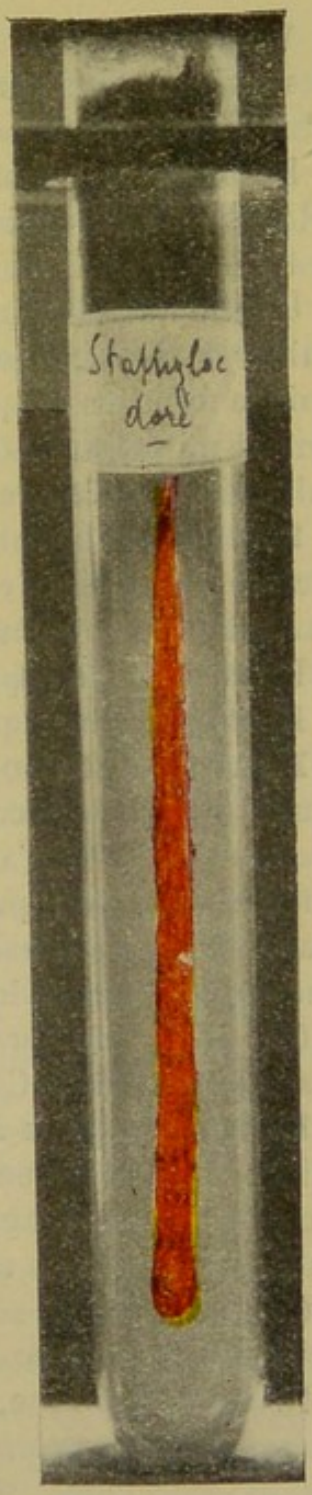


Fig. 139. — Staphylocoque (culture sur gélose).

blanc franc, souvent porcelaine. La liquéfaction de la gélatine est parfois très tardive et peut même faire défaut.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Le Staphylocoque présente une grande vitalité. Il reste vivant plusieurs mois, parfois même un an, sur milieux liquides, plus longtemps encore sur milieux solides.

En cultures, il faut, pour le tuer, un chauffage d'une heure à 72° (Rodet), de cinq minutes à 80° (Sternberg). Mais, dans les produits pathologiques, il peut supporter 100°.

L'action des antiseptiques est importante à connaître (désinfection chirurgicale). Le Staphylocoque est tué par le sublimé à 1 p. 1 000 en quinze minutes (Viquerat) ; par l'aldéhyde formique à 2 p. 1 000 en quinze minutes (Pottevin) ; par l'eau oxygénée à 1 p. 100 en quelques minutes ; par l'alcool à 60° en une minute.

Réactions biochimiques. — Le Staphylocoque fait fermenter la lactose, la glucose, en donnant des acides (acide lactique ; proportion variable d'acide isobutyrique, valérianique et propionique).

Il provoque la peptonisation du blanc d'œuf.

L'action biochimique la plus intéressante est le pouvoir chromogène.

Pouvoir chromogène. — Le Staphylocoque sécrète un pigment jaune. La matière colorante se produit facilement dans les cultures bien aérées. Elle n'apparaît pas dans les cultures faites dans le vide ou sous l'huile ; pas davantage dans les cultures additionnées d'antipyrine. Elle est en général moins abondante dans les cultures entretenues depuis longtemps sur milieux artificiels.

On peut transformer un Staphylocoque doré en Staphylocoque blanc (Rodet et J. Courmont) et inversement (Netter).

Réactions vis-à-vis des sérums. — Agglutination. — I. Expérimentalement, le sérum d'animaux inoculés avec un Staphylocoque pyogène agglutine les Staphylocoques pyogènes, non les Saprophytes (Kolle et Otto, Protscher).

Cultivé dans le sérum d'animaux immunisés, le Staphylocoque pousse en gros placards de microbes agglutinés (Bezançon).

II. Chez l'homme, l'agglutination du Staphylocoque pathogène ne semble pas avoir été beaucoup étudiée. Au cours des infections staphylococciques, le sérum peut être agglutinant (Silvestrini, Mantegazza), mais le fait est inconstant (Courmont). Le sérum normal peut agglutiner à 1 p. 100 (Beitzke).

Sensibilisatrice. — Il existe une sensibilisatrice spécifique dans le sérum des animaux inoculés (Altmann et Blühdorn).

POUVOIR PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Le Staphylocoque peut être pathogène pour l'homme et pour l'animal.

L'action pathogène est surtout dévolue au *Staph. aureus*, plus rarement au *citreus*, exceptionnellement à l'*albus*.

Chez l'homme. — Les manifestations pathologiques du Staphylocoque sont multiples.

Il est, avant tout, l'agent des suppurations aiguës. Dans les abcès chauds, il intervient seul dans 71 p. 100 des cas ; associé au Streptocoque dans 5,5 p. 100 (Janowski).

Parmi les suppurations habituellement provoquées par le Staphylocoque, il faut citer le furoncle (Pasteur), l'anthrax, les abcès cutanés et sous-cutanés, l'ostéomyélite (Lannelongue et Achard).

Sa participation est en outre importante, sans être prépondérante, dans la genèse des arthrites suppurées, des endocardites, des myocardites, des péricardites suppurées, des pleurésies purulentes, des bronchopneumonies infantiles, des péritonites purulentes, des abcès du foie, des otites suppurées, des méningites suppurées (rarement), des infections des voies urinaires (cystite, etc.), des infections génitales de la femme.

Il peut intervenir à titre d'agent secondaire, au cours d'autres affections : diphtérie, angines, suppurations diverses, etc.

Enfin il est capable de déterminer des septicémies ou la pyohémie.

Le rôle du Staphylocoque en pathologie est important, mais on lui a peut-être prêté un peu trop. Certaines affections qui lui étaient rapportées naguère, comme le clou de Biskra, l'impétigo, sont aujourd'hui distraites de son domaine. Il faut beaucoup de circonspection avant d'affirmer l'action pathogène du Staphylocoque (Voy. p. 265).

Chez l'animal. — Le rôle du Staphylocoque paraît moindre jusqu'ici. Il peut produire des abcès chez la plupart des espèces.

Son action la plus intéressante est la production de l'ostéomyélite des jeunes oies (Lucet) ; il serait également pathogène pour les poissons (goujons), d'après Charrin ; pour le lièvre (pyohémie contagieuse, Bürgi).

Inoculation expérimentale. — *Virulence.* — La virulence du Staphylocoque est très variable.

En règle générale, on peut dire que les Staphylocoques saprophytes sont peu ou pas virulents ; au contraire, les Staphylocoques provenant de produits pathologiques sont plus ou moins virulents dans les conditions expérimentales. Mais il y a des exceptions.

La virulence baisse d'habitude dans les cultures un peu anciennes.

On la remonte en pratiquant des passages par le lapin (veines ou péritoine ; ensemencer le sang du cœur).

D'après Otto Bujwid, Nicolas, la présence de sucre exalte la virulence du Staphylocoque (explication possible de la prédisposition des diabétiques aux suppurations).

L'animal de choix est le lapin, espèce la plus sensible.

Lapin. — L'épreuve type, celle qui doit servir de comparaison, est l'inoculation intraveineuse.

Inoculation intraveineuse. — On inocule I ou II gouttes de culture (J. Courmont) ; les effets sont différents suivant le degré de virulence et l'âge de l'animal.

I. *Virulence très grande* (ou dose forte de virus actif). Mort en moins de deux jours. *Septicémie* pure, sans localisation apparente ; congestion viscérale ; Staphylocoques nombreux dans le sang et les organes.

II. *Virulence moyenne.* — Il convient de voir séparément l'action sur lapin *adulte* et sur lapin *jeune*.

a. *Lapin adulte.* — Mort en huit jours environ, avec fièvre, signes de néphrite aiguë, etc.

La lésion la plus apparente est la *pyohémie* : *abcès du rein*, parfois groupés en bouquets, et consécutifs à des infarctus suppurés, *constants*. Abcès du myocarde, pointe surtout ; abcès des poumons et du foie. Staphylocoque dans le sang et les organes, spécialement dans les vaisseaux médullaires de la zone du rein (Rodet et J. Courmont).

b. *Lapin jeune* (*deux mois*). — Mort en huit jours environ. Arthrites purulentes perceptibles pendant la vie.

A l'autopsie, outre la pyohémie du lapin adulte (Voy. ci-dessus), on trouve des lésions d'*ostéomyélite* (Rodet, Jaboulay et Courmont, Lannelongue et Achard) : ostéite, avec pus et séquestres, prédominant dans les os longs, fémur, tibia, au niveau de la diaphyse et de la région juxta-épiphysaire ; périostite (petits abcès sous-périostés) prédominant aux mêmes régions ; décollement juxta-épiphysaire, par fracture de l'épiphyse contiguë. Cartilage de conjugaison ordinairement indemne ; *arthrite purulente* (genoux) le plus souvent provoquée par un abcès voisin. Les microbes sont très nombreux dans la moelle et le tissu osseux.

Le Staphylocoque peut se spécialiser. Un microbe de Bezançon et Labbé, provenant d'une arthrite suppurée humaine, provoquait toujours des arthrites suppurées chez l'animal.

Virulence faible (ou dose faible de virus fort). — Lapin adulte.

Mort au delà de vingt jours, avec arthrites suppurées.

Parfois, plus tardivement, symptômes et lésions de myélite (J. Courmont, Gilbert et Lion).

Inoculation sous-cutanée. — Habituellement, il se produit un abcès, qui guérit spontanément. Exceptionnellement, mort par septicémie, avec ou sans lésions (nécrose) des viscères.

Inoculation intrapéritonéale. — Relativement peu sensible. Des doses très fortes provoquent une péritonite fibrino-purulente, mortelle, avec septicémie.

Inoculation intrapleurale. — Un peu plus sévère. Pleurésie purulente mortelle avec septicémie.

Inoculation dans la chambre antérieure de l'œil. — Suppuration. Voie très sensible.

Autres animaux. — Chez le *cobaye*, on provoque un abcès par inoculation sous-cutanée ; une péritonite par inoculation intrapéritonéale.

Il est pathogène également pour le *rat*, le *chien*.

Chez l'*oie*, Lucet a reproduit l'ostéomyélite par injection intraveineuse.

Chez le *chimpanzé*, l'inoculation (scarification) du Staphylocoque du pemphigus humain réalise le pemphigus expérimental.

TOXINES.

I. Dans les filtrats de cultures, l'alcool précipite une substance qui, inoculée dans la chambre antérieure de l'œil, se montre pyogène (Christmas).

Inversement, Leber aurait préparé une autre substance (*phlogosine*), celle-ci soluble dans l'alcool, également pyogène.

II. D'après Rodet et J. Courmont, les filtrats sont peu toxiques (rétention par le filtre).

Ils renferment deux séries de substances que les auteurs considèrent comme antagonistes les unes des autres :

Les unes, précipitables par l'alcool, déterminent surtout des troubles respiratoires et moteurs (convulsions, tétanos) ;

Les autres, solubles dans l'alcool, provoquent de l'anesthésie et des troubles cardiaques.

III. Entre les mains de Mosny et Marcano, le filtrat s'est montré toxique pour le lapin : mort rapide (quelques secondes) à dose de 10 centimètres cubes dans les veines. A dose faible (1 à 2 centimètres cubes), l'animal devient cachectique et meurt après cinq à six semaines.

IV. *Toxines vaccinantes et toxines prédisposantes.* — Les produits précipitables par l'alcool (Voy. ci-dessus) sont vaccinants (Rodet et Courmont). — Les produits solubles dans l'alcool (Rodet et Courmont), de même que le filtrat brut (Mosny et Marcano), se montrent au contraire prédisposants.

V. *Leucocidine.* — L'exsudat obtenu par inoculation intrapleurale renferme beaucoup de globules blancs avariés. Il a la propriété d'altérer les leucocytes normaux, d'où son nom (Van de Velde).

VI. *Hémolysine (staphylolysine).* — Les cultures en bouillon de neuf à treize jours, filtrées ou non, renferment une hémolysine active sur les globules rouges du lapin, du mouton, du cobaye (Neisser et Wechsberg), beaucoup moins active sur les globules de l'homme.

Il faut donner initialement au bouillon la réaction voulue; on ajoutera les deux tiers de la quantité d'alcali nécessaire pour rendre alcalin à la phtaléine du phénol.

L'hémolysine apparaît vers le quatrième jour, atteint son maximum vers le dixième ou onzième et décroît ensuite. Elle ne se conserve bien qu'à la glacière. Elle est détruite par un chauffage de vingt minutes à 56°; mais un chauffage ultérieur à 100° la ferait en partie réapparaître.

La production d'hémolysine serait strictement spéciale aux Staphylocoques pyogènes, à l'exclusion des saprophytes : fait contesté.

Injectée aux animaux, elle fait apparaître dans le sérum des propriétés antihémolytiques. Une antihémolysine existe d'ailleurs normalement dans le sérum humain. La puissance antihémolytique du sérum augmente beaucoup au cours des infections à Staphylocoques (Bruck, etc.); on a même proposé le dosage de l'antihémolysine comme moyen de diagnostic des infections staphylococciques.

SIÈGE

Dans l'organisme humain. — A l'état normal, le Staphylocoque se rencontre d'une manière constante sur la peau (surtout *St. albus*), et fréquemment sur la plupart des muqueuses externes : bouche, urètre, vagin.

A l'état pathologique, il existe dans les divers processus signalés plus haut (Voy. p. 261); en cas de septicémie, dans le sang.

Dans les milieux extérieurs. — Abondamment répandu dans l'eau, les poussières, dans l'air, etc.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic de l'infection staphylococcique est basé exclusivement sur la constatation et l'identification du microbe.

Recherche du microbe. — Produits pathologiques. — Les

prélèvements étant opérés comme il est indiqué ailleurs (p. 213), on procédera tout d'abord à l'*examen direct*. Préparer des frottis, faire deux colorations.

1° Coloration simple;

2° Coloration par la méthode de Gram.

Le Staphylocoque présente les caractères indiqués ci-dessus.

On pratiquera ensuite l'*isolement* du microbe par culture sur milieux solides : dissocier une goutte de produit pathologique dans le liquide d'exsudation d'un tube de gélose ; incliner le tube pour répartir à la surface ; prélever une anse de ce liquide, porter sur un deuxième tube, opérer comme pour le premier ; prélever une anse du deuxième tube, ensemencer un troisième.

Après culture, on repiquera les colonies parfaitement isolées, et on vérifiera les caractères du Staphylocoque pyogène : cultures surtout, morphologie.

Si la provenance du microbe reste douteuse (Voy. ci-dessous, *Observation*), procéder à l'inoculation intraveineuse du lapin.

Sang. — On pratiquera l'hémoculture (Voy. p. 867).

Observation. — Le Staphylocoque, hôte normal des téguments, peut être ensemencé accidentellement, si le prélèvement est fait à travers la peau (sang, sérosités, etc.). D'autre part, il se surajoute facilement aux autres espèces pathogènes plus nocives : au Bacille tuberculeux (plus particulièrement dans les pleurésies purulentes), au Streptocoque (surtout dans les collections ouvertes), etc. Enfin il est un agent possible d'infections cadavériques. D'où de multiples causes d'erreur.

Trouve-t-on le Staphylocoque dans des circonstances non habituelles (en dehors de l'ostéomyélite, du furoncle, etc.), *il faut soumettre l'épreuve à un contrôle très sévère.*

Pour les produits pathologiques : constater la présence du microbe *par l'examen direct; s'assurer par les épreuves nécessaires qu'il n'y a pas d'autres microbes* (Bacille de Koch surtout).

Pour le sang : répéter l'hémoculture à plusieurs reprises. Se méfier surtout du *St. albus*; accorder plus de crédit aux *St. aureus* et *citreus* (les débutants en hémoculture obtiennent fréquemment le *St. blanc*).

VACCINATION ET SÉROTHÉRAPIE.

I. L'animal traité par les substances vaccinantes (Voy. p. 263) est relativement immunisé (J. Courmont).

II. Quelques auteurs auraient réussi à produire un sérum de faible activité : Capman, par inoculations de filtrats (chien, lapin) ; Parascandolo, par injection de cultures virulentes en bouillon sucré ; Proscher, en inoculant à la chèvre des cultures vivantes.

Ces divers sérums peuvent protéger l'animal contre une ou

quelques doses mortelles, mais ne sont guère sortis jusqu'ici du domaine du laboratoire.

Vaccinothérapie. — Les injections staphylococciques constituent pour le moment l'objectif le plus accessible à la vaccinothérapie (Wright). Elle est particulièrement efficace dans la furonculose à répétition (Mauté).

Technique (Mauté). — Isoler le Staphylocoque du malade à traiter, cultiver sur gélose, émulsionner la culture dans le sérum artificiel, chauffer à 56° pendant une heure deux fois de suite à vingt-quatre heures d'intervalle ; additionner d'eau physiologique pour amener le nombre de germes à 500 millions par centimètre cube ; répartir en ampoules.

Injecter d'abord 0cc,25, puis (après cinq jours) 0cc,50, puis 1 centimètre cube; on peut porter dans la suite à 2 et 3 centimètres cubes.

A la rigueur, on peut employer un Staphylocoque étranger.

CHAPITRE XVIII

STREPTOCOQUE

Le Streptocoque a été nettement décrit par Pasteur et Doléris (1880) chez des malades atteintes d'infection puerpérale. Agent pathogène spécifique de l'érysipèle (Fehleisen), agent habituel de l'infection puerpérale (Widal) et des suppurations chirurgicales (Ogston, Passet), il cause en outre nombre d'affections, sous les formes anatomiques les plus variées, dans les organes et tissus les plus différents, chez l'homme et chez nombre d'espèces animales. « Microbe à tout faire », disait justement Peter. De tous les microbes pathogènes, c'est probablement celui qu'on rencontre le plus souvent dans les infections humaines.

En raison même de l'immensité et de la variété de son rôle pathogène, le Streptocoque est considéré par nombre d'auteurs comme formant non une espèce, mais une famille, composée d'espèces différentes les unes des autres; d'autres savants, au contraire, sont unicistes, tous les Streptocoques appartenant d'après eux à une seule et même espèce. Querelle toujours pendante et dont on ne peut entrevoir la solution. Nous nous contenterons d'esquisser rapidement les arguments apportés de part et d'autre.

Unité ou multiplicité. — I. Certains Streptocoques se séparent du Streptocoque type par une propriété anormale : décoloration au Gram, développement strictement anaérobie, liquéfaction de la gélatine, etc. Suivant l'importance de cette anomalie, il s'agit alors d'espèces distinctes ou de simples variétés, que nous retrouverons plus loin. Il n'y a pas de discussion sur ce point.

II. Les différentes propriétés du Streptocoque peuvent varier dans une assez large mesure. C'est ainsi qu'on a tenté d'édifier des espèces différentes suivant les variations morphologiques (Lingelsheim), l'aspect des cultures en bouillon (Behring), sur pomme de terre (Marot) en lait (Klein) l'action fermentative sur les sucres (Gordon), la virulence expérimentale (Lingelsheim), etc. Mais des recherches de contrôle, en particulier celles de Widal et Bezançon, de H. Vincent, ont montré que ces diverses propriétés sont contingentes et peuvent varier, pour un même échantillon, au gré de l'expérimentateur. Il est de même établi que leur provenance ne suffit pas à individualiser les Streptocoques; on ne relève pas de différences entre ceux des phlegmons, de l'érysipèle ou des septicémies.

III. Devant l'absence de toute base de différenciation, Marmorek (1902) édifie le *trépied de l'unicisme*. Les Streptocoques humains constituent une

seule espèce, car : 1° tout Streptocoque est inapte à se développer sur milieux vaccinés contre un Streptocoque quelconque ; 2° tous les Streptocoques sont hémolysants ; 3° le sérum antistreptococcique est actif à l'égard de tous les Streptocoques. Seul, le Streptocoque de la gourme (cheval) fait exception à la première et à la troisième règle, et se trouve érigé en espèce distincte.

Le premier caractère, que Besredka dénomme justement « signe de Marmorek », a été peu étudié depuis. Le second, le pouvoir hémolytique, serait trop banal pour servir de critérium (Besredka) ; quant au troisième, action spécifique des sérums, il a été diversement apprécié, comme nous allons le voir.

IV. L'irrégularité des actions agglutinantes (Voy. plus loin) ne permettant pas de s'adresser à l'agglutination, on s'est orienté de préférence vers l'étude du pouvoir préventif. Suivant Marmorek, Aronson, Neufeld, Marxer, le sérum provenant d'un animal immunisé contre un seul Streptocoque se montre préventif, non seulement à l'égard de ce Streptocoque, mais à l'égard de tous les Streptocoques ; le Streptocoque de la gourme fait exception d'après Marmorek, alors que Marxer le fait rentrer dans la règle générale. Ce dernier détail mis à part, les auteurs précités sont d'accord pour affirmer que tous les Streptocoques, étant également sensibles à l'action d'un sérum monovalent, appartiennent à une même espèce.

V. Mais l'assertion précédente est discutée. Courmont, Méry et Lorain mettent en doute la base même de la conception : des Streptocoques, parfaitement authentiques, sont indifférents à l'action préventive du sérum de Marmorek. Besredka, sans discuter les faits avancés par Marmorek, Aronson, etc., les interprète différemment : pour éprouver un sérum à l'égard d'un Streptocoque, il faut d'abord rendre ce Streptocoque très virulent pour l'espèce choisie, lapin ou souris ; cette exaltation de virulence étant obtenue par passages successifs d'animal à animal, on crée un « Streptocoque de passage », adapté à l'animal d'expérience, et toujours le même, quelle que soit sa qualité originelle. Les essais de contrôle d'Aronson, Neufeld, etc., seraient ainsi toujours opérés sur un seul et même Streptocoque, « Streptocoque de passage » du lapin ou de la souris, et ne sauraient avoir de portée générale.

VI. Besredka suppose qu'il y a tout au moins plusieurs variétés de Streptocoques ; cette nouvelle classification est basée sur l'épreuve de la déviation du complément. D'après cette épreuve, un même sérum peut être actif à l'égard de microbes de provenances très diverses ; inversement, des microbes de provenance semblable peuvent être doués de propriétés fixatrices très dissemblables.

VII. La question est toujours à l'étude. Mais l'opinion est plus favorable aux pluralistes.

Dans cette étude, nous aurons surtout en vue les Streptocoques d'*origine humaine*.

STREPTOCOQUES D'ORIGINE HUMAINE.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — La forme typique du Streptocoque est une chaînette de cocci.

Dans les tissus ou produits pathologiques (fig. 140), les chaînettes sont généralement courtes, quatre à dix éléments; elles se trouvent mélangées à de simples diplocoques et à des cocci isolés. La taille de chaque coccus est variable, en moyenne 0 μ, 5 à 1 μ.

En cultures sur milieux liquides, les chaînettes sont généralement plus nettes, mesurant vingt à cinquante éléments, et davantage, mélangées à des formes plus courtes ; le diamètre de chaque élément est extrêmement variable, plus encore que dans les

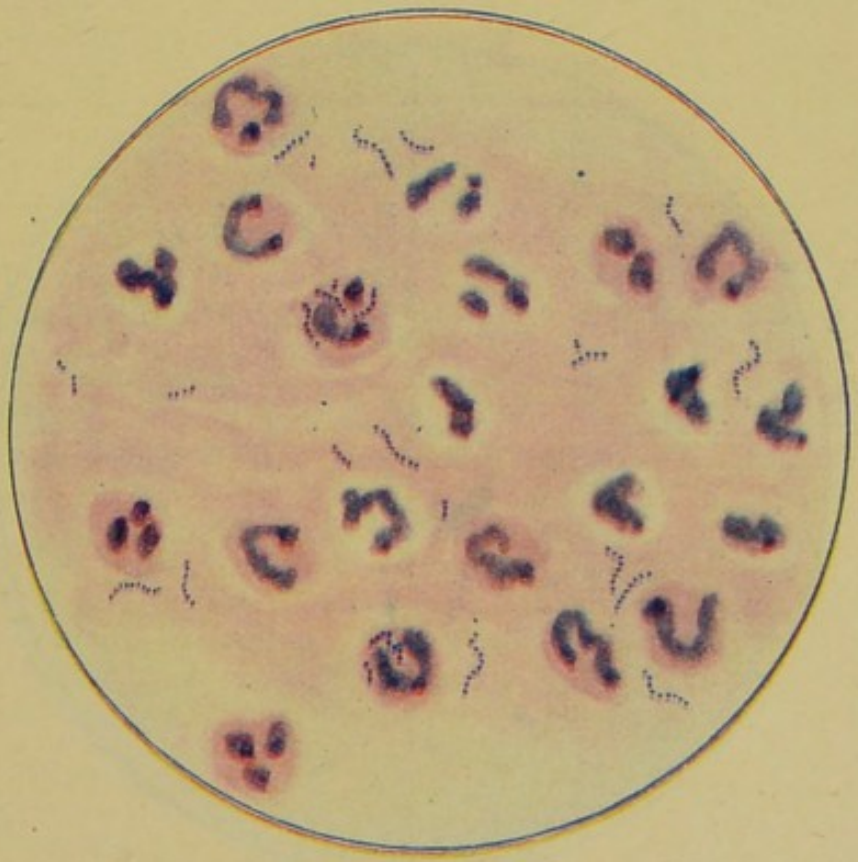


Fig. 140. — Pus à Streptocoque (coloration par le Gram).

tissus. Le plus souvent la chaînette est parfaitement régulière (fig. 141, à gauche) ; plus rarement elle paraît constituée par une association de diplocoques (diplo-streptocoque, fig. 141, à droite) ; ou bien les grains sont de volume inégal, disposition particulière aux cultures vieilles, les éléments les plus gros représentant des formes d'involution. Les cocci sont généralement tout à fait ronds, parfois un peu allongés dans le sens transversal ou dans le sens longitudinal. Exceptionnellement les chaînettes sont bifurquées en Y (Achalme, H. Vincent). Dans certains cas, les cocci sont pelotonnés en amas, d'où s'échappent des chaînettes caractéristiques.

Sur milieux solides, on retrouve les mêmes aspects, mais les chaînettes sont généralement moins longues.

On avait un moment tenté de distinguer les Streptocoques d'après leur morphologie : *St. longus* ou *St. brevis* (Lingelsheim), suivant la longueur des chaînettes ; *St. conglomeratus*, en amas, dont Kurth voulait faire l'agent de la scarlatine ; *St. tenuis* (Veillon), à grains très petits (fig. 142). Il est démontré que ces variations n'ont rien de spécifique et peuvent être reproduites avec un même échantillon (Widal et Bezançon).

Coloration. — Le Streptocoque se colore bien par les couleurs d'aniline. *Il prend le Gram.*

On a parfois rencontré chez l'homme (Étienne, Lemoine) des

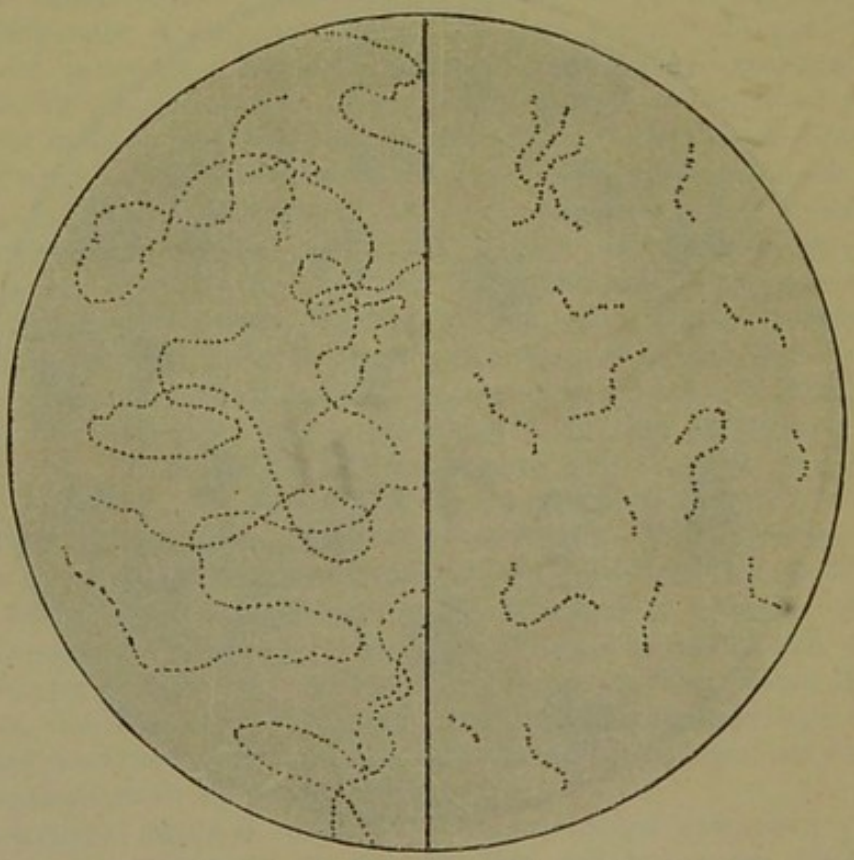


Fig. 141. — Streptocoques.

Streptocoques décolorés par le Gram ; ce sont des faits exceptionnels. On se rappellera que la réaction de Gram doit toujours être faite sur des cultures jeunes. Le Streptocoque de la mammite de la vache, qui ne prend pas le Gram, constitue une espèce à part (Voy. p. 282).

Mobilité. — Spores. — Immobile ; ne donne pas de spores.

CULTURES.

Conditions générales. — Le Streptocoque se développe aussi bien en présence ou à l'abri de l'air. La température optima est 37°. Il n'y a plus de développement appréciable au delà de 46°

ou au-dessous de 20°. Les milieux neutres ou un peu alcalins sont préférables ; l'addition de sang ou de sérum favorise la culture.

Bouillon. — L'aspect des cultures est variable.

a. Le plus souvent, le liquide reste clair ; des flocons se concrètent sur les parois et, dès le deuxième ou troisième jour, tombent en partie au fond, formant dépôt ; en agitant, les flocons se disséminent dans le liquide, sans le troubler, puis retombent. Les chaînettes, longues ou pelotonnées, sont alors prédominantes.

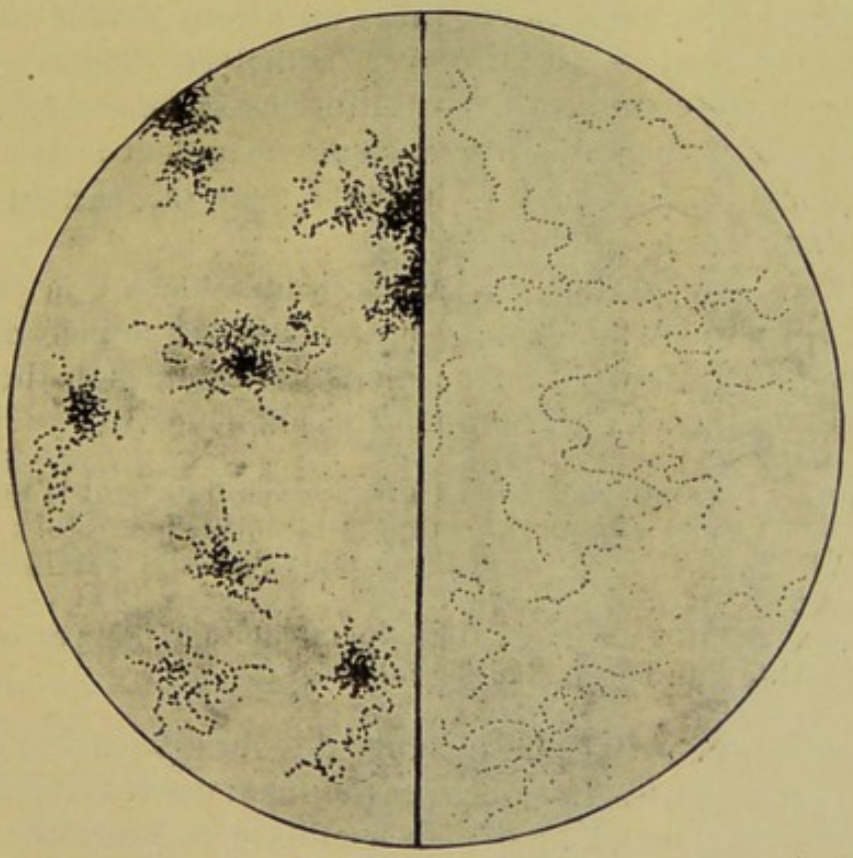


Fig. 142. — Streptocoque.
Conglomeratus. | *Tenuis.*

b. D'autres fois, le milieu se trouble à peu près uniformément ; plus tard le liquide s'éclaircit et il se forme un dépôt. On trouve surtout des chaînettes courtes.

c. Ces différences d'aspect ne sont pas caractéristiques de tel ou tel Streptocoque : elles se reproduisent pour un même échantillon, au hasard des circonstances. H. Vincent a montré qu'en général les cultures sont troubles en milieu neutre, claires en milieu légèrement acide.

d. Quel que soit son aspect, le bouillon devient rapidement acide.

Bouillon-sérum. — Marmorek a montré que le bouillon-sérum

convient particulièrement pour assurer la vitalité et conserver la virulence du Streptocoque. Il recommande spécialement les milieux suivants, rangés par ordre de préférence :

Bouillon ordinaire....	1 partie.	Sérum humain..	2 parties.
— —	2 parties.	Sérosité d'ascite.	1 partie.
— —	1 partie.	Sérum de cheval.	2 parties.

L'aspect des cultures est le même que dans le bouillon ordinaire.

Besredka recommande, dans le même but, un milieu renfermant à parties égales du bouillon Martin et du sérum de cheval chauffé.

Bouillon-sang. — Culture avec hémolyse (teinte carminée).

Sérum liquide de lapin. — Culture assez abondante.

Lait. — La plupart des Streptocoques coagulent le lait, en trois à cinq jours, en acidifiant fortement; mais un certain nombre d'échantillons ne coagulent pas.

Gélatine. — A 20°-22°, en quarante-huit heures, la culture en strie est mince, blanchâtre, un peu translucide; en piqûre, il apparaît le long du trait d'ensemencement des colonies petites, arrondies, blanc opaque. La gélatine n'est pas liquéfiée.

On a parfois rencontré des cocci en chaînettes liquéfiant la gélatine; ce caractère suffit à les éliminer de l'espèce Streptocoque. Citons le *St. coli gracilis* et le *St. coli brevis*, rencontrés dans l'intestin par Escherich; et le *St. nasalis* de Hack et Strauch.

Achalme a montré que la gélatine, maintenue à 37°, et par conséquent liquide, constitue un bon milieu de culture.

Sang gélosé. — Dans un mélange de gélose (5 parties) et de sang humain (2 parties), les Streptocoques donnent des colonies blanc grisâtre, entourées d'un halo clair, par hémolyse (Schottmüller), caractère un peu inconstant. Schottmüller décrit comme espèce à part *St. mitior seu viridans*, dont le seul caractère distinctif important est de donner sur sang gélosé des cultures d'abord incolores, puis vert foncé, sans hémolyse. En outre les chaînettes seraient courtes.

Gélose (fig. 143). — En surface, la culture est bien développée en vingt-quatre à quarante-huit heures. Les colonies isolées sont blanchâtres, à peine transparentes, rondes ou ovalaires; leur aspect rappelle des grains de semoule. Le centre est généralement plus opaque. Les dimensions sont toujours réduites, en moyenne 2 millimètres, d'autant plus réduites que les colonies sont plus rapprochées.

Quand les colonies sont confluentes, il se forme une nappe continue à bords déchiquetés.

On obtient une culture plus abondante en arrosant la surface avec du sérum.

Sérum coagulé. — Mêmes caractères que sur gélose.

Pomme de terre. — La plupart des Streptocoques ne donnent pas de culture apparente, mais il y a néanmoins un certain développement, comme on peut s'en assurer en raclant et examinant la surface du milieu. De très rares échantillons produisent des colonies visibles, rondes, transparentes puis blanchâtres (Marot).

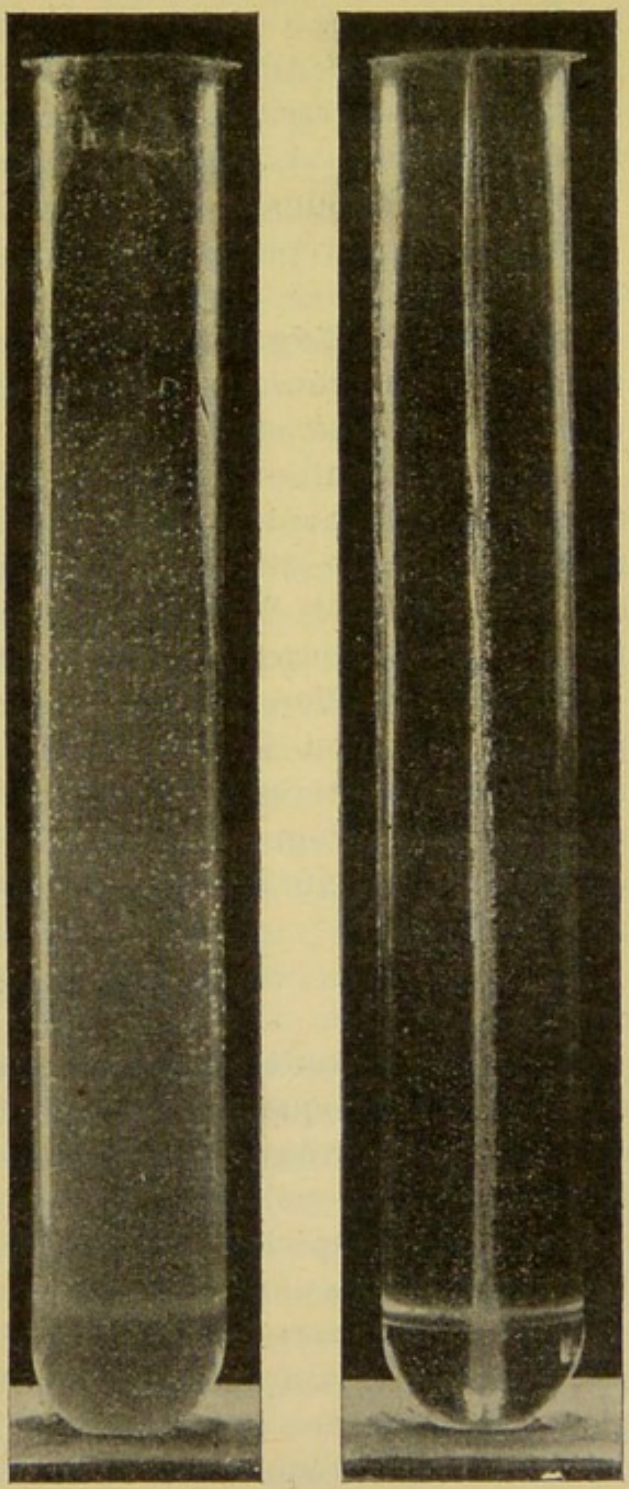


Fig. 143. — Streptocoque sur gélose.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — La vitalité du Streptocoque est fonction des conditions qui lui sont offertes. Cultivé sur bouillon ordinaire, il meurt très vite, en quelques jours, dès que le milieu devient acide (Achalme); on peut le maintenir vivant un peu plus longtemps en additionnant le bouillon de carbonate de chaux (His); mais il vaut beaucoup mieux s'adresser aux milieux de Marmorek ou de Besredka (Voy. ci-dessus), ou au sang gélosé; sur ces divers milieux, la vitalité est beaucoup plus grande (plusieurs mois).

En pipette close, ou dans le sang humain défibriné, le Streptocoque peut demeurer vivant pendant un an.

Le Streptocoque résiste peu à la chaleur : un chauffage d'une heure à 58°, ou de quelques secondes à 100°, le tue sûrement dans les cultures; incorporé au pus, il résiste un peu plus.

Il est très sensible aux antiseptiques usuels.

Réactions bio-chimiques. — Par contre, il se développe normalement en présence de la *bile* (Libman et Rosenthal), contrairement au Pneumocoque.

Son *action sur les sucres* est assez peu connue et probablement d'ailleurs assez variable. Nous avons vu qu'il coagule souvent le lait en l'acidifiant, c'est-à-dire en dédoublant la lactose; suivant Mme Sieber-Schoumoff, il y aurait production d'acide lactique. Beaucoup de Streptocoques attaquent également la glucose, la mannite.

Réactions à l'égard des sérums spécifiques. — En dehors des propriétés préventives et curatives que nous retrouverons en étudiant la sérothérapie, on a surtout étudié l'agglutination.

Agglutination. — Streptocoques de la scarlatine. — Il est actuellement démontré que l'agglutination du Streptocoque par les sérums n'a aucun intérêt; il arrive souvent qu'un sérum agglutine seulement le ou les Streptocoques utilisés dans sa préparation, sans manifester aucune action sur les autres.

A la suite de Moser, on avait pu espérer un moment séparer de par l'agglutination le Streptocoque de la scarlatine; mais les recherches ultérieures de Baginsky et Sommerfeld, Dopter, etc., ont montré que le sérum des scarlatineux ne présente aucune propriété spécifique constante à l'égard de tel ou tel Streptocoque.

POUVOIR PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — *Chez l'homme.* — Le rôle du Streptocoque en pathologie humaine est tellement étendu que nous ne pouvons même énumérer toutes ses manifestations. Nous signalerons seulement les plus importantes.

Il est l'agent spécifique de l'érysipèle (Fehleisen, Achalme), et l'agent habituel des infections puerpérales sous toutes leurs formes, graves ou bénignes (Widal), du phlegmon diffus, de l'ecthyma (Thibierge et Bezançon), de l'impétigo (Balzer et Griffon), des piqûres anatomiques (Achalme), des septicémies chirurgicales, etc.

Il intervient fréquemment dans la genèse des angines simples ou des angines pseudo-membraneuses non diphtériques, des bronchopneumonies primitives ou secondaires, des pleurésies purulentes, des phlébites, des arthrites purulentes, de l'ostéomyélite, des otites, des mastoïdites, des méningites suppurées.

On le rencontre moins fréquemment au cours des simples abcès, des endocardites, des péricardites suppurées, des néphrites, et dans

certaines septicémies médicales. Ces dernières s'accompagnent volontiers d'éruptions, exanthème, érythème polymorphe ou purpura.

En outre, le streptocoque intervient couramment à titre d'infection surajoutée au cours de nombreuses maladies : variole (Widal et Bezançon), grippe, rougeole, fièvre typhoïde (H. Vincent), rhumatisme articulaire aigu et surtout diphtérie (Voy. p. 397) et scarlatine (Marie Raskin); presque toujours l'intervention du Streptocoque marque une aggravation de l'infection primitive (sauf dans le rhumatisme). Sa fréquence dans la scarlatine est telle que nombre d'auteurs ont vu en lui, depuis Bergé, l'agent spécifique de cette fièvre éruptive, mais cette opinion ne semble pas pouvoir être acceptée.

Chez l'animal. — Voyez page 282.

Expérimentalement. — *Chez l'homme.* — Divers auteurs, Fehleisen, Koch, ont inoculé à des malades atteints de cancer des cultures de streptocoques, dans le but de produire un érysipèle curateur. L'inoculation a provoqué le plus souvent l'érysipèle, parfois une septicémie mortelle (Janicke et Neisser).

Chez l'animal. — **Virulence.** — De même que le Staphylocoque, le Streptocoque est doué d'une virulence extrêmement variable; mais la virulence d'un streptocoque peut être presque toujours exaltée ou abaissée, au gré de l'expérimentateur.

Sans faire de cette proposition une loi absolue, on peut dire que les Streptocoques provenant de lésions ou d'états pathologiques (érysipèle, phlegmons, septicémies mortelles, etc.) sont assez souvent virulents pour l'animal. Mais les exceptions sont nombreuses.

La virulence diminue d'elle-même par simple vieillissement, surtout au contact de l'air, ou par les cultures sur milieux ordinaires ; elle se conserve, sans s'exalter, sur bouillon-sérum.

Exaltation de la virulence. — *a.* On peut remonter la virulence en inoculant, en même temps que le Streptocoque, le *Proteus vulgaris* (Monti), le *Micrococcus prodigiosus* ou ses produits solubles (Roger), la peptone putréfiée (Achalme), le Bacille typhique ou ses cultures stérilisées (H. Vincent), le Colibacille (Widal et Bezançon).

b. La culture en sang humain défibriné augmenterait également la virulence (Meyer et Ruppel).

c. Le procédé le plus efficace paraît être le *passage successif d'animal à animal.* Marmorek inocule un lapin dans la veine de l'oreille. Quand l'animal a succombé, on prélève le sang du cœur, qu'on ensemence en bouillon-sérum ; après quarante-huit heures, la culture est inoculée à un deuxième lapin, dont le sang sera ensemencé après la mort, et ainsi de suite. Avec cette méthode, en partant d'un Streptocoque qui tuait le lapin en trois jours à la dose de 1 centimètre cube,

Marmorek a pu obtenir en deux mois un virus qui tue à dose infime, 0cc,000 000 001 ; un seul microbe tue l'animal.

Aronson opère de même avec la souris.

d. A l'aide de l'une ou de l'autre méthode, on peut rendre virulents tous les Streptocoques d'origine humaine.

Lapin. — C'est l'animal de choix.

Inoculation a la base de l'oreille. — Le procédé classique est l'injection, à la base de l'oreille, à dose variable suivant la virulence. Dans les expériences d'essai, on inoculera 1cc,5 d'une culture de quarante-huit heures en milieu liquide. Suivant la virulence, les réactions sont différentes.

A l'inoculation d'un *virus très actif* succède une *septicémie* mortelle en vingt-quatre à quarante-huit heures, sans lésion locale.

Les *virus moyennement actifs* — c'est la majorité — déterminent un *érysipèle* : après vingt-quatre ou quarante-huit heures, la région inoculée est le siège d'un érysipèle typique, bleuâtre ou rouge, parfois couvert de phlyctènes ; l'oreille est tuméfiée et tombante, infiltrée de sérosité qui renferme des Streptocoques. Il existe en même temps un peu d'hyperthermie, avec diarrhée, inappétence. Cet érysipèle peut déterminer la mort en quelques jours, avec ou sans septicémie. Le plus souvent, l'animal survit ; l'érysipèle devient phlegmoneux et suppure, ou bien il guérit sans autre évolution.

Peu virulent, le Streptocoque détermine un simple *abcès*, ou bien une légère rougeur érythémateuse.

Aucune réaction enfin ne se produit avec un microbe dénué de virulence.

Autres inoculations sous-cutanées. — Inoculé en un autre point du tissu cellulaire sous-cutané, le Streptocoque peut déterminer un abcès (sans érysipèle), une septicémie, etc.

Inoculation intraveineuse. — Le procédé est plus sévère que le précédent, mais il ne permet pas d'apprécier aussi facilement la virulence. L'animal meurt en un ou quelques jours. Quand la survie est suffisante, on peut voir survenir des suppurations localisées, spécialement des *arthrites purulentes*. Si on inocule à un lapin jeune, six à dix semaines, une dose telle que l'animal ne meure qu'après au moins huit jours, il apparaît de l'*ostéomyélite* avec suppuration médullaire (Courmont et Jaboulay).

Lésions médullaires consécutives aux injections. — On a vu survenir des accidents médullaires en différentes circonstances : après inoculation intraveineuse, atrophie musculaire progressive (Roger) ; après inoculation sous-cutanée, dans 6 p. 100 des cas, myélite diffuse avec dégénération des cordons blancs, donnant lieu pendant la vie à des paralysies avec troubles

des sphincters, dyspnée, contracture. Ces accidents, bien étudiés par Widal et Bezançon, apparaissent une à huit semaines après l'inoculation et tuent en quelques jours.

Souris. — C'est, après le lapin, l'animal le plus sensible, mais les lésions produites sont moins nettes. Un Streptocoque virulent tue par septicémie. Chose curieuse, le Streptocoque de l'érysipèle est généralement — pas toujours — dénué de virulence pour la souris (Lingelsheim).

Cobaye. — Peu sensible, le cobaye réagit seulement à l'inoculation de Streptocoques très virulents (abcès, péritonite, septicémie, suivant la voie d'inoculation).

Rat blanc, chien. — Ils sont réfractaires.

Cheval, âne. — Relativement à leur poids, ces espèces sont très sensibles. D'ailleurs le Streptocoque attaque souvent le cheval dans les conditions naturelles. La sensibilité du cheval et de l'âne est surtout importante à connaître en vue des applications sérothérapiques.

TOXINES.

La toxine streptococcique n'est pas très active.

I. Chantemesse, puis Manfredi et Traversa ont reconnu que les cultures stérilisées par chauffage ou filtration sont encore toxiques; elles déterminent des parésies et un peu d'hyperthermie.

II. Roger cultive sur bouillie de viande neutralisée, sous l'huile; après quinze jours, le produit est exprimé et filtré sur bougie : le filtrat est toxique pour le lapin à la dose de 13 à 20 centimètres cubes par kilogramme d'animal. A dose plus faible, ce filtrat est prédisposant, c'est-à-dire qu'il diminue la résistance de l'animal. Chauffé à 110°, il n'est plus toxique et se montre au contraire vaccinant.

III. Marmorek (1895) obtient une toxine qui tue le lapin à dose de $0^{cc},5$: culture sur bouillon-sérum, filtration après trois mois.

IV. Le même auteur (1902) indique une nouvelle méthode; on cultive d'abord le Streptocoque dans un mélange de sérum et de leucocytes provenant de cobayes traités au préalable par le sérum spécifique et, par conséquent, très réfractaires à l'action du Streptocoque. Pour obtenir les leucocytes, on injecte du bouillon dans le péritoine, et on recueille l'exsudat vingt-quatre heures après. De ce premier milieu, le microbe est réensemencé dans le bouillon renfermant 10 p. 100 de chacune des deux solutions suivantes, faites dans le bouillon à 60° et filtrées :

1° Leucine..... 1. p. 375
2° Glycocolle..... 1. p. 200

En ensemençant dans ce milieu un Streptocoque très virulent, le filtrat se montre toxique dès le huitième jour, à la dose de 0cc,25 à 0cc,5. Le principe toxique est détruit par chauffage à 70°.

Cette toxine est utilisée pour préparation d'un sérum.

V. Bonome et Bombici ont obtenu une endotoxine en traitant les corps microbiens par la potasse à 7,5 p. 1 000, filtrant et précipitant par l'acide acétique à 1 p. 100; le précipité serait toxique.

Streptocolysine. — La plupart des Streptocoques sécrètent une hémolysine, étudiée spécialement par Besredka, Braun, Mac Leod, etc. L'hémolyse se produit même sur l'animal inoculé (sang dissous, Marmorek). Elle est facilement visible sur les cultures dans le sang gélosé (p. 272). L'hémolysine existe dans les milieux liquides; Jupille préconise de cultiver dans un mélange à parties égales de bouillon et de sérum de cheval; on filtre après vingt-quatre heures d'incubation. Le filtrat est hémolytique; 1 centimètre cube de filtrat hémolyse 0cc,5 d'une émulsion de globules rouges de lapin à 5 p. 100, en quinze à cinquante minutes. L'hémolysine dissout les globules de l'homme, du lapin, de la souris, du cobaye. Elle persiste peu dans les milieux de culture, rarement au delà de cinq jours. Elle est assez résistante à la chaleur, n'est guère modifiée par exposition à 65° pendant trente minutes. Certains sérums normaux (homme, lapin) renferment une *antistreptocolysine*.

SIÈGE.

Chez l'homme. — Le Streptocoque fait partie de la flore normale des muqueuses externes. Constant dans la bouche, sur et dans l'amygdale (Widal et Bezançon), il est souvent présent dans le larynx, sur les grosses bronches (von Besser), dans les fosses nasales et le rhino-pharynx.

On trouve en outre le Streptocoque habituellement dans l'estomac et l'intestin, plus rarement dans le vagin (Widal, Winter), dans l'urètre, sur la peau.

A l'état pathologique, le Streptocoque se rencontre dans les diverses lésions que nous avons signalées (p. 274.).

Chez l'animal. — L'expansion du Streptocoque est mal connue. Il existe tout au moins à l'état normal dans le tube digestif de la plupart des espèces animales, vache, cheval, etc.

Dans les milieux extérieurs. — Eisenberg a décelé le Streptocoque dans l'air des salles d'hôpital, mais il y persiste peu.

Il existe souvent dans les eaux souillées provenant sans doute des excreta; c'est un hôte normal des eaux d'égout (Houston).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic ne peut être porté qu'après constatation du microbe.

Recherche du microbe. — Nous envisagerons seulement la recherche dans l'organisme.

Examen direct. — Sur les exsudats, le pus, etc., on pratiquera des examens directs avec coloration au Gram. La présence de cocci en chaînettes, non capsulés, prenant le Gram, est caractéristique.

Il faut ensuite isoler le microbe en cultures.

Isolement. — Les ensemencements de pus, sérosités purulentes, seront faits de préférence sur milieux solides, gélose ou gélose-sérum, par étalement à la surface. Pour l'érysipèle, piquer le bourrelet et ensemencer le sang.

L'ensemencement des fausses membranes sera pratiqué sur sérum coagulé (milieu qui est en même temps indiqué pour recherche du Bacille de Lœffler).

On ensemencera le sang suivant les méthodes indiquées plus loin pour l'hémoculture (p. 867); il y a généralement hémolyse quand la culture a bien poussé.

Identification. — Sur les colonies isolées, on vérifiera les caractères du Streptocoque (morphologie, cultures). Il est souvent utile de contrôler la virulence expérimentale; dans ce but, inoculer 1 à 2 centimètres cubes de culture de quarante-huit heures en bouillon-sérum à la base de l'oreille du lapin.

Observations. — La présence du Streptocoque signifie infection streptococcique, lorsque l'expertise porte sur un organe ou un tissu normalement exempt de Streptocoques : suppurations de toutes régions, septicémies, etc. Même en pareil cas, il est toujours indispensable de s'assurer si le Streptocoque est pur, ou s'il est associé à d'autres microbes.

La constatation du Streptocoque dans les produits venant de la gorge (angines) et de toutes les régions normalement habitées par lui ne suffit pas à caractériser une infection streptococcique. En attendant de meilleurs critériums, on ne portera ce diagnostic que si le Streptocoque est très abondant, aussi bien dans les examens directs que dans les cultures.

VACCINATION.

a. La préparation des sérums thérapeutiques oblige à vacciner les animaux (cheval) par des méthodes diverses, que nous étudierons avec la sérothérapie.

b. En dehors des faits précédents, la vaccination a été peu étudiée. Roger a pu vacciner le lapin à l'aide de sa toxine vaccinante (Voy. p. 277); Marmorek vaccine le même animal en inoculant des cultures vivantes, cultures anciennes d'abord, puis cultures de plus en plus virulentes. Mironoff, puis Gromakowski inoculent d'abord des cultures stérilisées, puis des cultures vivantes.

c. Chez l'homme, Gabritchewsky a tenté de vacciner des enfants contre la scarlatine en inoculant des cultures stérilisées par la chaleur. La conception et les résultats sont problématiques.

d. On peut conférer à l'animal l'*immunité passive*, en utilisant les propriétés préventives des sérums, dont nous allons parler.

SÉROTHÉRAPIE.

Il existe un grand nombre de sérums antistreptococciques, préparés suivant des méthodes assez diverses, ce qui suffit à montrer qu'on n'a pas encore trouvé la bonne formule de préparation.

La querelle des unicistes et des pluralistes a eu son retentissement dans les tentatives de sérothérapie. Les unicistes ont préparé d'abord un sérum monovalent avec un streptocoque humain de virulence très exaltée; mais, depuis, Marmorek et Aronson paraissent avoir renoncé au sérum monovalent. De même que les pluralistes, ils préparent le sérum en immunisant (au moins en partie) les animaux avec plusieurs échantillons de Streptocoques, inoculés pour ainsi dire à l'état naturel, tels qu'ils sont fournis par les lésions humaines, sans passage par les animaux de laboratoire.

Charrin et Roger ont, les premiers, obtenu un sérum thérapeutique, par immunisation du mulet avec la toxine de Roger (p. 277).

Depuis lors, tous les sérums ont été préparés par injection de microbes vivants; Marmorek (deuxième sérum) injecte en même temps sa toxine.

Premier sérum de Marmorek. — On part d'un Streptocoque à virulence exaltée (p. 275), provenant d'une angine à fausse membrane. On inocule au cheval, sous la peau, d'abord de faibles doses (1 centimètre cube en moyenne) de culture en bouillon-sérum; l'animal réagit fortement (fièvre, œdème local). Quand il est rétabli, on injecte une dose plus forte, et ainsi de suite : après huit à douze mois de traitement, on arrive à inoculer sans accident des doses énormes, 50 à 100 centimètres cubes. On attend vingt-quatre jours après la dernière inoculation (pour permettre l'élimination du microbe et des toxines) avant de faire la saignée.

Le sérum ainsi obtenu n'est pas bactéricide; par contre, il est nettement préventif : administrés vingt-quatre heures avant l'inoculation d'épreuve, 2 centimètres cubes de sérum prémunisent le lapin contre l'injection d'une dose de Streptocoque dix fois mortelle. Mais le pouvoir curatif est limité : si on inocule la même dose dix fois mortelle, on peut encore sauver l'animal en administrant six heures après, 5 centimètres cubes de sérum; au delà, le sérum échoue.

Deuxième sérum de Marmorek. — Depuis 1896, Marmorek paraît avoir renoncé au sérum monovalent. Le nouveau sérum est un mélange de deux sérums préparés différemment : l'un provient de chevaux inoculés avec la toxine, indiquée plus haut ; l'autre est obtenu par inoculation de cultures de streptocoques de toutes provenances (42 échantillons). Ce nouveau sérum est donc polyvalent.

Sérum de Besredka (sérum de l'Institut Pasteur de Paris). — Le sérum est polyvalent. On inocule dans les veines du cheval des émulsions de culture sur gélose-sérum (gélose arrosée de sérum) ; à chaque injection, on introduit dix streptocoques différents, dont neuf de provenance humaine et un exalté par passages successifs sur la souris et le lapin ; ce dernier, sorte de témoin, sert au dosage de l'activité du sérum, les autres Streptocoques étant peu pathogènes pour les animaux de laboratoire. Chaque injection provoque une élévation thermique (plus de 40°), disparue en quarante-huit heures.

Le sérum est expérimentalement curatif et préventif. Pouvoir curatif : on inocule à la souris une dose dix fois mortelle ; vingt-quatre heures après, il suffit, pour la sauver, d'injecter dans le péritoine $0^{cc},001$ de sérum. Le pouvoir préventif est manifeste avec une dose de sérum dix fois moindre.

Autres sérums. — Le sérum d'Aronson est préparé comme le sérum de Besredka (un virus exalté mélangé à des virus non exaltés). Tavel, Menzer, emploient exclusivement des virus non exaltés. Denys inocule plusieurs échantillons de virulence exaltée.

Résultats thérapeutiques. — Il est très difficile d'apprécier les résultats obtenus avec les divers sérums antistreptococciques, parce que, l'érysipèle mis à part, les infections streptococciques sont de gravité très variable. Dans l'infection puerpérale, qui est le plus souvent (pas toujours) due au seul Streptocoque, la plupart des accoucheurs (Budin, Charpentier, etc.) n'ont tiré aucun bénéfice du sérum de Marmorek ; Pinard le considère, par contre, comme un adjuvant très précieux. Il n'en est certainement pas de même dans les septicémies chirurgicales. La plupart des sérums préparés dans ces dernières années ne semblent d'ailleurs pas avoir fait l'objet de recherches cliniques régulièrement suivies.

Sérum antiscarlatineux. — Nous avons signalé la conception de Moser : la scarlatine serait provoquée par un Streptocoque spécifique. Imbu de cette idée, Moser prépare un sérum antiscarlatineux par inoculation de plusieurs races de Streptocoques provenant de scarlatineux.

Le sérum de Moser a été employé largement, souvent avec succès. Escherich annonce une mortalité de 6,70 p. 1 000 chez les malades traités, contre 16,41 chez les non traités ; Bokay, Schick et bien d'autres, ont obtenu également des résultats encourageants. Par contre, Moltchanoff,

Bilik, dénient au sérum de Moser toute efficacité. Cette discordance de vues démontre que le sérum n'est pas spécifique, ce qui était d'ailleurs certain ; mais on peut comprendre, d'autre part, qu'un sérum antistreptococcique polyvalent puisse avoir quelque utilité dans une maladie qui s'accompagne communément d'infections à Streptocoques dans ses formes graves.

STREPTOCOQUES D'ORIGINE ANIMALE.

Streptocoque de la mammite streptococcique de la vache. — Ce microbe, décrit par Nocard et Mollereau, présente la morphologie et les caractères de culture du Streptocoque type. Il en diffère par ses réactions colorantes et ses aptitudes pathogènes : il se décolore incomplètement par le Gram ; il n'est pas pathogène pour les animaux de laboratoire ; inoculé dans la mamelle de la vache ou de la chèvre, il reproduit la mammite spécifique.

Streptocoque de l'anasarque du cheval. — Identique en tous points au Streptocoque exalté de Marmorek (Lignières). L'affection est traitée avec succès par le sérum de Marmorek, qui réduit de trois quarts la mortalité.

Streptocoque de la gourme (cheval). — Décrit par Schütz, le *St. equi* présente les caractères morphologiques et culturaux du Streptocoque type ; les cultures sur sérum coagulé sont cependant plus abondantes.

Le Streptocoque de la gourme pousse dans les filtrats du Streptocoque type (Marmorek) ; inversement, le Streptocoque ordinaire pousse dans les filtrats du *St. equi* (Pricolo).

La souris est très réceptive. Un virus très actif tue par septicémie ; un virus moins actif produit un abcès local avec infection lymphatique (adénite) et abcès à distance.

Le lapin est également sensible ; le cobaye, beaucoup moins.

L'inoculation au cheval provoque des lésions gourmeuses : abcès (inoculation sous-cutanée), localisations diverses (inoculation intranasale), etc. L'âne et le mulet sont moins réceptifs (Voy. plus haut, p. 268, l'*action des sérums antistreptococciques*).

CHAPITRE XIX

TÉTRAGÈNE

La Tétragène, ou *Micrococcus tetragenes*, a été vu d'abord par Koch (1895) dans le contenu d'une caverne pulmonaire et étudié ensuite par Gaffky.

L'espèce Tétragène comporte plusieurs variétés. On a pensé tout

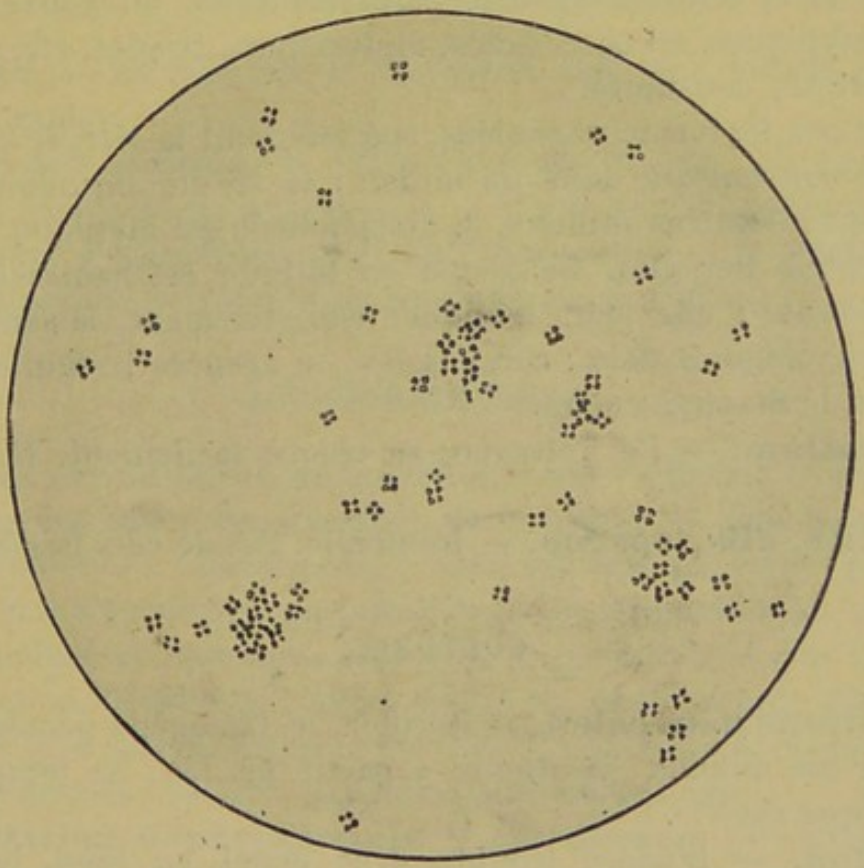


Fig. 144. — Tétragène.

d'abord qu'il fallait séparer le Tétragène virulent (*Tetragenes septicus*) des autres Tétragènes, inoffensifs pour l'animal ; mais les observations ultérieures ont montré que la plupart des variétés, bien qu'habituellement saprophytes, peuvent être éventuellement pathogènes pour l'homme.

Le Tétragène est caractérisé surtout par sa morphologie très spé-

ciale. Ses autres attributs, propriétés culturales, virulence, etc., sont plus contingents.

Le *Micrococcus tetragenes albus* est le mieux étudié.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — La forme type est une tétrade entourée d'une capsule (fig. 144).

Dans l'organisme (produits d'expectoration, pus, organes), cette forme type se rencontre fréquemment. Chaque élément de la tétrade est un coccus, de diamètre très variable, 1 μ en moyenne, souvent aplati sur les faces d'accolement. La capsule, large, irrégulière, représente volontiers un carré à angles mousses, un peu étranglé sur les faces (aspect de ballot ficelé en croix).

A côté de la tétrade capsulée caractéristique, on trouve d'autres formes atypiques, en cocci isolés, diplocoques, triades, etc. ; la capsule n'est pas constante.

En cultures, les formes capsulées, spécialement la tétrade capsulée, ne se retrouvent que dans un milieu : le sérum liquide de lapin.

Sur tous les autres milieux, la morphologie est atypique. La capsule manque toujours. La forme en tétrade est habituelle, mais non constante ; elle peut manquer complètement, faisant place à une morphologie banale : cocci isolés, ou agencés irrégulièrement, rappelant le Staphylocoque.

Coloration. — Le Tétragène se colore facilement. *Il prend le Gram.*

Mobilité, cils, spores. – Immobile. Pas de cils. Pas de spores.

CULTURES.

Conditions générales. — Aérobie, le Tétragène pousse facilement sur les milieux habituels, à partir de 15° ; la température eugénésique est 37°.

Bouillon. — D'abord trouble avec dépôt au fond, le milieu s'éclaircit rapidement ; dépôt abondant, visqueux ; la réaction devient nettement alcaline.

Gélatine. — Sur plaques. — Les colonies superficielles sont blanches, un peu gluantes, bombées, atteignant 1 à 2 millimètres de diamètre.

En piqures. — *Culture en clou.* Disque ou bouton blanc à la surface, filet blanc dans la profondeur.

En strie. — Culture blanche, épaisse, gluante.

La gélatine n'est pas liquéfiée.

Gélose inclinée. — Comme sur gélatine en strie.

Pomme de terre. — Comme sur gélatine en strie.

Lait. — Non coagulé ; développement peu abondant.

Anomalies. — Le Tétragène, défini surtout par son aspect microscopique, ne semble pas constituer une espèce fixe. Les caractères fondamentaux peuvent varier : certains échantillons liquéfient la gélatine (Chauffard et Ramond) ou coagulent le lait.

Variétés. — A côté du *Tetragenes albus*, il existe d'autres variétés. Les plus fréquentes sont chromogènes sur les milieux solides, où elles donnent des cultures jaunes (*T. aureus*), jaunâtres (*T. subflavus*), rouges (*T. ruber*). On a même décrit une variété mobile (*T. mobilis ventriculi*).

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — En cultures, le Tétragène demeure vivant pendant plusieurs mois.

Action des sérums. — Chez l'homme infecté, on peut constater l'existence d'une agglutinine et d'une sensibilisatrice, spécifiques pour l'échantillon infectant (Sacquépée). On recherchera l'agglutinine par le procédé macroscopique (p. 64).

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — *Chez l'homme*, le Tétragène détermine des affections diverses : des septicémies sans localisation (fièvre éphémère, Sacquépée) ; des septicémies avec pleurésie (Faisans et Le Damany), purpura (Roger et Trémolières), endocardite (Chauffard et Ramond), érythème infectieux ; — ou bien des manifestations localisées : abcès dentaires, abcès froids (Boutron), angines à type spécial (angines sableuses, Dieulafoy et Apert), pleurésies purulentes (Netter), gangrène pulmonaire, etc.

Inoculation expérimentale. — Virulence. — La virulence est très variable, tantôt nulle, tantôt considérable. La virulence peut être exaltée par injection de tuberculine ou de cultures stérilisées de Tétragène (P. Teissier).

Les animaux les plus sensibles sont la souris blanche et le cobaye ; le lapin résiste plus.

Souris. — Par injection sous-cutanée, quelques gouttes de culture virulente provoquent la mort en un à trois jours ; les microbes se trouvent en abondance dans les organes. Au point d'inoculation, il

peut n'exister aucune réaction apparente ; le plus souvent on note un abcès, une escarre ou simplement de l'induration.

Cobaye. — P. Teissier a montré que les effets de l'injection varient avec la virulence.

Injecté sous la peau, le microbe peu virulent détermine une escarre sèche. Plus virulent, il provoque la formation d'un abcès caséeux, sans réaction inflammatoire. L'injection d'un virus très actif provoque une collection séreuse ou séro-purulente; l'animal succombe tardivement avec septicémie tétragénique.

Par injection intrapéritonéale, on observe, suivant la virulence : ou bien une hyperémie légère du péritoine ; ou bien un exsudat séreux ou hémorragique ; ou bien enfin une péritonite purulente généralisée avec pus visqueux et crémeux.

Lapin. — L'inoculation sous-cutanée provoque un abcès froid.

TOXINES.

Les cultures, chauffées trois jours de suite pendant une heure à 60°, sont encore toxiques pour le cobaye par injection intrapéritonéale ; l'injection détermine de l'hyperthermie.

Les cultures chauffées à 115°, moins toxiques, provoquent, au contraire de l'hypothermie (P. Teissier).

Les cultures chauffées ne sont pas pyogènes.

SIÈGE.

Le Tétragène se rencontre dans l'organisme humain :

1° A l'état normal, dans la bouche, le mucus nasal, les fèces ; il s'y comporte comme un saprophyte ;

2° A l'état pathologique, dans les diverses manifestations locales ou générales signalées plus haut. Il est en outre souvent associé à d'autres microbes pathogènes ; c'est à ce titre qu'il est très souvent présent dans les cavernes tuberculeuses du poumon.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic d'une infection à Tétragènes ne peut être fixé qu'après constatation du microbe.

Dans les lésions locales, il faut : 1° voir le microbe (forme particulière, résistance au Gram. Les constatations morphologiques sont ici de première importance) ; 2° le cultiver et vérifier ses caractères. Les ensemencements sur gélose donneront facilement des colonies isolées.

En cas d'infection générale (septicémie), on doit se contenter des

cultures du sang. Il sera alors utile de vérifier par la recherche des anticorps si l'infection est réelle (il pourrait s'agir de contamination accidentelle).

Dans tous les cas, le microbe isolé sera inoculé à la souris ou au cobaye, pour étudier sa virulence sur l'animal et pour essayer de retrouver dans les organes les tétrades capsulées.

L'*identification du microbe* n'est pas toujours facile. En cultures, on peut confondre avec le Staphylocoque. Il faut voir les capsules. On s'adressera aux inoculations; si le microbe n'est pas virulent, on cultivera en sérum liquide de lapin.

Les autres moyens différentiels : absence de coagulation du lait, absence de liquéfaction de la gélatine, sont parfois en défaut.

PARATÉTRAGÈNE ZOOGLÉIQUE.

Étudié par Bezançon et de Jong, ce microbe paraît être identique au *Tetracoccus buccalis*, décrit antérieurement par Roger.

Il se présente (produits naturels et cultures) sous une forme très particulière : gros placards, formés de diplocoques petits et peu colorés, au milieu desquels tranchent, de place en place, de grosses tétrades plus colorées; une substance homogène, comme une zooglée, unit tous les éléments. Les grosses tétrades seules prennent le Gram, non les éléments plus petits.

Cultures semblables au *Tetragenes albus*, mais il pousse peu sur gélatine ; il conserve sa forme typique en sérum liquide de lapin.

Saprophyte habituel des voies respiratoires.

CHAPITRE XX

PNEUMOCOQUE

Le Pneumocoque a été décelé tout d'abord par Pasteur, Chamberland et Roux (1881), dans le sang de lapins inoculés avec la salive d'un enfant mort de la rage. On a vu depuis qu'il est, en réalité, un

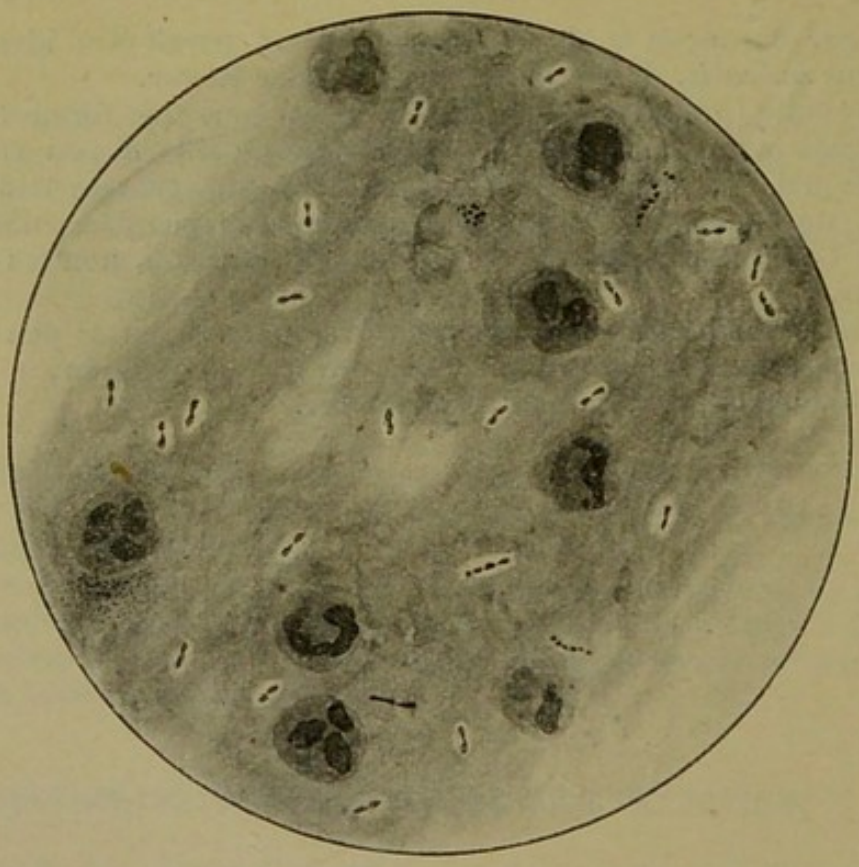


Fig. 145. — Crachats de pneumonie à pneumocoques.

hôte normal de la bouche. Au point de vue pathogène, il est avant tout l'agent de la pneumonie humaine, où il a été étudié par Talamon, puis par Frænkel. Il faut connaître quelques synonymes : *Diplococcus pneumoniæ*, *Diplocoque de Talamon-Frænkel*, *Micrococcus lanceolatus*, *Micrococcus Pasteuri*.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — *Dans les tissus et produits pathologiques*, la forme type est un diplocoque lancéolé et capsulé (fig. 146 et 148). Chaque élément, de longueur 0 μ, 5 à 1 μ en moyenne, est allongé et présente une extrémité plus grosse (forme de grain d'orge, de flamme de bougie); les deux éléments s'accolent d'ordinaire par le bout effilé. Moins souvent, le coccus est isolé, ou bien

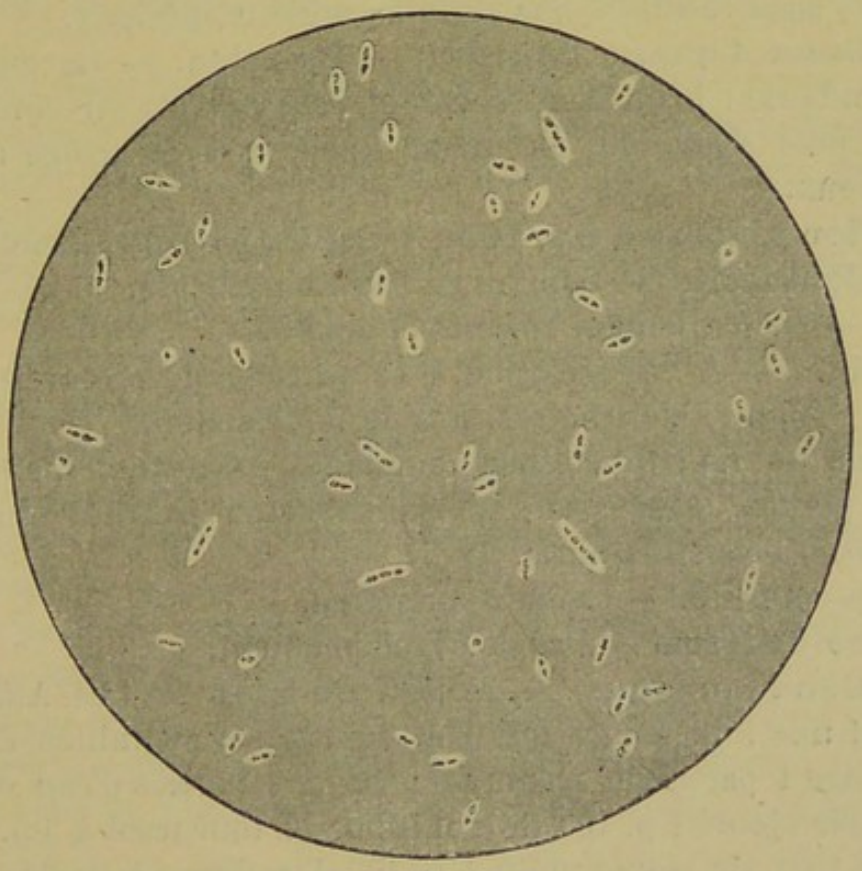


Fig. 146. — Pneumocoque avec capsules négatives (culture en sérum liquide de lapin).

au contraire il forme de courtes chaînettes de diplocoques lancéolés. Dans tous les cas, la capsule entoure l'ensemble de la formation, qu'il y ait un, deux éléments ou plus.

Dans les milieux de culture albumineux, même aspect capsulé et lancéolé; la capsule est particulièrement nette en sérum liquide de lapin jeune (Bezançon et Griffon; fig. 146).

Dans les milieux non albumineux, la capsule disparaît; les formes en chaînettes et même en petits amas sont moins rares; les éléments sont souvent moins allongés: dispositions peu caractéristiques.

Coloration. — Le Pneumocoque se colore facilement par les couleurs d'aniline. *Il prend le Gram.*

On colorera la capsule par les procédés décrits page 242.

Mobilité. — Spores. — Immobile. Pas de spores.

CULTURES.

Conditions générales. — La culture du Pneumocoque est assez délicate. Il se développe le mieux à 37° (limites extrêmes : 24° et 42°), en présence de l'air (bien qu'étant anaérobie facultatif), en milieux légèrement alcalins. Les milieux d'usage courant donnent de moins bons résultats que certains milieux spéciaux.

I. **Milieux d'usage courant. — Bouillon.** — La culture est peu abondante : le milieu se trouble légèrement en vingt-quatre heures, puis s'éclaircit, en même temps que se forme un dépôt poussiéreux.

Bouillon glucosé à 8 p. 100. — Culture plus abondante (Turro).

Bouillon-ascite. — Comme en bouillon glucosé.

Lait. — Généralement coagulé et acidifié.

Gélatine. — A 24° (gélatine à 15 p. 100), il se développe des colonies maigres, blanchâtres. Pas de liquéfaction.

Gélose. — La culture, peu abondante, est néanmoins typique : colonies petites, transparentes, visibles surtout par réflexion ; aspect de *gouttes de rosée* (Frænkel).

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Pomme de terre. — Pas de développement.

II. **Milieux spéciaux. — Milieu de Hiss.** — Les Américains attachent une importance qui paraît excessive au milieu de Hiss : on mélange 1 partie de sérum de bœuf à 2 parties d'eau distillée ; après avoir ajouté 1 p. 100 de solution de tournesol à 5 p. 100, on chauffe à 100°. On ajoute enfin 1 p. 100 d'inuline, et on stérilise par chauffage discontinu à 100°. On peut substituer à l'inuline la glucose ou tout autre sucre.

Le Pneumocoque type fermente l'inuline en milieu de Hiss : le milieu rougit et se coagule ; mais il y a de nombreuses exceptions. Le Streptocoque type ne fermente pas.

Sérum liquide de lapin jeune. — Mosny a montré que le sérum de lapin constitue un bon milieu de culture ; Bezançon et Griffon ont préconisé à juste titre le sérum liquide de lapin jeune, milieu d'autant plus favorable que l'animal est plus jeune.

Dans ce milieu, le Pneumocoque pousse abondamment en le troublant uniformément ; il prend le dessus sur les autres microbes et revêt son aspect microscopique caractéristique (diplocoque lancéolé capsulé). C'est un excellent *milieu de diagnostic*.

On peut utiliser également le sérum de jeune cobaye.

Par contre, le sérum de lapin âgé est beaucoup moins favorable.

Gélose-sérum glucosée à 2,5 p. 100 (Buerger). — Colonies en cratère : centre déprimé et transparent, bords surélevés et laiteux (*ring forme*).

Milieux au sang. — Gilbert et Fournier ont reconnu que le sang défibriné est un bon milieu de culture et de conservation, où le Pneumocoque garde assez longtemps sa vitalité et sa virulence.

Sur sang défibriné coagulé (Gilbert et Fournier), la culture en strie donne au milieu une teinte d'abord verdâtre, puis jaune-chamois.

Bezançon recommande comme *milieu de conservation* le *sang de lapin gélosé*. Colonies grisâtres, faisant virer au jaune verdâtre la teinte primitivement brune du milieu ; mêmes caractères sur le *sang humain gélosé* (Schottmüller).

Milieux de Truche, Cramer et Cotoni. — Les auteurs recommandent plusieurs formules différentes, suivant le but cherché.

Milieu pour conserver la vitalité : préparer 4 grammes de peptone Chapotaut (mélange d'albumoses et de peptone), 0gr,50 de sel, 0gr,2 de glucose, compléter d'eau jusqu'à 100 ; alcaliniser légèrement. C'est le *milieu* T. — On peut solidifier en ajoutant de la gélose ; ne pas filtrer la gélose. — Sur ces milieux, le Pneumocoque pousse abondamment.

Milieu pour les premières cultures (au sortir de l'organisme) : ajouter au milieu T un tiers d'ascite.

Milieu pour conserver la virulence : cultiver d'abord dans le milieu T ; à la culture développée, ajouter deux tiers de gélatine à 15 p. 100, préparée avec de l'eau physiologique et alcalinisée ; conserver à la glacière.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Le Pneumocoque résiste peu à l'action de la *chaleur* ; un chauffage de dix minutes à 56°, ou de quelques secondes à 70°, suffit à le tuer. Il supporte, par contre, une *congélation* de quarante-huit heures (Mosny).

Il est très sensible aux *solutions antiseptiques* usuelles.

Dans les produits organiques (crachats) desséchés, le Pneumocoque, enrobé d'albumine, vit quelque temps, en moyenne trente-cinq jours (Wood), parfois cent quarante jours (Spolverini). Il est également vraisemblable qu'il se conserve longtemps dans les poussières.

Dans les cultures, la vitalité est en connexion étroite avec les conditions de milieu.

Le Pneumocoque périt très vite, en quelques jours, en culture sur les milieux usuels; mais la vitalité est beaucoup plus longue sur certains milieux spéciaux, signalés plus haut. Bezançon et Griffon l'ont trouvé vivant après un an, sur sang gélosé; ils estiment que, dans les milieux albumineux, la vitalité est en raison inverse de l'intensité du développement. Cotoni et Truche, sur leur milieu spécial, ont conservé le Pneumocoque vivant à l'étuve pendant un an, à la glacière pendant deux ans. Carnot et Fournier l'ont gardé vivant pendant sept mois en cultivant sur un filtrat de pulpe cérébrale. La prétendue fragilité du Pneumocoque est donc une légende, née d'une technique insuffisante.

Parmi les causes de déchéance du Pneumocoque dans les cultures, deux ont été discernées : l'air d'une part, l'acidité d'autre part lui sont funestes. Aussi le conserve-t-on plus facilement en pipettes closes, à l'abri de l'air; et il demeure vivant plusieurs mois dans les milieux ordinaires additionnés de carbonate de chaux, ce dernier saturant les acides formés (Würtz et Mosny).

Réactions biochimiques. — Action dissolvante de la bile (*Phénomène de Neufeld*). — Neufeld a constaté que la bile dissout le Pneumocoque : en versant $0^{cc},1$ ou $0^{cc},2$ de bile de lapin dans 2 centimètres cubes de culture de vingt-quatre heures en bouillon, le milieu s'éclaircit en trois à vingt minutes; les microbes sont complètement dissous. On peut substituer à la bile des sels biliaires : le « choléate de soude » de Merck (Nicolle et Adil-Bey), qui agit à la dose de 1 p. 1000, en présence de sulfate de magnésie; ou bien le taurocholate de soude à 5 p. 100 (R. Lévy). La présence d'ascite ou des sucres fermentescibles gêne la réaction.

D'après Cotoni, seuls les pneumocoques virulents sont solubles dans la bile; les pneumocoques avirulents au contraire sont insolubles. Cette propriété est donc inconstante.

Fermentation des sucres. — Le Pneumocoque, cultivé en milieu de Hiss, fermente la glucose, la lactose, la saccharose. Nous avons vu que la fermentation de l'inuline est considérée par Hiss comme un caractère constant de grande valeur différentielle (le Streptocoque type ne fermentant pas l'inuline), mais cette constance est très discutée (Berry, Buerger).

Parmi les produits de fermentations, Würtz et Mosny ont trouvé de l'acide formique.

Action du sel. — Le Pneumocoque végète mal dans les milieux renfermant plus de 8 p. 1 000 de chlorure de sodium (Gilbert et Carnot).

Réaction à l'égard des sérums. — Agglutination. — Bezançon et Griffon (1897) ont montré les propriétés agglutinantes du sérum chez l'homme infecté ou chez l'animal inoculé.

Il faut recourir au procédé des cultures (p. 64). Le sang est recueilli *aseptiquement* : chez l'homme, par ponction de veine; on récolte le sérum,

bien clair; on ensemence le Pneumocoque d'une part dans ce sérum, d'autre part dans un sérum humain normal. Alors que le Pneumocoque conserve son aspect type dans ce dernier milieu, il se modifie dans le sérum agglutinant : l'examen microscopique, après vingt-quatre heures à 37°, montre des amas ou bien des chaînettes enchevêtrées, avec très peu de diplocoques. D'après Neufeld, les sérums forts donnent des cultures en amas; les sérums moins actifs donnent des cultures en chaînettes.

Le pouvoir agglutinant du sérum apparaît au cours des diverses infections à Pneumocoques (Voy. plus loin); dans la pneumonie franche, il est bien marqué vers le sixième ou septième jour et diminue après guérison, pour disparaître après quelques semaines.

D'autre part, le sérum agglutine toujours davantage et parfois même exclusivement (à l'exclusion des autres échantillons de Pneumocoques), le Pneumocoque provenant de la bouche ou de la lésion du malade. Cette dernière particularité implique que la plupart des infections pneumococciques sont provoquées par un Pneumocoque antérieurement présent, et dont la virulence s'est exaltée.

Les applications pratiques du séro-diagnostic sont limitées, en raison de la délicatesse du procédé et surtout de l'individualité étroite de chaque Pneumocoque à l'égard des sérums.

Autres anticorps. — Il existe une précipitine dans le sérum des pneumoniques (Wadsworth) et dans le sérum des animaux immunisés (Neufeld).

Les mêmes sérums, humain (Römer) ou animal, renferment une sensibilisatrice.

ACTION PATHOGÈNE.

I. **Dans les conditions naturelles.** — *Chez l'homme.* — Le Pneumocoque est l'agent spécifique de la pneumonie lobaire.

On le rencontre souvent dans nombre de processus suppuratifs : il est l'agent le plus habituel des méningites sporadiques (dans 18 cas sur 31, Netter) ; agent fréquent des pleurésies purulentes, des péritonites suppurées; agent occasionnel des abcès, des arthrites, des ostéomyélites, des otites suppurées, de l'infection puerpérale.

Il provoque également des processus non suppurés : conjonctivite aiguë, angines simples ou pseudo-membraneuses, bronchite simple, bronchopneumonie, pleurésie fibrineuse, néphrite, endocardite.

Ces diverses localisations anatomiques peuvent être ou primitives, ou secondaires à une pneumonie.

Il détermine assez souvent des septicémies.

Chez l'animal. — Quelques septicémies du cobaye (Voy. p. 190).

II. **Inoculations expérimentales.** — *Chez l'homme.* — Les deux frères Klemperer se sont inoculé sous la peau la dose de culture mortelle pour le lapin; l'un d'eux a présenté un peu de tuméfaction locale et un malaise passager; l'autre n'a pas réagi.

Comparativement à d'autres espèces animales, l'homme est certainement doué d'une grande résistance.

Chez les animaux. — **Virulence.** — La virulence est assez variable. Originellement, l'inoculation de crachats pneumoniques détermine à peu près toujours une infection pneumococcique mortelle ; au contraire, les premières cultures obtenues avec ces mêmes crachats sont loin d'être toujours virulentes (Duval et Lewis).

La virulence baisse rapidement dans la plupart des milieux artificiels ; elle se conserve mieux sur certains milieux spéciaux (sang gélosé, milieu T-

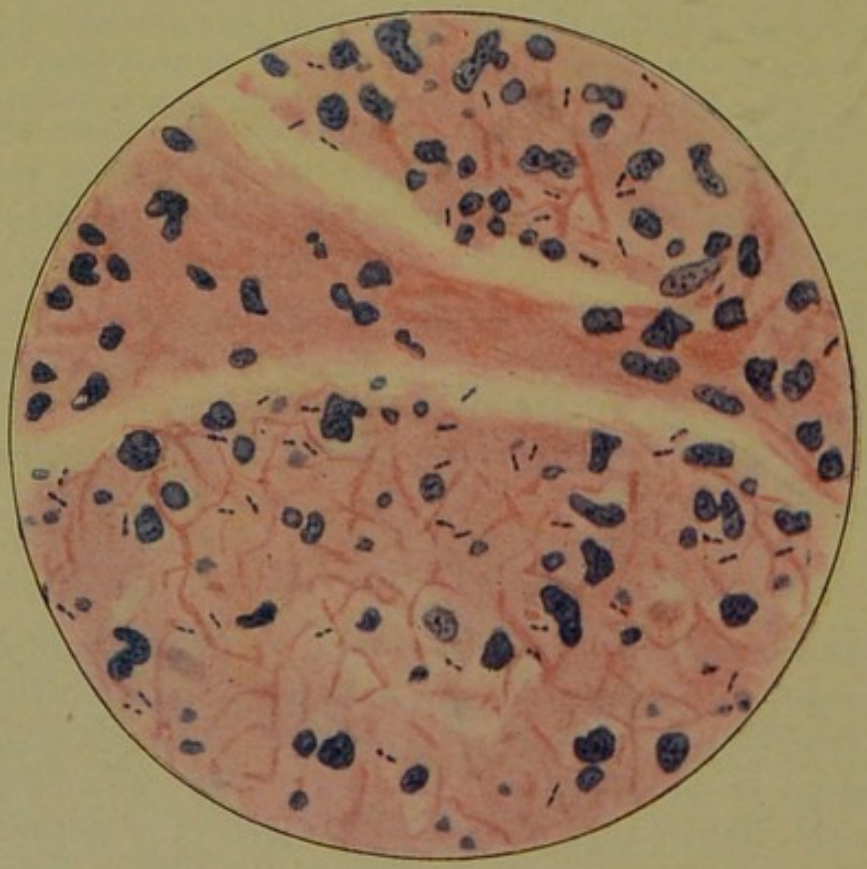


Fig. 147. — Coupe de poumon atteint de pneumonie (coloration par le Gram).

gélatine) signalés à propos des cultures. Le procédé suivant suffit généralement à conserver le Pneumocoque virulent pendant plusieurs mois : inoculer au lapin ; après la mort, recueillir le sang du cœur, conserver en ampoule scellée, à l'obscurité et au frais. Au moment de l'emploi, cultiver dans les milieux habituels et inoculer cette culture.

D'après Truche, Cramer et Cotoni, les Pneumocoques, originellement très virulents pour la souris, gardent leur virulence après des passages répétés (162 passages) chez cet animal. Au contraire, les échantillons moins virulents s'atténuent au fur et à mesure des passages.

Exaltation de la virulence. — On peut exalter la virulence en inoculant avec la culture un filtrat de culture du *Proteus vulgaris*. Issaëff a recours aux passages successifs.

On prélève 1 à 1cc,5 de sang chez un lapin mort de septicémie pneumococcique ; injecter dans le péritoine d'un deuxième lapin ; après la mort, prélever le sang du deuxième lapin, injecter dans le péritoine d'un troisième, et ainsi de suite. Diminuer progressivement les doses à partir du dixième au douzième passage. On arrive à obtenir un virus tel que IV à VI gouttes de sang tuent le lapin en douze à quinze heures (sous la peau).

Comme beaucoup d'autres microbes, *le Pneumocoque détermine des lésions locales d'autant moindres que l'infection est plus sévère*, et inversement.

Souris. — Extrêmement sensible, la souris blanche ou grise

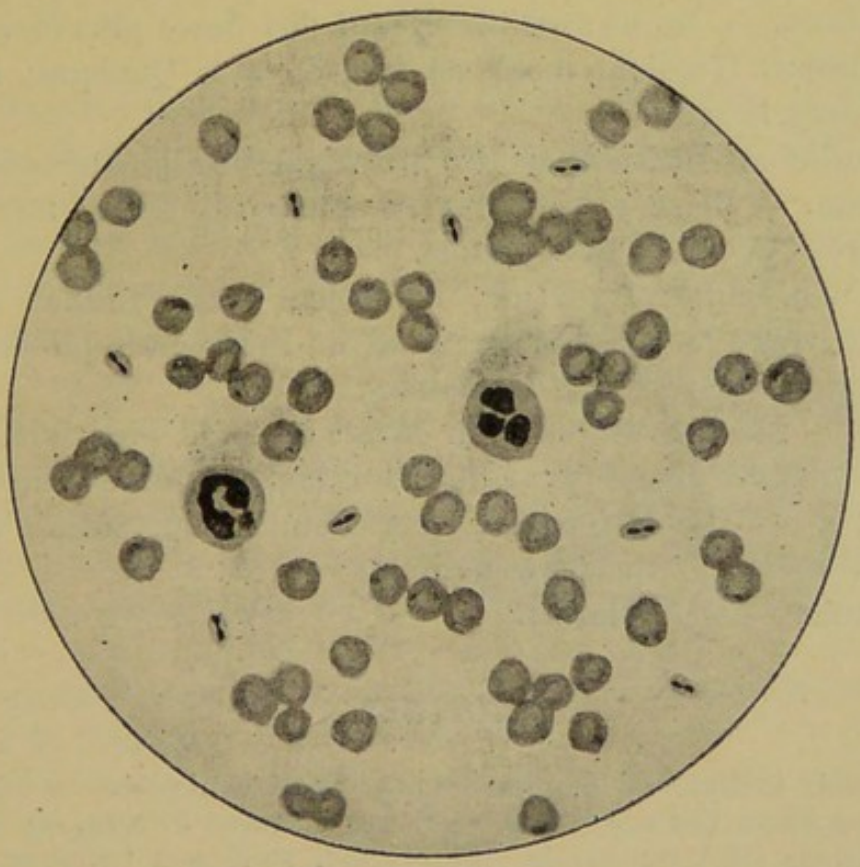


Fig. 148. — Sang de souris infectée par le Pneumocoque. Capsules colorées.

constitue un excellent réactif du Pneumocoque. On peut inoculer par scarification (base de la queue) ou par injection sous-cutanée ; l'animal meurt généralement en vingt-quatre heures ou moins, si le microbe est virulent. Peu (œdème) ou pas de lésion locale. A l'autopsie : sang dissous, rate grosse ; le Pneumocoque pullule dans le sang (fig. 148), les viscères et les tissus.

Lapin. — Très sensible, moins que la souris.

Un Pneumocoque très virulent, injecté *sous la peau*, à la dose de 1 centimètre cube, tue l'animal en vingt-quatre à quarante-huit heures. Léger œdème au point d'inoculation ; purpura viscéral (gros intestin surtout, Carnot et Fournier) et purpura sous-cutané (Foa,

Bezançon et Griffon). Le Pneumocoque est très abondant partout (*Pneumocoque hémorragique* de Foa).

Moins virulent, le Pneumocoque provoque une lésion locale plus marquée, œdémateuse ou pseudo-membraneuse ; la mort est plus tardive (*Pneumocoque œdématogène* de Foa). Un Pneumocoque peu virulent, inoculé sous la peau, peut produire à distance des abcès ou des arthrites purulentes (Bezançon et Griffon).

L'injection *intratrachéale* provoque parfois — rarement — une pneumonie lobaire. L'injection *intracérébrale* est particulièrement sévère (Carnot et Fournier).

Rat blanc. — Moins sensible, il faut des doses plus élevées pour tuer l'animal. L'œdème local est très étendu. Quelques Pneumocoques dans le sang.

L'inoculation intrapulmonaire provoque une pneumonie.

Mouton. — Moins sensible encore que le rat blanc ; mêmes réactions après injection sous-cutanée.

L'inoculation intratrachéale, inefficace chez l'animal non préparé, détermine la pneumonie quand on inocule au préalable dans la trachée du tartre stibié (Gamaleia).

Chien. — Mêmes réactions que le rat, à doses plus fortes. L'inoculation intratrachéale reproduit parfois la pneumonie (Tchistovitch).

Cobaye. — Très réfractaire, il succombe pourtant à l'injection intrapéritonéale de virus très actifs.

Oiseaux. — Réfractaires.

TOXINES.

Le pouvoir toxique du Pneumocoque paraît très limité.

Toxines dans les cultures. — I. Les cultures filtrées, ou stérilisées par la chaleur (58°) ou par le chloroforme, sont peu toxiques (Issaëff). Foa et Bonome, puis les frères Klemperer ont cependant avancé que le précipité alcoolique des cultures, poudre blanc jaunâtre qu'ils appellent *pneumotoxine*, redissous dans l'eau, est toxique pour le lapin ; il est détruit à 60°. Le précipité obtenu par le sulfate d'ammoniaque est beaucoup moins toxique.

II. Carnot et Fournier (1900) signalent des résultats plus appréciables. Ils cultivent le Pneumocoque dans un tube à essai perforé et couvert d'une membrane de collodion ; le tube plonge dans un milieu nutritif, qu'on peut prélever ou remplacer à volonté. Le Pneumocoque y vit pendant des mois. Par dialyse, les toxines passent dans le milieu extérieur au tube. Ce liquide, concentré dans le vide, est toxique pour le lapin ; l'inoculation provoque surtout des lésions musculaires : dégénérescence et rupture des muscles, surtout aux lombes ; cœur gros et de teinte feuille morte. L'injection dans le poumon reproduit les diverses formes des lésions pneumococciques humaines : pneumonie franche, pneumonie grise, pneumonie épithéliale.

Toxines dans les organes. — I. La macération aqueuse d'organes et de muscles des animaux qui ont succombé à l'infection pneumococcique se montre légèrement toxique (Foa et Bonome, Emmerich, Mosny).

II. Issaëff (1893) s'adresse au sang. Quatre lapins sont inoculés avec le virus exalté (p. 295); après la mort, on recueille et mélange le sang des quatre animaux, on ajoute volume égal d'eau glycérinée à 1 p. 100 et alcalinisée (V à VI gouttes de solution concentrée de bicarbonate de soude p. 100 centimètres cubes); après mélange, on filtre. Le liquide obtenu, peu toxique, tue *quelquefois* le lapin à la dose de 20 à 30 centimètres cubes. La toxicité est atténuée par chauffage à 70°, détruite à 100°. Les exsudats péritonéaux recueillis chez les mêmes animaux sont également un peu toxiques après filtration.

SIÈGE.

Dans les conditions naturelles, le Pneumocoque ne se rencontre guère que chez l'homme; exceptionnellement, chez des animaux affaiblis (Voy. p. 190).

Chez l'homme, à l'état normal, le Pneumocoque est un parasite habituel de la bouche et de ses annexes : il existe dans la salive, plus souvent chez les anciens pneumoniques (4 fois sur 5) que chez les autres (1 fois sur 5) d'après Netter ; dans la bouche et le rhino-pharynx, His le rencontre 85,7 fois sur 100 sujets; Bezançon et Griffon l'ont décelé d'une manière constante à la surface de l'amygdale. La virulence diminue chez les anciens pneumoniques pendant deux semaines après la guérison, pour réapparaître ensuite (Netter); elle serait plus marquée pendant l'hiver.

Il existe également parfois, à l'état normal, dans les fosses nasales et même le poumon.

A l'état pathologique, le Pneumocoque se rencontre tout d'abord dans les lésions qu'il provoque (Voy. p. 293), dans le bloc pneumonique (fig. 147) et dans les crachats ; dans certaines collections et sérosités purulentes, etc. Il peut, en outre, parfois être décelé dans le sang, spécialement au cours de la pneumonie.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic bactériologique est basé exclusivement sur la constatation du microbe.

Recherche du microbe. — Les moyens de recherche comportent l'examen direct, la culture et l'inoculation.

I. Les **crachats** seront soumis tout d'abord à l'*examen direct* : coloration au Gram, coloration des capsules. Cet examen est indispensable, mais il ne suffit pas pour affirmer un diagnostic, car il

existe d'autres microbes susceptibles de présenter le même aspect (surtout l'Entérocoque). On complétera le diagnostic *en inoculant* à la souris ou, à défaut, au lapin. En raison de leur sensibilité élective, ces animaux réalisent un véritable isolement. La souris étant très sensible même au Pneumocoque normal de la salive, on aura soin de laver au préalable les crachats (p. 214) pour les débarrasser de salive. Si l'animal succombe, on cherchera le Pneumocoque (examen direct, ensemencements sur les divers milieux) dans les organes et tissus. Nicolle recommande spécialement l'ensemencement du cerveau, moins sujet aux infections cadavériques.

Si l'on voulait obtenir des *cultures* en partant des crachats, toujours impurs, on procéderait au lavage comme ci-dessus, pour ensemencer ensuite sur milieu solide (agar-sérum ou agar-sérum-glucose) par étalement. On échoue souvent.

II. Le **suc pulmonaire** obtenu par ponction, le **pus**, les **sérosités** (celles-ci après centrifugation) seront soumis à l'examen direct, à la culture, de préférence sur sérum de lapin jeune ; la culture obtenue sera inoculée à l'animal, et ce dernier sera traité comme il a été dit ci-dessus.

On procédera de même pour les prélèvements opérés *sur le cadavre*.

III. La recherche **dans le sang** sera effectuée par culture (Voy. p. 867) ; il faut ensemencer au moins 5 à 10 centimètres cubes de sang. Bien entendu, les milieux à la bile ne sont pas utilisables.

Identification. — Sur les cultures obtenues soit directement (hémoculture), soit après passage par l'animal (crachats), on vérifiera les caractères morphologiques et culturaux décrits ci-dessus. Le Pneumocoque ne pourrait guère être confondu qu'avec l'Entérocoque (p. 301), mais ce dernier est beaucoup plus polymorphe, et ses caractères de culture sont un peu différents.

VACCINATION.

I. **Par les toxines.** On arrive assez facilement à vacciner les animaux en leur inoculant à doses croissantes des cultures stérilisées par la filtration, la chaleur ou le chloroforme (Issaëff), 10 à 50 centimètres rubes.

Mêmes résultats après inoculation de *pneumotoxine* ou des toxines d'organes de Mosny, Issaëff, etc.

Les corps de microbes tués par la chaleur (endotoxine) ont été également utilisés avec succès par Foa et Scabia, par Neufeld et Hændel ; de même le suc de microbes broyés après addition de 1 p. 1 000 de potasse (Mac Fadyen).

Dans tous les cas, les animaux sont immunisés seulement contre le microbe, non contre la toxine. Ils sont même souvent plus sensibles aux toxines que les animaux neufs (Issaëff).

II. La **solution biliaire** obtenue dans l'expérience de Neufeld est également vaccinante.

III. On a employé avec succès les **cultures atténuées** : d'abord cultures de cinq à six jours, puis cultures virulentes (Netter).

Sergent a de même vacciné à l'aide de cultures atténuées par les colorants : une émulsion de culture sur gélose est additionnée de solution aqueuse de kristall-violet ; après une heure, les microbes sont colorés, mais vivants. Ces microbes colorés, injectés dans les veines ou le péritoine du lapin, agissent comme vaccin ; en répétant les injections, on confère aux animaux une immunité solide.

SÉROTHÉRAPIE.

Sérum de pneumonique convalescent. — Le sérum de pneumonique convalescent possède des propriétés préventives et curatives à l'égard de l'infection expérimentale (Charrin et Roger, Klemperer). Un sérum prélevé trente-six heures après la crise est curatif pour la souris inoculée, à dose de $0^{cc},2$ (Neufeld et Hændel).

Sérums expérimentaux. — On a prêté aux sérums d'animaux vaccinés des propriétés antitoxiques (Klemperer) et bactéricides (Emmerich) : c'est inexact. Le Pneumocoque pousse dans le sérum d'animaux fortement vaccinés, un peu modifié (culture agglutinée), mais sans perdre sa virulence ; il n'est antitoxique ni chez l'animal, ni *in vitro* ; car l'inoculation successive de sérum et de toxines, ou l'inoculation d'un mélange de sérum et de toxines, se montrent aussi actives que l'inoculation des toxines seules (Issaëf).

Le sérum est préventif et curatif : 4 à 5 centimètres cubes inoculés au lapin en même temps qu'une dose environ cinq fois mortelle assurent la survie (Issaëff). Les Klemperer ont pu guérir la pneumococcie du lapin en lui administrant 8 centimètres cubes de sérum, vingt-quatre heures après inoculation d'une dose mortelle. Le sérum de Pane pourrait guérir le lapin inoculé une heure auparavant avec une dose vingt fois mortelle.

Préparation des sérums thérapeutiques. — Les premiers expérimentateurs ont inoculé du sérum de lapins, vaccinés comme il a été dit ci-dessus. Depuis, on s'est adressé aux grands animaux, en inoculant de préférence des microbes de virulence exaltée (celui de Pane tuait le lapin à dose de $0^{cc},000\ 01$ de culture en bouillon).

La plupart des auteurs inoculent d'abord des cultures stérilisées par la chaleur, puis des microbes vivants. On s'adresse généralement à un

seul animal (âne ou vache, Pane ; cheval, Washbourn, Neufeld et Hændel). Römer, estimant qu'un seul animal ne réagit pas à tous les récepteurs du Pneumocoque (théorie d'Ehrlich, p. 55), immunise trois espèces différentes : mouton, bœuf et cheval, et mélange leurs sérums.

Application à l'homme. — Divers auteurs, Weisbecker, Audéoud, etc., ont inoculé au pneumonique le sérum de convalescents de pneumonie, avec quelques succès. Mais on ne saurait approuver cette méthode, qui pourrait inoculer des virus dangereux.

Les sérums expérimentaux ne semblent pas avoir fait l'objet d'études suivies. Les quelques résultats annoncés sont pourtant encourageants. Un assez grand nombre de pneumoniques ont été traités par le sérum de lapins vaccinés : 18 cas des Klemperer, 10 de Foa et Scabia, 10 de Janson, etc., avec un succès à peu près constant. Les sérums de grands animaux paraissent de même assez actifs : Römer dit avoir traité 68 cas de pneumonie, avec 2 décès ; les résultats annoncés par Pane, de Renzi, de même que par Washbourn, Harvett, ne sont pas moins favorables.

STREPTOCOCCUS MUCOSUS.

Cette espèce, décrite par Schotmüller (1903), tire son nom de l'aspect muqueux qu'elle présente sur certains milieux. Elle est assez voisine du Pneumocoque.

Le *Str. mucosus*, dans l'organisme comme dans les cultures, présente l'aspect d'un diplocoque ou d'un diplo-streptocoque (4 à 20 éléments) très nettement capsulé. Les cocci sont assez gros, en moyenne 1 μ, 5.

Cultures caractéristiques sur gélose et gélose-sang. Sur gélose, en vingt-quatre heures, les colonies isolées sont brillantes, translucides, grosses comme une tête d'épingle ; elles confluent facilement en formant une sorte d'enduit muqueux. Prélevées au fil de platine, elles s'étirent en filaments. L'enduit se dessèche à partir du quatrième jour, et vers le dixième il ne reste guère trace de la culture.

Sur gélose-sang (5 centimètres cubes de gélose pour 2 centimètres cubes de sang), les colonies, toujours muqueuses, sont d'abord verdâtres (vingt-quatre heures), puis se dessèchent comme sur gélose ordinaire.

Sur gélatine, à 22°, culture plus abondante que celle du Streptocoque.

Peu ou pas de développement en bouillon.

La vitalité est faible, six à huit jours en cultures.

Le *St. mucosus* est très pathogène pour la souris (septicémie), un peu moins pour le lapin, le cobaye et le rat blanc.

Il ne fermente pas l'inuline, et il se dissout dans la bile et les sels biliaires, caractères qui le rapprochent du Pneumocoque. Suivant Park et Williams, le *St. mucosus* ne serait qu'un Pneumocoque anormal ; il reprendrait l'aspect pneumococcique après quelques passages en milieux non albumineux.

Le *St. mucosus* a été rencontré dans le sang au cours d'une pneumonie, dans des méningites consécutives aux otites (Schotmüller), dans le mucus pharyngé (Schumacher).

L'aspect des cultures sur gélatine et sur gélose ou gélose-sang permettra de différencier ce microbe du Pneumocoque.

CHAPITRE XXI

ENTÉROCOQUE

L'Entérocoque, entrevu par divers auteurs, a été isolé et bien étudié par Thiercelin (1899). Son histoire est encore incomplète.

Fig. 149. — Entérocoque (culture en bouillon).

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — L'Entérocoque est *protéiforme* (Jouhaud), mais ce caractère paraît avoir été quelque peu exagéré.

Sans errer beaucoup, on peut dire que l'Entérocoque rappelle le Pneumocoque dans l'organisme et le Streptocoque dans les cultures en bouillon.

Dans l'organisme, la forme ordinaire est un diplocoque lancéolé et auréolé. Les deux éléments du diplocoque sont souvent dissemblables, l'un d'eux étant arrondi, l'autre ovoïde; ils sont parfois disposés en accent circonflexe (aspect en besace). Assez souvent les diplocoques se disposent bout à bout pour former des chaînettes. Dans une même préparation, les éléments sont de taille très variable. L'auréole, fréquente dans les selles pathologiques (entérite), dans les crachats, le pus, habituelle chez la souris inoculée, serait plus rare dans les selles normales.

Dans les cultures (fig. 149), la morphologie varie suivant les milieux. Sur bouillon (cultures de vingt-quatre heures), on trouve généralement de courtes chaînettes de diplocoques (diplo-streptocoques), mélangées à des diplocoques, avec quelques petits amas peu cohérents et des formes en tétrade. L'auréole existe souvent dans la première génération pour disparaître ensuite. Les cultures anciennes donnent des formes d'involution très variées : filaments géants, filaments moniliformes (avec étranglements), formes en massues, énormes boules, etc.

Sur gélose, le polymorphisme augmente, les chaînettes étant plus rares et les amas plus fournis.

En sérum de lapin jeune, on trouve surtout des amas de chaînettes enchevêtrées ou accolées (Bezançon).

Coloration. — L'Entérocoque se colore bien par les couleurs d'aniline. *Il prend le Gram.*

Spores. — Mobilité. — Pas de spores. Immobile.

CULTURES.

Conditions générales. — Anaérobie facultatif; la température optima est 37°.

Bouillon. — Après vingt-quatre heures, trouble avec dépôt. Après quelques jours, le liquide s'éclaircit ; il s'est formé au fond un dépôt adhérent, que l'agitation soulève en tire-bouchon sans le dissocier dans le liquide. C'est un bon caractère différentiel.

Lait. — Coagulé en un ou deux jours (inconstant).

Sérum liquide et sérosité d'ascite. — Culture maigre, floconneuse.

Gélose inclinée. — Colonies petites, d'abord transparentes, bleutées ; elles deviennent ensuite opalescentes ou opaques.

Sérum coagulé. — Culture très maigre, sèche.

Gélatine en strie. — Glaçure blanchâtre, demi-transparente. Pas de liquéfaction.

Pomme de terre. — Pas de culture apparente.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES. — TOXINES. — SIÈGE.

Vitalité. — L'Entérocoque est généralement très résistant dans les cultures ; il y demeure vivant pendant plusieurs mois.

Toxines. — Les cultures filtrées (Thiercelin) ou stérilisées par ébullition (Rosenthal et Chazarain-Wetzel) tuent le lapin par cachexie subaiguë. Les cultures bouillies de certains échantillons sont pathogènes pour la souris par injection et par ingestion (Sacquépée).

Siège. — L'Entérocoque est un saprophyte normal des voies digestives, de la bouche. Il se rencontre en outre dans les organes ou tissus au cours de diverses infections (Voy. *Action pathogène*).

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Chez l'homme. — Les manifestations pathologiques de l'Entérocoque sont diverses. Il provoque souvent des entérites chez l'enfant et chez l'adulte (Thiercelin), parfois des empoisonnements alimentaires (Sacquépée). Rosenthal lui attribue une forme traînante de bronchopneumonie. Thiercelin et Rosenthal l'ont également décelé dans certaines méningites suppurées. Le microbe décrit sous le nom de « Streptocoque de Bonome », fréquemment rencontré dans les méningites (p. 304), nous paraît à peu près identique à l'Entérocoque.

Il existe également des septicémies à Entérocoques (Trastout). Triboulet et Coyon ont souvent rencontré dans le sang, au cours du rhumatisme articulaire aigu, un microbe qui ressemble beaucoup à l'Entérocoque.

L'Entérocoque est parfois agent d'infection secondaire au cours de la tuberculose, des infections paratyphoïdes, etc.

Inoculation à l'animal. — Virulence. — La virulence de l'Entérocoque est variable. On peut augmenter la virulence par passages : inoculer sous la peau du lapin, de manière à produire un abcès ; inoculer ensuite le pus à la souris : elle succombe ; inoculer le sang à d'autres souris (Thiercelin).

La *souris* est l'animal le plus réceptif. Inoculée sous la peau avec un microbe virulent, elle succombe en vingt-quatre à quarante-huit heures ; l'Entérocoque est abondant dans les organes et le sang. Certains échantillons sont également pathogènes par ingestion.

Le *lapin* est moins sensible. Des échantillons très virulents tuent par septicémie. Moins virulents, ils provoquent un abcès local ; l'animal meurt ensuite cachectique après plusieurs semaines.

Le *cobaye* est peu sensible.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic est basé sur la constatation du microbe.

Recherche du microbe. — Dans les produits pathologiques (sérosité, pus), on procédera tout d'abord à l'examen direct avec coloration au Gram. Cet examen est nécessaire, mais ne peut à lui seul donner que des présomptions assez grossières.

On cultivera ensuite, de préférence sur gélose ordinaire, de manière à obtenir des colonies séparées. On peut également cultiver d'emblée en bouillon et avec la culture développée, pratiquer un isolement sur gélose. Sur les colonies isolées, on procédera à l'identification du microbe : morphologie, caractères de culture, inoculation à la souris.

Pour les selles, Thiercelin indique le procédé suivant : ensemencer en bouillon anaérobie une trace de matières fécales ; l'Entérocoque y prend le dessus dans les premières heures. Après vingt-quatre heures, prélever un peu de culture, procéder à des isolements sur gélose inclinée (aérobie).

On différenciera des microbes voisins (Pneumocoque et Streptocoque) par le polymorphisme, la facilité de culture sur gélatine, la grande vitalité sur milieux ordinaires.

STREPTOCOQUE DE BONOME.

Avant que le Méningocoque ne fût bien connu, on a considéré pendant quelque temps le Streptocoque de Bonome comme l'agent le plus ordinaire de la méningite cérébro-spinale. Il paraît aujourd'hui bien déchu de ce rôle usurpé.

Le Streptocoque de Bonome nous paraît être singulièrement voisin de l'Entérocoque : aspect en courtes chaînettes capsulées dans l'organisme (pus méningé, animaux inoculés) ; chaînettes enchevêtrées en sérum de lapin (Bezançon et Griffon).

Les caractères de culture sont ceux de l'Entérocoque : même électivité pour la souris, puis le lapin, même inactivité à l'égard du cobaye ; même vitalité (Bonome, Chantemesse). Après passages successifs par le rat blanc, ce microbe reprend l'aspect diplococcique du Pneumocoque (Netter), aspect qui est également celui de l'Entérocoque dans l'organisme.

CHAPITRE XXII

MÉNINGOCOQUE

Le Méningocoque est l'agent pathogène spécifique de la méningite cérébro-spinale épidémique (1). Il a été découvert en 1886 par

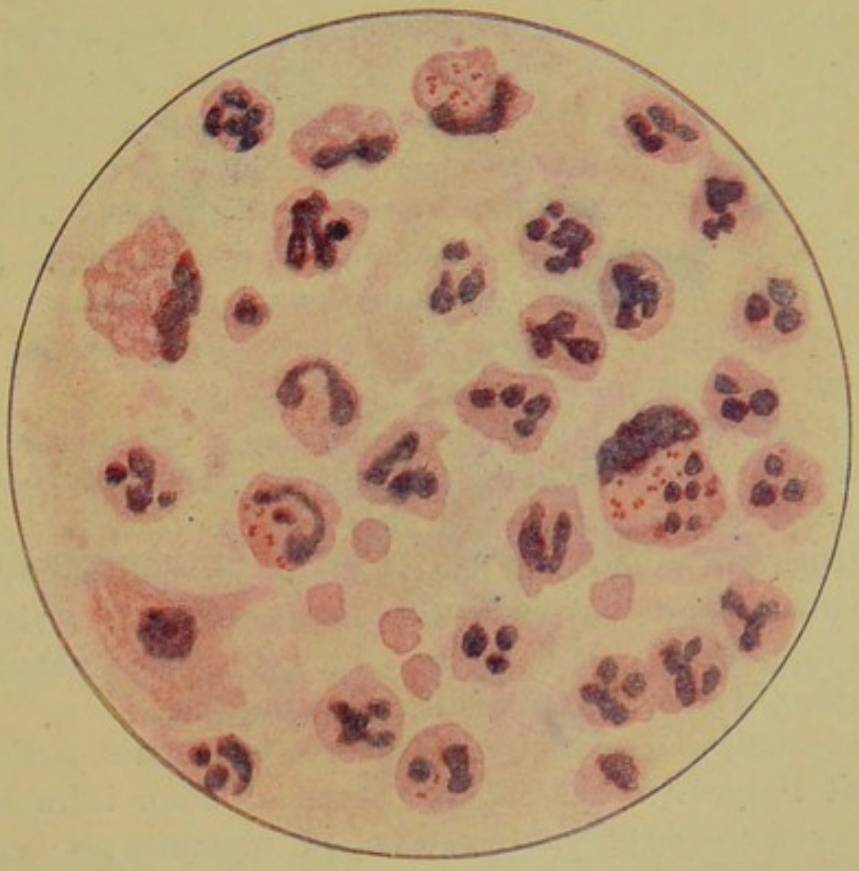


Fig. 150. — Liquide céphalo-rachidien dans la méningite cérébro-spinale méningococcique (coloration par le Gram et fuchsine diluée). Leucocytes pyoïdes, Méningocoques intracellulaires n'ayant pas pris le Gram.

Weichselbaum dans le pus cérébro-méningé des malades atteints de cette affection; cet auteur l'a désigné sous le nom de *Diplococcus*

(1) Cette affirmation ne signifie pas que toute méningite cérébro-spinale soit produite par le Méningocoque. On connaît en effet des méningites cérébro-spinales à Streptocoques, Pneumocoques, Pneumobacilles, Staphylocoques, Tétragènes, *Diplococcus crassus*, Paraméningocoques, etc., mais la méningite cérébro-spinale *épidémique* n'est produite que par le Méningocoque de Weichselbaum.

intracellularis meningitidis. L'usage a consacré le terme de Méningocoque qui lui a été donné dans la suite.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le Méningocoque de Weichselbaum doit être étudié dans les produits pathologiques et les cultures :

Dans le *pus céphalo-rachidien* recueilli pendant la vie ou sur le cadavre, il se présente sous la forme d'un coccus isolé, sphérique, ou bien sous l'aspect de diplocoques, dont chaque élément revêtant la forme d'un *grain de café* est aplati sur la face qui regarde l'élément opposé. Parfois il se dispose en tétrades, mais jamais en chaînettes.

Les Méningocoques se trouvent le plus souvent *inclus dans les éléments cellulaires* (fig. 150). Ceux-ci peuvent, en certains cas, en être littéralement bourrés, et l'aspect microscopique des préparations rappelle trait pour trait celui des lames de pus blennorragique. En général cependant, ils ne sont pas très nombreux, et, contrairement aux figures des classiques qui les montrent en grande abondance, c'est à peine si, dans un champ de préparation, on peut déceler un ou deux globules pyoïdes contenant deux à trois éléments microbiens ; souvent, même, on est obligé de parcourir plusieurs champs avant d'en trouver de semblables.

Dans les cellules de pus, le Méningocoque est parfois entouré d'une auréole incolore ; ce n'est pas une capsule, mais simplement une auréole de digestion due à la phagocytose.

Dans un certain nombre de cas, le méningocoque est perceptible non seulement dans l'intérieur de globules de pus, mais encore dans leur intervalle ; parfois même (il s'agit alors le plus souvent de cas graves), il est exclusivement intracellulaire.

Dans le *mucus rhino-pharyngé*, on observe les mêmes particularités concernant l'aspect morphologique et la situation intracellulaire.

Dans les *cultures* de première génération, obtenues par l'ensemencement direct du liquide céphalo-rachidien, le Méningocoque présente, dans la même colonie, des variations morphologiques importantes. A côté de cocci isolés, de diplocoques et de tétrades assez nombreux, présentant des dimensions moyennes, il existe de véritables *formes géantes* (fig. 151), attribuées à des formes d'involution et retenant la coloration plus fortement que les précédentes.

Les cultures ayant subi plusieurs passages deviennent plus résistantes ; les cocci, diplocoques, etc., présentent alors des dimensions plus égales entre elles.

Colorabilité. — Le Méningocoque se colore bien par toutes les

couleurs d'aniline ; le bleu phéniqué, la thionine phéniquée sont les colorants de choix, surtout dans les produits pathologiques. *Il ne prend pas le Gram.* Les auteurs qui ont émis un avis opposé ne se sont certainement pas trouvés en face du Méningocoque, qu'ils

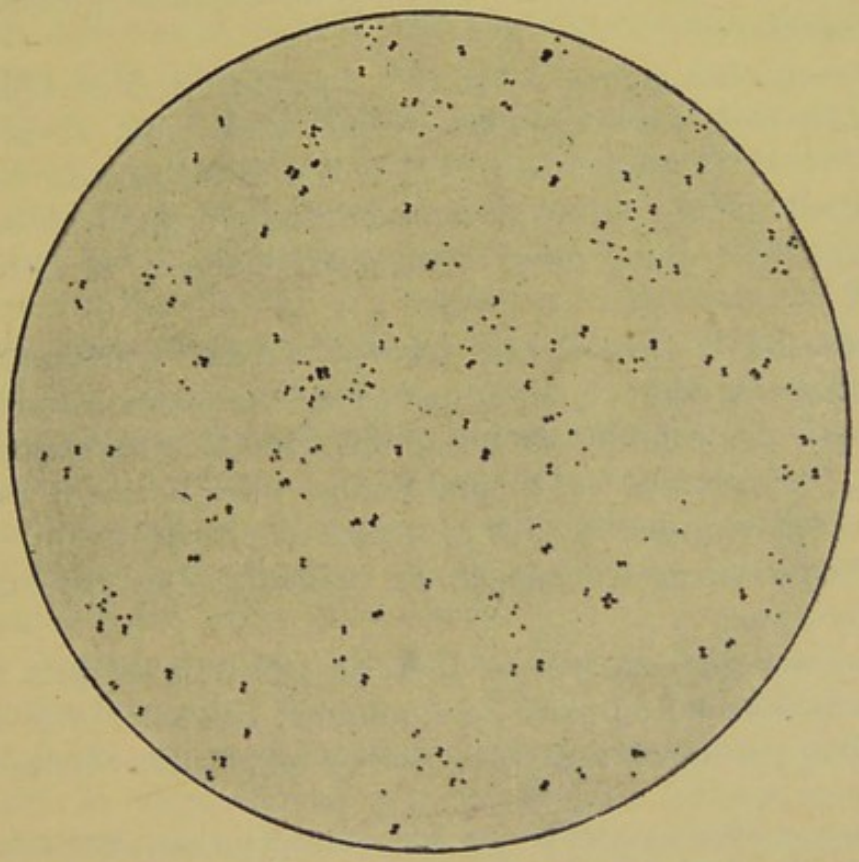


Fig. 151. — Méningocoque. Culture sur gélose-ascite âgée de vingt-quatre heures. Première génération.

ont confondu avec le *Diplococcus crassus* (Pseudo-Méningocoque de Jaeger).

CULTURES.

Aérobie strict, le Méningocoque éprouve certaines difficultés à cultiver dans les milieux artificiels, surtout quand il est récemment issu de l'organisme. Il exige, au moins dans les premières générations, des milieux additionnés d'albumine, et notamment d'albumine humaine. On emploie dans ce but le sérum de bœuf, de mouton, mais de préférence le liquide d'ascite ou de pleurésie. Après plusieurs passages, il s'acclimate assez aisément aux milieux usuels.

La température optima de culture est de 38° ; il ne commence à pousser qu'à 31° ; à moins de 24° il meurt ; il en est de même à 41°, température cependant très voisine de la température optima. Les conditions de culture de ce germe sont donc très restreintes.

Bouillon-ascite. — En bouillon-ascite (3 parties de bouillon ordinaire pour 1 partie d'ascite), il ne commence à troubler le milieu que vers le cinquième ou sixième jour; à la surface, se forme un voile mince, fragile, qui tombe au fond du tube.

En bouillon ordinaire, les cultures acclimatées présentent les mêmes caractères.

Gélose-ascite (gélose à 3 p. 100 : 3 parties ; ascite : 1 partie). — Les colonies isolées sont rondes, un peu surélevées, et mesurent, au bout de vingt-quatre heures, 1 à 2 millimètres de diamètre; elles présentent une teinte grisâtre et sont presque transparentes; vers le troisième jour, elles sont plus opaques, et leur centre est foncé.

Une parcelle de ces colonies transportée dans une goutte d'eau s'émulsionne facilement, et d'une façon homogène (caractère qui les distingue des colonies de certains Pseudo-Méningocoques).

Quand les colonies sont confluentes, elles forment une strie assez abondante, grisâtre, sans caractère spécifique.

En **gélose-sang** (Bezançon et Griffon), elles présentent un aspect identique.

Gélose au placenta. — L'ascite stérile n'est pas toujours aisée à se procurer ; on peut en manquer. Kutscher a proposé de la remplacer par la gélose au placenta, qu'on prépare comme suit :

On prépare 1 litre de bouillon en faisant macérer du placenta coupé en morceaux (500 grammes pour 1 litre d'eau). On ajoute :

Gélose	2,5	p. 100
Sel marin	0,5	—
Glucose	1	—
Peptone	2	—

A 3 volumes de cette gélose légèrement alcalinisée et stérilisée, on ajoute 1 volume de sérum de bœuf chauffé à 60° pendant une heure quatre jours de suite.

Sérum coagulé. — Colonies petites, plus opaques que sur gélose-ascite, assez adhérentes au milieu.

Gélatine. — Le Méningocoque ne pousse pas sur gélatine, puisqu'il ne commence à pulluler qu'à une température de 31°.

Pomme de terre. — Il pousse à peine sur pomme de terre en formant un minime enduit grisâtre.

Lait. — Le lait n'est pas coagulé.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — *Résistance aux agents physiques.* — Le Méningocoque offre une résistance très minime à l'influence nocive des milieux extérieurs.

Dans les cultures, il est très sensible à la chaleur, au froid, à la dessiccation, à la lumière.

Il succombe en deux minutes à 80°, en cinq minutes à 70°, en dix minutes à 60°. Les basses températures lui sont aussi funestes : à la température du laboratoire, il périt en deux à trois jours. Pour le conserver, il faut laisser les cultures à 37°, en tubes capuchonnés pour éviter la dessiccation ; dans ces conditions, le Méningocoque peut rester vivant pendant quinze à vingt jours quand il est acclimaté aux milieux artificiels; sinon il succombe en trois à quatre jours, même dans les milieux très nutritifs.

Il ne résiste que quatre à cinq jours à la glacière.

La dessiccation lui est funeste : exposé sur des étoffes ou du papier-filtre, le Méningocoque ne vit pas plus de six heures à 37°, douze heures à 15°.

On ne possède que peu de notions sur sa résistance dans les produits muqueux rhino-pharyngés : il est fort vraisemblable qu'elle est moins faible, car il est protégé contre les influences extérieures, notamment la dessiccation, par la gangue albuminoïde dans laquelle il est contenu. Néanmoins les faits épidémiologiques montrent qu'elle est encore minime et n'excède pas quarante-huit à soixante-douze heures.

Résistance aux agents chimiques. — D'une façon générale, le Méningocoque offre peu de résistance aux antiseptiques. L'acide sulfurique à 1 p. 100, le sublimé à 1 p. 1 000 et les autres antiseptiques usuels en ont rapidement raison. Il en est de même quand on le soumet à l'action des vapeurs de certaines essences : essence d'eucalyptus, de thym, de bergamote, d'origan; de même pour l'éther, l'acide phénique, le goménol, le xylol, l'iode. Mais il résiste davantage quand il est inclus dans des produits muqueux.

Réactions biochimiques. — *Action sur les sucres.* — L'action fermentative du Méningocoque sur les sucres est importante à connaître, car elle permet de le différencier des germes similaires, avec lesquels il a été longtemps confondu.

Il fait en effet *fermenter la glucose et la maltose*, mais *laisse intacts les autres sucres, notamment la lévulose* (fig. 162, 163, 164).

On s'en rend compte par les cultures en milieux sucrés tournesolés et au neutral-roth.

Milieux tournesolés. — Procédé de Von Lingelsheim.

On prend 135 centimètres cubes d'un mélange de gélose à 3 p. 100, additionnée à la température de 60°, de liquide d'ascite. On y ajoute 15 centimètres cubes de teinture de tournesol contenant 10 p. 100 de sucre : lévulose, glucose, maltose. On coule ces milieux sucrés encore liquides dans des boîtes de Petri, où ils se solidifient après refroidissement. On ensemence sur ces milieux une öse de culture (fig. 162, 163, 164).

Dans les milieux où la fermentation s'opère, le tournesol vire au rouge au niveau de la strie d'ensemencement; sinon il reste bleu.

Procédé de Bruns et Hohn.

Mélanger, à parties égales, du bouillon ordinaire et du liquide ascitique. A 100 centimètres cubes du mélange, on ajoute :

1° 15 centimètres cubes de la solution sucrée à 10 p. 100; 2° 15 centimètres du tournesol. On répartit en tubes stériles et on ensemence.

La culture étant plus longue à s'effectuer, les résultats sont plus tardifs.

Milieux au neutral-roth (Dopter et R. Koch).

Dans 75 centimètres cubes de gélose à 3 p. 100, on fait dissoudre 1 gramme de lévulose, dextrose, maltose. Après un séjour de vingt minutes à l'autoclave à 105°, on ajoute 25 centimètres cubes d'ascite et 1 centimètre cube d'une solution de neutral-roth à 1 p. 100. Le milieu prend une teinte orangée. On le maintient au bain-marie à 60° pendant une heure environ; au bout de ce temps, un précipité se forme. On agite les récipients, et l'on coule le milieu en boîtes de Petri; sous une faible épaisseur, il prend une teinte jaune.

Après ensemencement et séjour à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre heures, on observe : sur les milieux qui n'ont pas fermenté, la culture est jaunâtre comme le milieu ; sur ceux qui ont subi la fermentation, la culture est rouge vif (groseille ou carmin).

MICROBES.	DEXTROSE.	LÉVULOSE.	GALACTOSE.	MANNITE.	DULCITE.	SACCHAROSE.	MALTOSE.	LACTOSE.	INULINE.
Méningocoque.....	+	0	0	0	0	0	+	0	0
Micrococcus catarrhalis...	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Micrococcus cinerus.....	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Diploc. phar. flav. I	+	+	0	0	0	0	+	0	0
Diploc. phar. flav. II.....	+	+	0	0	0	0	+	0	0
Diploc. phar. flav. III....	+	0	0	0	0	0	+	0	0
Diplococcus siccus.....	+	+	0	0	0	0	+	0	0
Diplococcus crassus	+	+	+	0	0	+	+	+	0
Gonocoque	+	0	0	0	0	0	0	0	0

Le tableau récapitulatif ci-dessus donne les résultats de ces fermentations sucrées avec le Méningocoque et les divers germes (1) qui s'en rapprochent.

Réactions vis-à-vis du sérum antiméningococcique. — ***Agglutination.*** — Le sérum des animaux ayant reçu par voie veineuse des injections de cultures mortes ou vivantes de Méningocoque est agglutinant pour ce dernier germe.

L'épreuve s'effectue par le procédé macroscopique :

Dans trois tubes à essai, on verse 1 centimètre cube d'une dilution de sérum antiméningococcique *non chauffé* à 1 p. 100, 1 centimètre cube de sérum de cheval normal à 1 p. 100; enfin 1 centimètre cube d'eau physiologique à 7,5 p. 1 000; on émulsionne dans chacun une öse de culture de Méningocoque âgée de vingt-quatre heures. On met à l'étuve à 37° et, au bout de quelques heures, on observe : alors que dans des tubes témoins contenant l'un du sérum normal, l'autre de l'eau physiologique, l'émulsion a conservé son trouble homogène, dans le tube en expérience des grumeaux se sont formés et amassés au fond du tube (fig. 152) : une légère secousse imprimée à ce dernier les fait percevoir aisément.

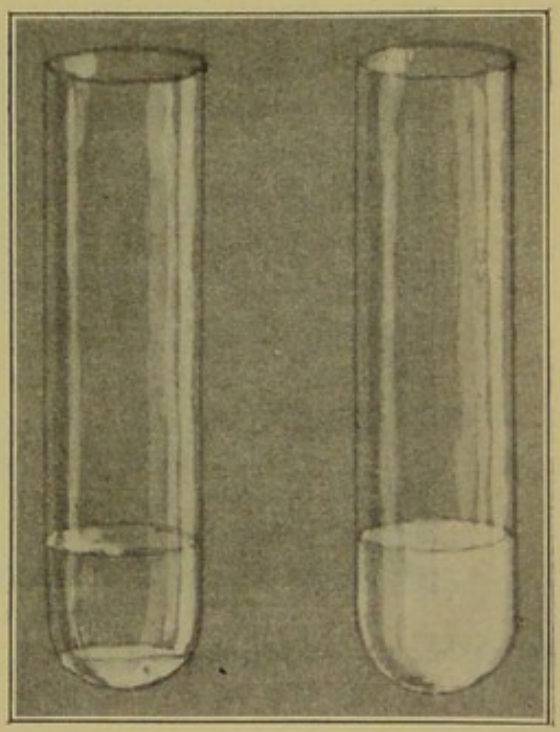


Fig. 152.— Agglutination des méningocoques. Tube de droite : tube témoin (trouble homogène). Tube de gauche : tube contenant l'antisérum. Le dépôt est constitué par des amas microbiens.

Pour rendre l'observation plus facile, il est préférable de pencher les tubes très obliquement (fig. 153) et de regarder vers la partie supérieure d'une fenêtre. Cette technique est très utile pour distinguer les agglutinations vraies des fausses agglutinations, qui se produisent parfois avec les germes similaires. Il arrive que ces derniers en effet, se déposent seulement au fond du tube sans s'agglutiner.

Kutscher a montré que certains Méningocoques, inagglutinables à 37°, s'agglutinent à 55°. Par contre, Dopter a rencontré plusieurs échantillons agglutinables à 37° et inagglutinables à 55°.

Le Méningocoque n'est pas le seul germe que le sérum antiméningococcique puisse agglutiner; certains échantillons de Gonocoques,

(1) On voit que le *Dipl. phar. flavus III* présente à cet égard les mêmes caractères que le Méningocoque, mais la teinte jaune de sa culture le différencie nettement du coccus de Weichselbaum.

de *Diplococcus crassus*, et d'autres Pseudo-Méningocoques subissent parfois cette réaction, mais en général à un taux beaucoup moins élevé que le Méningocoque; de plus, le sérum normal, avec ces germes, donne lieu au même phénomène. Dopter et R. Koch ont démontré, par la *saturation des agglutinines*, qu'il s'agissait alors de *coagglutinations*, ou agglutinations de groupe, alors que seul le Méningocoque donne des *agglutinations spécifiques*.

Précipitation. — On racle une culture de Méningocoques sur agar dans de l'eau physiologique ; on centrifuge. Dans un tube de verre on verse XX gouttes du liquide clair obtenu (extrait autoly-

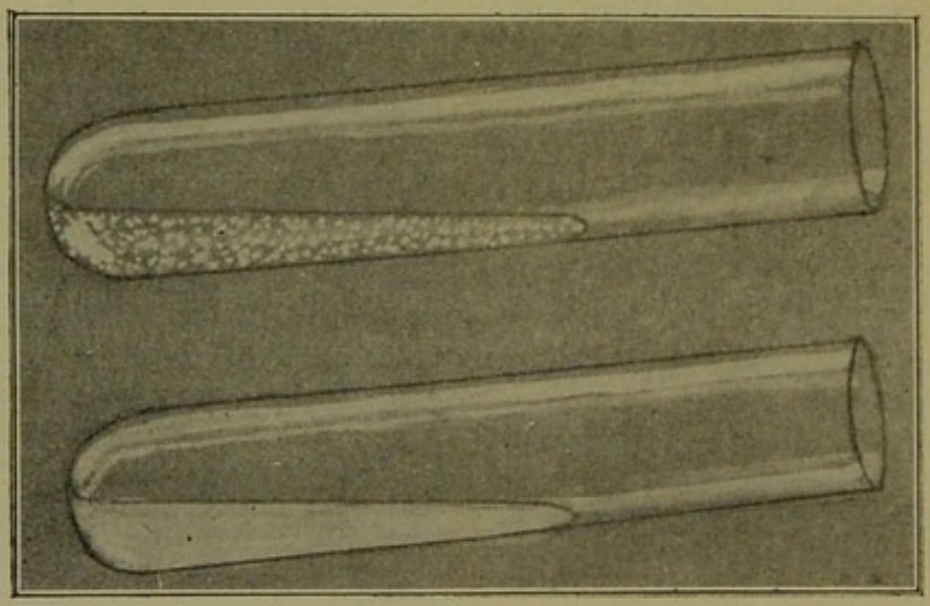


Fig. 153. — Agglutination. Les tubes sont penchés obliquement pour mieux faire percevoir les amas.

tique) et I goutte de sérum antiméningococcique non chauffé. Il se forme immédiatement un précipité abondant, qui se dépose dans la suite au fond du tube.

Cette précipitation s'obtient aussi, mais à un degré moindre, avec les autolysats des Pseudo-Méningocoques. Dopter a démontré, par l'épreuve de la *saturation des précipitines*, qu'il s'agit là de *coprécipitations*, la précipitation spécifique étant réservée au seul autolysat méningococcique.

H. Vincent et Bellot ont appliqué cette réaction au diagnostic de la méningite cérébro-spinale (Voy. p. 322).

Sensibilisatrice. — Le sérum antiméningococcique contient encore une sensibilisatrice spécifique pour le Méningocoque. L'épreuve de la fixation du complément la met facilement en évidence en prenant comme antigène soit l'extrait autolytique (Kolle

et Wassermann), soit les cultures elles-mêmes (Krumbein et Schatiloff, Dopter).

Par contre, il ne contient aucune sensibilisatrice pour les germes voisins, comme le Gonocoque (Vannod, Dopter), les Pseudo-Méningocoques (Dopter). Signalons cependant que les Paraméningocoques réagissent à cet égard comme les Méningocoques ; peut-être s'agit-il de co-sensibilisatrices qu'on n'a pu encore réussir à déceler ?

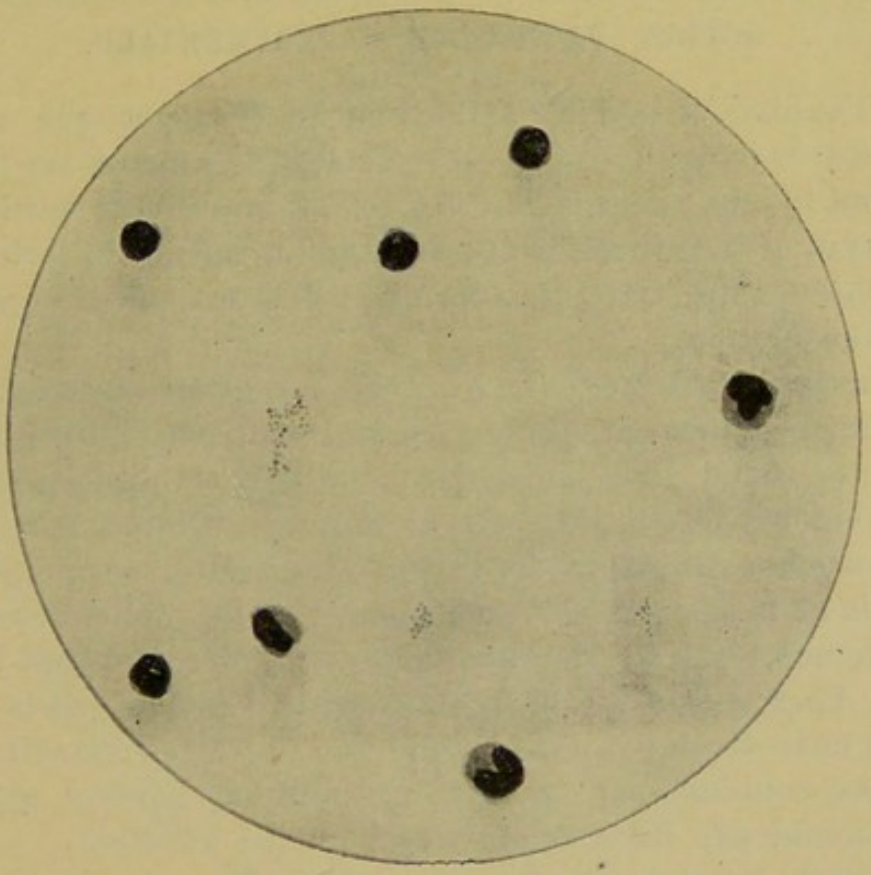


Fig. 154. — Épreuve du péritoine avec sérum antiméningococcique et Méningocoque. Bactériolyse des Méningocoques injectés.

Le sérum des malades contient aussi une sensibilisatrice spécifique (Cohen, Dopter) pour le Méningocoque seul.

Bactériolysines. — L'existence de bactériolysines spécifiques se démontre par l'*épreuve du péritoine* (Dopter), analogue au phénomène de Pfeiffer pour le Vibrion cholérique : on injecte à un cobaye de 200 à 250 grammes un quart de centimètre cube de sérum antiméningococcique, puis, vingt-quatre heures après, un sixième de culture de Méningocoques sur agar, âgée de vingt-quatre heures. A l'aide de pipettes capillaires, en prélève l'exsudat péritonéal, qu'on étale sur lames ; on colore à la thionine phéniquée : trente minutes après l'inoculation microbienne, le Méningocoque a totalement dis-

paru ; s'il en reste quelques échantillons, ils sont pâles et à peine perceptibles ; ils ont subi la bactériolyse (fig. 154). Chez les témoins ayant reçu du sérum normal, le Méningocoque fourmille dans les préparations et ne disparaît qu'après une heure et demie ou deux heures. Il en est de même si on remplace le Méningocoque par un Pseudo ou un Paraméningocoque (fig. 155) chez les cobayes inoculés la veille avec du sérum antiméningococcique.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Chez l'animal, le pouvoir pathogène du Méningocoque est assez limité et très irrégulier dans ses effets. Les animaux les plus sensibles sont le jeune cobaye de 150 à 200 grammes et la souris.

Cobaye. — L'**injection sous-cutanée**, même de fortes doses, reste toujours négative ; il se forme parfois seulement un abcès au point d'inoculation.

L'**injection péritonéale** de 1 à 3 öses de culture sur agar, âgée de vingt-quatre heures, produit en général une péritonite purulente, mortelle en un ou deux jours. Quand la mort est rapide, le pus est séreux, louche, et contient peu de leucocytes, mais fourmille de Méningocoques. Si elle tarde, le pus est grisâtre, opaque, contient une foule de leucocytes polynucléaires, plus ou moins déformés, et habituellement peu de Méningocoques ; ces derniers sont intracellulaires. Le plus souvent, le Méningocoque n'envahit pas la circulation ; on ne le décèle pas dans les viscères. En raison du petit nombre de germes contenus par ce pus, on estime en général que l'animal succombe par intoxication plutôt que par infection.

L'*injection intraveineuse* tue l'animal, mais sans provoquer de septicémie ; il succombe aussi par intoxication.

Les injections *intrarachidiennes* ne donnent aucun résultat appréciable ; l'animal succombe, mais sans formation de pus dans les méninges.

Souris. — Les résultats sont à peu près semblables ; l'**injection intrapéritonéale** provoque aussi une péritonite suppurée où les Méningocoques sont décelables. L'injection intrapleurale produit une pleurésie purulente.

Variabilité de la virulence. — La virulence du Méningocoque injecté à l'animal présente des variations énormes suivant l'échantillon qu'on utilise. Il en est de même quand on injecte des cultures du même échantillon à plusieurs cobayes de même poids et de même âge. Certains cobayes succombent avec une dose minime ; d'autres résistent avec une dose dix fois inférieure.

Méningite cérébro-spinale expérimentale. — V. Lingelsheim et Leuchs, puis Flexner ont réalisé une véritable méningite méningococcique expérimentale en injectant aux singes macaques des cultures de Méningocoques dans la cavité rachidienne. A l'aide de fortes doses, l'animal succombe en quelques heures ; il est préférable d'opérer à des doses plus faibles, permettant une certaine survie ; la méningite qui se développe est alors anatomiquement et bactériologiquement superposable à celle de l'homme. On trouve en

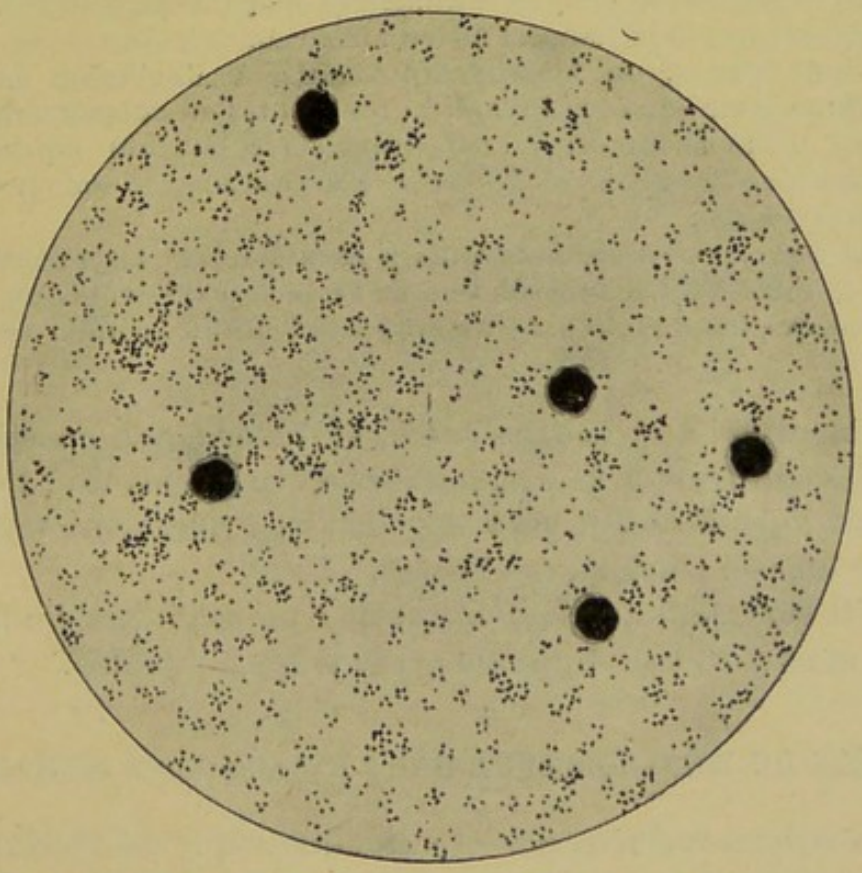


Fig. 155. — Épreuve du péritoine avec sérum antiméningococcique et Paraméningocoque. Abondance et intégrité des germes.

effet à l'autopsie les méninges fortement congestionnées et infiltrées ; les ventricules et l'épendyme sont dilatés ; le tout baigne dans une sérosité louche qui contient de nombreux polynucléaires et des Méningocoques intracellulaires. En certains cas, Flexner a pu voir se développer des hydrocéphalies, comme en pathologie humaine, à la suite de l'obturation du trou de Magendie.

Enfin, fait intéressant, on a trouvé chez les singes ainsi inoculés le Méningocoque dans le mucus nasal.

TOXINE.

Le fait que le cobaye injecté dans le péritoine meurt plutôt d'intoxication que d'infection implique l'idée que le Méningocoque contient une toxine qui diffuse dans l'organisme. On est assez mal renseigné sur la nature de ce poison méningococcique.

On peut le mettre en évidence de la façon suivante :

On racle une culture sur agar en boîte de Roux, âgée de vingt-quatre heures ; on l'émulsionne dans 20 centimètres cubes d'eau distillée. L'émulsion est abandonnée à la température du laboratoire à l'obscurité, pendant quarante-huit heures, ou bien encore soumise à l'agitation mécanique. On centrifuge pour séparer du liquide les germes en suspension.

Un quart et même un dixième de centimètre cube du liquide injecté dans le péritoine d'un cobaye de 150 à 160 grammes le tue en douze ou vingt-quatre heures.

Kraus et Dœrr, pour assurer davantage la dissolution des microbes, remplacent l'eau distillée par une solution de carbonate de soude à un dixième ; ils ajoutent de plus du toluol, qu'ils évaporent ensuite, pour la stérilisation du liquide.

Von Lingelsheim et Leuchs ont décelé la toxine en question dans les vieilles cultures en bouillon âgées de cinq semaines. Le liquide filtré était injecté sous la peau des souris : 1 centimètre cube suffisait à les tuer en vingt-quatre heures.

Ces faits sont de nature à montrer qu'il ne s'agit pas d'une toxine soluble, mais d'un poison retenu par le corps microbien.

SIÈGE DU MÉNINGOCOQUE DANS L'ORGANISME HUMAIN.

Pus cérébro-méningé. — Le Méningocoque est décelable dans le pus qui entoure la moelle et la substance cérébrale ; on le décèle aussi dans le liquide céphalo-rachidien, extrait par ponction lombaire, dans la paroi des ventricules, etc. D'aucuns l'ont rencontré dans les abcès intracérébraux qui prennent parfois naissance ; les foyers d'encéphalite non suppurés, par contre, en sont dépourvus.

Rhino-pharynx. — Avant de se localiser aux méninges, le Méningocoque détermine, initialement, une rhino-pharyngite ; le mucus rhino-pharyngé des méningitiques est en effet riche en Méningocoques (fig. 156), au moins au début ; c'est au niveau de la muqueuse de l'espace sus et sous-choanal qu'ils se cantonnent de préférence. Ce germe y est constant dans toute atteinte méningée ; il disparaît parfois rapidement, mais, en d'autres circonstances, il persiste pendant toute la durée de la méningite et survit même à sa guérison. C'est l'existence indubitable de cette rhino-pharyngite qui a permis

de comprendre la contagiosité de la méningite cérébro-spinale, et la façon dont s'opère sa propagation des malades à leur entourage.

Notion nouvelle de première importance, non seulement les méningitiques, mais les *sujets sains* ayant été en contact avec ces derniers peuvent porter dans leur rhino-pharynx le germe spécifique. Chez eux la présence du Méningocoque est liée à l'existence d'une rhino-pharyngite méningococcique, qui évolue seule, sans donner lieu à des complications méningées ; le coccus de Weichsel-

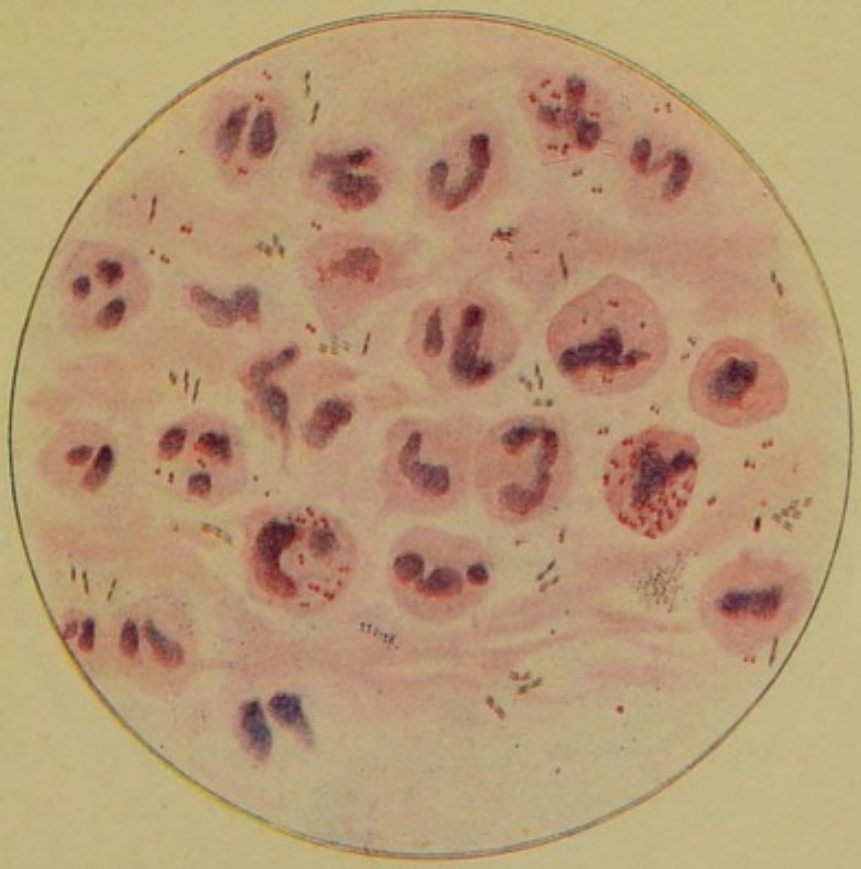


Fig. 156. — Méningocoques dans le mucus rhino-pharyngé : situation intracellulaire, les autres formes appartiennent à la flore normale.

baum, chez ces porteurs sains, persiste en moyenne quinze jours ; certains faits, cependant, montrent qu'il peut durer plusieurs mois.

Circulation sanguine. — Le Méningocoque se retrouve encore dans la circulation sanguine, où on peut le déceler par l'hémoculture. Il provoque ainsi une septicémie méningococcique, qui se révèle en général avant l'éclosion des phénomènes méningés. Elle peut se montrer sans que ces derniers apparaissent; il s'agit alors de méningococcémie sans méningite (Bovaird, Netter, etc.).

Enfin le Méningocoque provoque encore des arthrites, des pleurésies, péricardites, bronchopneumonies, où l'examen bactériologique permet de le mettre en évidence.

CARACTÈRES DISTINCTIFS DES GERMES SIMILAIRES.

Paraméningocoques.

Dopter a isolé du rhino-pharynx de sujets sains, et dans certains cas de méningite cérébro-spinale, restés sporadiques, un coccus en grain de café (fig. 157 et 158) ne prenant pas le Gram, dont les caractères fermentatifs sont identiques à ceux du Méningocoque de Weichselbaum. Mais ces germes ne sont pas agglutinables ni à 37°, ni à 55°

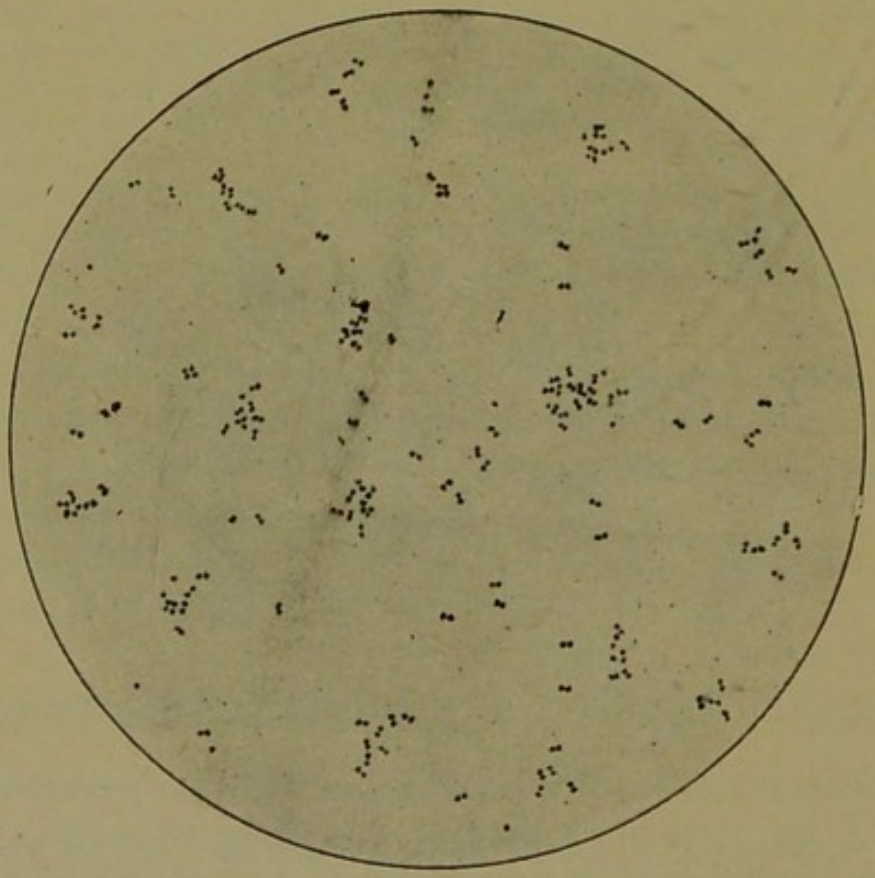


Fig. 157. — Paraméningocoque. Culture sur gélose-ascite âgée de vingt-quatre heures.

par le sérum antiméningococcique ; d'autre part, ils ne sont pas bactériolysés par ce même sérum dans l'épreuve du péritoine (fig. 155, p. 313) ; enfin la précipitation de leur extrait est une co-précipitation. S'ils fixent le complément comme le Méningocoque avec le sérum antiméningococcique, ils en sont incapables quand on les met en présence de sérum de sujets atteints de méningite méningococcique ; la réaction est positive au contraire quand on les met en présence de sérum de méningite paraméningococcique.

Par ces propriétés biologiques donc, ces germes se distinguent du Méningocoque d'une part et des Pseudo-Méningocoques de l'autre.

Peut-être faut-il les hémologuer avec le germe que Still a décrit dans la méningite, dénommée *méningite basilaire postérieure* par les auteurs anglais.

Pseudo-Méningocoques.

« Micrococcus catarrhalis ». — Hôte fréquent du rhino-pharynx et des voies respiratoires, le *Micrococcus catarrhalis*, isolé par Pfeiffer, bien étudié par Bezançon et J. de Jong, provoque fréquem-

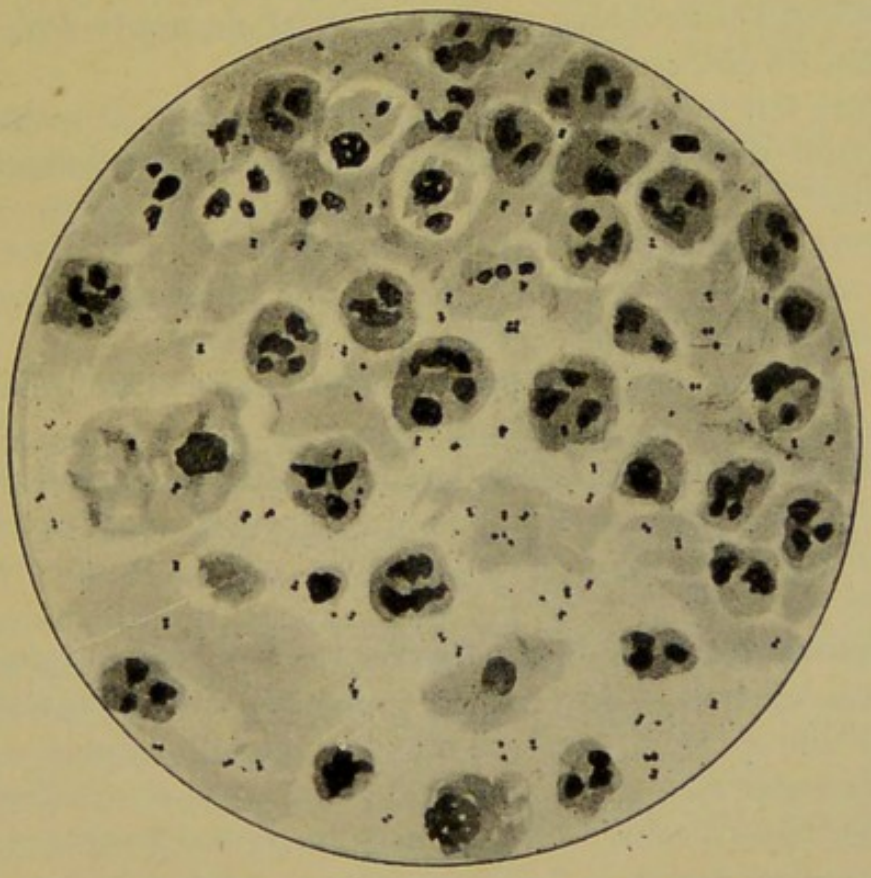


Fig. 158. — Liquide céphalo-rachidien de méningite cérébro-spinale paraméningococcique.

ment des angines, parfois des méningites aiguës, semblables en tous points à la méningite méningococcique.

Les colonies sur gélose-ascite sont rondes, blanches; elles présentent une surface sèche et un peu inégale; à un faible grossissement, elles paraissent granuleuses et légèrement brunâtres. Leur diamètre dépasse rarement 1 millimètre à $1^{mm},5$; elles sont donc plus petites que celles du Méningocoque. Quand on cherche à les émulsionner dans une goutte d'eau, elles forment des grumeaux.

En tubes inclinés, la culture est blanche, compacte.

Au microscope, le *M. catarrhalis* apparaît sous l'aspect de micro-

coques isolés assez volumineux; sauf sur les cultures de première génération, on perçoit rarement des diplocoques, et plus exceptionnellement encore des tétrades. Il ne prend pas le Gram.

Il n'est pas agglutiné par le sérum antiméningococcique et ne fait fermenter aucun sucre.

« **Diplococcus pharyngis siccus** ». — Les colonies sont sèches, résistantes au prélèvement, profondément sillonnées; elles mesurent environ 3 millimètres de diamètre. Il est impossible de les émulsionner en milieu liquide et de dissocier les grumeaux qui se forment alors.

Les éléments microbiens sont en général de petits diplocoques, tous égaux, ne prenant pas le Gram.

Ce germe fait fermenter tous les milieux sucrés. L'agglutination est impossible à chercher en raison de l'impossibilité d'émulsionner ses colonies.

« **Micrococcus pharyngis cinereus** ». — Colonies blanc grisâtre, arrondies, de 1 à 1^{mm},5. A un faible grossissement, elles paraissent brunes, granuleuses, avec des bords lisses.

Ce germe pousse aisément sur gélose ordinaire et sur gélatine, ce que ne fait aucun des germes similaires.

Sur les préparations colorées (Gram négatif), on perçoit des cocci volumineux en diplocoques ou en amas séparés.

Agglutination négative. Fermentations négatives sur tous les sucres.

« **Diplococcus pharyngis flavus I** ». — Colonies rondes, peu élevées, transparentes, légèrement jaunâtres. Elles s'émulsionnent bien dans une goutte liquide qui prend une teinte jaune.

Elles poussent bien sur gélose ordinaire. Cocci ne prenant pas le Gram, identiques à ceux du Méningocoque. Tétrades rares.

Agglutination négative. Fait fermenter tous les sucres.

« **Diplococcus pharyngis flavus II** ». — Colonies analogues à celles du *M. catarrhalis*, mais teintées en jaune clair; elles s'émulsionnent difficilement dans les liquides.

Cocci très petits ne prenant pas le Gram.

Agglutination négative. Fait fermenter tous les sucres.

« **Diplococcus pharyngis flavus III** ». — Colonies rondes peu élevées, transparentes, analogues à celles du Méningocoque, mais jaunâtres. Pousse très peu sur gélose ordinaire. La culture sur gélose-ascite est nettement jaune.

Cocci semblables à ceux du Méningocoque, mais sans tétrades. Gram négatif.

Agglutination en général négative. Ce germe agglutine parfois

cependant avec l'antisérum et le sérum normal. Fait fermenter glucose et maltose, sans action sur la lévulose (comme le Méningocoque).

« **Diplococcus crassus** » ou **Pseudo-Méningocoque de Jæger.** — Colonies petites, gris blanc, granuleuses, ou bleu gris. En tubes inclinés, la culture est blanche, compacte, moins abondante que celle du Méningocoque. Pousse sur gélose ordinaire; la culture commence à 20°.

Le *Diplococcus crassus prend le Gram*; mais souvent sur la même préparation un certain nombre de cocci ne le prennent pas.

Les cocci sont plus volumineux que ceux du Méningocoque; on observe, comme pour ce dernier, des différences de taille suivant les éléments.

Il agglutine parfois avec le sérum antiméningococcique; l'épreuve de la saturation des agglutinines montre qu'il s'agit de coagglutininés.

Fait fermenter tous les sucres.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Recherche.

La recherche du Méningocoque s'effectue dans les différents produits pathologiques qui le renferment.

Dans le liquide céphalo-rachidien. — *Ponction lombaire.* — On pratique, suivant la technique usuelle, une ponction lombaire qui donne issue à du liquide céphalo-rachidien, louche et opalescent, ou clair et limpide.

Centrifugation. — Quel que soit son aspect, on soumet le liquide à la centrifugation pendant quinze à vingt minutes : un culot blanchâtre ou grisâtre se forme au fond du tube, alors que la partie liquide superficielle est claire et limpide.

Examen microscopique. — Après décantation, à l'aide d'une pipette effilée, on prélève une parcelle du culot, et on l'étale en couche mince sur plusieurs lames de verre.

Après dessiccation, fixer par l'alcool-éther, et colorer par la thionine phéniquée ou de préférence par la méthode de Gram, avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée.

Au microscope, outre des leucocytes dégénérés (polynucléaires le plus fréquemment), on constate des cocci en grains de café, ne prenant pas le Gram, intracellulaires ou extracellulaires. Ce seul examen ne permet pas de préjuger de leur nature : il peut s'agir de Méningocoques, comme aussi de germes similaires. L'isolement s'impose pour qu'on puisse, par des réactions biologiques, caractériser ce germe, suspect à l'examen direct.

Isolement. — On ensemence abondamment le culot de centrifugation sur tube de gélose-ascite, ou sur boîte de Pétri dans laquelle ce milieu a été préalablement coulé. On porte à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre heures. Ce délai passé, prélever une parcelle des colonies qui ont poussé ; on l'émulsionne dans une gouttelette d'eau versée sur une lame de verre. On fait ainsi une préparation que l'on colore par le Gram et le Ziehl surajouté.

Si la colonie examinée révèle la présence d'un coccus en grain de café, ne prenant pas le Gram, la repiquer sur un tube de gélose-ascite ; cette nouvelle culture permettra l'identification ultérieure (si la culture venant directement de l'ensemencement du liquide céphalo-rachidien est pure et assez abondante, on peut, pour gagner du temps, l'utiliser immédiatement pour l'identification).

Dans un certain nombre de cas, surtout quand le liquide céphalo-rachidien est examiné plusieurs heures après son prélèvement, ces moyens de recherche peuvent ne donner aucun renseignement : ou bien l'examen microscopique ne révèle l'existense d'aucune bactérie (faire néanmoins l'ensemencement), ou bien l'ensemencement reste stérile. Dans ces conditions, il faut user de moyens qui peuvent cependant révéler la présence du Méningocoque.

Précipito-réaction. — D'après H. Vincent et Bellot, cette méthode rend à cet égard de grands services :

> On soumet le liquide céphalo-rachidien à une centrifugation prolongée ; le liquide décanté est versé dans un tube stérile ; à L gouttes on ajoute I à III gouttes de sérum antiméningococcique non chauffé ; le tube est hermétiquement bouché au liège ou au caoutchouc ; on prépare de même un tube de contrôle avec du liquide céphalo-rachidien seul. Le tout est mis à l'étuve à 37° ou de préférence à 55°. Au bout de quinze à seize heures, le tube contenant le sérum anti devient opalescent si le Méningocoque est en cause ; le tube témoin reste clair et limpide.

Il est juste d'ajouter que, même au cas de méningite à Méningocoques, la réaction peut manquer ; de plus, certains liquides céphalo-rachidiens se troublent sans addition de sérum ; puis, avec certains autres, la réaction se produit également avec le sérum anti et le sérum normal, enfin la précipito-réaction peut s'effectuer, en dehors de toute méningococcie, avec le liquide de méningite tuberculeuse.

Séro-diagnostic. — On peut avoir recours encore au séro-diagnostic, en émulsionnant une culture de Méningocoques dans une dilution à 1 p. 50 du sérum du malade. Cette méthode ne peut donner de résultat que dans les cas datant au moins de huit jours ; avant ce délai, les agglutinines ne sont pas encore apparues dans le sérum.

Dans le mucus rhino-pharyngé. — *Prélèvement* (fig. 159).

— Le prélèvement doit être pratiqué non dans les fosses nasales, mais au niveau du rhino-pharynx. Faire ouvrir la bouche du sujet; une spatule abaisse la langue; de la main droite, introduire derrière le voile du palais un écouvillon (fig. 159, B, E.) d'ouate stérile, monté sur tige de métal coudée. Imprimer alors à l'appareil quelques mouvements d'oscillation à droite et à gauche, et on le retire enduit de mucus.

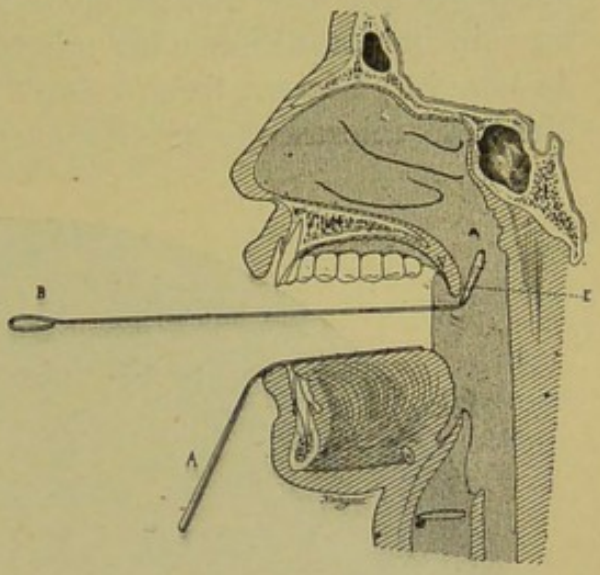


Fig. 159. — Prélèvement du mucus rhino-pharyngé dans le rhino-pharynx.

On peut pratiquer, à l'aide de ce mucus, un examen microscopique direct, mais les renseignements qu'il donne sont dénués de valeur. Il faut, sans plus attendre, effectuer l'isolement.

Isolement. — A la périphérie d'une boîte de Petri dans laquelle on a coulé de la gélose-ascite, on dépose une parcelle du mucus recueilli; à l'aide d'une spatule, ou d'un agitateur coudé, on l'étale sur toute la surface, puis, au besoin, sur une deuxième et même une troisième boîte semblable de gélose-ascite, sans recharger l'öse. On met à l'étuve pendant vingt-quatre à quarante-huit heures, en ayant soin de placer les boîtes face en dessous, pour éviter l'humidification de la surface par l'eau de condensation.

Au bout de ce temps, on observe habituellement de nombreuses

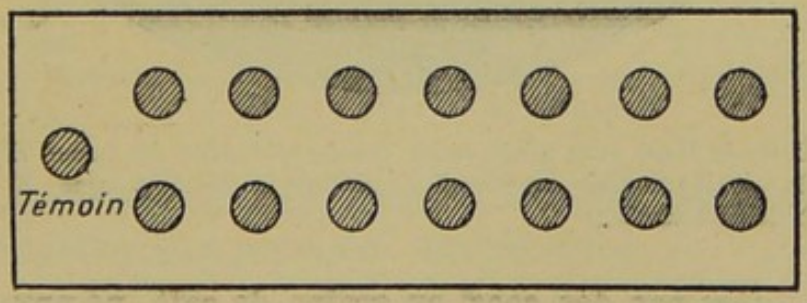


Fig. 160. — Dispositif pour l'examen de nombreuses colonies suspectes.

colonies isolées. Porter l'attention sur les colonies rondes, transparentes, grisâtres, de 1 à 2 millimètres de diamètre (fig. 161).

On prélève une parcelle de plusieurs colonies suspectes; on l'émulsionne dans une gouttelette d'eau déposée sur une lame de verre,

Si l'on a de nombreuses colonies à identifier, il est commode, pour gagner du temps, de faire sur la même lame de quinze à vingt préparations (fig. 160) d'égale épaisseur (1). (Il est bon d'y ajouter sur un coin une émulsion d'un microbe prenant le Gram, qui servira de témoin.) Sécher, fixer, colorer par le Gram avec suraddition de Ziehl. Le microscope montre ensuite lesquelles parmi ces colonies

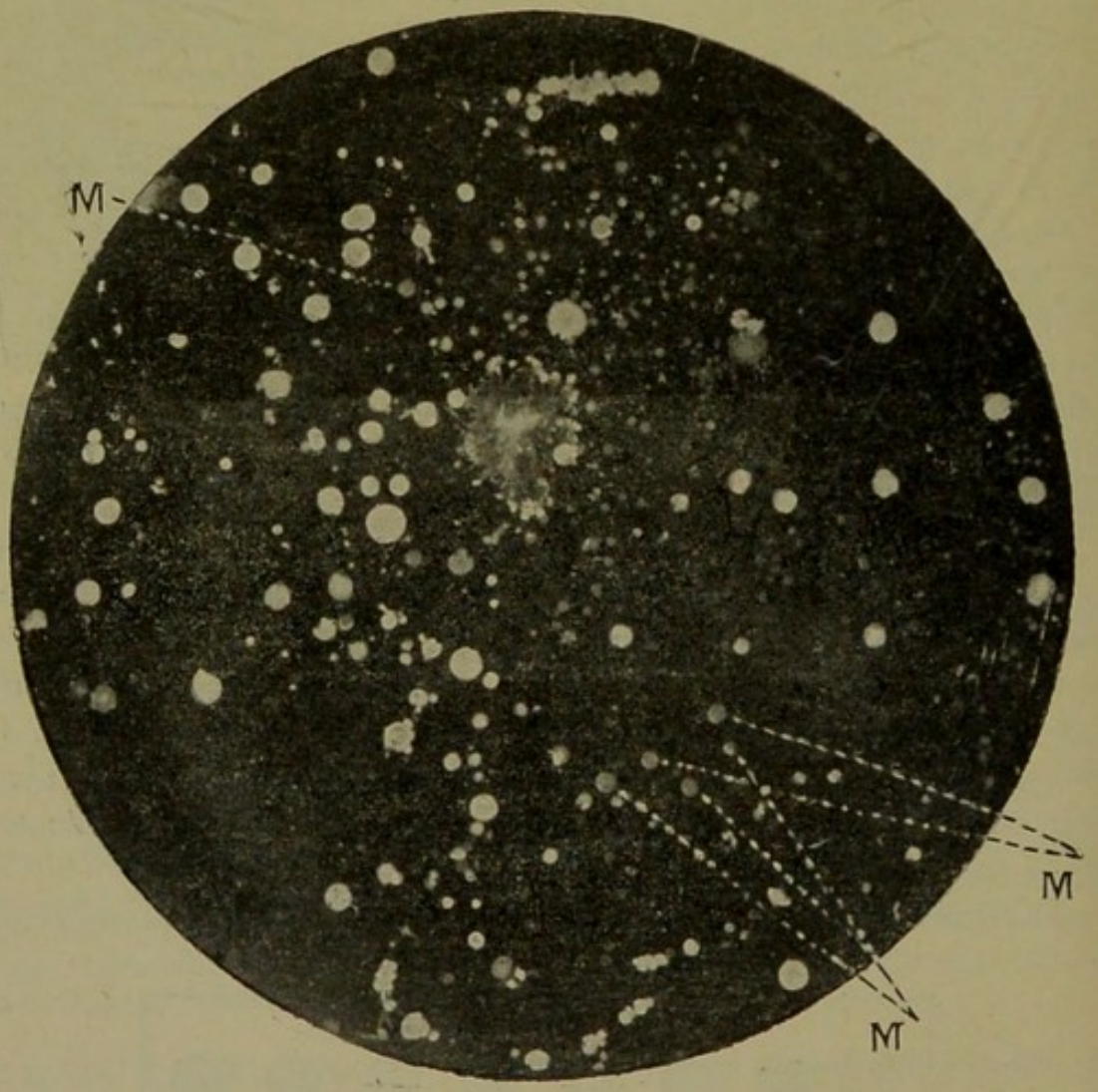


Fig. 161. — Boîte de Petri avec gélose-ascite ensemencée avec du mucus rhino-pharyngé. Au milieu de colonies diverses, on perçoit six colonies de Méningocoque, M, semi-transparentes. (grandeur naturelle).

sont constituées par des cocci en grains de café, ne prenant pas le Gram : on ensemence ces dernières sur tubes de gélose-ascite, que l'on place à l'étuve pendant vingt-quatre heures, pour obtenir une culture destinée aux épreuves d'identification.

(1) Chaque préparation peut être étiquetée à l'aide du crayon gras par un numéro correspondant à celui qui a servi à repérer sur la boîte de Petri les colonies auxquelles elles se rapportent.

Dans le sang. — On pratique une hémoculture dans les conditions habituelles, et on ensemence 4 à 5 centimètres cubes de sang dans un ballon de 250 centimètres cubes de bouillon-ascite. Quand la culture a été fertilisée, on pratique un isolement sur tubes de gélose-ascite, comme précédemment.

Dans le pus des arthrites. — Après un examen microscopique direct, on pratique l'isolement dans les mêmes conditions.

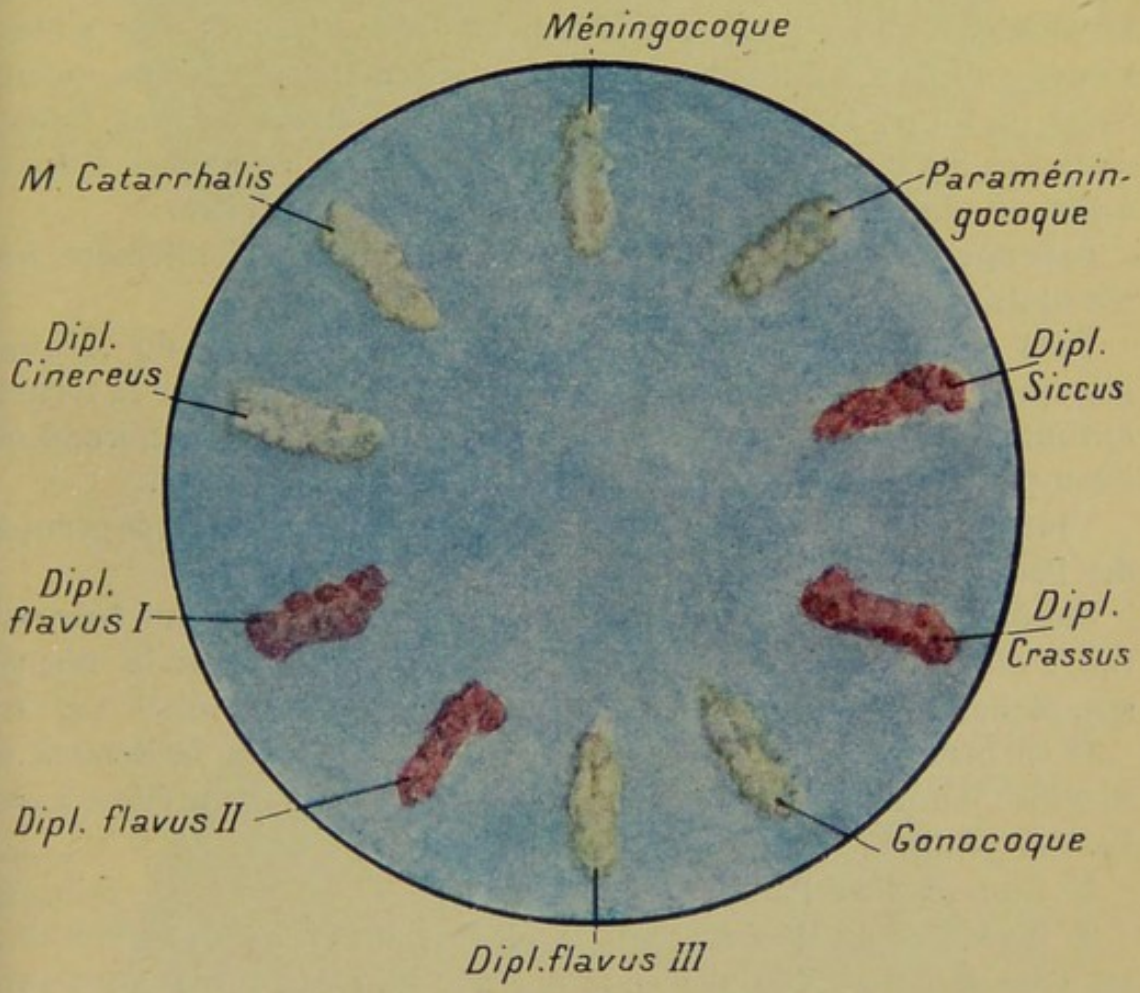


Fig. 162. — Épreuve des fermentations sucrées (Méningocoque et germes similaires). Gélose-ascite *lévulosée* tournesolée.

Les mêmes règles sont applicables à la recherche dans les divers produits pathologiques provenant des viscères.

Identification.

Les cultures provenant des colonies suspectes, isolées précédemment, servent alors aux épreuves de l'identification : agglutination et fermentations sucrées.

Agglutination. — Pour chaque échantillon microbien à iden-

tifier, on dispose, comme il a été dit plus haut, plusieurs tubes, contenant 1 centimètre cube d'une dilution à 1 p. 100 et 1 p. 200 de sérum antiméningoccocique, de sérum normal et d'eau physiologique. On émulsionne dans chacun une öse de la culture à l'étude. Après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37°, on observe les résultats (fig. 153).

Fermentations sucrées. — On ensemence la culture suspecte sur des boîtes de Petri contenant de la gélose-ascite (tournesolée, lévulosée, maltosée, glucosée) (1 p. 100 de sucre). Si l'on a plusieurs cultures à étudier, on peut les ensemencer sur une même boîte (fig. 162, 163, 164), à condition que les stries opérées soient distantes les unes des autres. Après douze à seize heures d'étuve à 37°, on observe les fermentations qui ont été produites.

Interprétation des résultats. — On note conjointement les résultats donnés par ces deux épreuves.

Tout germe qui présente les *fermentations classiques* du Méningocoque et *est agglutiné nettement* à 1 p. 100 et 1 p. 200 par le sérum antiméningococcique seul, et nullement par le sérum normal et l'eau physiologique, doit être catalogué « Méningocoque ».

Tout germe qui déroge à cette règle doit être classé dans le groupe des Pseudo ou des Paraméningocoques.

Toutefois, devant un germe qui présente les caractères fermentatifs du Méningocoque, mais n'est pas agglutiné par le sérum spécifique, trois hypothèses se présentent; il s'agit :

1° Ou bien du *Diplococcus flavus III*, qu'on reconnaît facilement à la teinte jaune que présente sa culture quand on la prélève avec l'öse de platine ;

2° Ou bien d'un Paraméningocoque;

3° Ou bien d'un Méningocoque agglutinable non à 37°, mais à 55°, ou encore d'un Méningocoque qui agglutinera après plusieurs passages sur les milieux artificiels.

Il faut répéter ces épreuves dans les conditions requises, ou bien, pour être plus rapidement renseigné, effectuer l'*épreuve du péritoine* (Voy. p. 313), qui donnera la solution.

SÉROTHÉRAPIE.

La notion de la spécificité du Méningocoque a naturellement conduit à la préparation d'un sérum destiné à le combattre.

Préparation du sérum. — La préparation du sérum antiméningococcique varie un peu suivant les auteurs :

Au début, Flexner immunisait ses chevaux à l'aide de cultures

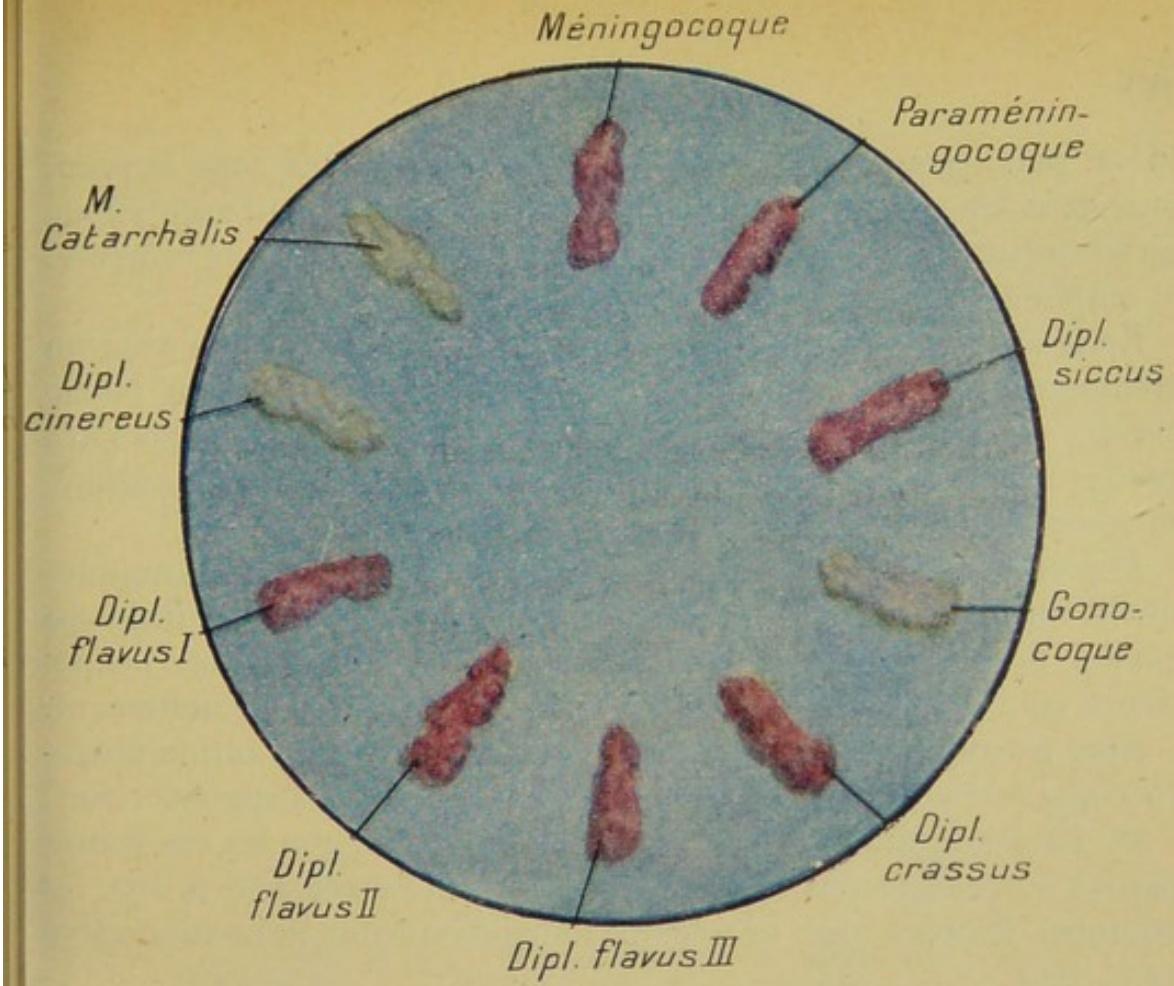


Fig. 163. — *Idem.* — Gélose-ascite *maltosée* tournesolée.

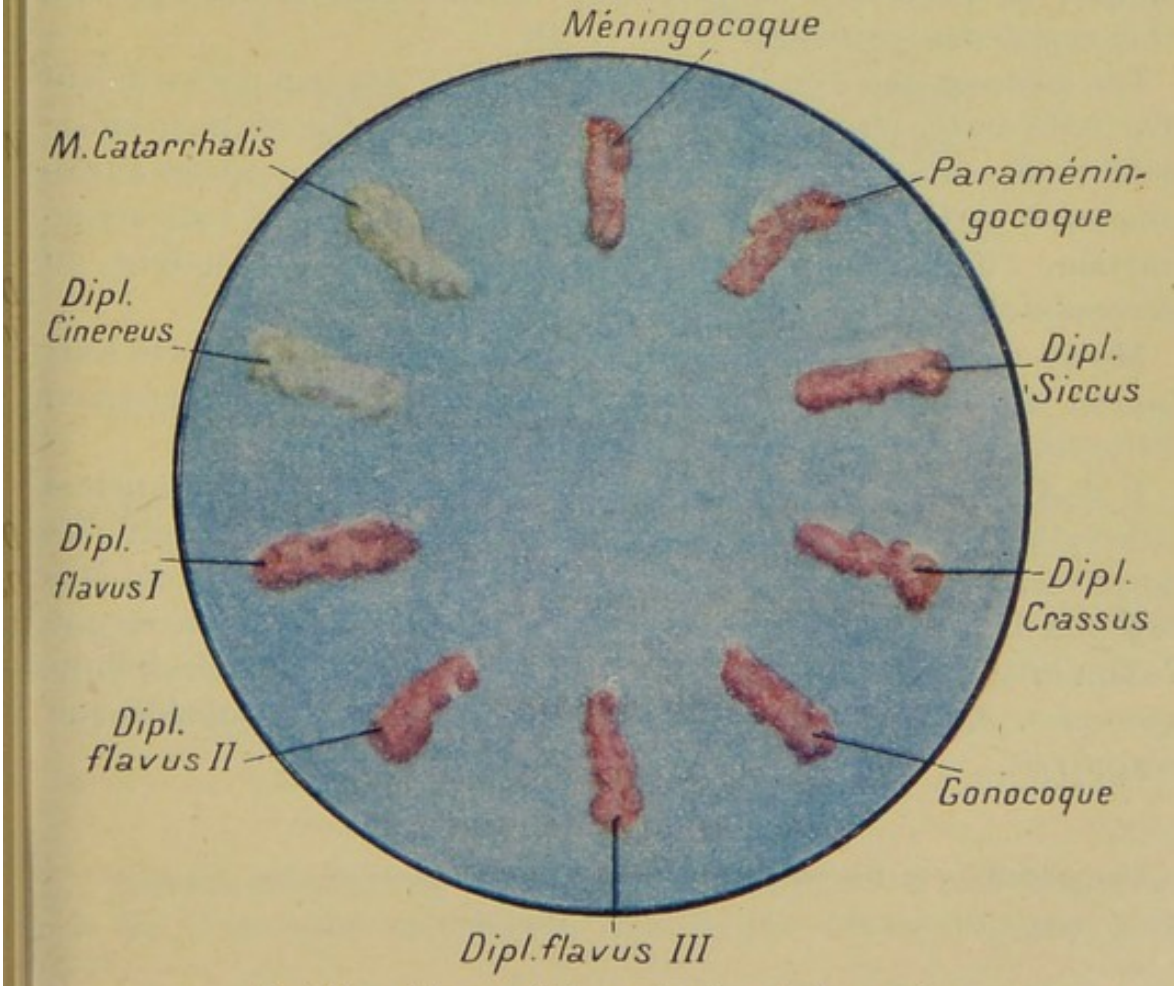


Fig. 164. — *Idem.* — Gélose-ascite *glucosée* tournesolée.

tuées, puis vivantes, de Méningocoques introduites sous la peau, puis dans les veines. Il ajoutait quelques doses d'extrait autolytique qu'il injectait sous la peau. Il a actuellement renoncé à la voie veineuse, et emploie uniquement la voie sous-cutanée.

Kolle et Wassermann immunisent trois chevaux, l'un avec un Méningocoque, un second avec plusieurs échantillons du même germe, un troisième avec l'extrait autolytique. C'est le mélange à parties égales de ces trois sérums qui constitue leur sérum antiméningococcique.

Dopter vaccine ses chevaux à l'aide de cultures vivantes uniquement, injectées sous la peau d'abord, puis dans les veines : il obtient ainsi à la fois un sérum *antimicrobien* et *anti-endotoxique*; l'expérience sur l'animal et les essais thérapeutiques le prouvent nettement.

Son pouvoir curatif. — L'efficacité du sérum antiméningococcique introduit dans la cavité rachidienne peut s'apprécier par :

1° La diminution du taux de mortalité : alors que les cas traités par les moyens usuels donnent une mortalité de 60 à 70 p. 100, les atteintes traitées par le sérum fournissent une léthalité de 10 à 12 p. 100;

2° L'atténuation rapide et progressive de tous les symptômes méningés, la chute de la température, l'amélioration de l'état général et la rareté des séquelles.

Les insuccès que l'on constate parfois sont dus non pas au défaut d'activité du sérum, mais à des causes qui peuvent se résumer ainsi : débilité du malade, son âge, intervention trop tardive, causes anatomiques et particulièrement le cloisonnement de l'espace sous-arachnoïdien, l'oblitération des trous de Magendie, etc., la nature du germe infectant, différent du Méningocoque.

Mode d'emploi. — Le sérum antiméningococcique injecté sous la peau est complètement dénué d'efficacité. Il s'emploie en *injections intrarachidiennes*, après ponction lombaire préalable.

Il doit être injecté en quantité suffisante (20, 30, 40 centimètres cubes pour un adulte, 10 à 30 centimètres cubes pour un enfant); les doses varient suivant la gravité de l'atteinte. Ces doses doivent être répétées systématiquement plusieurs jours de suite jusqu'à ce que l'examen du liquide céphalo-rachidien révèle l'absence de Méningocoques. Elles doivent être reprises dès que le Méningocoque réapparaît.

CHAPITRE XXIII

GONOCOQUE

Le Gonocoque, agent pathogène de l'infection blennorragique, a été découvert par Neisser en 1879, dans le pus urétral de la blennor-

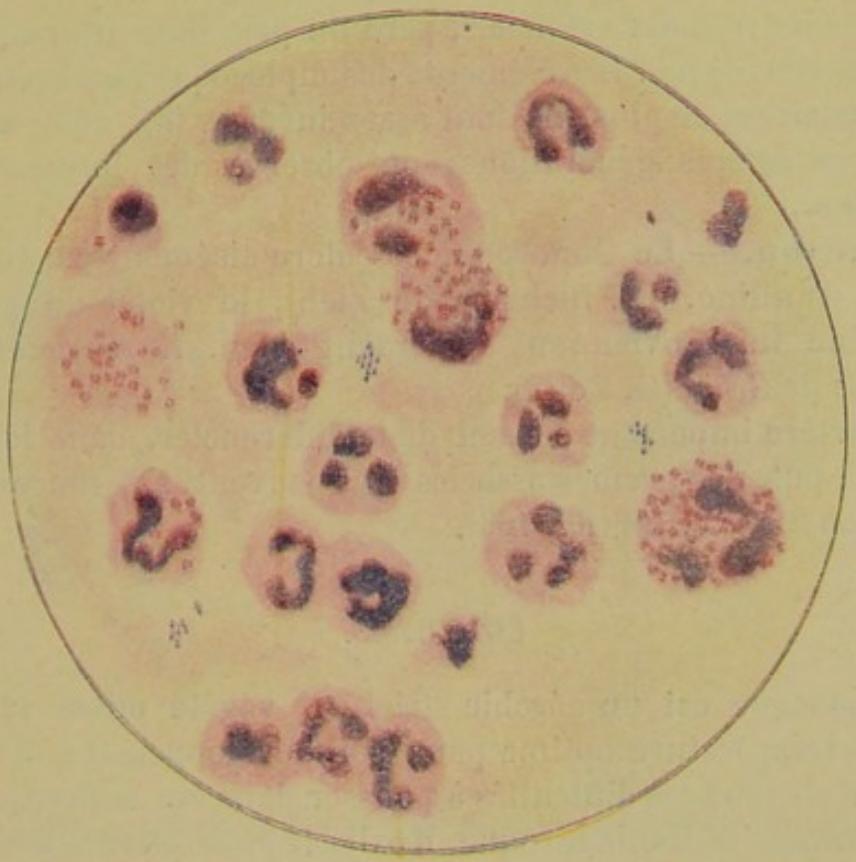


Fig. 165. — Gonocoque dans le pus blennorragique. La figure montre en outre des cocci banaux associés, prenant le Gram.

ragie vulgaire. Il présente de grandes analogies morphologiques avec le Méningocoque et tout le groupe des germes similaires. Il s'en distingue nettement par ses caractères biologiques.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Dans les produits pathologiques.* — Le Gonocoque se présente dans le pus blennorragique et les

complications suppuratives connues, sous un aspect spécial.

Isolé, c'est un coccus à forme sphérique : mais le plus souvent il se montre sous l'aspect de *diplocoques* dont chaque élément ressemble à un grain de café ou un haricot, regardant l'élément associé par sa face plane ou légèrement concave.

Ces germes peuvent être libres entre les cellules du pus, mais, en général, ils sont *intracellulaires*. On les rencontre en effet dans la masse protoplasmique des polynucléaires dégénérés ou des larges cellules endothéliales qui s'y mêlent. Ils y sont habituellement nombreux, et certaines cellules en sont tellement bourrées qu'elles éclatent (fig. 165).

Dans les cultures. — Le Gonocoque, cultivant assez difficilement dans les milieux artificiels, perd un peu, dans les cultures, sa forme caractéristique. Les éléments des diplocoques sont plus arrondis ou ovalaires ; de plus, ils sont assez inégaux (fig. 166), au moins lors des premières générations ; on observe des formes géantes d'involution.

Coloration. — Le Gonocoque se colore aisément par toutes les couleurs d'aniline. La fuchsine de Ziehl, le violet de gentiane, la thionine lui conviennent également bien. *Il se décolore par la méthode de Gram* (G. Roux).

Ce caractère important permet de le différencier, dans les préparations de pus, des germes associés qui peuvent s'y rencontrer, et être confondus avec lui (fig. 165).

CULTURES.

Le Gonocoque est un aérobie strict. Il végète entre 22 et 40° ; 37° est la température optima pour son développement. Il éprouve cependant de grandes difficultés à pousser dans les milieux de laboratoire. Comme le Méningocoque, il exige le plus souvent des milieux albumineux pour donner une culture abondante et durable.

Bouillon ordinaire et bouillon-ascite. — Dans le bouillon ordinaire, le Gonocoque pousse à peine : vers le deuxième ou troisième jour, un trouble léger se produit, bientôt suivi d'un dépôt qui se forme au fond du tube.

En bouillon-ascite (bouillon, 3 parties ; ascite, 1 partie), le développement est un peu plus abondant ; le trouble se manifeste vers le deuxième jour ; puis des flocons grisâtres se déposent. Quand le Gonocoque a subi plusieurs passages dans ce milieu, il peut s'acclimater au bouillon ordinaire.

De Christmas prépare du bouillon de veau non peptonisé, qu'il

concentre en évaporant par l'ébullition au quart de son volume. A 1 partie il ajoute 3 parties d'ascite. Dans ce milieu, le développement est rapide ; les Gonocoques conservent leur forme en grains de café ; les formes d'involution sont rares (Vannod).

Urine. — Finger a montré que le Gonocoque donnait une culture assez abondante dans l'urine non alcalinisée, à laquelle on ajoute 0,5 p. 100 de peptone. Le développement est plus marqué encore quand l'urine est albumineuse (Hammer).

Gélose ordinaire. — Culture très grêle, ne s'effectuant qu'à la

Fig. 166. — Culture de gonocoque (gélose-ascite, vingt-quatre heures).

faveur des albuminoïdes du pus qu'on ajoute en même temps qu'on pratique l'ensemencement de pus urétral; mais cette culture, repiquée dans le même milieu, ne pousse pas. Vannod cependant a obtenu des cultures abondantes et repiquables en trente passages avec la gélose ordinaire très faiblement alcalinisée.

Gélose-ascite. — La gélose simple ou glycérinée, additionnée d'ascite ou de liquide pleural (1 partie), convient très bien pour la culture du Gonocoque. Au bout de vingt quatre à trente-six heures, les *colonies isolées* apparaissent arrondies, punctiformes, blanc grisâtre, légèrement translucides, à bords sinueux. Elles atteignent 1 millimètre environ en deux à cinq jours ; elles sont alors plus opaques;

leur centre est sombre et épais; elles ont une consistance assez visqueuse. Transportées dans une gouttelette d'eau, elles s'émulsionnent, mais d'une façon peu homogène.

Les *stries* forment une glaire mince, grisâtre, un peu transparente; la surface est humide et brillante.

Gélose de Wassermann. — Le milieu suivant est très favorable à la culture du Gonocoque :

A 15 centimètres cubes de sérum de porc ne contenant pas d'hémoglobine on ajoute 30 à 35 centimètres cubes d'eau, 2 à 3 centimètres cubes de glycérine, et 80 à 90 centigrammes de nutrose. On agite bien ce mélange, et on le chauffe, en l'agitant toujours, jusqu'à l'ébullition. Le liquide, qui était trouble, s'éclaircit. On continue l'ébullition pendant vingt minutes environ, ce qui suffit pour stériliser le liquide quand le sérum est frais. Le liquide est ensuite mélangé à parties égales avec de l'agar contenant 2 p. 100 de peptone, préalablement liquéfié à 50°, et le mélange est versé dans des boîtes de Petri.

Gélose au sang (Bezançon et Griffon). — Vingt-quatre heures après l'ensemencement du pus, les colonies apparaissent plates, rondes, humides, brillantes, assez translucides, blanchâtres, tranchant sur le fond brunâtre du milieu.

Sérum coagulé. — Sur sérum humain (Bumm) ou sérum de lapin (de Christmas) coagulé, les colonies présentent des caractères identiques à ceux qu'on observe sur gélose-ascite.

Gélatine. — Sur gélatine, en *piqûre*, à 22°, on observe au bout de quelques jours un développement léger le long de la piqûre. A la surface une légère dépression se forme, devenant vers le dixième jour une espèce de cupule, constituée plutôt par un ramollissement de la gélatine que par une véritable liquéfaction (Macé). Turro préfère la gélatine acide, c'est-à-dire la gélatine ordinaire non alcalinisée. Mais le développement est très grêle et les colonies difficilement repiquables.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — La vitalité du Gonocoque, tombé dans le milieu extérieur, est extrêmement faible, qu'il provienne des cultures artificielles ou du pus blennorragique lui-même. Le pus issu de l'organisme, conservé à 0° ou même à la température ordinaire, est stérile en vingt-quatre heures. Il est stérilisé en quelques minutes à 55°. Il en est de même par une exposition à l'air de quelques heures. Ces faits expliquent la fréquence des résultats négatifs quand la culture a été faite plusieurs heures après le prélèvement.

Dans les cultures, la vitalité du Gonocoque est faible. Il ne se conserve qu'à la condition de séjourner en permanence à l'étuve à 37°. S'il est acclimaté aux milieux artificiels, il peut alors survivre trois à quatre semaines au plus. Un séjour de quelques heures à la température du laboratoire le tue régulièrement.

Ce germe est encore très sensible à l'action des antiseptiques, même faibles : le sublimé, les sels d'argent solubles : argent aminé à 1 p. 4000, argonium à 1,5 p. 100, le protargol à 1 p. 100, le tuent en cinq à dix minutes.

Réactions biochimiques. — *Indol.* — Pas de production d'indol dans les cultures.

Action fermentative sur les sucres. — Roth a montré que le Gonocoque faisait fermenter les milieux glucosés et restait sans action sur les autres sucres. C'est là un moyen de différenciation important d'avec le Méningocoque (Voy. p. 310).

Réactions vis-à-vis de l'antisérum. — *Agglutination.* — Un sérum antigonococcique, obtenu par injections de cultures de Gonocoque à l'animal, agglutine ce germe. La recherche s'effectue par le procédé macroscopique, en diluant une anse de culture sur agar dans 1 centimètre cube d'une dilution de sérum. Cette agglutination ne se produit pas avec des cocci étrangers, comme le Staphylocoque, le Streptocoque, etc.

Toutefois elle peut se montrer avec le Méningocoque (Brückner et Cristeanu, Vannod, etc.). Mais, en ce cas, l'épreuve de la saturation des agglutinines (Dopter et R. Koch) démontre d'une façon formelle qu'il s'agit alors de *coagglutinines*, non spécifiques, l'agglutination spécifique étant réservée au seul Gonocoque.

D'après Torrey, un sérum obtenu par vaccination à l'aide d'un échantillon de Gonocoque peut ne contenir d'agglutinines spécifiques que pour ce seul échantillon, et des coagglutinines pour d'autres échantillons du même germe. Il a tendance à admettre que le groupe Gonocoque n'est pas homogène, et qu'il existe des différences spécifiques suivant les races envisagées.

Précipitation. — L'extrait autolytique de Gonocoque, additionné d'une minime quantité de sérum antigonococcique, se trouble rapidement : un précipité se forme.

Ce précipité s'obtient de même, mais d'une façon moins marquée, avec l'extrait de Méningocoque. La saturation des précipitines (Dopter) montre que, dans le premier cas seul, la précipitation est spécifique; elle ne l'est pas dans le second (co-précipitation).

Sensibilisatrice. — D'après les recherches de Vannod, le sérum antigonococcique contient une sensibilisatrice spécifique pour le

Gonocoque ; au contraire, mis en présence de Staphylocoque, Streptocoque, etc., et même de Méningocoque, la réaction reste négative. Ces constatations importantes sont de nature à prouver nettement l'individualité spécifique du Gonocoque, que d'aucuns, Lepierre et Pinto entre autres, ont voulu nier, en déclarant que le Méningocoque et le Gonocoque étaient des germes identiques.

Toutefois, Teayne et Torrey, examinant à cet égard plusieurs échantillons de Gonocoques, ont observé que, vis-à-vis d'un même antisérum, ils se comportaient différemment : certains fixent le complément, d'autres ne le fixent pas. D'après ces faits, le groupe Gonocoque ne serait pas homogène.

Cette sensibilisatrice gonococcique a été mise en évidence par plusieurs auteurs (Müller et Oppenheim, Brück, Meakins), dans le sérum de sujets atteints d'arthrite, de salpingite, de prostatite, d'urétrite chronique gonococciques.

D'après Teayne et Torrey, pour être utilisée en vue du diagnostic, et en raison des différences signalées, cette recherche demande à être effectuée après plusieurs races de Gonocoques.

ACTION PATHOGÈNE.

Action pathogène sur l'organisme humain. Habitat. — La *blennorragie* est la détermination la plus fréquente de l'infection gonococcique.

Le Gonocoque se rencontre en effet dans le pus urétral.

Au début de l'écoulement, voici l'aspect que présente le pus : l'examen décèle de nombreux globules pyoïdes, contenant dans leur masse protoplasmique des Gonocoques, mais encore peu nombreux. On constate de plus des cellules endothéliales dont quelques-unes contiennent, elles aussi, des Gonocoques.

Au troisième ou quatrième jour, les Gonocoques sont beaucoup plus abondants, et les leucocytes qui les ont phagocytés sont nombreux; il n'est pas rare d'en compter un sur cinq ou six qui sont littéralement bourrés de diplocoques.

Puis les cellules épithéliales disparaissent, et l'on voit apparaître des germes d'association secondaire.

Enfin, quand l'urétrite passe à la phase chronique, ces cellules épithéliales redeviennent fort nombreuses, contenant quelques Gonocoques, alors que les leucocytes se raréfient et sont dénués d'éléments microbiens.

Dans les *coupes* d'urètre blennorragique, les Gonocoques se trouvent dans les couches les plus superficielles de l'épithélium ; ils

siègent de préférence dans leur intervalle; ils envahissent parfois la profondeur et vont déterminer des petits abcès glandulaires, puis urétraux, qui entretiennent si longtemps l'infection. Enfin ils peuvent passer dans la circulation pour envahir l'organisme et déterminer les complications générales.

Le Gonocoque est encore responsable de la *vulvo-vaginite des petites filles*; on le trouve dans la blennorragie ano-rectale.

Ce germe détermine les complications des organes voisins et des complications éloignées : les *métrites*, *salpingites*, les *pelvi-péritonites* post-blennorragiques relèvent parfois des microbes associés, mais aussi du Gonocoque ; l'*épididymite*, l'*orchite*, la *funiculite*, la *cystite*, certains cas de *néphrite* sont sous sa dépendance; enfin on connaît la *conjonctivite* de l'adulte et l'*ophtalmie* des nouveau-nés, dont il est l'agent infectieux.

Parmi les complications à distance et d'ordre circulatoire, notons l'*arthrite blennorragique*, où le Gonocoque se décèle, non pas dans le pus, mais dans la synoviale et les tissus péri-articulaires. Le Gonocoque se localise parfois aussi au niveau de l'endocarde, où il provoque l'éclosion d'une *endocardite infectieuse*; on connaît des *myélites*, des *méningites suppurées* gonococciques. Enfin la *gonococcémie*, ou septicémie gonococcique, est actuellement connue.

Action pathogène expérimentale. — Des essais d'inoculation de cultures de Gonocoque dans l'*urètre de l'homme* ont été tentés pour en démontrer la spécificité. Entre les mains de Bumm, Bockart, Kiefer, Bokai, ces épreuves ont été positives, et la blennorragie ainsi provoquée présentait des caractères cliniques semblables à ceux de la gonorrhée contractée à la suite d'un coït infectant.

Chez l'animal, les injections intra-urétrales sont, dans la plupart des cas, restées négatives. Seul, Fonseca a pu provoquer chez le lapin une blennorragie légère qui ne dura qu'une semaine.

L'instillation de cultures de Gonocoques sur la conjonctive du cobaye produit une légère conjonctivite, dont les éléments purulents contiennent du Gonocoque (Legrain). Morax est arrivé, chez le jeune lapin, à produire ainsi une conjonctivite purulente caractéristique. Mais, dans tous ces essais, on n'observe pas de multiplication du germe ; c'est ce que Morax a constaté à la suite de l'injection dans la chambre antérieure de l'œil chez le lapin.

Citons le fait intéressant de Malowski, qui détermina chez une lapine une salpingite mortelle avec péritonite, après une injection dans la cavité utérine.

Les *inoculations sous-cutanées* sont inoffensives.

L'*inoculation intraveineuse* tue l'animal (lapin, cobaye), quand la dose est suffisante, mais il ne se forme pas de septicémie : l'animal succombe sans doute par toxémie, car on ne retrouve le Gonocoque ni dans la circulation ni dans les viscères.

L'*inoculation intrapéritonéale* détermine chez le cobaye une péritonite suppurée mortelle, où les Gonocoques injectés ont en grande partie disparu.

TOXINE.

L'expérimentation sur l'animal montre qu'il succombe par intoxication, beaucoup plus que par infection. De plus, l'injection de cultures tuées par la chaleur provoque les mêmes phénomènes qu'avec les cultures vivantes. C'est l'indice de l'existence d'une toxine gonococcique. Mais, alors que de Christmas prétend qu'il s'agit d'une toxine soluble (gonotoxine), d'autres, comme Wassermann, Nicolaysen, Morax, estiment que le poison se trouve inclus dans le corps microbien.

Mode d'obtention. — ***Procédé de De Christmas.*** — De Christmas fait une culture avec son bouillon de veau non peptoné, additionné de trois quarts de liquide ascitique. Il abandonne la culture à l'étuve à 37°, pendant vingt à trente jours : puis il filtre. Le filtrat est la gonotoxine ; elle est précipitable par l'alcool absolu et le sulfate d'ammoniaque.

Procédé de Nicolaysen. — Nicolaysen dessèche une culture de Gonocoque sur gélose ; après broyage, il obtient une poudre toxique pour la souris.

Procédé de Vannod. — Vannod emploie le procédé connu de la préparation des nucléo-protéides.

Il émulsionne des cultures de quatre jours sur agar-ascite dans une solution de potasse à 1 p. 100, pendant deux à trois heures.

La nucléo-protéide est précipitée par addition d'acide acétique à 1 p. 100. On filtre, et le précipité restant sur le filtre est lavé à l'eau stérile jusqu'à ce que le liquide soit devenu neutre. On recueille le précipité sur le filtre, on le dessèche dans le vide. La poudre blanc grisâtre qui en résulte est broyée dans un mortier. C'est la nucléo-protéide, que l'on dissout dans une solution de carbonate de soude à 1 p. 100 pour l'injecter aux animaux.

Effets pathogènes. — L'inoculation *sous-cutanée* chez le lapin détermine une inflammation locale énorme, s'accompagnant de fièvre et d'un amaigrissement marqué, et se terminant souvent par un abcès ; l'animal succombe par cachexie.

L'*inoculation intraveineuse* provoque les mêmes phénomènes généraux.

L'*injection intrapleurale* détermine la production d'un exsudat purulent, toujours stérile.

Introduite dans la *chambre antérieure de l'œil*, la toxine provoque la formation d'un hypopion et l'ulcération de la cornée.

Enfin, chez l'animal, l'*injection urétrale* reste dénuée d'effets pathogènes. Chez l'homme, au contraire, injectée à la dose de 1 centimètre cube, elle amène un écoulement purulent sans Gonocoques, avec douleurs à la miction, absolument analogue à l'écoulement blennorragique.

L'*injection intracérébrale* de la toxine chez le cobaye est très sévère; elle le tue en cinq à dix heures, à la dose de 1 p. 500 ou 1 p. 1000 de centimètre cube.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic bactériologique de l'infection gonococcique urétrale est habituellement simple dans les cas aigus; l'examen microscopique seul suffit pour l'établir; il est moins facile dans les cas chroniques. Il en est de même dans les complications génito-urinaires, surtout chez la femme. Il convient alors de soumettre les produits prélevés à toutes les épreuves capables d'identifier le Gonocoque. Cette règle s'applique encore aux manifestations extragénitales où la rigueur du diagnostic s'impose pour éviter toute cause d'erreur.

Prélèvement du matériel de recherche. — Cette partie de la technique présente une importance capitale, car d'un prélèvement bien ou mal effectué dépendent souvent les résultats positifs ou négatifs de l'expertise.

Pus urétral chez l'homme. — Laver préalablement le méat urinaire. Faire sourdre une goutte de pus qu'on étale sur une lame de verre. Pour cet étalement, éviter, comme on le fait souvent pour l'envoyer au laboratoire, de recouvrir d'une lamelle; dans ces conditions, les bords se dessèchent, et, dans la partie centrale, les cellules et les Gonocoques s'altèrent. Il faut étaler sur place la goutte de pus, à l'aide d'une autre lame ou d'une carte de visite, de façon que l'étalement soit mince et uniforme. Éviter dans cette manœuvre le moindre traumatisme, pour éviter que les leucocytes contenant les Gonocoques éclatent, et que ces derniers ne deviennent libres, ce qui enlèverait ainsi un caractère important pour le diagnostic.

En cas d'urétrite chronique, prélever de la même façon la goutte purulente du matin. Sinon, recueillir les filaments qui nagent dans l'urine récemment émise, et étaler sur lame, comme il vient d'être

dit ; cet étalement exige toutefois un certain traumatisme dont il faut tenir compte dans l'appréciation des résultats.

Pus génital chez la femme. — Chez la femme, on a naturellement tendance à prélever le pus au niveau du vagin ou de la vulve. Il n'est pas démontré que le Gonocoque y pullule ; d'ailleurs, s'il existe en ces régions, il est associé à de nombreuses bactéries étrangères qui compliquent le diagnostic.

Sauf dans le cas de vulvo-vaginite des petites filles, où cette technique s'impose cependant, il faut prélever le pus au niveau de l'*urètre*, de même aussi au niveau du *col utérin*, où les Gonocoques sont particulièrement fréquents, de même encore au niveau des follicules et des glandes de Bartholin.

Enfin, au cours des opérations nécessitées par des *salpingites*, etc., on recueille et on étale le pus dans les mêmes conditions.

Pus ano-rectal, conjonctival, etc. — Dans l'ano-rectite gonococcique, recueillir la sécrétion anale avec un instrument mousse, une curette ou une sonde cannelée.

Pour la conjonctivite, la technique ne présente aucune difficulté.

Sérosités articulaires. — Faire aseptiquement une ponction exploratrice, et étaler le liquide obtenu comme il a été dit. Mais rappelons ici que le Gonocoque se trouve de préférence dans la synoviale ou dans les tissus péri-articulaires.

Pus méningé. — Ponction lombaire ; centrifugation du liquide céphalo-rachidien Étalement sur lames du culot de centrifugation, comme avec le pus urétral.

Sang. — En cas de phénomènes septicémiques, inutile de pratiquer l'examen sur lames. L'hémoculture s'impose : ensemencer 5 centimètres cubes de sang prélevés par ponction veineuse dans 400 à 500 centimètres cubes de bouillon-ascite.

Examen microscopique direct. — Fixer la préparation par l'alcool-éther : laisser sécher ; colorer. Diverses méthodes peuvent être utilisées :

1° *Coloration simple* par la thionine, le bleu de méthylène, etc. Cette méthode montrera, outre les leucocytes et les cellules épithéliales, les Gonocoques avec leur morphologie habituelle et leur situation intracellulaire (fig. 165), mais elle ne permettra pas de les distinguer des microbes banaux, qui prennent le Gram.

2° *Méthode de Gram composée.* — Colorer par la méthode de Gram, puis, après l'action décolorante de l'alcool absolu, recolorer par l'éosine ou de préférence la fuchsine de Ziehl diluée à 1 p. 10. Les Gonocoques sont teintés en rouge.

Ce procédé présente l'avantage de différencier nettement le

Gonocoque d'une série de germes similaires pouvant même vivre à l'état saprophytique dans l'urètre normal ; ces Pseudo-Gonocoques en effet ne se décolorent pas par la méthode de Gram.

Identification. — Quand les constatations fournies par l'examen microscopique direct sont nettes et montrent le Gonocoque avec tous ses caractères, l'ensemencement destiné à l'identification est inutile. Il devient indispensable quand les résultats de l'observation sont flous et discutables.

Cultures. — On ensemence abondamment le pus suspect, ou le sang retiré par hémoculture, sur les milieux électifs : gélose-ascite, gélose au sang. Mettre à l'étuve à 37°. Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, si des colonies ont poussé, les examiner ; en prélever une parcelle, qu'on dilue dans une goutte d'eau sur une lame ; examiner après coloration.

S'il s'agit d'un diplocoque en grain de café, ne prenant pas le Gram, faire un nouvel ensemencement sur gélose-ascite pour rechercher les propriétés biologiques.

Agglutination. — On recherche ensuite l'agglutination par la technique habituelle (Voy. *Méningocoque*, p. 325) à l'aide d'un sérum antigonococcique polyvalent.

Fermentations sucrées. — Les fermentations sucrées se recherchent comme pour le Méningocoque. Rappelons que le Gonocoque fait fermenter la glucose seule.

Interprétation des résultats. — Quand ces épreuves ont montré la présence du Gonocoque authentique, le doute n'est pas permis : l'infection en cause est bien gonococcienne. Mais souvent, surtout dans les cas chroniques, le Gonocoque peut être rare et passer inaperçu. Il faut alors multiplier les recherches et réitérer les épreuves précédentes. De même encore, le Gonocoque peut avoir disparu, après avoir existé pendant le stade aigu de l'infection. Le fait se constate surtout dans les cas d'arthrite blennorragique, dans les salpingites et pelvi-péritonites, où le germe spécifique est souvent remplacé par des associations secondaires.

Dans les urétrites chroniques, on peut provoquer momentanément la réapparition du Gonocoque par une instillation au nitrate d'argent, ou l'épreuve de la bière, comme le conseillait Neisser.

Dans les autres cas, où la réapparition du Gonocoque ne peut s'effectuer, avant de nier la nature gonococcique de l'infection en cause, on pourra avoir recours aux méthodes de *séro-diagnostic*.

Séro-diagnostic. — Tenter l'*agglutination* d'un ou plusieurs échantillons de Gonocoques conservés au laboratoire par le sérum du malade; cette épreuve a donné en quelques cas de bons résultats.

Ou bien pratiquer la recherche des sensibilisatrices par la *fixation du complément*, en mettant en présence le sérum du malade et un ou plusieurs échantillons de Gonocoques.

Ces épreuves de séro-diagnostic sont encore indiquées pour déceler la nature gonococcique de complications pseudo-rhumatismales ou autres.

SÉROTHÉRAPIE.

Plusieurs auteurs ont cherché à obtenir un sérum antigonococcique thérapeutique en vaccinant le cheval, la chèvre, etc., avec des produits gonococciques divers.

De Christmas vaccine des chèvres à l'aide d'injections sous-cutanées de sa toxine. Le sérum obtenu neutralise la toxine *in vitro* et préserve le cobaye contre l'injection intracérébrale de toxine.

Brückner et Cristeanu vaccinent des chevaux à l'aide de cultures vivantes. Leur sérum est agglutinant et préserve le lapin contre l'infection péritonéale mortelle.

Vannod traite ses animaux par des injections intraveineuses de nucléo-protéide gonococcique.

Rogers et Torrey ont préparé un sérum polyvalent par inoculation intrapéritonéale à la chèvre de cultures sur agar-ascite, provenant de plusieurs races de Gonocoques. A l'aide du sérum ainsi obtenu, ils ont traité avec succès, par injections sous-cutanées, des arthrites aiguës et chroniques, des épididymites blennorragiques, mais ils n'ont observé aucun résultat satisfaisant sur les urétrites, vaginites, conjonctivites. Peut-être eussent-ils obtenu de meilleurs résultats en portant le sérum au contact direct avec les lésions, en injections intra-urétrales par exemple, en instillations conjonctivales, etc.

VACCINOTHÉRAPIE.

Plusieurs auteurs ont tenté sur l'homme des essais de vaccinothérapie par la méthode opsonisante de Wright : après une phase négative de quarante-huit heures au cours de laquelle les symptômes semblent s'aggraver, survient une amélioration très marquée durant trois à cinq jours, amélioration qui peut être continuée par une nouvelle injection plus forte que la première.

Cette vaccinothérapie présenterait plus d'efficacité vis-à-vis des complications blennorragiques, l'arthrite en particulier, que dans l'urétrite elle-même.

Signalons enfin des résultats fort encourageants obtenus récemment par les *vaccins sensibilisés* antigonocciques préparés suivant la méthode de Besredka (Cruveilhier) dans le traitement du rhumatisme blennorragique, des salpingites des orchites, etc.

CHAPITRE XXIV

MICROCOCCUS MELITENSIS

(Coccus de la fièvre de Malte.)

Le *Micrococcus melitensis* est l'agent pathogène spécifique de la fièvre ondulante, ou fièvre de Malte, ou fièvre méditerranéenne, appelée encore mélitococcie. Découvert par Bruce en 1887, il a été

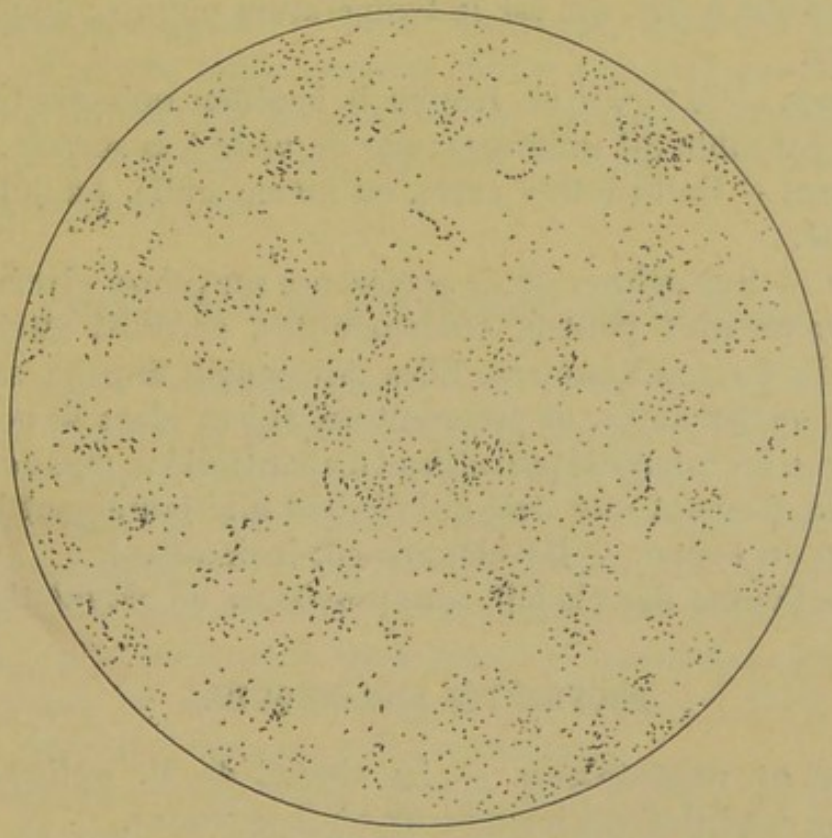


Fig. 167. — Culture de *M. melitensis* sur gélose âgée de vingt-quatre heures.

l'objet de travaux sans nombre depuis ces dernières années, où la fièvre de Malte a sévi sur toute la côte méditerranéenne, en Italie, en Grèce, en Turquie d'Europe et d'Asie, dans nos possessions algériennes et tunisiennes, enfin en France, dans sa région méridionale (Cantaloube, Thibault, Lagriffoul, Roger, etc.), voire même dans l'intérieur du continent, à Lyon, Paris, Fontainebleau, dans la Somme.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le *Micrococcus melitensis* (fig. 167) est un coccus rond ou légèrement ovale, prenant par conséquent une forme cocco-bacillaire. Il est isolé ou en diplocoque; il est parfois disposé en courtes chaînettes. Il ne possède ni spores, ni capsules, ni cils; vu à l'état frais, il est immobile ou présente des mouvements moléculaires qui ne lui constituent pas une véritable mobilité.

Coloration. — Il fixe assez faiblement les couleurs d'aniline usuelles et ne prend pas le Gram.

CULTURES

Le *M. melitensis* ne vit qu'en aérobiose; ses cultures sont toujours maigres, même à 37°, qui est la température optima; de plus, elles sont lentes.

Bouillon. — A 37°, il ne trouble le bouillon qu'après trois jours d'étuve; ce trouble est uniforme; pas de voile à la surface.

Gélatine. — Culture très grêle, ou même nulle. Le milieu n'est pas liquéfié.

Gélose. — Sur gélose, ou de préférence sur gélose glycérinée, les *colonies isolées* sont petites, transparentes, pouvant atteindre un diamètre de 2 à 3 millimètres. Elles deviennent ensuite saillantes, brillantes, opalescentes, et prennent un aspect *blanc de perle*.

En *piqûres*, les colonies apparaissent d'abord isolées, puis deviennent confluentes, formant une strie qui devient ultérieurement jaunâtre.

Pomme de terre. — Développement insignifiant.

Lait. — Pousse dans le lait, sans provoquer de coagulation.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité et résistance. — La vitalité de *M. melitensis* varie suivant les conditions et les milieux où il se trouve.

Dans les cultures, il est très résistant, puisqu'on le trouve vivant après huit ou neuf mois en culture sur gélose (Shaw); sur les vêtements il résiste entre quinze et quatre-vingts jours. Dans l'eau, d'après Horrocks, il n'y vivrait pas plus d'une semaine. Dans les échantillons de terre stérile, il ne succombe qu'après deux mois et demi environ. Dans le lait il vit vingt jours; dans l'urine, quatre-vingts jours, malgré l'acidité et la concurrence microbienne.

Il est assez sensible à la chaleur, puisqu'un chauffage à 60° le tue en trente minutes. Les antiseptiques, notamment l'acide phénique

à 1 p. 100, le tuent en quelques minutes; sous l'influence de la dessiccation, il peut conserver sa vitalité durant plusieurs mois.

Réactions chimiques. — Ce germe ne fait pas d'indol dans les cultures, pas d'acides : le lait reste alcalin ; enfin il ne fait fermenter aucun sucre.

Réactions vis-à-vis du sérum des sujets infectés. — *Agglutinabilité.* — Le sérum de l'homme atteint de fièvre ondulante est agglutinant pour le *Coccus melitensis*. Il en est de même du sérum des chèvres infectées spontanément et expérimentalement. On verra plus loin le parti que l'on peut tirer de cette propriété pour établir un séro-diagnostic.

Fixation du complément. — Ce germe fixe le complément dans la réaction de Bordet-Gengou, quand on le met en présence de sérum d'animaux vaccinés, ou d'homme infecté (Sicre).

Produits toxiques. — Le *M. melitensis* n'élabore de produits toxiques qu'en très faible quantité. Shaw a montré que des cultures en bouillon filtrées sur bougie Chamberland sont presque dénuées de toxicité quand elles sont injectées au singe. Il en est de même des cultures tuées à 60°.

CONDITIONS DE L'INFECTION NATURELLE.

Siège dans l'organisme. — Les recherches bactériologiques pratiquées pendant la vie et à l'autopsie des sujets ayant succombé à la fièvre de Malte montrent que le coccus de Bruce est répandu dans tout l'organisme. Il siège dans le sang et certains viscères, plus particulièrement la rate, le foie, le rein ; toutefois on estime que dans le sang son abondance est faible ; c'est pendant les accès fébriles qu'on le décèle le plus facilement. On le retrouve encore dans les ganglions mésentériques et la moelle osseuse. Dans l'urine, il est fréquent. Eyre l'a rencontré dans les matières fécales.

On a toujours constaté son absence dans le poumon, la plèvre, le cerveau, la sueur. Notons que Durham a observé sa persistance dans l'urine chez les convalescents.

Chez la *chèvre* infectée spontanément, on observe la même répartition ; il se trouve en général constamment dans le lait.

La constatation du *Coccus melitensis* dans l'urine, le lait, est de nature à expliquer comment le germe peut être répandu dans le milieu extérieur et être apte à contaminer les sujets sains entourant le malade ; ceux-ci peuvent donc s'infecter par contact direct ou indirect. L'ingestion de lait de chèvre infectée paraît être le mode de contamination le plus fréquent pour l'homme.

Modes de contagion. — La fièvre de Malte est avant tout une infection des chèvres, surtout des chèvres maltaises. Elle peut se propager à tous les animaux domestiques (mulets, vaches, brebis, moutons) et à l'homme.

L'homme s'infecte directement par ingestion du lait ou de ses dérivés, le fromage notamment ; par contact direct avec ces animaux, (c'est le cas des bergers et des laitiers) ; la contamination peut être encore indirecte par ingestion d'aliments (salades, légumes crus) souillés par l'urine infectée.

Enfin il est infiniment vraisemblable que la contagion inter-humaine existe, l'urine des malades pouvant souiller les milieux extérieurs où l'entourage prend le contage.

Voies d'infection. — L'infection trouve accès par les voies digestives, respiratoires (inhalation de poussières bacillifères), muqueuses (conjonctive et peut-être muqueuse génitale). Enfin l'infection cutanée est possible, à la faveur des excoriations sur lesquelles se répandent des liquides contaminés.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Il est facile de conférer l'infection mélitococcique au *singe* et à la *chèvre*, tous deux très réceptifs.

Chez le *singe*, elle est réalisée à la suite de l'*injection sous-cutanée* d'une minime quantité de culture. Il la contracte encore à la suite de l'*ingestion* de lait de chèvre infectée, ou d'aliments arrosés d'une culture vivante, ou d'urine renfermant le coccus de Bruce. L'*inhalation* de poussières virulentes donne les mêmes résultats (Shaw). Enfin le seul contact d'une culture avec les muqueuses conjonctivale, rectale, génitale, peut infecter cet animal.

Deux à cinq ou six jours après l'inoculation, la température s'élève, présentant des rémissions quotidiennes, comme dans l'infection humaine. La fièvre peut ainsi durer plusieurs mois, pour évoluer vers la guérison ou la mort ; cette dernière se produit habituellement vers le quinzième jour. L'autopsie montre l'absence de plaques de Peyer, mais le foie et la rate sont congestionnés et hypertrophiés. On y décèle le *M. melitensis*.

Pendant la vie, le sérum est agglutinant pendant la première semaine.

La *chèvre* présente des symptômes atténués, à la suite des mêmes inoculations. Le coccus de Bruce se retrouve dans les viscères, le sang, l'urine, le lait.

A la suite de l'ingestion de produits virulents, elle peut ne pré-

senter aucun symptôme morbide ; l'infection ne s'en déclare pas moins, ainsi que les examens bactériologiques le font constater ; une chèvre infectée, et saine en apparence, peut éliminer le germe par le lait et les urines pendant un temps fort long. Cette notion est de la plus haute importance au point de vue épidémiologique et prophylactique.

Le *cheval*, le *mulet*, la *vache*, le *mouton* sont très réceptifs.

Les animaux de laboratoire, *lapin* et *cobaye*, sont plus résistants. L'inoculation sous-cutanée n'est suivie d'aucun trouble. Cependant on peut les infecter et même les tuer par les injections intra-péritonéales, intraveineuses (Carbone), intracérébrales (Durham et Eyre). L'injection péritonéale détermine une orchite.

Le *rat* et la *souris* seraient réfractaires.

La *poule* succombe après un amaigrissement marqué quand elle a reçu une culture sous la peau ou par ingestion (Conor).

L'*homme* enfin peut s'infecter expérimentalement à la faveur des contaminations de laboratoire. Widal, Kindberg et Cotoni, J. Courmont ont rapporté des faits indiscutables de ces infections accidentelles. Carbone, Mac Fadyen ont succombé dans ces conditions.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA MÉLITOCOCCIE.

Recherche du germe spécifique. — *Hémoculture.* — Prélever 5 à 10 centimètres cubes de sang dans une veine du pli du coude, de préférence le soir, quand la température atteint 39° ; au-dessous de 38°, le coccus n'a jamais pu être isolé.

Ensemencer la totalité du prélèvement dans 200 à 250 centimètres cubes de bouillon. Porter à l'étuve à 37°. Si, après trois à cinq jours, un trouble se produit, examiner directement, et réensemencer en gélose pour l'identification.

L'hémoculture aboutit à l'isolement du germe dans 65 à 80 p. 100 des cas (Shaw). La présence du coccus peut être révélée parfois dans les premiers jours de l'infection.

Ponction de la rate. — Cette épreuve donne d'excellents résultats, plus constants que ceux de l'hémoculture, mais elle peut amener des hémorragies mortelles. Après piqûre de la rate, pendant que le malade suspend sa respiration, aspirer. Ensemencer en bouillon ou gélose le suc splénique obtenu.

Recherche dans l'urine. — Centrifuger, ensemencer le culot comme précédemment. Le diagnostic, par ce procédé, est assez aléatoire, en raison de l'irrégularité de l'élimination microbienne par cette voie.

Identification. — Se baser sur les caractères décrits, notamment : la morphologie, l'absence de coloration par le Gram, et l'agglutination à un taux élevé par le sérum des animaux vaccinés (1 p. 1000). Au besoin, inoculer des animaux sensibles, le singe de préférence.

Séro-diagnostic. — La séro-réaction a permis à Wright, Birt et Lamb d'établir le diagnostic de mélitococcie en maints cas où l'isolement du germe n'avait pu être effectué.

Technique. — D'après Ch. Nicolle, utiliser une culture sur gélose âgée de trois à cinq jours ; l'émulsionner dans quelques centimètres cubes d'eau physiologique ; vérifier son homogénéité.

Wright conseille le procédé macroscopique : verser dans de petits tubes quantité égale d'émulsion et de sérum dilué à des taux divers ; observer au bout de vingt-quatre heures. L'agglutination est déclarée positive quand, comparativement à un tube témoin renfermant l'émulsion seule, le liquide s'est éclairci, et qu'un dépôt s'est formé au fond du tube. Gardon emploie le procédé microscopique en additionnant IX, XIX, XXIX, etc., gouttes d'émulsion d'une goutte de sérum.

L'observation se fait au microscope sur une goutte du mélange placée entre lame et lamelle.

Au lieu du sérum, on peut se servir du lait, de l'urine (Zammit), de la salive (Pollaci et Ceraulo) ; ces derniers auteurs auraient utilisé avec succès la sérosité du vésicatoire.

Appréciation des résultats. — Appliquée par de nombreux auteurs, la méthode du séro-diagnostic a donné parfois des résultats contradictoires. Actuellement même, tous ne s'entendent pas sur sa valeur. Ces discordances doivent dépendre d'une technique défectueuse ou d'interprétations erronées.

On a été frappé, en effet, de voir des agglutinations paraissant nettement positives avec le sérum de sujets atteints d'infections étrangères à la mélitococcie : fièvre typhoïde, septicémies tuberculeuses et autres, typhus exanthématique, kala-azar etc. Certains sérums normaux mêmes sont agglutinants à 1 p. 30, 1 p. 60.

D'après Nègre et Raynaud, ces résultats discordants tiennent à la présence, dans certains sérums, d'*agglutinines non spécifiques*, qu'ils opposent aux *agglutinines spécifiques*, seules contenues dans le sérum des mélitococciques. En chauffant préalablement à 56° pendant une demi-heure le sérum à expertiser, on fait disparaître les coagglutinines. Ils en concluent que tout sérum doit subir ce chauffage avant d'être mis en contact avec les cultures.

De plus, d'après les mêmes auteurs, puis Manceaux, certains échantillons de *M. melitensis* sont agglutinables par des sérums

normaux ; d'autres ne présentent pas ce pouvoir ; ce sont donc ces derniers qu'il faut utiliser pour cette recherche.

L'agglutination apparaît le plus souvent en moyenne vers le cinquième ou sixième jour ; elle est parfois retardée. Il faut savoir aussi que le pouvoir agglutinant d'un sérum varie dans des proportions importantes et même peut disparaître d'un jour à l'autre. Si donc on le trouve négatif, il est essentiel de recommencer l'expérience le lendemain ou les jours suivants (1).

Fixation du complément. — Le diagnostic peut être encore fait par la recherche des ambocepteurs dans le sérum des malades (Sicre, Gouget, Agasse-Lafont, etc.).

VACCINATION. — SÉROTHÉRAPIE.

Une première atteinte de mélitococcie semble conférer l'immunité (Bruce).

Eyre a montré que les chèvres supportent facilement les injections de cultures tuées, mais ce procédé ne paraît pas conférer l'immunité contre les cultures vivantes.

H. Vincent et Collignon ont réalisé la vaccination active à l'aide d'autolysats provenant de cultures sur gélose.

Rey a utilisé les injections vaccinales de cultures tuées pour le traitement de la fièvre de Malte : En injectant sous la peau tous les huit jours 0cc,25 de cultures mortes, il aurait obtenu des résultats favorables. Basset-Smith a fait les mêmes tentatives thérapeutiques : il inoculait 0cc,5 à 1 centimètre cube de culture sur gélose, tuée par un chauffage à 60° pendant trente minutes. Les formes aiguës traitées par ce procédé furent aggravées ; les atteintes à allure chronique furent améliorées, et leur durée fut réduite.

En 1895, Wright traita des malades avec du sérum de chèvres vaccinées. Ces essais répétés par Neusser, Fonstanos, ne furent guère encourageants ; il en fut de même des tentatives faites par Shaw, Eyre, Ewald avec du sérum de cheval immunisé.

(1) Une autre cause de réaction négative vient d'être mise en lumière par Nègre et Raynaud : à côté de la mélitococcie, il existe une infection (paramélitococcie) produite par un germe très voisin : *M. paramelitensis*. Ce dernier, inagglutinable par les sérums de mélitensiques, est agglutiné uniquement par les sérums paramélitensiques.

En cas de réaction négative avec une culture de *M. melitensis*, il y a donc lieu de rechercher l'agglutination avec son congénère.

CHAPITRE XXV

BACILLE PYOCYANIQUE

Le Bacille pyocyanique, agent du *pus bleu*, a été découvert par Gessard (1882), qui a bien étudié sa fonction essentielle, le pouvoir chromogène. Charrin a consacré ensuite à la *maladie pyocyanique*

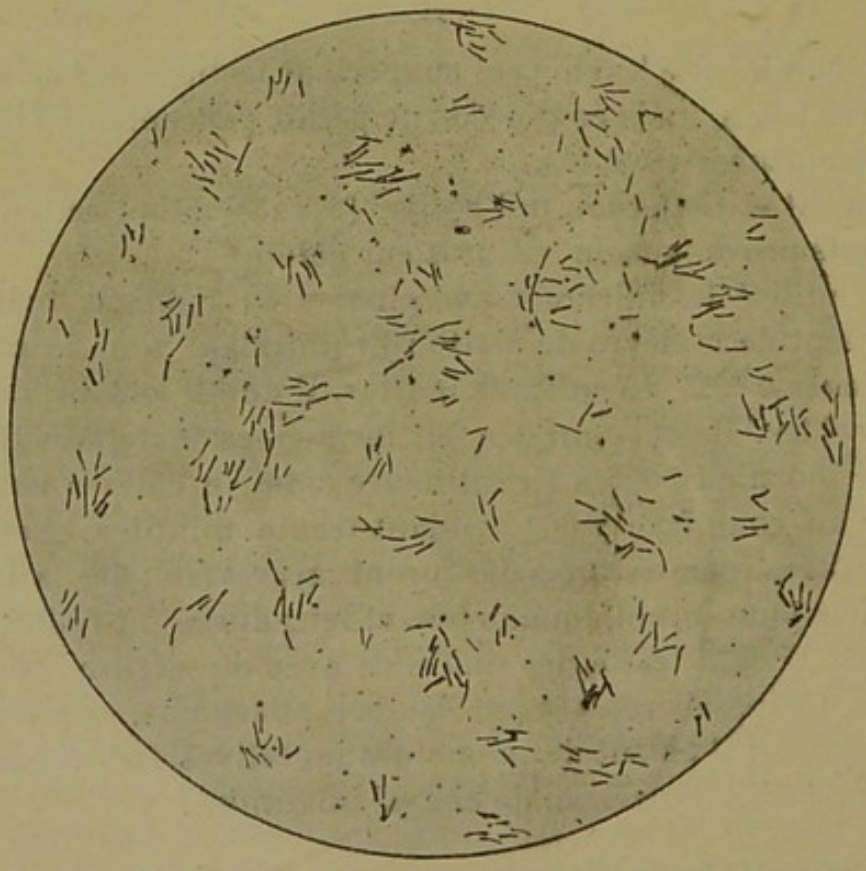


Fig. 168. — Bacille pyocyanique. Gélose âgée de vingt-quatre heures.

expérimentale une série d'études qui dépassaient de beaucoup à l'époque le domaine du Bacille pyocyanique et ont résolu ou amorcé nombre de problèmes relatifs aux propriétés des bactéries pathogènes.

Actuellement, la fréquence et l'importance des affections à Bacille pyocyanique sont assez limitées.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — La forme type est un Bacille court, mesurant 1 μ à 1 μ, 5 sur 0 μ, 5, isolé ou réuni en petits amas peu cohérents. C'est l'aspect ordinaire sur les milieux d'usage courant.

Modifications morphologiques provoquées. — L'addition aux milieux de cultures de substances antiseptiques à faible dose provoque des modifications de forme (fig. 169 à 172) : on obtient des formes en coccus avec

Fig. 169. — Culture en bouillon boriqué.

Fig. 170. — Culture en bouillon créosoté.

1 p. 1 000 de créosote ; en spirilles avec l'acide borique à 7 p. 1 000 ; en longs Bacilles avec 4 p. 100 d'alcools ; en filaments avec 0,15 p. 1 000 de bichromate de potasse (Guignard et Charrin). Ces variations sont temporaires ; la forme type réapparaît par réensemencement sur milieux ordinaires.

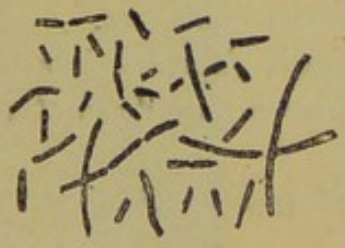


Fig. 171. — Culture en bouillon alcoolisé.

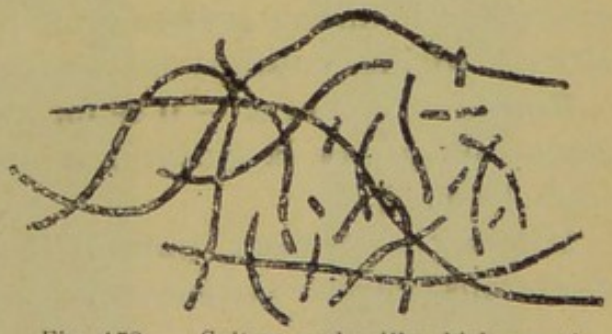


Fig. 172. — Culture en bouillon bichromaté.

Coloration. — Le Bacille de Gessard se colore bien par les couleurs d'aniline. *Il ne prend pas le Gram.*

Mobilité, cils, spores. — Le Bacille pyocyanique est nettement mobile ; il présente un seul cil à une extrémité. Il ne donne pas de spores.

CULTURES.

Caractères généraux. — Anaérobie facultatif, le Bacille pyocyanique se développe beaucoup mieux à l'air. La température eugénésique est 37° ; on obtient encore des cultures à 15° et à 43°.

Bouillon. — Le bouillon se trouble uniformément en vingt-quatre heures; après un à trois jours se montre un voile blanc, assez épais, chagriné. Le bouillon présente en outre quatre modifications importantes.

a. Une teinte verdâtre fluorescente apparaît dès le premier jour, d'abord en surface, puis dans toute la masse (fig. 173 et 174); elle fonce beaucoup par agitation. Les jours suivants, la teinte passe au vert foncé. Plus tard, elle devient brune.

b. La culture dégage une odeur pénétrante, aromatique, presque caractéristique.

c. Les cultures vieilles (après huit jours) sont très alcalines.

d. Les cultures vieilles sont filantes, visqueuses.

Lait. — Le lait est d'abord coagulé, puis le caillot se redissout. Le milieu prend une teinte verdâtre.

Gélatine. — La gélatine *est liquéfiée*.

En piqures. — A 20°-22°, la liquéfaction commence au deuxième jour et progresse pendant une semaine; elle débute par la surface sous forme de cupule et gagne peu à peu en largeur et en profondeur. Le milieu devient vert autour de la culture.

Sur plaques. — Les colonies isolées sont d'abord petites, jaunâtres, granuleuses (trente-six heures); puis la liquéfaction apparaît et le milieu verdit.

Gélose. — Sur gélose inclinée, la culture est abondante, grisâtre, glaireuse; le milieu présente une fluorescence verte (fig. 175). Les stries de vieilles cultures ont souvent un aspect écailleux.

Pomme de terre. — Il se forme un enduit glaireux, brunâtre. Quand on gratte la culture, la portion mise à l'air devient verte (caméléonage).

Milieux spéciaux pour l'étude des pigments. — Voyez ci-dessous, *Pouvoir chromogène*.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Le Bacille pyocyanique demeure longtemps vivant dans les cultures et dans les milieux extérieurs. Il ne résiste guère aux antiseptiques usuels; la preuve en est que l'application des méthodes antiseptiques a presque fait disparaître le pus bleu. Un chauffage de cinq minutes à 59° détruit le Bacille de Gessard.

Action dénitrifiante. — Le Bacille pyocyanique réduit les nitrates d'abord en nitrites, puis en azote. En bouillon additionné de nitrate de potasse, l'azote se dégage abondamment.

Production de ferments. — Des cultures filtrées ou tuées par

le chloroforme, on peut extraire un ferment qui liquifie la gélatine, et un autre qui coagule le lait (Bergmann).

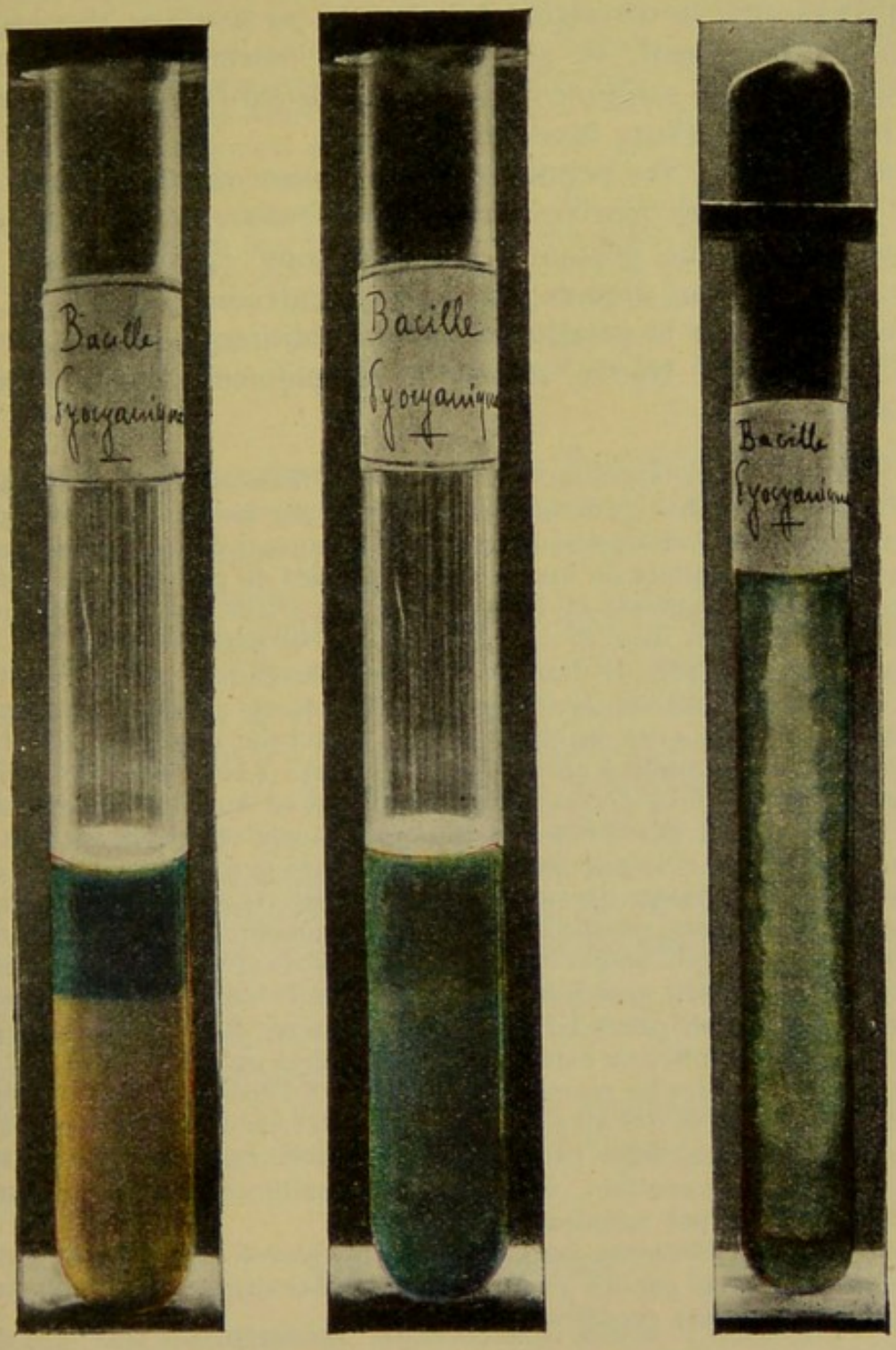


Fig. 173 et 174. — Culture du Bacille pyocyanique du bouillon : à gauche, après un jour; à droite, après cinq jours.

Fig. 175. — Bacille pyocyanique sur gélose.

Pouvoir chromogène. — Pigments. — La fonction la mieux connue et la plus apparente est la production de pigments. Gessard

a signalé trois pigments : la *pyocyanine* (pigment bleu), le *pigment vert fluorescent* et le *pigment jaune verdâtre*, non fluorescent.

De plus l'oxydation transforme tous les pigments précédents : la pyocyanine, en un pigment jaune, la *pyoxanthose* (Fordos) ; le pigment fluorescent, en pigment feuille morte ; le pigment jaune verdâtre, en une substance rouge brun (Gessard). Il existe en outre un *pigment noir* (Voy. *Bacille mélanogène*).

La production des pigments dépend beaucoup des milieux. Sur certaines peptones (pauvres en phosphates) et sur gélatine à 10 p. 100 (sans bouillon ni peptone), la pyocyanine apparaît seule. Sur albumine de l'œuf (liquide), on obtient seulement le pigment vert fluorescent ; sur la gélatine ci-dessus additionnée de 1 p. 100 de glucose, on ne trouve plus que le pigment jaune verdâtre (Gessard).

D'après Gessard, la production de pigment fluorescent est liée à la présence de phosphates (généralement amenés par les albuminoïdes). Dans un milieu minéral comprenant par litre 3 grammes de succinate d'ammoniaque, 2gr,5 de sulfate de magnésie, 5 grammes de phosphate de potasse, la culture est abondante et fluorescente ; supprime-t-on le phosphate, la culture reste grêle, mais le milieu est d'un bleu pur.

La *pyocyanine*, soluble dans l'eau et le chloroforme, peut être obtenue des cultures en bouillon. La culture, alcalinisée au préalable par l'ammoniaque, est agitée avec du chloroforme : ce dernier dissout le pigment et devient bleu ; le bouillon garde une teinte verte (autres pigments). Il faut éliminer les matières grasses dissoutes ; dans ce but, après décantation, le chloroforme est lavé à l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique ; la pyocyanine, virée au rose par l'acide, est entraînée avec l'eau acidulée, alors que les matières grasses dissoutes ne passent pas. On recueille l'eau chargée de pyocyanine ; une alcalinisation par l'ammoniaque fait réapparaître la teinte bleue. On agite enfin l'eau de lavage avec du chloroforme, qui dissout la pyocyanine à peu près pure, et on évapore le chloroforme : après évaporation, il reste de petits cristaux de pyocyanine. On obtient des cristaux plus nets, en aiguilles ou octaèdres, en reprenant par l'eau distillée et laissant évaporer. Outre les réactions qui viennent d'être indiquées (solubilité, action des acides et des alcalis), il faut signaler encore que la pyocyanine est réduite (décoloration) par les corps réducteurs, mais la teinte bleue réapparaît par oxydation ; c'est le cas des cultures en bouillon, dont la couleur se fonce par agitation.

Le *pigment fluorescent*, insoluble dans le chloroforme, paraît identique au pigment sécrété par un grand nombre de bactéries dites fluorescentes.

Le *pigment jaune verdâtre* est peu connu.

Anomalies et races artificielles. — Dans la nature, on rencontre souvent des microbes qui ne forment pas d'emblée ou ne forment jamais tous les pigments. *Seule, la production de pyocyanine est caractéristique du pyocyanique.* Elle manque souvent, mais on peut la faire réapparaître en faisant passer par le péritoine du cobaye

(Bonjean) ou en cultivant sur le *milieu réactif* de Gessard : peptone 2, glycérine 5, gélose 5, p. 100 d'eau.

On a réussi à modifier artificiellement l'aptitude chromogène du Bacille pyocyanique. On peut abolir toute propriété par cultures successives en milieux acides (Wasserzug) ou à 42° (Charrin). Gessard distingue la race A, normale, productrice de tous les pigments ; la race F, qui donne seulement le pigment fluorescent, sans pyocyanine ; la race P, qui, inversement, donne seulement la pyocyanine, sans pigment fluorescent ; la race S, qui ne produit aucun pigment. On crée la race P, en cultivant A pendant plus d'un an sur albumine de l'œuf. On crée la race F, en chauffant A à 57° pendant cinq minutes, ou en inoculant A au lapin. On crée enfin la race S en traitant E comme il vient d'être dit pour A : chauffage à 58° ou inoculation, ou bien par dégradation spontanée de la race P. Mais toutes ces modifications s'appliquent seulement au bouillon ou milieux similaires ; les races E, F et S, repiquées sur milieu réactif, donnent la pyocyanine.

Bacille mélanogène. — Cassin et Troussaint, puis Radais et Gessard ont étudié un Bacille qui, cultivé sur les milieux favorables à l'apparition des pigments, donne tout d'abord les teintes habituelles du Bacille pyocyanique, puis une teinte brun noir ; cette teinte foncée apparaît d'emblée sur pomme de terre (rouge-marron) et sur lait (noir-encre de Chine). Gessard a montré que le pigment noir est dû à l'action de la tyrosinase, sécrétée par le Bacille, sur la tyrosine des milieux. Il fait défaut sur les milieux exempts de tyrosine.

Antagonisme. — Rumpf a prêté gratuitement au Bacille pyocyanique une action antagoniste à l'égard du Bacille typhique. (Voy. p. 372, *Antagonisme à l'égard du charbon*).

Réaction à l'égard des sérums. — C'est en étudiant le Bacille pyocyanique que Charrin et Roger (1889) découvrirent le phénomène de l'*agglutination* : les microbes poussent agglutinés dans le sérum d'animaux immunisés, contrairement à ce qui se passe pour le sérum normal.

Dans les infections humaines à Bacille pyocyanique, l'agglutination est inconstante (Achard, Lœper et Grenet) ; elle peut être positive à 1 p. 100.

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles, chez l'homme. — Le Bacille pyocyanique est tout d'abord l'agent du *pus bleu*, complication peu grave des plaies, devenue rare actuellement.

On le rencontre, en outre, parfois au cours de diverses manifestations pathologiques, spécialement dans les entérites de l'enfance (Escherich), dans la diarrhée de Cochinchine (Calmette),

plus rarement dans les méningites, les bronchopneumonies, les otites, etc.

Quelques observations prouvent, en outre, que le Bacille pyocyanique peut déterminer une infection générale, sous forme de septicémie tantôt pure, tantôt accompagnée de manifestations diverses : bulles ou phlyctènes cutanées, hémorragies, albuminurie, etc.

Le Bacille pyocyanique est parfois associé à d'autres microbes spécifiques, spécialement au Bacille d'Eberth (H. Vincent).

Inoculation expérimentale. — Virulence. — Le Bacille pyocyanique est souvent virulent d'emblée. La virulence peut être exaltée par passages successifs sur l'animal.

Le lapin, le cobaye, le rat et la souris sont réceptifs.

Lapin. — Les effets du Bacille pyocyanique chez le lapin ont été particulièrement étudiés par Charrin. Le lapin résiste le plus souvent aux inoculations pratiquées sous la peau ; la meilleure voie est l'inoculation intraveineuse.

Inoculation intraveineuse. — A dose de 1 centimètre cube, un virus actif provoque la mort en un à trois ou quatre jours, avec fièvre, diarrhée, albuminurie, convulsions, etc. A l'autopsie : Bacilles dans le sang et les organes (reins surtout).

Moins actif, le Bacille pyocyanique amène la mort en plusieurs semaines ou plusieurs mois. Il survient souvent pendant la vie une paralysie spasmodique qui débute par le train postérieur et se généralise ensuite. A l'autopsie, les Bacilles ont disparu ; on constate des lésions diverses, entre autres des infarctus, de la néphrite (petit rein) avec hypertrophie du cœur, de la dégénérescence amyloïde des reins, etc.

Ingestion. — Avec un Bacille provevant d'entérites ulcéreuses de l'homme, Brau a reproduit par ingestion de l'entérite ulcéreuse avec dégénérescence graisseuse du foie.

Cobaye. — Suivant la virulence, l'inoculation sous-cutanée provoque soit une simple lésion locale : tuméfaction puis suppuration gommeuse et escarre ; soit une septicémie mortelle avec tuméfaction locale. L'inoculation intrapéritonéale, plus sévère, peut déterminer une péritonite mortelle.

Rat et souris. — Aussi réceptifs que les précédents; mêmes réactions.

TOXINES.

Toxicité des cultures stérilisées. — Les cultures stérilisées par chauffage ou par filtration sont toxiques pour le lapin ; on re-

trouve les mêmes symptômes qu'après l'inoculation du virus, spécialement les paralysies. Arnaud et Charrin ont dissocié trois groupes de produits toxiques : produits volatils, surtout vasoconstricteurs; produits insolubles dans l'alcool, provoquant la diarrhée et les hémorragies ; produits solubles dans l'alcool, surtout convulsivants. La pyocyanine n'est pas toxique.

Les cultures anciennes (quarante jours) de virus exaltées, stérilisées par le toluène, sont toxiques pour le cobaye (Wassermann).

Pyocyanolysine. — Les cultures en bouillon de Bacille pyocyanique, même filtrées ou tuées par le toluol ou la chaleur, renferment une lysine (Bulloch et Hunter), active sur les globules de chien, un peu moins sur les hématies du cheval, du cobaye, du lapin, etc. La pyocyanolysine apparaît vers le septième jour ; elle augmente ensuite avec l'âge et se montre surtout abondante vers la troisième ou quatrième semaine, à un moment où les cultures sont très alcalines. Elle est thermostabile ; même un chauffage de trente minutes à 120° ne la détruit pas (Weingeref).

Pyocyanase. — Emmerich et Lœw obtiennent la pyocyanase de la manière suivante : des cultures en bouillon âgées de trois à quatre semaines sont filtrées ; le filtrat, réduit au dixième de son volume primitif par évaporation, est dialysé pendant douze heures ; on précipite le dialysat par l'alcool ; le précipité, redissous dans l'eau, constitue la pyocyanase.

La pyocyanase dissout certaines bactéries (Bacille diphtérique, bactéridie charbonneuse, Bacille typhique), de même que la fibrine et le blanc d'œuf. Elle peut guérir les animaux inoculés antérieurement de charbon bactéridien ou de toxine diphtérique ; elle est ainsi curatrice, mais n'est pas préventive. Pour la rendre préventive, il faut la combiner à une albumine animale (sang et rate broyée) : ce produit est appelé *immun-protéidine-pyocyanase.*

La pyocyanase a été employée dans le traitement de la diphtérie, mais sans grand succès.

SIÈGE.

A l'état normal, le Bacille pyocyanique fait partie de la flore intestinale de l'homme et de diverses espèces animales. On le rencontre également sur la peau (Müsham).

Il est assez fréquent dans les eaux, spécialement dans certaines régions [(Tunisie, d'après Besson)] ; il peut exister dans l'air et dans le sol.

A l'état pathologique, on trouve le Bacille pyocyanique dans le pus bleu, comme dans les diverses lésions localisées qu'il provoque. En cas de septicémie, on le trouve dans le sang.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic bactériologique est basé exclusivement sur la constatation du microbe. On pensera au Bacille pyocyanique quand les circonstances cliniques l'indiquent (pus bleu), ou bien quand les cultures présentent une teinte verdâtre ou bleuâtre.

Le microbe sera facilement isolé sur gélose ordinaire ou sur gélatine. On procédera ensuite à son étude ; la recherche des pigments est de première importance. Seule la pyocyanine est caractéristique de l'espèce ; on ne peut appeler Bacille pyocyanique un microbe qui ne donne pas de pyocyanine.

Soupçonne-t-on la nature pyocyanique d'un germe qui ne donne pas primitivement de pyocyanine, on essaiera de faire apparaître cette dernière par cultures successives, ou par inoculation au cobaye, ou de préférence par culture sur le milieu réactif de Gessard.

On ne confondra pas le Bacille pyocyanique avec l'un des nombreux Bacilles fluorescents (p. 894 et 895) ; ces derniers ne donnent pas de pyocyanine.

VACCINATION. — SÉROTHÉRAPIE.

I. On peut vacciner les animaux en inoculant à plusieurs reprises de petites doses soit de cultures vivantes, soit de toxines (Charrin).

II. Le sérum des animaux vaccinés est préventif et curatif (Charrin) ; il est également antitoxique chez les animaux préparés avec la toxine (Wassermann). Il est en outre antipigmentaire : il suffit d'en ajouter une goutte à un tube de bouillon pour empêcher la production de pyocyanine (Charrin et Roger) ; mais l'addition d'un peu de peptone fait réapparaître le pigment (Gheorghiewski).

CHAPITRE XXVI

BACILLES ENCAPSULÉS. — PNEUMOBACILLE

Sous le nom de « Bacilles encapsulés », on désigne un groupe de microbes dont les caractéristiques communes sont les suivantes : ce sont des Bacilles polymorphes, capsulés, immobiles, ne prenant pas le Gram ; leurs cultures sur milieux solides sont abondantes et visqueuses ; leur culture en piqûres sur gélatine présente une forme particulière, en clou ; ils ne donnent pas d'indol.

L'espèce la plus importante du groupe est le *Pneumobacille de Friedländer* ; il faut citer en outre le *Bacillus lactis aerogenes* et le *Bacille du rhinosclérome.*

Ces microbes sont-ils identiques ou faut-il les distinguer les uns des autres ? La question est discutée.

I. Il est tout d'abord établi que le Bacille considéré par Lœwenberg, puis Abel, comme étant l'agent spécifique de l'ozène, est absolument identique au Pneumobacille. Le *Bacillus ozenæ* Lœwenberg doit donc disparaître.

II. Les Bacilles encapsulés ne peuvent être séparés nettement d'après leurs propriétés pathogènes. Le Bacille du rhinosclérome est généralement avirulent pour l'animal, alors que les deux autres sont souvent virulents ; mais il y a nombre d'exceptions dans les deux sens.

III. Les recherches sur les propriétés spécifiques des sérums ont abouti à des résultats peu concordants. L'opinion la plus générale peut être exprimée ainsi : devant les sérums spécifiques, le Bacille du rhinosclérome paraît se séparer du Pneumobacille (Goldzieher et Neuber) ; le *B. lactis aerogenes*, au contraire, se rapproche beaucoup de ce dernier (Bertarelli). Cette formule s'applique aussi bien aux agglutinines qu'aux sensibilisatrices.

IV. L'action fermentative sur les sucres est variable suivant les échantillons : le *B. lactis aerogenes* et, à un moindre degré, le Pneumobacille, fermentent fortement la glucose, moins fortement la lactose et la saccharose ; le Bacille du rhinosclérome fermente peu ou pas ces mêmes sucres.

V. On peut accepter provisoirement la classification de Bertarelli, très voisine de celle proposée antérieurement par Clairmont. Bertarelli divise les Bacilles encapsulés en deux groupes :

1° *Groupe du B. lactis aerogenes*, avec deux espèces : Pneumobacille de Friedländer et *B. lactis aerogenes*. Ces Bacilles sont assez souvent virulents pour l'animal ; ils fermentent la plupart des sucres ; leur inoculation aux animaux fait apparaître dans le sérum des anticorps, agglutinines et sensibilisatrices, actifs sur les deux espèces (plus actifs sur l'espèce inoculée).

2° *Groupe du B. mucosus capsulatus*, avec deux espèces : Bacille du

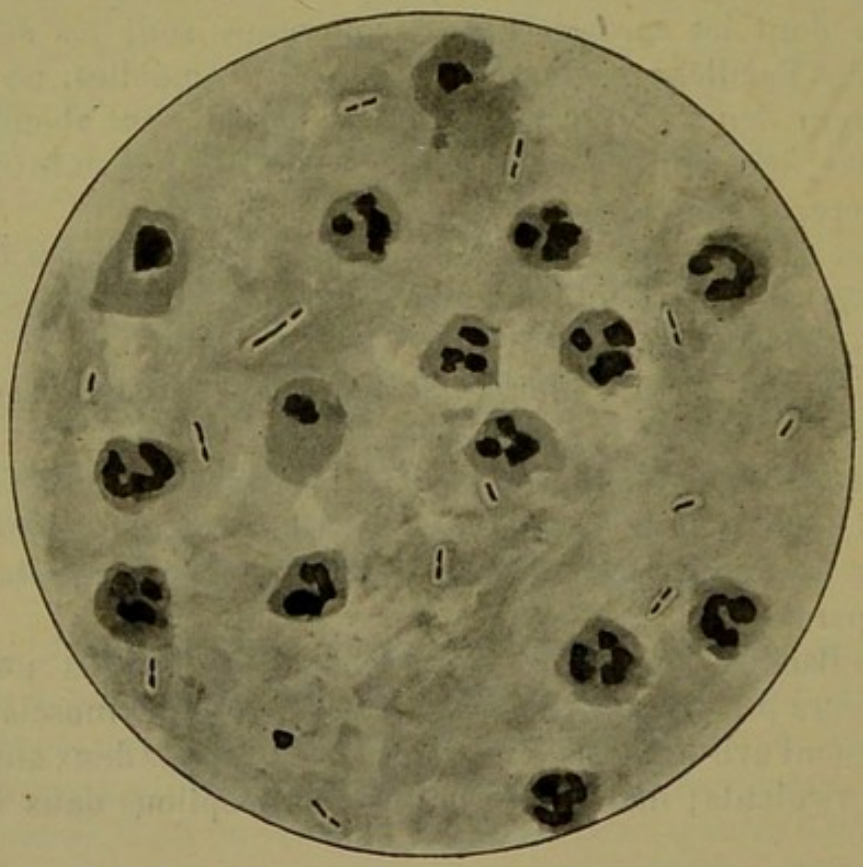


Fig. 176. — Crachats de pneumonie à Pneumobacilles.

rhinosclérome et *B. mucosus capsulatus*. Ces deux espèces sont peu ou pas virulentes ; elles fermentent peu les sucres ; elles sont difficilement agglutinables et, d'autre part, ne se prêtent pas à l'obtention de sérums de quelque activité.

PNEUMOBACILLE.

Friedländer, qui découvrit le Pneumobacille (1882), le considéra tout d'abord comme l'agent spécifique de la pneumonie lobaire ; l'erreur fut vite reconnue, au profit du Pneumocoque. Les recherches

ultérieures, en particulier celles de Netter, ont élucidé le rôle vrai du Pneumobacille, agent assez fréquent de certaines affections pleuro-pulmonaires, méningées, etc.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Dans les organes ou produits pathologiques (fig. 176), le Pneumobacille se présente sous forme de bacilles ou de cocco-bacilles, de taille inégale, en moyenne

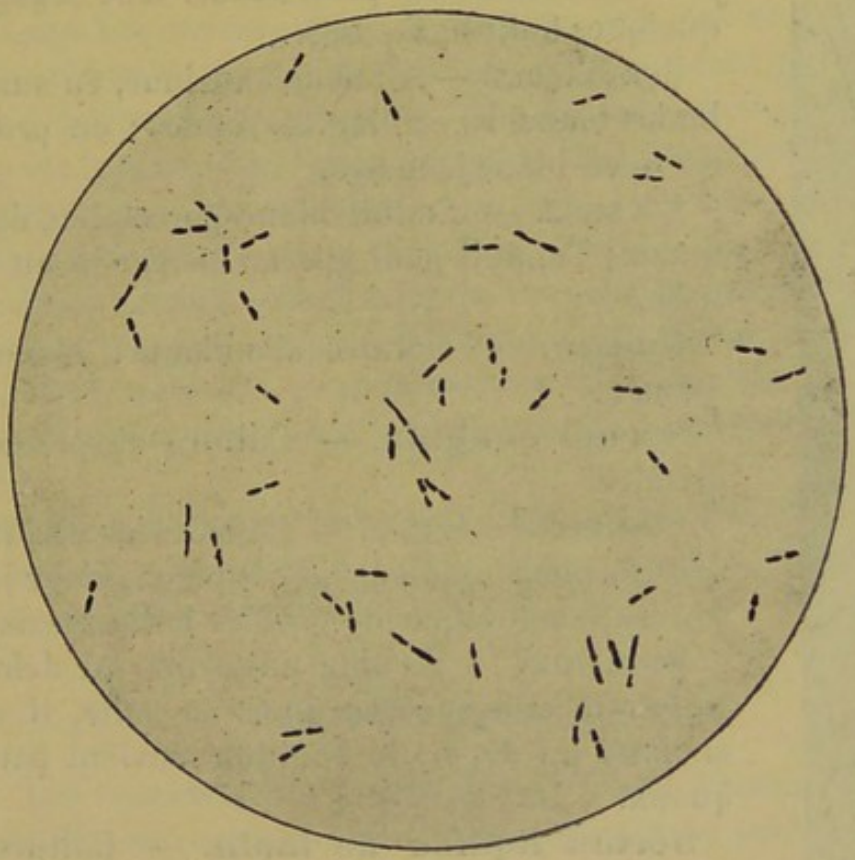


Fig. 177. — Pneumobacille (culture en bouillon).

1μ,5, assez trapus, entourés d'une capsule très nette. Les éléments sont le plus souvent isolés ou placés deux bout à bout.

En cultures, l'aspect est polymorphe; les bâtonnets dominent, mélangés à des formes plus courtes ou plus allongées (fig. 177). La capsule existe seulement sur milieux albumineux; elle manque sur les autres milieux. Grimbert signale pourtant une auréole très nette même sur gélose et bouillon.

Coloration. — Le Pneumobacille se colore facilement. *Il ne prend pas le Gram.* Les capsules se colorent très facilement par les procédés décrits page 242.

Mobilité. — Spores. — Immobile. Ne donne pas de spores.

CULTURES.

Conditions générales. — Le Pneumobacille se développe très facilement sur les milieux habituels, même à la température ambiante. Il est anaérobie facultatif.

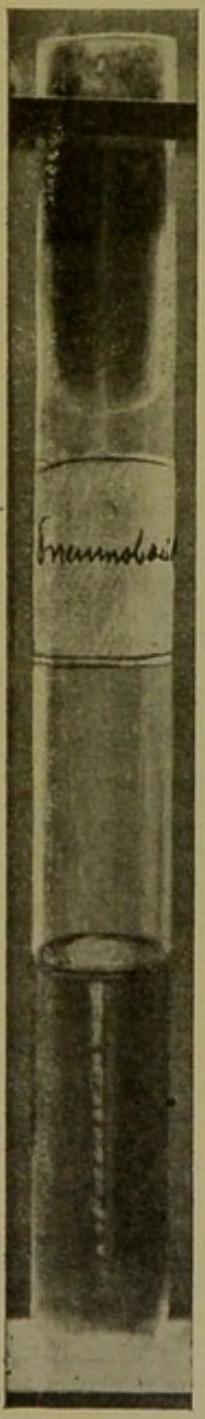


Fig. 178.—Pneumobacille. Culture en piqûre en gélatine (culture en clou).

Gélatine. — Le milieu *n'est pas liquéfié.*

En piqûres (fig. 178). — On obtient la *culture en clou*, presque caractéristique : dès le deuxième jour, disque bombé, blanc-porcelaine, à la surface ; mince traînée blanche en profondeur. Il se dégage parfois quelques bulles gazeuses.

Sur plaques. — Au deuxième jour, en surface, colonies blanches, saillantes, rondes ; en profondeur, colonies blanc jaunâtre.

En strie. — Enduit blanc-porcelaine, épais, muqueux ; l'enduit peut glisser en partie au fond du tube.

Gélose. — Culture abondante, blanche, visqueuse.

Sérum coagulé. — Culture visqueuse, blanc grisâtre.

Pomme de terre. — La culture est luxuriante sous forme d'enduit épais, visqueux, blanc jaunâtre, souvent soulevé par de grosses bulles gazeuses.

Bouillon. — Trouble uniforme au début, avec collerette à la surface. Dans la suite, il se forme au fond un dépôt ; le bouillon devient parfois visqueux.

Sérum liquide de lapin. — Culture abondante ; diplococcobacilles capsulés (Bezançon et Griffon).

Lait. — Les caractères de culture sur le lait sont certainement variables. D'après Grimbert, le lait est toujours coagulé, mais parfois tardivement (treize jours) ; d'après Clairmont et d'autres auteurs, le lait n'est pas coagulé. Denys et Martin avancent que certains échantillons ne coagulent le lait qu'après plusieurs cultures sur ce milieu, résultat contesté par Clairmont. En fait, on trouve des Pneumobacilles qui coagulent et d'autres qui ne coagulent pas.

Lait tournesolé. — Vire au rouge en un ou plusieurs jours.

Petit-lait tournesolé. — Devient légèrement rouge.

Milieux sucrés. — Le Pneumobacille fermente la plupart des sucres (Voy. *Propriétés biologiques*). Grimbert recommande pour l'étude chimique le milieu suivant : sucre, 3 grammes; peptone, 2 grammes ; eau, quantité suffisante pour 100 centimètres cubes ; carbonate de chaux, quantité suffisante. On peut employer les milieux sucrés indiqués ailleurs.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Réactions biochimiques. — Action sur les sucres. — La plupart des échantillons de Pneumobacille fermentent presque tous les sucres : saccharose, maltose, lactose, glucose, mannite, dulcite, glycérine, etc. ; seule l'érythrite n'est pas attaquée. Certains échantillons toutefois ne fermentent pas la dulcite (Grimbert) ; d'autres ne fermentent ni la dulcite, ni la glycérine (Frankland).

Les produits formés sont variables suivant les sucres : alcool et acide acétique presque toujours, plus acide lactique gauche pour la glucose, acide succinique pour la maltose, etc. (Grimbert).

Absence de formation d'indol. — Le Pneumobacille ne forme pas d'indol.

Réactions à l'égard des sérums. — D'après Bertarelli, le sérum d'animaux inoculés avec le Pneumobacille présente une agglutinine et une sensibilisatrice spécifiques.

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles, chez l'homme. — Le Pneumobacille provoque diverses manifestations pathologiques : pleurésies purulentes, bronchopneumonies (Netter), péricardites, endocardites, abcès superficiels ou profonds, méningites, otites, parotidides, angines tenaces à fausses membranes (Ch. Nicolle et Hébert), cystites, etc. Lœwenberg décrit comme agent habituel de l'ozène un microbe qui ne diffère en rien du Pneumobacille.

Le Pneumobacille provoque aussi, mais bien rarement, des infections généralisées (Netter, Lemierre).

Il intervient parfois comme agent d'infection secondaire, spécialement au cours de la pneumonie franche, dont il aggrave le pronostic.

Inoculation expérimentale. — Virulence. — La virulence du Pneumobacille est très variable, parfois nulle, parfois considérable. Il y a, en outre, des variations qualitatives, le Pneumobacille

se montrant pathogène seulement chez l'une ou l'autre des espèces sensibles (Nicolle et Remlinger). La souris, puis le cobaye sont en général le plus sensibles ; le lapin et le pigeon, un peu moins.

Souris. — Suivant la virulence, l'inoculation sous-cutanée provoque un simple abcès local à pus visqueux, ou bien l'infection se généralise et l'animal meurt de septicémie.

Friedländer a reproduit l'hépatisation par injection dans le poumon.

Cobaye. — L'injection sous-cutanée détermine parfois une septicémie mortelle en vingt-quatre heures avec hémorragie des capsules surrénales (Roger) ; le plus souvent, un abcès local, qui peut être suivi de bronchopneumonie mortelle.

Lapin. — Le lapin n'est pas réfractaire, contrairement à ce qu'on avait d'abord pensé. L'inoculation intraveineuse (1 à 2 centimètres cubes) entraîne tantôt une septicémie simple ; tantôt une septicémie hémorragique avec purpura intestinal, infarctus des plaques de Peyer et des ganglions mésentériques ; tantôt une infection chronique (Roger).

Pigeon. — Parfois sensible à l'injection intrapéritonéale.

Toxines. — Les cultures filtrées, injectées dans le péritoine du lapin, sont toxiques et peuvent déterminer des hémorragies intestinales (Denys et Martin).

SIÈGE.

Chez l'homme. — *A l'état normal*, le Pneumobacille se rencontre fréquemment dans la bouche (Netter, Bezançon et Griffon), parfois dans le nez et les bronches.

A l'état pathologique, le Pneumobacille existe dans toutes les lésions localisées qu'il provoque (Voy. ci-dessus), parfois dans le sang.

Dans les milieux extérieurs. — Le Pneumobacille peut être décelé dans l'eau (Besson, Grimbert), plus rarement dans le sol (Jakowski), l'air, les poussières (Emmerich). C'est un microbe assez répandu dans la nature.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic de l'infection repose sur la constatation du Bacille. Il est facile de le déceler, mais il est parfois moins facile de l'identifier.

Recherche du microbe. — *a*. L'examen direct des produits

pathologiques (crachats, pus, sérosités après centrifugation, fausses membranes) donnera des indications précieuses : Bacilles capsulés ne prenant pas le Gram.

b. L'isolement sera facilement obtenu sur sérum coagulé (fausses membranes), sur gélose ou gélatine (pus). Pour les crachats, l'isolement par cultures est généralement facile ; il est toutefois souvent plus expéditif d'inoculer à la souris et, après la mort, d'examiner et ensemencer le sang.

c. La recherche dans le sang sera faite comme d'ordinaire (p. 865).

d. Pour les eaux, employer les bouillons phéniqués (p. 883). Pratiquer ensuite l'isolement sur milieux solides.

Identification. — Dans tous les cas, qu'il s'agisse de crachats, de pus, de sang ou d'eaux, l'identification sera faite sur des colonies *rigoureusement isolées*. On vérifiera les caractères morphologiques, culturaux et biologiques décrits ci-dessus. La capsule sera mise en évidence par culture en sérum (de préférence, sérum de lapin ou ascite) ou dans le sang et les organes des animaux inoculés.

Le Pneumobacille ne peut être confondu qu'avec certains Colibacilles atypiques, ne donnant pas d'indol et tout à fait immobiles. Certains auteurs voudraient même faire rentrer le Pneumobacille dans le cadre des Colibacilles atypiques.

Les seuls caractères différentiels sont : pour le Pneumobacille, la présence de capsules, l'absence de cils, l'exubérance et la viscosité des cultures sur gélatine, gélose et pomme de terre ; pour le Colibacille, l'absence de capsules, la présence de cils, le moindre développement sur les milieux précités.

La confusion avec le Pneumocoque est inadmissible.

BACILLUS LACTIS AEROGENES.

Ce microbe est certainement très voisin du Pneumobacille ; Grimbert et Legros, Denys et Martin concluent même de leurs recherches que les deux microbes sont identiques. On ne relève entre eux que des différences de détail : le *B. lactis aerogenes* est capsulé dans le sang et le pus, mais non dans les milieux artificiels ; il coagule toujours le lait en un à cinq jours (il est d'ailleurs l'un des « ferments lactiques », microbes qui provoquent la coagulation spontanée du lait) ; il fermente les mêmes sucres que le Pneumobacille, sauf la dulcite. Les autres caractères morphologiques, culturaux et biologiques, sont exactement ceux du Pneumobacille.

Le *B. lactis aerogenes* est pathogène expérimentalement, par injection intrapéritonéale, pour le lapin, la souris, le cobaye : péritonite et septicémie. Il fait partie de la flore normale de l'intestin et se rencontre assez souvent dans les eaux. On lui a attribué un rôle dans l'étiologie des entérites infantiles.

BACILLE DU RHINOSCLÉROME.

Dans le rhinosclérome, maladie presque spéciale à l'Amérique centrale et aux rives du Danube, et surtout caractérisée par un épaississement chondroïde des muqueuses naso-labio-pharyngées, l'examen direct, les coupes et les cultures permettent de reconnaître un microbe particulier, dit *Bacille de Frisch*, très voisin du Pneumobacille. Dans les tissus, ce Bacille est capsulé ; il siège soit en dehors des cellules, soit dans les globules blancs, soit dans de grandes cellules (20 μ et plus), sphéroïdales, à protoplasma réticulé, renfermant parfois dix à trente Bacilles et beaucoup plus (Cornil et Alvarez), dites cellules de Mikulicz. En cultures, faciles à obtenir, le Bacille présente les caractères du Pneumobacille, dont il paraît se distinguer par son développement moins luxuriant sur tous les milieux, l'absence de fermentation des sucres, le bleuissement du petit-lait tournesolé et la non-coagulation du lait ; la capsule persiste, dit-on, sur les milieux de culture, sauf le bouillon, particularité que nous n'avons pas constatée. Ces caractères, de même que les réactions à l'égard des sérums (p. 357), semblent permettre de conserver au Bacille de Frisch son individualité, sans le confondre avec le Pneumobacille. Les effets pathogènes sont inconstants, généralement faibles.

Le sérum de malades atteints renferme une sensibilisatrice spécifique pour le Bacille de Frisch (Goldzieher et Neuber).

Le rôle spécifique du Bacille de Frisch est généralement admis, mais certains auteurs le contestent (Babès, Perkins).

BACILLUS CAPSULATUS MUCOSUS.

Ce nom a été appliqué à divers microbes, présentant les caractères généraux des Bacilles encapsulés. Le plus connu est le *B. mucosus capsulatus* de Fasching, isolé par cet auteur au cours de la pandémie grippale de 1890. Le Bacille de Fasching présente l'ensemble des caractères du B. du rhinosclérome, dont il ne diffère que par sa virulence pour les animaux.

CHAPITRE XXVII

BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE

La bactéridie charbonneuse a été découverte par Rayer et Davaine en 1850 dans le sang de mouton mort du charbon.

Pollender retrouve en 1855 ce même agent figuré dans le sang de vaches charbonneuses. En 1857, Brauell, en face de ce même germe, le confond avec les germes de la putréfaction. En 1860, Delafond le différencie de ces derniers, mais n'ose affirmer qu'il est spécifique de la maladie charbonneuse.

En 1863, Davaine reprend les faits qu'il avait déjà constatés treize ans auparavant, affirme la constance des bâtonnets en question dans le sang de tout animal atteint de charbon. Frappé des analogies existant entre ces corps et les vibrions mis en évidence par Pasteur dans la production de la fermentation butyrique et s'appuyant sur les résultats de l'expérimentation, il affirme son rôle spécifique dans l'étiologie du charbon ; il les baptise « bactéridie charbonneuse ».

En 1876, Koch en fait l'histoire naturelle, l'obtient en culture en sérum sanguin et dans l'humeur aqueuse du bœuf ; il étudie son développement et décrit les spores charbonneuses, les conditions de leur production.

Enfin, Pasteur et ses élèves Joubert, Roux et Chamberland, prouvent le pouvoir pathogène spécifique de la bactéridie en reproduisant, chez l'animal inoculé avec les cultures, l'infection charbonneuse. Ils font connaître ensuite les points essentiels de l'étiologie du charbon. Toute cette belle série de travaux devait aboutir à sa prophylaxie par les vaccinations basées sur le grand principe de l'atténuation des virus.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Dans l'organisme.* — On découvre la bactéridie charbonneuse dans le sang et les viscères. Examiné à l'*état frais*, le sang montre des bâtonnets rectilignes, flexibles et immobiles, longs de 5 à 6 μ sur 1 μ, 5 de largeur : ils sont isolés, ou groupés en chaînettes formées de deux à trois éléments semblables, séparés par un intervalle souvent imperceptible, ce qui leur donne l'apparence d'un long filament continu. Enfin, autour de chaque bâtonnet, une zone claire est décelable, constituant comme une capsule.

A l'état sec après coloration, ces bâtonnets présentent le même

aspect général, mais leurs extrémités sont coupées net (fig. 167) ; cependant de forts grossissements montrent que la coupure est en réalité sinueuse. Ce détail permettrait de ne pas confondre la bactéridie charbonneuse avec des germes similaires. Enfin, en certains cas, les extrémités de la bactéridie sont un peu renflées ; quand plusieurs d'entre elles sont situées bout à bout, leur ensemble figure assez bien une tige de bambou.

Dans l'organisme, la bactéridie charbonneuse ne forme jamais

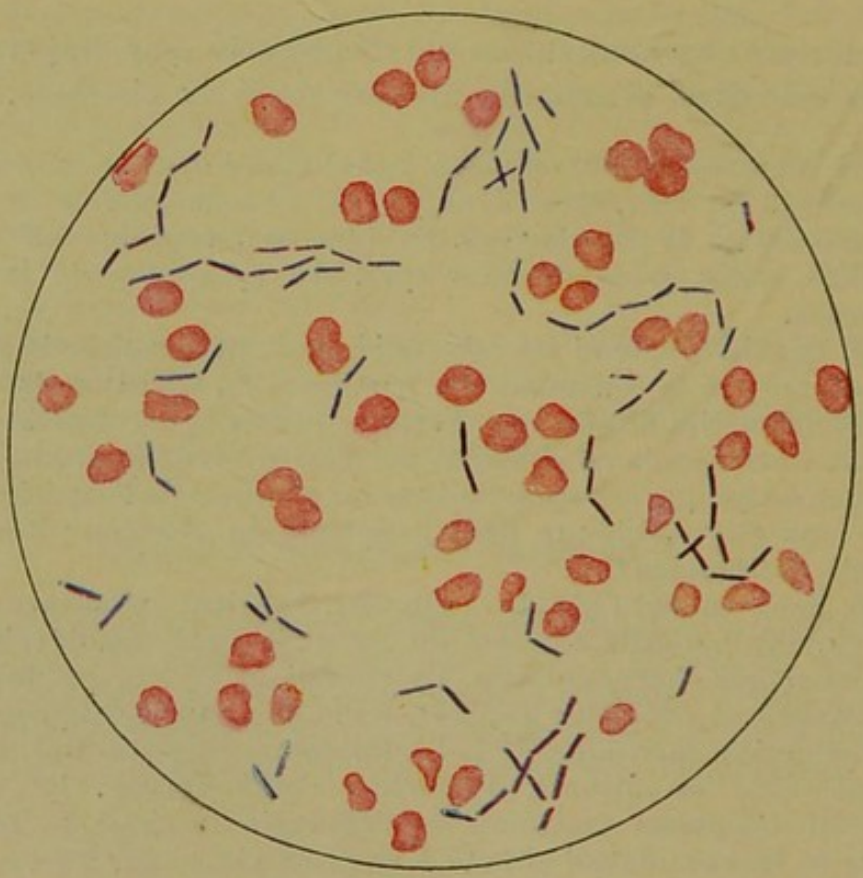


Fig. 179. — Sang de lapin charbonneux (coloration par le Gram composé).

de spores. Observée dans l'humeur aqueuse, en goutte suspendue, elle se reproduit nettement par scissiparité.

Dans les cultures. — Dans les milieux de cultures, liquides de préférence, la bactéridie charbonneuse prend l'aspect de longs filaments, flexueux, onduleux enchevêtrés les uns dans les autres. Ils sont immobiles. Une fois colorés, ils sont en réalité constitués par de véritables chaînes de bâtonnets placés bout à bout, tous égaux les uns aux autres, un peu plus courts que dans l'organisme, séparés par une cloison transversale.

Dans les cultures, et dans les conditions qui seront envisagées plus loin, la bactéridie donne naissance à des spores (fig. 168).

Coloration. — Toutes les couleurs d'aniline conviennent pour la coloration de la bactéridie. La thionine phéniquée, le violet de gentiane, la fuchsine de Ziehl sont les plus employés. *Elle prend nettement le Gram.*

Les capsules se colorent aisément par les procédés utilisés à cet effet, notamment par le violet ou la fuchsine acétisés.

Spores. — *Conditions de la sporulation.* — Les spores ne se forment que si la bactéridie se trouve en contact avec l'oxygène

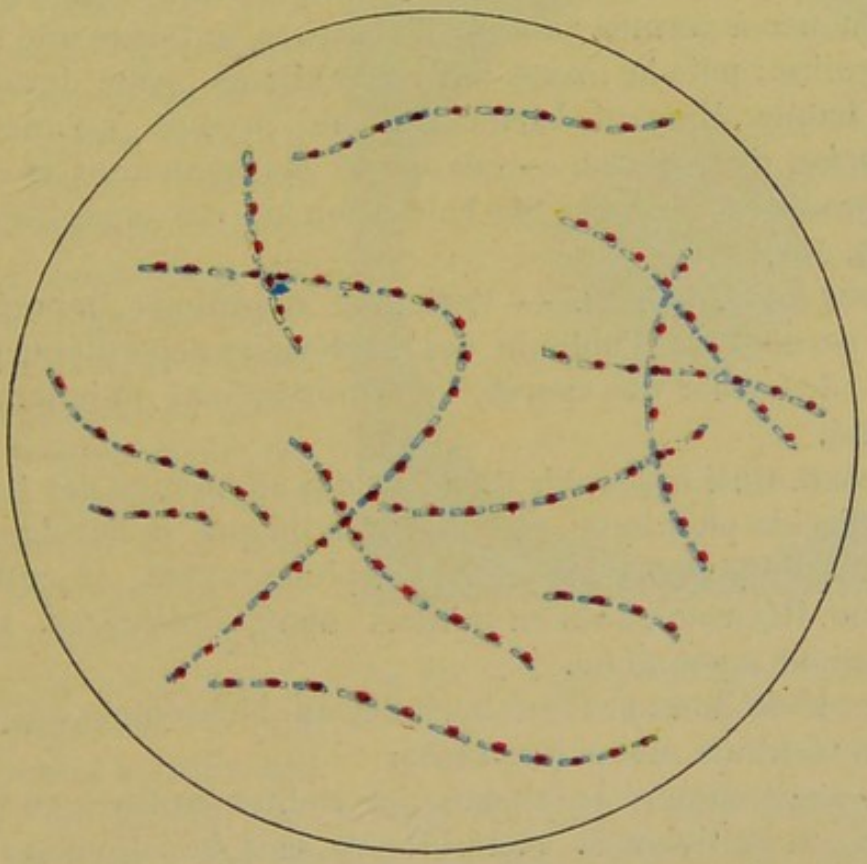


Fig. 180. — Bactéridie charbonneuse sporulée. Coloration des spores.

libre. En son absence, ou en présence d'oxygène combiné (hémoglobine oxygénée), elles ne peuvent prendre naissance. Aussi n'en découvre-t-on pas dans les bactéries observées sur le vivant ; elles ne se produisent pas davantage sur le cadavre, car les bactéries anaérobies de la putréfaction absorbent l'oxygène ; mais, dès que le cadavre est ouvert, l'air y pénètre et la sporulation s'effectue.

Dans les cultures, au contraire, ou dans les produits pathologiques répandus au dehors du vivant ou du cadavre (urines sanglantes par exemple), les spores ne tardent pas à apparaître.

Enfin le produit contenant les bactéries doit être maintenu entre 18° et 41°,5. A 42°, les spores ne se forment plus. Buchner

a obtenu rapidement la sporulation en cultivant la bactéridie sur gélose sans peptone (gélose de Buchner).

La spore charbonneuse se montre sous l'aspect de grains ovoïdes réfringents, occupant l'intérieur des bâtonnets sans les déformer.

Dans les cultures un peu âgées, la spore devient libre par suite de la désagrégation du bâtonnet, qui a présenté préalablement des formes involutives en massue, poire, boule, etc. La spore ne change d'aspect que si elle est transportée dans un milieu nutritif neuf, en présence d'oxygène libre. Après trois à quatre heures, elle commence à germer : autour de la spore se forme une auréole claire, hyaline; puis la masse centrale s'allonge pour devenir bâtonnet. Chaque élément bactéridien ne produit qu'une spore.

Coloration des spores. — Les spores charbonneuses se colorent par les procédés généraux de coloration de ces organismes spéciaux (fig. 168).

Cultures asporogènes. — Certaines conditions imposées aux cultures permettent d'obtenir des bactéridies asporulées, perdant l'habitude de former des spores, et se multipliant uniquement par scissiparité.

On connaît ainsi le *procédé de Roux*, qui additionne des tubes de bouillon d'acide phénique en quantité telle que le développement de la bactéridie puisse s'effectuer. Le plus souvent, la culture est asporogène. Réensemencée en milieux neufs ordinaires, elle est définitivement asporogène.

Le procédé de Roux et Chamberland, au bichromate de potasse, donne des résultats moins constants.

Pasteur avait observé le fait dans les vieilles cultures en gélatine Phisalix, en cultivant la bactéridie en sacs de collodion dans le péritoine du chien a obtenu une même variété sans spores, mais les bactéridies étaient courtes, ovoïdes, présentant beaucoup d'analogie avec des cocci.

CULTURES.

La bactéridie charbonneuse pousse facilement dans tous les milieux usuels. Sur certains d'entre eux, elle donne un aspect caractéristique.

Le développement ne s'effectue qu'en présence de l'oxygène; c'est donc un microbe *aérobie vrai.* L'oxygène tue les bâtonnets, mais respecte les spores. La multiplication commence à 24° et se termine à 44°. La température optima égale 35° à 37°.

Bouillon ordinaire. — Au bout de vingt-quatre heures, des flocons blancs se forment à la surface du liquide et contre les

parois du tube. Entre eux le bouillon reste limpide. Après quelques jours, ils tombent au fond, où ils constituent un sédiment blanchâtre qui, après la désagrégation des bâtonnets, n'est plus constitué que par des spores.

Gélatine. — *Colonies isolées.* — A la température de 20°, déjà après vingt-quatre heures, apparaissent de petites colonies blanc grisâtre, qui, vues au microscope, sont granuleuses, de teinte jaunâtre, à bords sinueux. Après trente-six heures environ, elles sont plus développées et ressemblent à un *peloton de fil emmêlé*. Après trois à quatre jours, l'aspect change encore : elles figurent assez bien un amas de *filaments ondulés* ou de *cheveux bouclés*. Puis la gélatine se liquéfie sur leur pourtour; ces colonies commencent à se désagréger et ne sont plus représentées que par des flocons nageant dans le liquide formé.

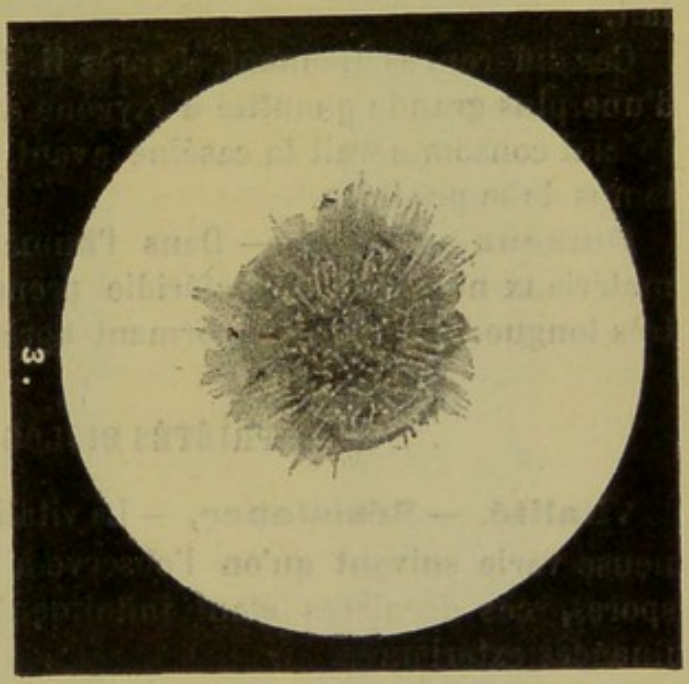


Fig. 181. — Aspect microscopique d'une colonie jeune sur gélatine (Macé).

En piqûres. — En vingt-quatre à trente-six heures, on perçoit, au niveau du trait d'ensemencement, une ligne blanchâtre sur laquelle, au bout du deuxième jour, s'insèrent perpendiculairement des filaments très ténus, d'aspect duveteux (fig. 182). Ces filaments grandissent et envahissent progressivement toute l'épaisseur du milieu. A la surface se développe et s'étale une colonie blanchâtre sans caractère spécial.

Puis, vers le dixième jour, la partie supérieure de la gélatine se liquéfie; la liquéfaction envahit peu à peu la profondeur, et, dans la gélatine liquéfiée, nagent des flocons blanchâtres, qui viennent se sédimenter au fond du tube.

Gélose. — Culture peu caractéristique. En surface inclinée, se développe en vingt-quatre heures une strie assez épaisse, devenant plus étendue, plus sèche et friable, avec des bords dentelés.

Sérum coagulé. — La strie est blanchâtre et liquéfie le milieu; des flocons enchevêtrés prennent naissance, se sédimentant ensuite.

Pomme de terre. — Enduit blanchâtre, épais, opaque, devenant brunâtre dans la suite.

Lait. — Dans les tubes, une coagulation énergique s'effectue vers le deuxième ou troisième jour; le liquide surnageant, clair, incolore, est très alcalin.

En ballon, après quelques jours d'étuve, le milieu est limpide et devient jaunâtre; pas de coagulation, mais les matières grasses se réunissent à la surface, surnageant au-dessus du petit-lait.

Ces différences tiennent, d'après H. Roger, à ce qu'en présence d'une plus grande quantité d'oxygène dans les ballons, un ferment spécial consommerait la caséine avant que la coagulation ait le temps de se produire.

Humeur aqueuse. — Dans l'humeur aqueuse, très pauvre en matériaux nutritifs, la bactéridie prend une forme filamenteuse très longue. Les spores se forment après quarante-huit heures.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Résistance. — La vitalité de la bactéridie charbonneuse varie suivant qu'on l'observe à l'état de bâtonnets ou de spores, ces dernières étant infiniment plus résistantes aux influences extérieures.

D'après Roux et Chamberland, la bactérie proprement dite succombe, dans les cultures ou le sang frais, à une température de 55° pendant quarante minutes, de 50° pendant une heure; en deux à quatre minutes, une température de 75° les tue; une minute à 80° suffit pour obtenir le même résultat. Les températures très basses (— 100°) n'influent en rien sur la vitalité ni sur la virulence.

Les spores, au contraire, supportent pendant dix minutes environ la chaleur humide à 95°; à 100°, elles résistent pendant trois à quatre minutes. A 120° en chaleur sèche, elles résistent souvent durant plusieurs heures. Desséchées dans un milieu albumineux comme le sang, leur résistance est grande.

Les bâtonnets sont sensibles à la *lumière solaire*, qui, en dix à seize heures, a raison de leur vitalité, s'ils se trouvent en présence de l'oxygène. S'ils sont à l'abri de ce gaz, ils peuvent résister jusqu'à quatre-vingt-trois jours (Roux). L'action de la lumière solaire sur les spores est mal connue; elle semble peu marquée.

La dessiccation est peu efficace vis-à-vis des bâtonnets; dans le sang desséché, la bactéridie résiste pendant soixante jours à la température ordinaire; sur la spore, la dessiccation reste sans effet.

Les bâtonnets résistent peu à l'influence des *antiseptiques*; les spores, au contraire, présentent une résistance considérable ; elles

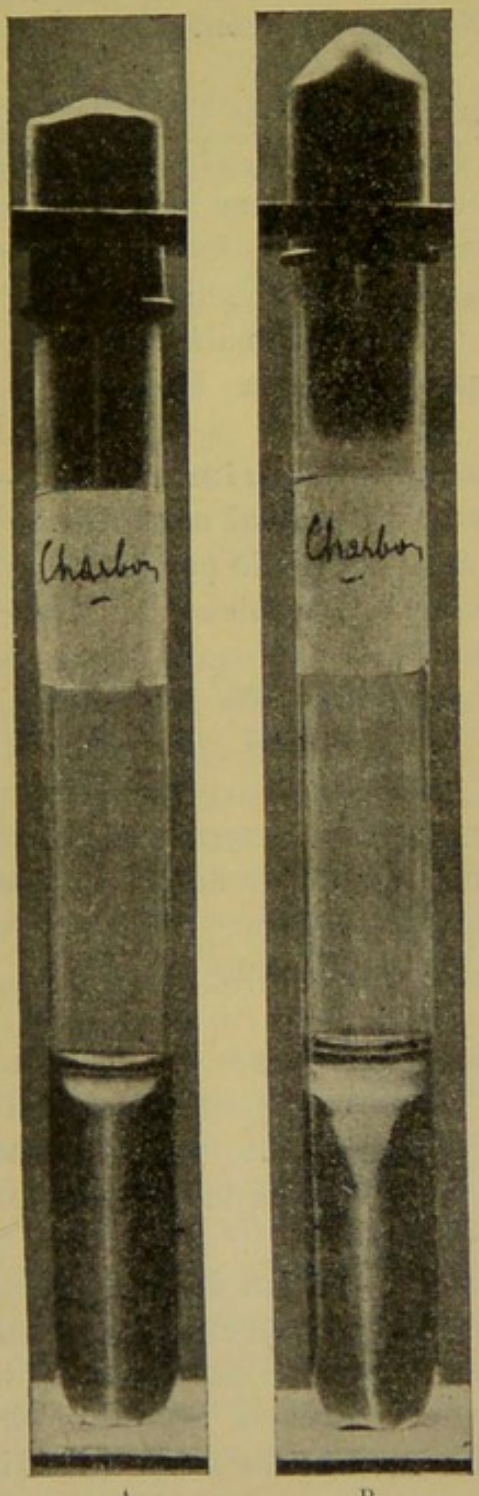


Fig. 182. — Culture de charbon en gélatine. A, deuxième jour ; B, dixième jour.

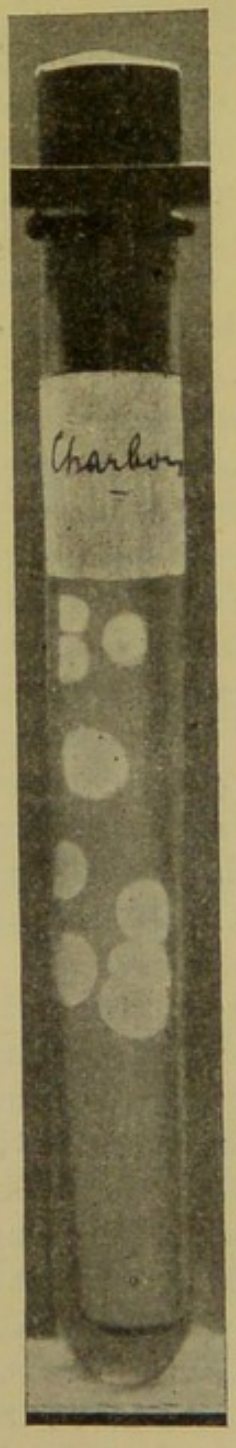


Fig. 183. — Culture de bactéridie charbonneuse sur gélose.

supportent l'action du sublimé à 1 p. 1 000 pendant deux à trois jours, mais, à cet égard, il existe des différences assez notables suivant l'origine de la bactéridie

Dans le sol, les spores se conservent très longtemps dans les couches profondes, à l'abri de l'air et de la lumière.

Dans l'eau, la spore résiste plus d'un an ; sous l'influence de la *putréfaction*, le bâtonnet se détruit rapidement, alors que la spore reste intacte.

Enfin, *in vitro* et *in vivo*, certaines bactéries possèdent une *action antagoniste* manifeste vis-à-vis du Bacille du charbon. C'est le cas du Bacille pyocyanique, qui semble agir par la pyocyanase qu'il développe, de même aussi le Pneumobacille, le Streptocoque, puis le Staphylocoque, mais dans une mesure plus limitée.

Behring, puis Metchnikoff et Roux ont signalé encore le pouvoir bactéricide du sérum de rat, qui dissout la bactéridie charbonneuse.

Virulence. — Ses modifications expérimentales. — Quand la bactéridie provient du cadavre d'un animal mort de charbon, sa virulence est assez fixe. Elle le doit en grande partie à la présence des spores qui fixent héréditairement la virulence au degré où elle se trouvait dans le tissu d'origine.

Si toutefois on empêche la sporulation, la virulence s'atténue progressivement. Ainsi, quand on conserve une culture à l'étuve à 42°,5, les spores ne se forment pas, et la virulence diminue progressivement au fur et à mesure des divers ensemencements dans les mêmes conditions : après une vingtaine de jours, une bactéridie ainsi traitée, qui, au début, pouvait tuer le mouton, devient petit à petit incapable de tuer le lapin, puis le cobaye, puis la souris.

Si on ensemence la même culture atténuée en bouillon à 37°, les spores se forment et fixent la virulence au degré obtenu en dernier lieu. C'est ce procédé d'atténuation du virus charbonneux et de fixation de la virulence qui a servi à Pasteur pour les vaccinations qui seront étudiées plus loin.

On peut faire récupérer le pouvoir virulent à une bactéridie qui l'a perdu en lui faisant subir plusieurs passages par des animaux de plus en plus résistants. Ainsi, à une souris naissante, on inocule une culture incapable de tuer une souris adulte; elle succombe en deux ou trois jours; on en prélève le sang, qu'on inocule à une souris âgée de trois jours : elle succombe, et son sang est inoculé à une souris de six jours.

Le sang de cette deuxième, inoculé à une souris adulte, pourra la tuer ; la bactéridie provenant de cette dernière expérience tuera un cobaye et, ainsi de suite, tuera un lapin, puis un mouton, etc.

Formation de produits chimiques. — Toxine charbonneuse. — Dans les cultures, la bactéridie charbonneuse transforme la matière albuminoïde en ammoniaque. Maumus a observé la transformation de l'amidon en glucose. D'après de Napias, elle présenterait des propriétés amylolytiques.

Des produits toxiques ont été mis en évidence par plusieurs auteurs :

En précipitant les cultures par l'alcool, Hankin a isolé une albumose très toxique pour l'animal. Avec Wesbroock, il aurait extrait des cultures une diastase, décomposant les matières protéiques avec production d'albumoses. Ces albumoses ont été retrouvées par S. Martin.

Brieger et Fraenkel ont isolé une albuminoïde qui, à l'état sec, est soluble dans l'eau et douée de toxicité.

Procédé de Marmier. — Marmier, en 1895, a obtenu encore une substance très toxique, en cultivant la bactéridie en eau peptonisée glycérinée :

Eau	1000 cent. cubes.
Peptone purifiée	40 grammes.
Sel marin	15 —
Phosphate de soude	0gr,50
Phosphate de potasse	0gr,20
Glycérine pure	40 grammes.

On ensemence la bactéridie charbonneuse en ballons contenant 250 centimètres cubes de ce milieu, stérilisé à 115°. On porte à l'étuve à 37° pendant quarante-huit heures et à 20° pendant quinze jours.

Filtrer sur bougie de porcelaine, saturer de sulfate d'ammoniaque ; un précipité se forme. Filtrer sur papier pour retenir le précipité, qu'on lave avec une solution de sulfate d'ammoniaque à saturation. Traiter le précipité recueilli par une petite quantité de glycérine. Décanter après quarante-huit heures de contact, et additionner à nouveau de glycérine neuve, que l'on décante encore. Mélanger les liqueurs glycérinées et ajouter leur poids d'alcool. Laver le précipité obtenu par l'alcool absolu puis l'éther. Enfin dessécher dans le vide.

Le produit obtenu est une poudre amorphe, brunâtre, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme. Cette substance, étrangère aux albuminoïdes, alcaloïdes et peptones, est très toxique : inoculée au lapin, elle peut, à faible dose, tuer cet animal ; le cobaye, la souris y sont sensibles.

Ce qui peut faire supposer que le produit obtenu par Marmier est bien la toxine charbonneuse, c'est que les animaux réfractaires à la bactéridie vivante sont réfractaires à l'action de cette substance ; d'autre part, un lapin vacciné contre la bactéridie résiste à l'inoculation de la toxine.

Marmier a pu encore obtenir la même toxine en partant des cultures sur gélose :

On racle une culture sur agar, âgée de quarante-huit heures ; on la laisse macérer dans de l'alcool à 20° ; vingt-quatre heures après, filtrer et précipiter le filtrat par l'alcool absolu ; laver le précipité obtenu par l'alcool

absolu puis l'éther. Dessécher dans le vide. On obtient ainsi une poudre présentant les mêmes caractères que précédemment.

Procédé de Boidin. — Boidin a obtenu des produits toxiques en traitant des cultures de charbon par les procédés qu'Auclair avait utilisés pour le bacille tuberculeux. Il a ainsi préparé des extraits éthérés et chloroformés ; dans ce but : filtrer sur papier des cultures en eau peptonée, vivantes ou tuées par la chaleur; immerger ce filtre dans l'éther ou le chloroforme ; filtrer ensuite ce liquide sur bougie et distiller enfin l'éther ou le chloroforme, qui ont dissous les matières grasses de ces microbes. Ces dernières restent dans le récipient ayant contenu les dissolvants.

L'extrait éthéré est visqueux et dégage une odeur résineuse. L'extrait chloroformé dégage une odeur rappelant celle du saindoux rance. Tous deux ont les réactions des graisses. Ils ne sont ni solubles ni émulsionnables dans l'eau, sont solubles au contraire dans les alcalis et les huiles. On les émulsionne dans les alcalis en ajoutant une goutte de soude au tiers à $0^{gr},01$ ou $0^{gr},04$ d'extrait.

En injectant ces extraits non solubilisés sous la peau d'animaux divers (singes, lapins, chiens, etc.), Boidin a pu reproduire l'œdème malin comme on l'observe en inoculant les cultures vivantes ou tuées. En pratiquant des injections trachéales, il a observé les mêmes désordres qu'avec les bactéridies. Les matières grasses extraites contiennent donc des poisons à action locale spécifique. Ils supportent sans dommage la température de 100°.

En injectant les extraits solubilisés par addition d'huile, il n'a pas reproduit d'accident local, mais des troubles généraux consistant en amaigrissement progressif, inappétence, cachexie aboutissant à la mort dans un délai de douze heures à vingt-huit jours.

Réactions vis-à-vis de l'antisérum. — ***Agglutination.*** — L'agglutination de cultures homogènes (cultures du premier vaccin) peut s'observer avec le sérum de sujets charbonneux à 1 p. 10 et 1 p. 50. Mais les sérums humains et animaux normaux possèdent le même pouvoir. Cette agglutination n'est donc pas spécifique et ne peut servir au diagnostic (Lambolte et Maréchal, Sobernheim, Guillain, Boidin et N. Fiessinger).

Fixation du complément. — Bordet et Gengou ont montré, par la fixation du complément, que le sérum des cobayes immunisés avec le premier vaccin contenait des ambocepteurs spécifiques pour la bactéridie charbonneuse. Ils les ont décelés dans le sérum anti-charbonneux de Sclavo ; Guillain, Boidin et N. Fiessinger, dans le sérum d'un malade atteint d'œdème charbonneux de la face.

POUVOIR PATHOGÈNE.

Charbon spontané.

Chez l'homme. — Le charbon prend, chez l'homme, des formes différentes suivant la voie de pénétration du virus. Le plus souvent il se manifeste sous forme de pustule *maligne* et d'œdème *malin*, sur-

venant à la suite d'une inoculation cutanée. Ces lésions se déclarent quand une plaie, une simple excoriation a été souillée par du sang ou des humeurs virulentes provenant d'animaux charbonneux; un corps souillé de spores, échardes, instruments, etc., peut se charger d'insérer le virus dans les tissus. Le transport par les insectes et particulièrement les mouches est actuellement très discuté.

En d'autres atteintes, le charbon prend la *forme gastro-intestinale*, quand l'infection s'est effectuée par le tube digestif, à la faveur de l'ingestion de viande, de lait d'animaux charbonneux.

Enfin le *charbon pulmonaire* se déclare à la suite de l'inoculation par la voie pulmonaire, survenant après inhalation de poussières émanant de produits renfermant des spores charbonneuses (maladie des trieurs de laine, des chiffonniers).

Chez l'animal. — Le charbon spontané des animaux peut présenter les mêmes formes que chez l'homme. On connaît la forme cutanée, qui survient à la suite de la souillure spécifique d'une plaie superficielle siégeant au niveau des extrémités; mais l'animal s'infecte habituellement par le tube digestif (*sang de rate* chez le mouton, *fièvre charbonneuse* des bovidés), en avalant par exemple du fourrage véhiculant des spores charbonneuses.

Pasteur, Roux et Chamberland ont d'ailleurs pu réaliser expérimentalement ce mode de contamination chez des bovidés à qui ils donnèrent à ingérer de la luzerne arrosée de cultures avec spores charbonneuses. L'infection est plus sûre si l'on mêle à ce repas des objets piquants (feuilles de chardon desséchées, épis d'orge), qui excorient la muqueuse buccale ou intestinale.

L'infection charbonneuse s'effectue donc, dans les conditions naturelles, le plus souvent par les aliments souillés de spores. Pasteur, Chamberland et Roux ont montré que ces spores provenaient des produits répandus par les animaux charbonneux et de leurs cadavres. Pasteur a d'ailleurs, par l'inoculation expérimentale de fragments de terre, démontré la présence de spores dans le sol entourant et recouvrant des animaux morts du charbon douze ans auparavant. Les spores sont ramenées à la surface par les travaux de labour, ou par les vers de terre.

On comprend comment, dans ces conditions, les pâturages de la Beauce, dits *champs maudits*, peuvent réceler la spore charbonneuse et la livrer au bétail, qui s'infecte au contact du sol souillé spécifiquement et en broutant l'herbe qui le recouvre.

Charbon expérimental.

De nombreux animaux sont sensibles à l'inoculation de la bactéridie charbonneuse :

Le *mouton* est très sensible à l'injection sous-cutanée et à l'ingestion ; toutefois, Chauveau a montré que le mouton algérien était réfractaire ; les *bovidés* sont plus sensibles à l'ingestion de produits virulents qu'à l'inoculation sous la peau ; le *cheval* et les *équidés*, au contraire, contractent rarement le charbon par la voie intestinale ; chez eux, l'infection cutanée est plus fréquente. Le *lapin*, le *cobaye*, la *souris* sont plus facilement infectables par la peau que par le tube digestif. Le rat blanc est habituellement réfractaire.

Les *carnassiers* sont en général peu réceptifs ; le *chien* adulte notamment présente de l'immunité naturelle ; cette dernière peut cependant être vaincue par l'inoculation intraveineuse ; Martel a montré que le chien enragé succombe en vingt-quatre heures à l'inoculation sous-cutanée, alors qu'avec une même dose le chien sain résiste. Les jeunes chiens sont assez réceptifs.

Dans les conditions naturelles, les *oiseaux* sont réfractaires ; si cependant on diminue préalablement leur résistance, ils peuvent contracter l'infection expérimentale. C'est ce qu'a démontré Pasteur en inoculant une poule et en lui maintenant les pattes dans de l'eau froide à 25° ; elle contracte ainsi le charbon. Le pigeon est plus sensible que la poule.

Inoculation sous-cutanée. — Il suffit d'inoculer sous la peau du cobaye ou du lapin quelques gouttes de sang charbonneux ou d'une culture de bactéridie charbonneuse, ou plus simplement encore une aiguille chargée de virus, pour voir se développer bientôt les symptômes et les lésions du charbon ; mais, chez l'animal, *on n'observe jamais la pustule maligne qui se développe chez l'homme.*

Dix à quinze heures après l'injection, au point d'inoculation, prend naissance un œdème assez marqué, qui s'étend plus ou moins : les ganglions les plus proches s'hypertrophient, la fièvre s'élève et monte de 1 à 2°.

Jusque vers la vingt-quatrième ou trente-sixième heure, les phénomènes généraux sont peu marqués ; l'animal conserve même les apparences de la santé, quand brusquement les bactéries envahissent la circulation et l'état général s'aggrave ; il devient dyspnéique, tombe dans le coma ; l'hypothermie apparaît, et la mort survient après quelques convulsions.

L'*autopsie* montre les lésions suivantes :

Au point d'inoculation, on découvre un *œdème gélatineux* assez étendu, teinté en rose, dont les frottis montrent une foule de bactéridies charbonneuses ; les leucocytes y sont rares. Les ganglions voisins sont tuméfiés, rouges, entourés d'une zone œdémateuse.

Le *sang* est noir, poisseux et se coagule difficilement. Il fourmille de bactéridies. Des examens pratiqués pendant la vie permettent de se rendre compte que, dès les premières heures, la bactéridie passe de la lésion locale dans le sang et les veines par l'intermédiaire des lymphatiques, mais ne s'y multiplie pas ; l'état septicémique proprement dit ne se produit que quelques heures avant la mort.

La *rate* est hypertrophiée, rouge foncé, diffluente et molle.

Les *reins* sont rouges, congestionnés, gorgés de sang.

Fig. 184. — Coupe de rein montrant l'abondance des bactéries dans un glomérule.

Le *foie*, les *poumons* présentent des altérations analogues.

Dans tous les viscères, les bactéridies pullulent ; il est à remarquer cependant que les épithéliums restent intacts et ne sont pas envahis par la pullulation microbienne ; celle-ci s'effectue au niveau des capillaires seuls. La lumière de ces derniers est littéralement bourrée de ces germes (fig. 184), qui provoquent de véritables embolies capillaires, amenant des ruptures vasculaires. Ces dernières contribuent à entraîner les microbes dans l'urine, le lait. C'est à leur faveur que le fœtus des femelles en gestation peut s'infecter, sinon le placenta forme un véritable filtre pour la bactéridie.

Inoculation par les voies digestives. — Quand on donne à

ingérer au mouton, par exemple, des aliments vecteurs de spores charbonneuses, on observe le tableau clinique et les lésions du « charbon interne » spontané ; l'appétit disparaît tout d'abord, la rumination cesse. L'animal présente des coliques; la pression de l'abdomen est douloureuse. Puis la température s'élève ; la respiration est dyspnéique, la démarche devient chancelante, l'urine est rougeâtre, les matières fécales sont molles et mélangées de sang. L'animal se couche, présente des tremblements ; il rejette par les narines et la bouche de l'écume sanguinolente, et, après quelques convulsions, il succombe. L'infection évolue ainsi entre une et vingt-quatre heures suivant les cas.

A l'autopsie, les lésions portent surtout sur le tube digestif. La cavité péritonéale renferme un liquide séreux, rougeâtre ; la séreuse est parsemée de suffusions hémorragiques. La paroi de l'estomac est œdématiée, la muqueuse congestionnée. Les parois de l'intestin grêle sont envahies par des foyers hémorragiques, isolés ou confluents, perceptibles aussi au niveau de la muqueuse.

Les vaisseaux épiploïques et mésentériques sont gorgés de sang noir et visqueux. Les *ganglions mésentériques* sont tuméfiés, hémorragiques, enveloppés d'une zone œdémateuse étendue; ils forment souvent comme une énorme tumeur.

Le *foie* est congestionné, friable, de teinte feuille morte.

La *rate* est tuméfiée ; son parenchyme est transformé en pulpe boueuse lie de vin.

Le *rein* est congestionné et parsemé d'ecchymoses.

Les *poumons* présentent des foyers congestifs, hémorragiques même; les *ganglions thoraciques* et *médiastinaux* sont souvent intéressés.

Le *cœur* est mou et flasque. La *plèvre* et le *péricarde* contiennent un exsudat séreux, rougeâtre.

En d'autres cas, le point de départ de l'infection paraît se trouver au niveau de la muqueuse de la bouche et de l'arrière-gorge, ainsi que le prouve la présence des ganglions tuméfiés, sous-maxillaires et rétro-pharyngiens.

Inoculation par les voies respiratoires. — Faire inhaler à un animal des poussières chargées de bactéridies, ou bien inoculer une culture virulente dans la trachée d'un cobaye ou d'un lapin (Muskatbluth, Tchistovitch, Boidin) ; ces derniers contractent un charbon pulmonaire qui tue en trente-six à quarante-huit heures.

L'autopsie montre des foyers congestifs, disséminés dans les poumons. Au microscope, les alvéoles sont bourrés de bactéridies ; leur paroi, épaissie et œdémateuse, est envahie par le germe spécifique.

Les lésions des autres viscères et du sang sont superposables à celles qui ont été décrites précédemment.

RÉPARTITION DE LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE DANS L'ORGANISME.

Dans la *pustule maligne* qu'on observe chez l'homme et qui résume souvent toute l'infection charbonneuse, la bactéridie reste habituellement cantonnée au niveau de cette lésion locale. Le bacille charbonneux s'y trouve dans l'épaisseur de l'escarre, principalement dans sa couche profonde ; mais il est plus particulièrement abondant au niveau de la barrière leucocytaire réactionnelle. De plus, à la périphérie, les bactéridies forment des couronnes assez denses autour des follicules pileux et des glandes sudoripares ; elles abondent dans l'infiltration œdémateuse. Elles siègent encore dans les ganglions les plus voisins. En ces cas, la bactéridie ne se généralise habituellement pas : Guillain, Boidin et N. Fiessinger ont pu cependant la déceler, dans un cas terminé par guérison, par l'hémoculture seule.

Quand l'infection se généralise, on constate alors, surtout à la période terminale, des bactéridies nombreuses dans le sang circulant. A l'autopsie, l'examen des viscères les révèle dans les frottis et les coupes d'organes, où elles siègent exclusivement dans les capillaires, sans atteindre les parenchymes.

Chez l'animal, dont l'infection est le plus souvent sévère et mortelle, on retrouve la bactéridie dans l'œdème au point d'inoculation, dans le sang et tous les viscères.

NATURE DE L'INFECTION CHARBONNEUSE.

Le fait que l'on observe à l'autopsie une généralisation de la bactéridie charbonneuse, envahissant la circulation sanguine et les viscères, prouve suffisamment que l'infection charbonneuse est, en réalité, une *septicémie*. Suivant le mode et les voies d'infection, cette septicémie peut être primitive, ou bien secondaire à une détermination locale, telle que l'est la pustule maligne.

Certains auteurs, Toussaint entre autres, ont pensé pouvoir expliquer les accidents causés par cette septicémie en invoquant les embolies capillaires constatées en maints cas ; il est vrai qu'en d'autres la mort survient en leur absence et alors que la septicémie est relativement minime. Pour d'autres, la gravité de l'infection proviendrait de l'état asphyxique du sang, causé par l'utilisation de l'oxygène par les bactéridies.

En réalité, la pullulation microbienne ne résume pas toute l'infection charbonneuse ; il faut tenir compte aussi des produits toxiques mis en évidence par plusieurs auteurs. On a vu que la toxine préparée par Marmier tuait les animaux de laboratoire, cobayes, lapins, souris. D'autre part, en

inoculant sous la peau de divers animaux des bactéridies tuées ou des extraits éthérés ou chloroformés de bactéridie charbonneuse, Boidin a pu reproduire les lésions de l'œdème malin, comme le fait l'injection de bactéridies vivantes, à cette différence près que ces dernières, développant une chimiotaxie négative, ne provoquent pas l'appel leucocytaire accompagnant l'inoculation des premières substances. Les lésions observées dans le poumon à la suite de l'injection intratrachéale sont du même ordre.

D'autre part enfin, quand ils sont solubilisés, ces extraits provoquent dans l'état général des désordres tels qu'ils déterminent la mort de l'animal.

Par conséquent, les troubles locaux et généraux doivent être attribués d'une part à la bactéridie, de l'autre aux produits toxiques retenus dans le corps microbien et mis ensuite en liberté.

DIAGNOSTIC DE L'INFECTION CHARBONNEUSE.

Le diagnostic de l'infection charbonneuse sur le vivant et le cadavre comporte plusieurs épreuves.

Sur le vivant. — ***Recherche de la bactéridie.*** — *Chez l'homme*, la recherche de la bactéridie charbonneuse varie suivant la forme du charbon présentée par le malade.

Le plus souvent, le prélèvement doit être effectué au niveau de la *pustule maligne* ; à la surface de la pustule on pratique une scarification à l'aide d'une lancette stérile, et on aspire avec une pipette flambée la sérosité qui se met à sourdre.

En cas de *charbon pulmonaire*, on prélèvera les crachats.

S'il s'agit de *charbon intestinal*, les matières fécales seront examinées.

Enfin, dans tout cas de charbon, quelle qu'en soit la forme, on prélèvera le sang, soit par piqûre au doigt ou au lobule de l'oreille, soit de préférence à une veine du bras, pour en effectuer l'hémoculture.

Chez l'animal, la technique du prélèvement est la même.

Examen microscopique direct. — Étaler sur lame les produits prélevés. Laisser sécher, fixer, colorer par la méthode de Gram. En cas de charbon, on perçoit en plus ou moins grande abondance la bactéridie charbonneuse avec ses caractères morphologiques connus. Dans les cas douteux, et dans ceux où les éléments microbiens sont peu nombreux, compléter cet examen par les cultures.

Cultures. — Effectuer des isolements pour obtenir des colonies séparées, car, dans le suc de la pustule, les crachats et surtout les matières fécales, des microbes étrangers peuvent se trouver associés. Noter les caractères des colonies suspectes et les ensemencer sur milieux appropriés, notamment le bouillon et la gélatine, où la culture prend un aspect caractéristique.

Inoculation. — On peut inoculer directement sous la peau du cobaye le matériel prélevé, ou bien les inoculations seront pratiquées à l'aide des cultures pures obtenues après isolement. En

cas de charbon, une minime quantité peut déterminer chez le cobaye une infection charbonneuse mortelle, qu'il sera facile de vérifier à l'autopsie.

Recherche des anticorps dans le sérum. — On a vu que la recherche de l'*agglutination* n'avait aucune valeur. Par contre, d'après Guillain, Boidin et N. Fiessinger, la recherche de la sensibilisatrice spécifique peut donner des résultats positifs, utiles pour le diagnostic.

Sur le cadavre. — Une technique identique s'impose pour la recherche de la bactéridie sur le cadavre, mais elle doit être complétée par l'examen des frottis de viscères (foie, poumons, rate, ganglions, épiploon), et la culture du suc de ces organes. Au besoin on devra recourir aux inoculations, voire même aux coupes d'organes, mettant, après coloration, les bactéridies en évidence.

Toutes ces épreuves sont simples quand le cadavre est frais ; mais, s'il est putréfié, on se heurte parfois à de grandes difficultés : les cadavres putréfiés en effet sont envahis par le Vibrion septique, qui présente certaines analogies morphologiques avec la bactéridie charbonneuse. L'inoculation du sang et des sucs d'organes à l'animal ne résout pas le problème, car, en ce cas, l'animal succombe par la septicémie vibrionienne, avant de présenter la septicémie charbonneuse. Il faut donc recourir à l'isolement par les cultures ; il est possible dans les milieux aérobies où la bactéridie pullule et où le Vibrion septique ne pousse pas.

Dans les cadavres datant d'un certain temps, le bactéridie peut avoir disparu du sang et des vicères. Or Ciuca et Stoïesco ont montré qu'en pareil cas elle est encore décelable dans la peau.

RECHERCHE DE LA BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE DANS LES MILIEUX EXTÉRIEURS.

Employer la technique imaginée autrefois par Pasteur pour mettre la bactéridie charbonneuse en évidence dans la terre des « champs maudits » et l'isoler en culture pure.

Broyer dans un mortier une petite quantité de terre ; la mettre en suspension dans de l'eau stérile ; quand la terre s'est déposée, décanter et verser dans un verre à pied le liquide surnageant, qui contient encore des particules très fines. Celles-ci se déposent d'elles-mêmes. Décanter le liquide et aspirer le dépôt dans des pipettes stériles, que l'on scelle au chalumeau.

Pour éliminer les microbes non sporulés, chauffer ces pipetttes au bain-marie à 85° pendant quinze à vingt minutes. Puis ense-

mencer en boîtes de Petri *aérobies* où l'on a préalablement coulé de la gélatine. Porter à l'étuve à 20° et examiner les colonies; ensemencer celles qui paraissent suspectes, et les identifier par la culture et les inoculations.

La recherche dans la *vase* s'effectue d'une façon sensiblement analogue. Dans l'*eau*, elle est plus simple : elle ne comporte que l'ensemencement direct sur plaques de gélatine.

IMMUNITÉ. — VACCINATION.

Nous avons vu que certaines races ou espèces animales sont plus ou moins sensibles à l'infection charbonneuse; certaines sont réfractaires.

Il est fort probable que, chez l'homme, une atteinte de charbon confère l'immunité. Enfin Pasteur avait remarqué que les bovidés ayant résisté à l'infection charbonneuse supportaient sans dommage des inoculations de produits virulents; il avait conclu de cette observation que l'inoculation des cultures atténuées pourrait préserver l'animal des atteintes spontanées. De là la méthode des vaccinations pastoriennes.

Vaccination pastorienne. — La vaccination anticharbonneuse s'effectue à l'aide des cultures atténuées et dont la virulence minima a été fixée comme il a été indiqué plus haut (p. 372).

Toutefois, pour que l'immunité conférée soit solide, il faut que les phénomènes provoqués par l'inoculation de virus soient suffisamment intenses. Or, un virus trop actif, bien que atténué, peut provoquer l'infection charbonneuse. Aussi convient-il d'injecter tout d'abord un vaccin très faible, puis, une semaine après, un vaccin plus énergique, que l'animal supportera sans inconvénients.

Technique de la vaccination. — On commence par inoculer à l'animal, sous la peau, du *premier vaccin* (1/4 de centimètre cube pour la vache, 1/8 de centimètre cube pour le mouton). Ce premier vaccin est une culture charbonneuse dont la virulence est assez atténuée pour qu'elle soit inactive vis-à-vis du lapin et du cobaye et ne tue que la souris.

Douze jours après, on inocule le *deuxième vaccin*, dont la virulence est moins atténuée, et qui, épargnant le lapin, tue la souris et le cobaye.

Preuves de son efficacité. — Pasteur, Chamberland et Roux, en 1884, ont prouvé les premiers l'efficacité de la méthode. A Pouilly-le-Fort, 25 moutons furent vaccinés en deux séances à douze jours d'intervalle, suivant le procédé décrit; quatorze jours après la deuxième vaccination, tous furent soumis, ainsi que 25 témoins, à l'inoculation d'un virus fort, non atténué. Deux jours après,

les 25 témoins avaient succombé, les 25 vaccinés résistèrent.

Depuis cette époque, la méthode pastorienne est entrée dans la pratique courante.

L'immunité est habituellement conférée quatorze à quinze jours après la deuxième vaccination ; sa durée est variable suivant les individus. D'après Chamberland, au bout d'un an, 60 p. 100 des vaccinés sont encore immunisés. Aussi, en pratique, dans les régions d'endémie charbonneuse, la vaccination des troupeaux doit-elle être renouvelée chaque année.

Symptômes et accidents dus à la vaccination. — En règle générale, la vaccination n'est suivie d'aucun trouble local ou général. Parfois cependant, chez le mouton, la vache, le cheval, au point d'inoculation, un léger œdème se forme suivi d'engorgement ganglionnaire. Ces phénomènes rétrocèdent en quelques jours sans laisser d'autre trace qu'un léger noyau induré.

Des accidents mortels peuvent cependant se produire dans 0,25 ou 0,50 p. 100 des cas. Ils s'observent chez les animaux jeunes ou déjà affaiblis par une affection étrangère ou une mauvaise alimentation. D'après Bigoteau, il se peut que ces accidents survienennt chez des sujets en état d'infection latente. Enfin un certain nombre de ces décès doivent être attribués à une contamination accidentelle, se produisant avant que l'animal n'ait acquis l'immunité.

Vaccination par la toxine charbonneuse. — Avant que Pasteur ait effectué ses premiers essais par les virus vivants atténués, Toussaint avait tenté de conférer l'immunité en injectant du sang charbonneux défibriné, chauffé pendant dix minutes à 55° ; il injectait ainsi, en réalité, des bactéridies tuées. Ce procédé ne donnait de résultat positif que si le virus avait conservé une partie de son activité.

Plus tard, Hankin essaya, mais en vain, de vacciner les animaux avec la toxine obtenue par son procédé.

Marmier, par contre, a pu immuniser des animaux de laboratoire en leur inoculant à doses répétées sa toxine préparée dans un milieu de peptone glycérinée. Mais l'immunité obtenue ne dure pas plus de cinq à six semaines après la dernière inoculation.

Vaccination par sérum-virus. — Cette méthode, imaginée par Sobernheim, consiste à injecter simultanément à l'animal, sous la peau d'un des flancs, une culture atténuée, et sous la peau de l'autre flanc ou dans la veine 10 centimètres cubes de sérum anticharbonneux. Une telle vaccination unique conférerait une immunité plus solide et plus durable que les vaccinations pastoriennes. En Amérique du Sud, l'auteur a vacciné ainsi 200000 bovidés; le déchet observé n'a atteint que 0,1 p. 1 000.

SÉROTHÉRAPIE.

Plusieurs auteurs ont préparé un sérum anticharbonneux en inoculant à l'animal des doses progressivement croissantes de cultures de bactéridie charbonneuse.

Préparation du sérum. — ***Sérum de Marchoux.*** — Marchoux a immunisé des lapins et des moutons. Les moutons sont tout d'abord inoculés avec le vaccin anticharbonneux, puis ils reçoivent chaque semaine par la voie cutanée des doses de cultures de plus en plus considérables, pouvant atteindre 200 et 300 centimètres cubes en une seule injection. La saignée destinée à recueillir le sérum est effectuée quinze à vingt jours après la dernière inoculation.

Ce sérum ne présente aucun pouvoir bactéricide ou antitoxique. Par contre, il est doué de propriétés préventives et curatives.

Injecté sous la peau d'un lapin de 2 kilogrammes, à la dose de 1 centimètre cube, vingt-quatre heures avant $0^{cc},25$ de culture, dose sûrement mortelle, il empêche l'infection de se produire. Quand l'injection de cultures est faite dans le péritoine, la dose de sérum capable de protection doit être élevée à 15 centimètres cubes. Si l'injection est intraveineuse, 20 centimètres cubes de sérum ne font qu'assurer une survie de trois jours sur le témoin.

Quand les injections de sérum et de virus sont simultanées, Marchoux n'a observé que 7 guérisons sur 24 animaux en expérience. Les animaux qui succombent présentent néanmoins une survie légère sur les témoins.

Enfin, quand le sérum (6 centimètres cubes) intervient quatre heures après l'injection de virus, la survie peut être obtenue.

Sérum de Sclavo. — Par le même procédé, Sclavo a immunisé des moutons et des ânes.

Le sérum de mouton à la dose de 2 centimètres cubes préserve le lapin contre la dose mortelle de culture. Mêmes propriétés pour le sérum d'âne.

Sérum de San Felice. — San Felice vaccine des chiens fournissant un sérum agissant préventivement contre l'infection charbonneuse du lapin, mais inefficace chez le cobaye. Il est curatif pour le lapin ; injecté à la dose de 7 centimètres cubes par kilogramme d'animal, quarante heures après l'inoculation du virus, il arrête les progrès de l'infection.

Mode d'action. — On ignore encore comment agit le sérum anticharbonneux. Il est dénué de toute propriété bactéricide et antitoxique. Le pouvoir agglutinatif est minime ; seul le pouvoir sensibilisateur a pu être mis en évidence (Bordet, Eller, Boidin).

Applications thérapeutiques. — L'application de la sérothérapie curative a été faite chez les grands animaux et chez l'homme.

Chez les grands animaux, l'injection de 50, 100, 150 centimètres cubes sous la peau, répétée plusieurs jours de suite, semble amener la rétrocession de la lésion locale, et la température s'abaisse.

Chez l'homme, des doses de 30 à 40 centimètres cubes injectées

journellement ont amené, dans un certain nombre d'atteintes, une amélioration notable. D'après le petit nombre d'observations que l'on possède, le sérum semble limiter la lésion locale et améliorer l'état général; il est juste d'ajouter que la gravité de la pustule maligne humaine est peu accusée. Il paraît peu efficace dans les cas d'œdème malin.

En réalité, les atteintes traitées par le sérum sont en nombre trop insuffisant et de caractère trop disparate pour qu'on puisse juger de son efficacité réelle.

CHAPITRE XXVIII

BACILLE DIPHTÉRIQUE

En 1883, Klebs démontrait, dans les fausses membranes diphtériques, l'existence d'un bâtonnet spécial auquel il attribuait un caractère spécifique dans l'étiologie de la diphtérie. Un an plus tard,

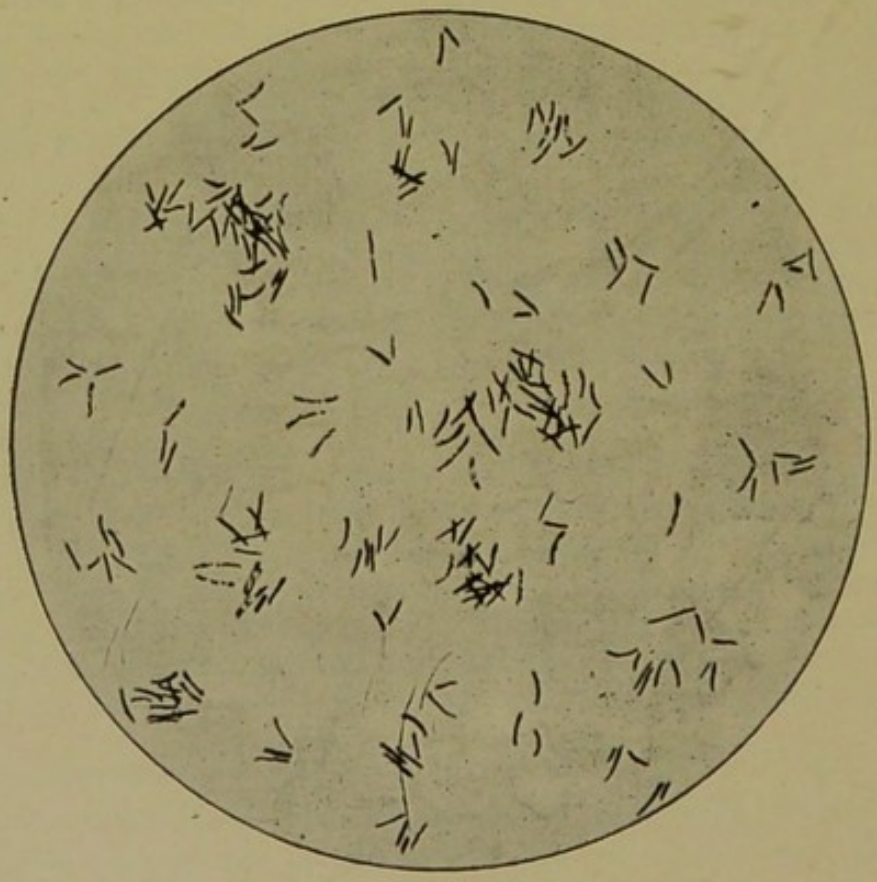


Fig. 185. — Bacille de Löffler long.

Löffler cultiva ce germe, l'isola sur des milieux spéciaux. Ce microbe devint plus tard l'objet de recherches nombreuses, parmi lesquelles il faut citer celles de Roux et Yersin, qui, après avoir confirmé les faits avancés par leurs prédécesseurs, démontrèrent définitivement la spécificité du Bacille de Klebs-Löffler, en reproduisant expérimentalement la diphtérie à l'aide des cultures de ce microbe, en provo-

quant chez les animaux des paralysies analogues à celle qu'on observe en clinique humaine; ils étudièrent sa toxine; tous ces beaux travaux furent le point de départ de la sérothérapie antidiphtérique, qui, à l'heure actuelle, a sauvé tant de vies humaines.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le Bacille diphtérique est un bâtonnet immobile, dont les dimensions sont assez variables suivant les échantillons isolés.

Dans les fausses membranes dont ils occupent la zone superficielle,

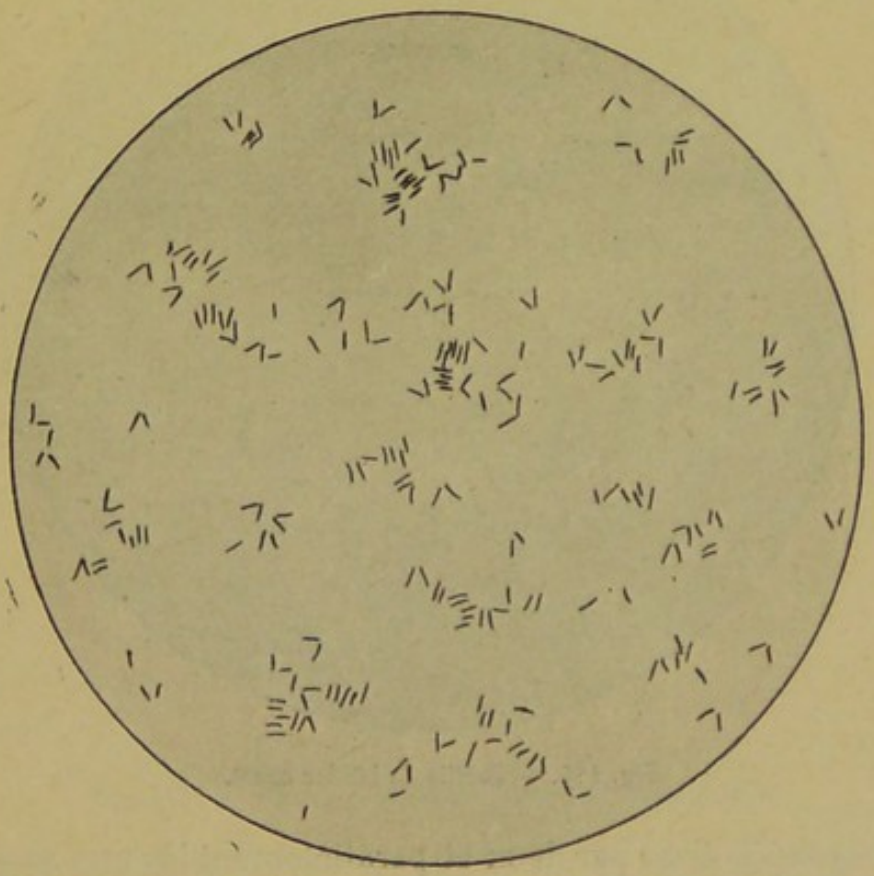


Fig. 186. — Bacille de Löffler moyen.

on les trouve souvent groupés en amas, où ils semblent former une culture sur place; ils figurent assez fréquemment de véritables buissons. Ils prennent la forme de bâtonnets droits ou incurvés, à extrémités arrondies, dont l'une est parfois renflée en massue, lui donnant aussi l'aspect d'un cornichon ou d'une haltère.

Dans les cultures jeunes, ils se montrent sous un aspect à peu près identique, plus régulier cependant, mais présentant, mieux que dans les fausses membranes, des dimensions différentes:

Le plus souvent leur forme est *longue* (*variété longue*) : ils mesurent

4 à 5 μ. Ils sont habituellement groupés en *amas broussailleux* plus ou moins abondants, ou en *paquets d'épingles* (fig. 185).

En d'autres cas, ils mesurent 3 à 4 μ (*variété moyenne*) : ils sont alors groupés en palissade, ou en carrés de damier : ou bien ils sont disposés deux à deux, bout à bout, ou encore disposés obliquement pour former un V ou un accent circonflexe (fig. 186).

Dans la *variété courte*, ils mesurent 2 μ de long sur 0 μ,8 de large et présentent une forme coccobacillaire (fig. 187). Là encore, ils sont

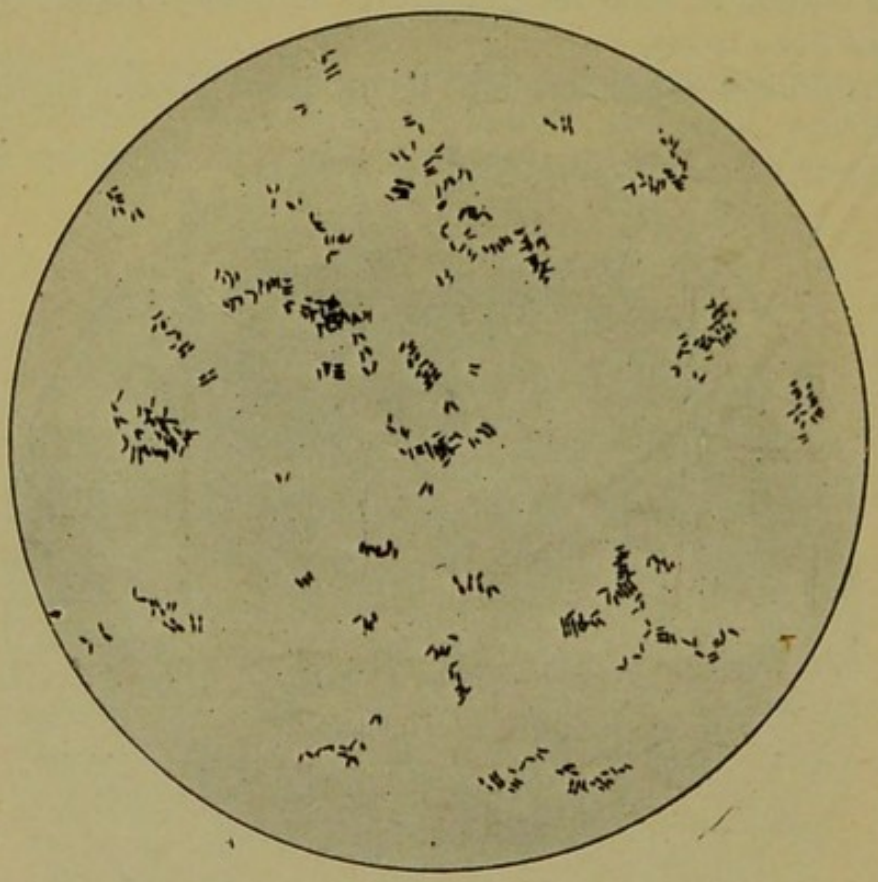


Fig. 187. — Bacille de Löffler court.

souvent associés deux par deux et parallèlement les uns aux autres.

Dans les vieilles cultures on observe fréquemment des formes d'involution (fig. 188) : Bacilles piriformes, en massues, en haltères, parfois ramifiés. Ces aspects peuvent se rencontrer aussi dans certaines fausses membranes.

Coloration. — Le Bacille de Löffler se colore aisément par les couleurs basiques d'aniline : il prend bien la fuchsine de Ziehl, le bleu de Roux, le bleu de Löffler, le violet de gentiane. *Il prend le Gram*, mais, si l'action de l'alcool absolu est trop prolongée, il finit par se décolorer. C'est un détail de technique qu'il convient de ne pas oublier.

Après coloration, on remarque souvent dans le corps du Bacille

l'existence de vacuoles claires qui lui donnent parfois un *aspect granuleux*.

Le Bacille de Löffler ne contient pas de spores.

Enfin certains procédés de coloration permettent de mettre en évidence, aux extrémités de ce germe, des granulations signalées en 1885 par Babès : ce sont les *corpuscules métachromatiques* (fig. 189), appelés encore *corpuscules polaires* en raison du siège qu'ils occupent. Diverses méthodes peuvent les faire déceler :

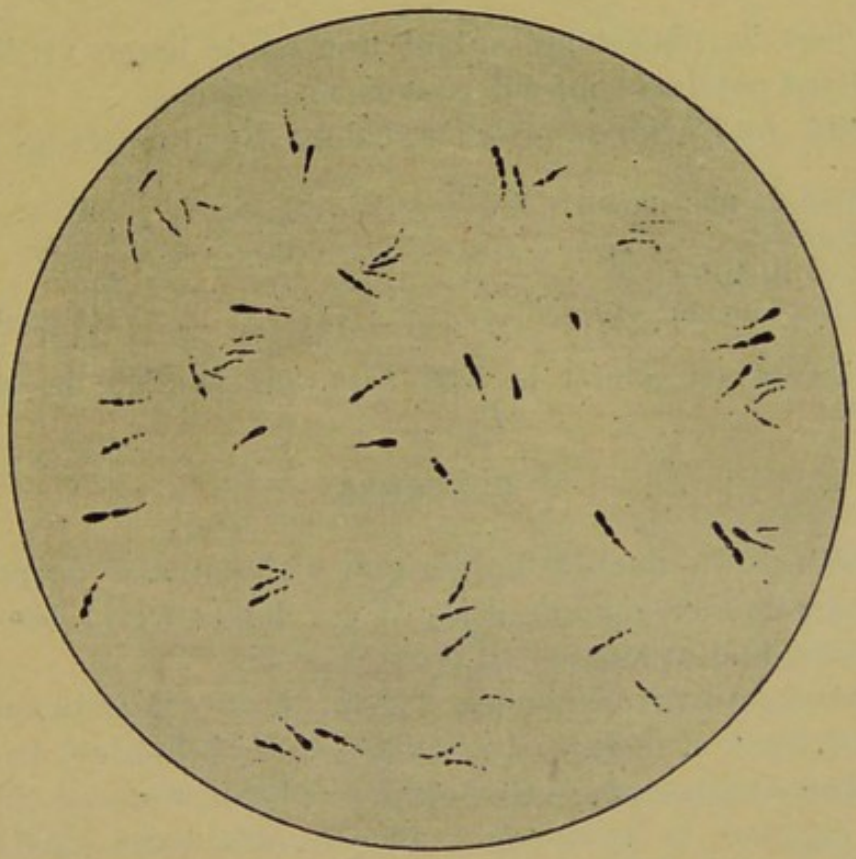


Fig. 188. — Formes d'involution dans une culture âgée.

Procédé de Neisser. — On émulsionne dans une goutte d'eau versée sur une lame une parcelle d'une colonie âgée de vingt-quatre heures, provenant d'une culture sur sérum. On fait agir pendant quelques secondes une solution de 1 gramme de bleu de méthylène dans 20 centimètres cubes d'alcool à 90°, le tout additionné de 950 centimètres cubes d'eau distillée et de 50 centimètres cubes d'acide acétique glacial. Laver à l'eau, puis colorer pendant trois à cinq secondes dans une solution de 2 grammes de vésuvine dans 1 litre d'eau distillée bouillante. Laver de nouveau à l'eau.

Ainsi traitée, la préparation montre des Bacilles de Löffler teintés en brun, portant aux extrémités des grains colorés en bleu noir.

Dans un procédé nouveau, Neisser colore avec le mélange suivant :

Solution A (2 parties).	Poudre de bleu de méthylène	1
	Alcool	20
	Eau distillée	1000
	Acide acétique glacial	50
Solution B.	Krystal-violet de Höchst	1
	Alcool	11
	Eau distillée	300

On colore pendant une seconde, on lave, et on fait agir pendant trois secondes une solution de chrysoïdine à 1 p. 300 préparée à chaud et filtrée.

Les corps bacillaires présentent une teinte jaune verdâtre ; les granulations polaires sont colorées en violet foncé.

Procédé de Falière. — Falière colore avec le mélange suivant :

Bleu de méthylène	1
Borax	0,5
Eau distillée	100
Alcool absolu	VIII gouttes.

Laver à l'eau, et colorer le fond avec une solution de vésuvine à 1 p. 1000.

CULTURES.

Les cultures du Bacille diphtérique s'obtiennent de préférence en présence de l'oxygène de l'air ; il est donc surtout aérobie. En anaérobiose, le développement est très grêle.

Ce germe commence à pousser à partir de 20°, mais jusqu'à 30° la culture est lente et maigre. La température optima est de 35 à 37°.

Bouillon ordinaire. — En bouillon de bœuf, et mieux en bouillon de veau peptoné, le Bacille de Löffler trouble assez rapidement le milieu. En même temps de petits grumeaux blancs apparaissent sur les parois du vase, et à la surface se développe un voile mince, fragile, blanchâtre. Au fond du tube se dépose une masse blanchâtre, visqueuse ; le liquide s'éclaircit au fur et à mesure.

Pendant les premiers jours, après l'alcalinité initiale, le milieu devient acide, pour redevenir alcalin si, en employant un matras de Fernbach, on installe en permanence un courant d'air pendant le séjour à l'étuve (Voy. p. 401).

En bouillon additionné de glycérine ou de sucre, l'acidité apparaît plus rapidement et persiste longtemps ; elle nuit au développement de la culture et à sa vitalité.

Bouillon Martin. — Mêmes caractères, mais développement plus abondant. De plus l'acidité ne se produit pas ; enfin la vitalité et la virulence du Bacille persistent plus longtemps.

Gélatine. — Cultures minimes. Le long de la piqûre, des colonies blanchâtres, punctiformes, sont perceptibles. Pas de liquéfaction.

Gélose ordinaire. — Colonies se présentant sous forme de taches blanches, un peu plus épaisses au centre qu'à la périphérie ; elles se développent en trente à quarante-huit heures.

D'après Michel, la culture est plus abondante en *gélose glycérinée* ; de même aussi en *gélose à la pomme de terre.*

Sérum coagulé (milieu de choix). — Après seize à dix-huit

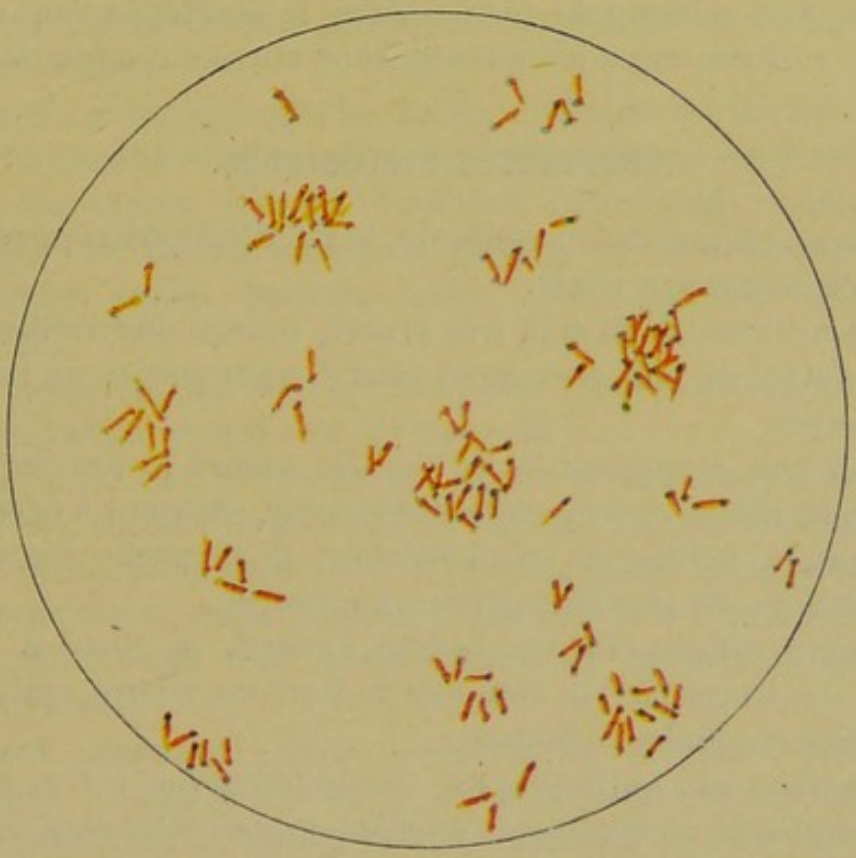


Fig. 189. — Corpuscules métachromatiques de Neisser.

heures de séjour à l'étuve à 37°, les colonies apparaissent sous la forme de petites taches rondes, blanc grisâtre, grosses comme une tête d'épingle, dont le centre est plus sombre que la périphérie. Vues à un faible grossissement, la colonie est finement granuleuse ; ses bords sont onduleux et légèrement translucides. Dans la suite, elles conservent le même aspect, mais atteignent 4 à 5 millimètres de diamètre au bout de cinq à huit jours.

En strie, les colonies deviennent rapidement confluentes et figurent une glaire grisâtre dont les bords sont irrégulièrement découpés.

Sur *sérum peptoné de Löffler* (3 parties de sérum de veau, 1 partie

de macération de viande de veau peptonée et sucrée à 1 p. 100, salée à 0,5 p. 100), la culture est plus abondante.

Albumine d'œuf coagulé. — Si l'on n'a pas de sérum à sa disposition, l'albumine d'œuf coagulée par la chaleur peut rendre des services. Après vingt à vingt-quatre heures d'étuve, les colonies développées sont rondes, un peu saillantes, moins blanches que le milieu sur lequel elles reposent; au bout d'une semaine, elles prennent une coloration brunâtre ou jaune rougeâtre.

Pomme de terre. — Sur pomme de terre alcaline, culture peu apparente. Sur pomme de terre acide, le développement est nul.

Lait. — Culture assez abondante, sans aucune coagulation.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — D'une façon générale, le Bacille diphtérique présente une grande résistance vitale.

Dans les cultures, il est déjà très vivace, puisqu'une vieille culture en sérum datant de plusieurs mois peut donner encore un ensemencement positif.

Il résiste peu cependant à la chaleur quand il provient d'une culture en bouillon : quelques minutes à 55° suffisent à le détruire. Mais, quand la culture a été desséchée, il supporte volontiers la température de 95° pendant plusieurs minutes.

La lumière diffuse, d'après Ledoux-Lebard, se montre presque inactive : il n'en est pas de même de la lumière solaire, qui a raison de sa vitalité en quelques heures.

Très sensible aux antiseptiques (acide phénique à 1 p. 100), qui tuent les cultures en quelques secondes, quand elles sont humides, le Bacille de Löffler est beaucoup plus résistant si la même culture a été préalablement desséchée : ainsi Chantemesse et Widal, en expérimentant sur des fils de soie trempés dans les cultures, puis desséchés à l'étuve, et plongés dans les divers antiseptiques, ont vu qu'il résistait au moins trois minutes à l'action des produits suivants : acide phénique à 1 p. 100, sulfate de cuivre et sulfate de zinc à 0,5 p. 100; biiodure de mercure à 0,5 p. 100, eau salolée, acide salicylique en solution alcoolique à 5 p. 100, etc.

Dans les fausses membranes, surtout soumises à la dessiccation, la résistance est encore beaucoup plus considérable :

D'après Roux et Yersin, des fausses membranes desséchées, mises à l'obscurité, peuvent donner des cultures positives après plusieurs mois. D'ailleurs Park, Wright ont constaté sa longue vitalité sur les vêtements d'infirmiers, Abel sur des jouets d'enfants ayant eu la

diphtérie. Les poussières des locaux infectés peuvent le conserver à l'état vivant pendant plusieurs mois.

Toutefois, si la fausse membrane a été exposée à la lumière, la vitalité est moins considérable : Roux et Yersin ont montré que, dans ces conditions, le Bacille ne résistait que quatre à six semaines.

Virulence. — La virulence du Bacille de Löffler est extrêmement variable. Dans une culture provenant d'un cas de diphtérie, certaines colonies sont très virulentes, d'autres beaucoup moins. C'est en général dans les atteintes graves qu'on trouve le plus de colonies virulentes; inversement, dans les cas bénins, ces dernières sont rares.

L. Martin a montré que les formes longues du Bacille de Löffler étaient habituellement les plus virulentes, et que les formes courtes étaient les moins actives. Toutefois cette règle comporte des exceptions : tel Bacille long peut en effet être avirulent, alors que des Bacilles courts peuvent avoir une virulence très accusée (L. Martin).

Cette propriété du Bacille de Löffler est sujette à des variations suivant les influences qu'on lui fait subir.

En général, elle s'atténue au fur et à mesure que les cultures vieillissent, surtout quand ces dernières subissent l'action d'un courant d'air. La dessiccation à l'air, la lumière agissent dans le même sens. Ainsi, dans une fausse membrane desséchée, les bacilles gardent longtemps leur vitalité, mais ils deviennent de moins en moins virulents.

On peut cependant faire récupérer la virulence à un bacille « atténué » : Roux et Yersin y ont réussi en cultivant en présence d'un Streptocoque un Bacille de Löffler ne provoquant chez le cobaye qu'un léger œdème au point d'inoculation. Injecté après cette symbiose, il tuait l'animal avec tous les symptômes de la diphtérie expérimentale.

Il est vrai que Roux et Yersin n'ont pu reproduire ces faits avec des bacilles devenus ou étant naturellement avirulents. Pour que l'expérience puisse réussir, il faut que le germe donne au moins, en injection sous-cutanée, de l'œdème au point d'inoculation.

L'exaltation de la virulence peut encore réussir en inoculant des bacilles peu actifs, mélangés à une petite quantité de toxine diphtérique (Trump). Bardach l'a obtenue chez le chien après vingt-cinq passages dans l'organisme de cet animal ; L. Martin chez le lapin, après des passages en série en sacs de collodion.

Réactions biochimiques. — ***Formation d'acides.*** — En bouillon, on l'u vu plus haut, le Bacille de Löffler engendre des produits

acides. On suppose que l'acidité est due à la formation d'acide lactique, né aux dépens des hydrates de carbone contenus dans le milieu. Elle dure tant que l'air ne se renouvelle pas. Si l'air se renouvelle, elle est remplacée par une réaction alcaline, liée à la production d'ammoniaque, se combinant à des produits entrant dans la constitution du milieu, et formant du phosphate ammoniaco-magnésien.

Certains auteurs, dans un but de différenciation du Bacille diphtérique et du Bacille pseudo-diphtérique (Voy. p. 404), ont dosé cette acidité à l'aide de la solution normale de soude et de la phénolphtaléine. En ensemençant $5^{cc},3$ de bouillon, le Bacille de Löffler développerait en vingt-quatre heures, d'après Lehmann, une acidité correspondant à $0^{cc},7$ d'une solution normale de soude à 1 p. 40 ; en quarante-huit heures, elle s'élèverait à $1^{cc},5$, ou $2^{cc},5$. Martin a montré que la production d'acide ou d'alcali est fonction de la composition du milieu.

Action fermentative sur les sucres. — D'après Graham-Smith, le Bacille diphtérique fait fermenter les sucres suivants : glucose, galactose, lévulose, souven la maltose, la dextrine, la glycérine, parfois la saccharose, mais jamais la mannite.

Les résultats de Knapp, Zinsser ne sont pas conformes à ceux de Graham-Smith en ce qui concerne la mannite et la saccharose.

Milieu de Thiel. — Pour Thiel, la seule fermentation constante serait celle de la glucose avec le milieu suivant :

Peptone Nutrose Glucose	aa	1 gramme.
Sel de cuisine		$0^{gr},05$
Tournesol de Kahlbaum		5 grammes.
Eau		100 —

On ensemence ce milieu avec du Bacille diphtérique légèrement alcalin ; si la fermentation se produit, le tournesol rougit, la nutrose précipite, parfois le milieu coagule ultérieurement.

Milieu de Rothe. — Rothe a imaginé un procédé qui permet de mettre en évidence, d'une façon constante, la fermentation de la *glucose* et de la *lévulose*.

On prépare du bouillon-sérum (4 parties de sérum de bœuf et 1 partie de bouillon neutre). On mélange 90 parties avec 10 parties d'une solution de tournesol de Kahlbaum contenant 1 p. 10 de sucre à éprouver, et préalablement stérilisée. Ce milieu, réparti en tubes ou en boîtes de Petri, est coagulé par la chaleur, comme le sérum de bœuf simple.

Avec ce milieu, le Bacille diphtérique fait virer au rouge les tubes ou boîtes ensemencés, contenant glucose et lévulose. La réaction est *constante* et *persistante*.

Réactions vis-à-vis du sérum antidiphtérique. — ***Agglutination.*** — Nicolas, en 1897, a montré que le Bacille de Löffler pouvait être agglutiné par le sérum antidiphtérique. Il se servait, dans ce but, non de cultures en bouillon où les microbes s'agglutinent spontanément, mais de cultures rendues homogènes.

D'après L. Martin, Prévot et Loiseau, l'agglutination peut s'observer avec le sérum d'un cheval vacciné à l'aide d'une toxine provenant de cultures ayant longtemps séjourné à l'étuve, et où ont macéré des corps microbiens. Elle ne se produit pas quand la vaccination a été faite avec une culture très jeune.

L'agglutination est très nette avec le sérum des animaux immunisés avec les cultures microbiennes. Elle s'effectue par le procédé macroscopique.

On recueille avec une spatule la culture qui a poussé en boîtes triangulaires sur gélose à la pomme de terre (soit 50 centigrammes par boîte). Dans un mortier on opère un broyage et on l'émulsionne dans l'eau physiologique, de façon que l'émulsion contienne 2 milligrammes de corps microbiens par centimètre cube. Cette émulsion est stable et ne montre aucun dépôt après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve.

On verse dans chaque tube 1 centimètre cube de l'émulsion, puis 1 centimètre cube d'une série de dilutions de sérum. On met à l'étuve à 37°, et on observe après seize à dix-huit heures.

D'après certains auteurs, le Bacille de Löffler seul subirait l'agglutination : les Bacilles pseudo-diphtériques ne seraient pas agglutinables par le sérum spécifique. Lesieur a montré que certains de ces derniers se comportent comme le Bacille diphtérique.

Enfin le Bacille de Löffler n'est pas agglutinable par le sérum des malades.

Sensibilisatrice spécifique. — Mis en contact avec le sérum préparé par des injections de toxine, le Bacille de Löffler ne fixe pas le complément ; ce sérum ne contient donc pas de sensibilisatrice spécifique pour les microbes.

Avec du sérum antimicrobien, au contraire, Lambotte a vu la fixation du complément s'opérer.

Les recherches restent négatives avec le sérum des malades.

Avec les Bacilles pseudo-diphtériques, la réaction n'est pas constante ; les résultats de l'épreuve restent donc incertains.

HABITAT. — PERSISTANCE. — ASSOCIATIONS SECONDAIRES.

Son siège dans l'organisme. — Le Bacille de Löffler siège dans les fausses membranes diphtériques, qui prennent naissance au niveau des muqueuses ou même de la peau. Il y pullule seul, ou en symbiose avec des germes associés (fig. 190). Là, il élabore un poison, une toxine, qui diffuse dans l'organisme et produit les accidents toxiques connus de la diphtérie.

Il peut cependant se rencontrer en dehors des fausses membranes : on le décèle dans certaines angines d'apparence banale, non recouvertes de l'exsudat diphtérique ; de plus, au cours d'une diphtérie nasale, il peut siéger sur la muqueuse pharyngée ; au cours de la diphtérie de la gorge et du larynx, dans le mucus bronchique, sans donner lieu à des formations pseudo-membraneuses ; de même on l'a décrit dans des foyers de bronchopneumonie, associé à des germes vulgaires, le streptocoque notamment.

Plusieurs auteurs l'ont vu se généraliser et envahir la circulation, voire même certains viscères. Barbier et Ulmann, etc., l'ont observé dans les coupes de bulbe, mais ne serait-ce pas à la faveur d'une pullulation microbienne *post mortem*?

Sa persistance. — Dans la diphtérie, le Bacille de Löffler persiste tant que dure la lésion ; le plus souvent même, il lui survit ; les *convalescents* peuvent ainsi conserver le Bacille spécifique dans la gorge ou les fosses nasales pendant un temps assez long. Si parfois il disparaît en huit à dix jours, en d'autres cas il persiste plusieurs mois.

Porteurs de germes. — Bien plus, Roux et Yersin on montré que des *sujets sains* peuvent l'héberger sans ressentir, du fait de sa présence, le moindre trouble. Ces *porteurs de germes* se rencontrent dans la proportion de 1, 5, 10 p. 100 ; leur proportion est assurément plus élevée dans l'entourage des malades diphtériques. C'est une notion des plus importantes à retenir au point de vue épidémiologique et prophylactique, car ces sujets peuvent servir à la propagation de l'infection.

Associations secondaires. — Le Bacille de Löffler est rarement à l'état de pureté dans les fausses membranes. A la surface de celles-ci on décèle toujours quelques microbes, des cocci pour la plupart, provenant de la flore microbienne ambiante. Le plus souvent, ils restent inoffensifs et ne compliquent pas le processus diphtérique. En certains cas cependant, ils pullulent abondamment, et leur action pathogène vient s'ajouter à celle du Bacille de Löffler,

dont ils renforcent même la virulence. Il s'agit alors d'une véritable *association microbienne*.

Parmi les microbes associés, le *Streptocoque* est le plus redoutable; il contribue à déterminer chez certains sujets le tableau connu de la *strepto-diphtérie*, dont le pronostic est habituellement jugé comme très grave.

Signalons encore l'association secondaire avec le *staphylocoque* doré, parfois grave, avec le *Pneumocoque*, rare mais sérieuse, le

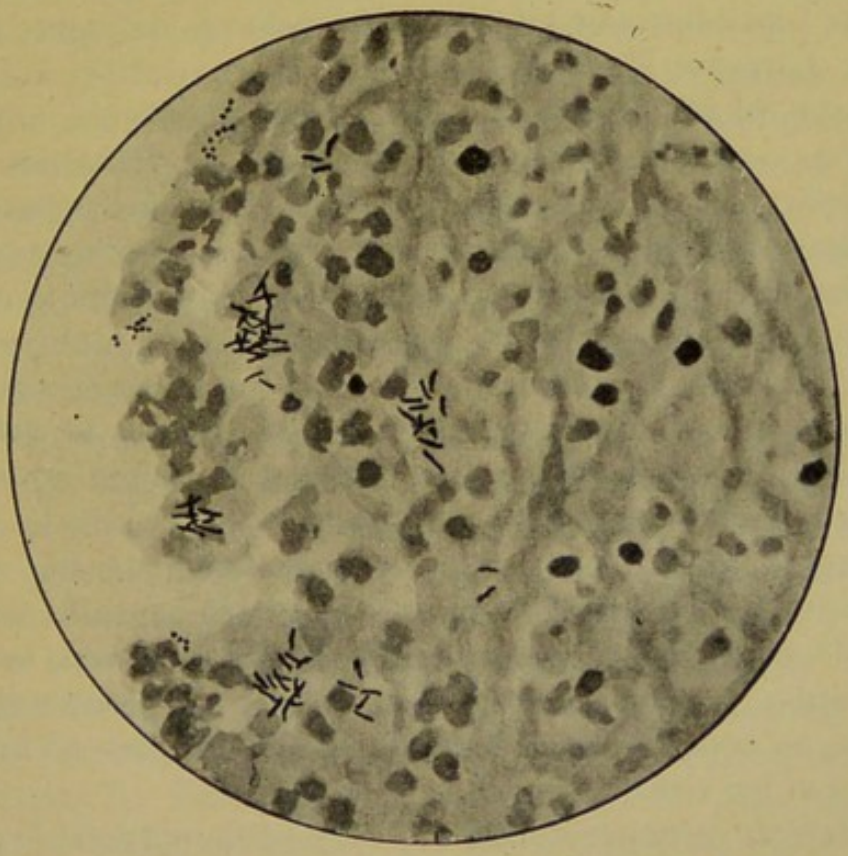


Fig. 190. — Coupe de fausse membrane diphtérique. Buissons de Bacilles de Löffler et à la surface cocci associés.

coccus Brisou, petit coccus décrit par Roux et Martin dans des cas bénins, le *Pneumobacille*, le *Colibacille*, etc., voire même des *anaérobies* (Kossel), expliquant certaines complications gangreneuses.

Le Bacille diphtérique chez les animaux. — Dans certains milieux ruraux, on a signalé des atteintes diphtériques chez des animaux de basse-cour. D'après les derniers travaux, la *diphtérie aviaire* ne serait pas une ; plusieurs germes seraient capables de la provoquer. Néanmoins, en plusieurs circonstances, il semble bien que le Bacille de Löffler ait été en cause chez des volailles qui se seraient contaminées dans des fermes au conctact d'enfants diphtériques. Le germe spécifique a été ainsi décrit dans les fausses membranes qu'elles présentaient.

Klein, d'autre part, a observé chez les bovidés des lésions diphtériques des trayons de vaches laitières, propagées sans doute par des sujets diphtériques, mais pouvant aussi transmettre la contagion à l'homme par le lait, ou le contact direct.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

On peut provoquer la toxi-infection diphtérique expérimentale par injection de cultures de Bacille de Löffler, à plusieurs sortes d'animaux : les plus sensibles sont le cobaye, le lapin, le chien, le pigeon. Le rat et la souris sont réfractaires.

Le cobaye est assurément l'animal de choix.

Cobaye. — *Inoculation sous-cutanée.* — Injection sous la peau du cobaye de $0^{cc},5$ à 1 centimètre cube de culture de Bacille diphtérique âgée de vingt-quatre heures. Au point d'inoculation se produit rapidement de l'œdème où les Bacilles pullulent; en même temps, la température s'élève, le poil se hérisse ; on observe de la dyspnée, et l'animal succombe en vingt-quatre à soixante-douze heures suivant la dose employée et la virulence du germe.

A l'autopsie, on constate tout d'abord l'œdème sous-cutané, mais ne contenant plus qu'un petit nombre de germes. Les viscères sont congestionnés; le poumon est parfois splénisé; retenons l'hyperémie particulièrement intense dont les capsules surrénales sont le siège; les ganglions sont hypertrophiés; enfin les plèvres sont envahies par un épanchement séreux ou séro-sanguinolent abondant, ne contenant pas de Bacilles. Ces derniers n'envahissent ni le sang ni les viscères.

Inoculation intrapéritonéale. — L'inoculation dans le péritoine est moins sévère que sous la peau ; elle n'amène la mort qu'en quatre à dix ou même douze jours. A l'autopsie, on note l'existence d'un épanchement péritonéal contenant des Bacilles spécifiques; les lésions viscérales sont les mêmes qu'après l'injection sous-cutanée. Le Bacille ne se généralise pas.

Inoculation au niveau des muqueuses. — L'attouchement simple d'une muqueuse saine à l'aide d'une culture de Bacilles de Löffler n'est suivi d'aucun effet. Pour réaliser la diphtérie expérimentale, l'attouchement doit être précédé d'un traumatisme ; dans ce but, il suffit d'excorier légèrement la muqueuse, ou de provoquer une brûlure superficielle à l'aide d'un agitateur chauffé à la flamme. Si l'on dépose immédiatement après une parcelle de culture sur la petite plaie, on assiste à la production de fausses membranes analogues à celles de la diphtérie humaine.

Il est facile de les reproduire sur toutes les muqueuses : muqueuse buccale, conjonctivale, vulvaire, etc.

L'inoculation sur la *muqueuse trachéale* est particulièrement intéressante. On trachéotomise un cobaye, on excorie la surface de la muqueuse, et on dépose sur cette dernière de la culture ; des fausses membranes se développent, réalisant un véritable croup expérimental avec ses accès de suffocation, de la dyspnée, de l'asphyxie, aboutissant en trois à quatre jours à la mort.

Lapin. — Cet animal est plus résistant que le cobaye ; il faut des doses assez élevées pour entraîner la mort ; sinon, au point d'inoculation, se forme une escarre qui finit par s'éliminer.

Injection sous-cutanée. — L'injection sous-cutanée de 2 à 4 centimètres cubes détermine la mort en quatre à cinq jours. Au point d'inoculation l'œdème est très marqué ; les ganglions régionaux sont congestionnés ; il en est de même de l'épiploon et du mésentère ; le foie est jaunâtre, mou, flasque, atteint de dégénérescence graisseuse ; les poumons sont rarement hyperémiés ; l'épanchement pleural est exceptionnel.

Inoculation à la surface de la peau de l'oreille. — Après application d'un vésicatoire, cette inoculation donne des fausses membranes cutanée caractéristiques ; si l'on a soin d'éviter la dessiccation, on enferme l'oreille dans un petit sac imperméable.

Injection dans le péritoine. — Elle donne des lésions viscérales semblables à celles que provoque l'injection sous la peau.

Injection intraveineuse. — L'injection intraveineuse de 1 à 2 centimètres cubes le tue en moins de soixante heures, sans qu'on puisse déceler de Bacille dans la circulation. En plus des lésions précédentes, signalons l'existence d'une néphrite aiguë.

Inoculation sur les muqueuses. — Elle donne les mêmes résultats que chez le cobaye.

Chien. — L'inoculation sous-cutanée tue le chien en quatre à cinq jours (Roux et Yersin) : elle provoque de l'œdème au point inoculé, de l'ictère et une paralysie progressive.

Roux et Yersin ont observé les mêmes troubles à la suite de l'injection intratrachéale, mais la muqueuse de la trachée était indemne de fausses membranes.

Oiseaux. — L'injection sous-cutanée ou intramusculaire de 1 centimètre cube de culture en bouillon chez la poule ou le pigeon amène la mort en moins de soixante heures. Au point d'inoculation siège un enduit grisâtre accompagné d'œdème. Les viscères sont congestionnés. Avec un cinquième de centimètre cube, ils résistent souvent, mais présentent parfois des paralysies.

Plus sensibles encore sont les petits oiseaux : les moineaux, calfats, etc. Des bacilles peu virulents pour le cobaye les font succomber rapidement par injection sous-cutanée (Simonin et Benoît).

TOXINE DIPHTÉRIQUE.

Le Bacille de Löffler ne se rencontrant qu'au niveau des fausses membranes, on a pensé que les phénomènes généraux devaient relever d'un poison élaboré par le germe cantonné dans la lésion locale. L'existence de ce poison peut, en effet, être mise en évidence dans les cultures (Roux et Yersin).

Mode de préparation. — L'obtention d'une toxine active est sujette aux conditions essentielles suivantes :

1° *Conditions relevant du bacille.* — Tous les Bacilles diphtériques ne sont pas aptes à fournir une toxine active. Il faut choisir un bacille très virulent, la virulence de ce germe marchant en général de pair avec son pouvoir toxigène. Un bacille dont 1 centimètre cube de culture en bouillon tue un cobaye de 400 grammes en vingt-quatre ou trente-six heures en injection sous-cutanée est favorable à la production de la toxine.

2° *Conditions relevant du milieu de culture.* — On sait que le bouillon légèrement alcalin, ensemencé avec du Bacille diphtérique, devient acide pendant les premiers jours; en même temps la culture cesse ; il redevient alcalin dans la suite, et la culture devient florissante et donne un voile. Or, tant que le milieu est acide, la toxicité est peu marquée; elle augmente au contraire et atteint son maximum quand la réaction devient alcaline.

Tous les bactériologues ont donc cherché à diminuer ou même à supprimer cette période nocive d'acidité :

Park et Williams ont proposé d'utiliser un bouillon neutre, alcalinisé ensuite par 7 centimètres cubes de soude normale par litre.

Spronck, pensant que l'acidité était due à la présence de matières hydrocarbonées, prépara du bouillon avec de la viande fermentée, où ces produits avaient été transformés.

Nicolle utilisa au contraire la viande très fraîche pour éviter la transformation du glycogène en glycose.

D'autres procédés sont plus favorables pour éviter l'acidité : ce sont ceux de Roux et Yersin, puis celui récemment imaginé par L. Martin.

Procédé de Roux et Yersin (fig. 191). — Roux et Yersin ont réussi à diminuer la durée de la période d'alcalinité, en soumettant la surface de la culture à l'action constante d'un courant d'air.

Dans un ballon de Fernbach, on verse 400 à 500 centimètres cubes de bouillon de veau, répartis ainsi sur une épaisseur de 2 à 3 centimètres ; les deux tubulures sont bouchées à la ouate, et l'appareil est stérilisé à l'autoclave. On pratique l'ensemencement par la tubulure supérieure.

Au bout de vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37°, le milieu est trouble. Il s'agit alors de faire passer le courant d'air. Pour cela, on adapte à la tubulure supérieure, au-dessus de la ouate, un bouchon de caoutchouc armé d'un tube de verre qui rejoint un barboteur, contenant de l'eau pour éviter l'évaporation lors du courant d'air. Pour assurer la production de ce dernier, on relie la tubulure latérale à une trompe à eau ; l'air passe alors en permanence à la surface du milieu.

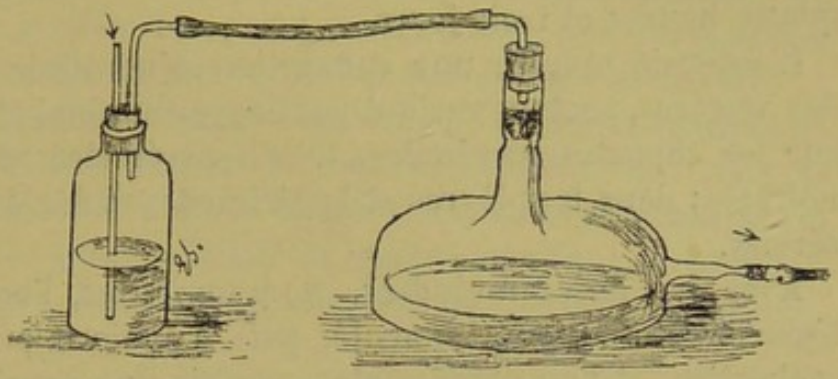


Fig. 191. — Dispositif pour préparation de la toxine diphtérique (procédé Roux et Yersin).

Après trois semaines environ, la culture est très toxique ; la filtrer sur bougie Chamberland ; le filtrat constitue la toxine diphtérique ; un dixième de centimètre cube, inoculé sous la peau d'un cobaye de 300 à 400 grammes, le tue rapidement.

Procédé de L. Martin. — L. Martin utilise un milieu qui supprime entièrement la période d'acidité ; il a l'avantage de fournir rapidement une toxine très active : c'est le *bouillon de veau additionné de peptone Martin* (Voy. p. 117).

Après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37°, un voile se forme à la surface ; il s'accuse et s'épaissit le deuxième jour ; le troisième, il tombe au fond du vase ; les jours suivants un nouveau voile se forme qui tombe vers le sixième jour. C'est habituellement le huitième jour que l'activité de la toxine atteint son maximum ; après ce délai, elle ne s'accroît plus ; elle diminue vers la fin de la deuxième semaine.

Il suffit ensuite de filtrer comme précédemment ; la toxine ainsi obtenue tue le cobaye à la dose de 1 p. 200 de centimètre cube.

Effets expérimentaux de la toxine. — Injectée aux animaux sensibles à l'infection diphtérique, la toxine du Bacille de Löffler reproduit les mêmes effets que les cultures vivantes. Le cobaye, ici encore, est l'animal de choix pour cette étude.

Cobaye. — L'injection sous-cutanée d'une dose minime de toxine 1/4, 1/10 à 1/100 de centimètre cube), variable suivant le germe

utilisé et le procédé de préparation, provoque tout d'abord de l'œdème au point d'inoculation ; puis, au bout de douze à vingt-quatre heures, son poil se hérisse ; l'animal est prostré et dyspnéique. Il succombe, suivant la dose employée, entre vingt-quatre heures et trois jours.

L'autopsie montre une congestion généralisée des ganglions et des viscères, portant surtout sur l'appareil rénal et particulièrement sur les capsules surrénales, très hyperémiées et gorgées de sang noirâtre ; dans les plèvres et le péricarde, on décèle un épanchement séreux.

Avec des doses moindres, non mortelles, l'animal présente un léger œdème au point inoculé, puis il maigrit progressivement, se cachectise, et l'on observe alors parfois une *paralysie* du train postérieur.

Lapin. — Le lapin qui a reçu sous la peau ou dans les veines 1 à 4 centimètres cubes de toxine présente des phénomènes identiques. Si la dose utilisée n'est pas mortelle, les paralysies sont plus fréquentes que chez le cobaye.

L'autopsie montre les mêmes lésions. Molard et Regaud ont attiré l'attention sur la fréquence des lésions myocardiques, se traduisant par la nécrose des fibres musculaires. Notons en passant le rapprochement qui doit être fait avec la myocardite diphtérique humaine.

Sur le lapin, Roger et Bayeux, Coppez, Morax et Elmassian ont reproduit, sans traumatisme préalable, de véritables fausses membranes par la seule application de toxine à la surface des muqueuses.

Autres animaux. — Le *chien*, qui a reçu 1 centimètre cube de toxine sous la peau, succombe rapidement après avoir présenté de l'ictère et de la diarrhée. L'autopsie montre de la dégénérescence hépatique associée aux autres lésions viscérales classiques. Avec des doses faibles, on observe des paralysies.

Les *ruminants* (vache, chèvre, mouton, âne) sont assez sensibles au poison diphtérique. Le cheval semble un peu plus résistant.

Les *oiseaux* (poule, pigeon, moineaux, calfats) sont d'une extrême sensibilité. Ils succombent rapidement à l'inoculation d'une dose infinitésimale.

Le *rat* et la *souris* sont presque réfractaires, et cependant Roux et Borrel ont montré que l'injection intracérébrale d'un dixième de centimètre cube de toxine tuait rapidement le rat.

Propriétés de la toxine. — Les effets de la toxine diphtérique sont annihilés par un chauffage à 100° pendant vingt minutes. Soumise à la température de 70° pendant deux heures, elle reste de même inoffensive ; à 58° pendant le même temps, elle donne à peine un peu d'œdème chez le cobaye ; cet animal peut cependant

succomber à la longue après avoir présenté des paralysies.

La toxine est encore très sensible à l'action de certaines substances chimiques qui diminuent notablement son activité. Mélangée à de l'acide tartrique, de l'acide lactique, une dose mortelle de toxine ne produit plus que de l'œdème au point d'inoculation ; la neutralisation de l'acide par un alcalin lui fait récupérer son énergie première.

Les oxydants la modifient comme les acides : le permanganate de potasse, l'eau oxygénée, l'ozone la rendent inoffensive. L'iode, le trichlorure d'iode agissent dans le même sens; aussi ces substances ont-elles été utilisées pour affaiblir la toxine au début de la vaccination des animaux destinés à fournir du sérum antidiphtérique.

Cette toxine est précipitable enfin par certaines substances : 4 à 5 volumes d'alcool absolu ajoutés à 1 volume de toxine donnent un précipité abondant qui se dépose au fond du vase; le précipité contient la toxine.

De même l'addition de sulfhydrate d'ammoniaque à saturation détermine la formation d'un précipité jaunâtre qui surnage à la surface du liquide sous l'aspect d'une couche jaunâtre qu'il est facile de recueillir; le précipité desséché et lavé est toxique pour l'animal.

Il en est encore ainsi du chlorure de calcium ajouté goutte à goutte; à la faveur des phosphates contenus dans le liquide, il se forme un précipité de phosphate de chaux; on le recueille sur un filtre, on le lave; un grain de cette substance, introduit sous la peau d'un cobaye, donne de l'œdème, et l'animal meurt rapidement. Ce précipité est très toxique à l'état humide : il perd de son activité une fois desséché, mais la toxine qu'il retient est moins sensible à l'action destructive de la chaleur.

L'extrait sec de la toxine, obtenu par dessiccation dans le vide, est très toxique. Débarrassé de ses impuretés par la dialyse, cet extrait est doué d'une toxicité considérable.

Nature de la toxine. — De nombreuses opinions ont été émises sur la nature de la toxine diphtérique :

Pour Brieger et Frænkel, elle serait identifiable à une *toxalbumine* et serait un dérivé des albumines contenues dans le milieu de culture. Elle présenterait, d'après eux, les réactions classiques des substances albuminoïdes vraies. En raison de l'influence destructive de la pepsine et de la trypsine sur la toxine diphtérique, ils font de cette dernière une *nucléo-albumine*.

Roux et Yersin ont été frappés par le parallélisme étroit qui existe entre les propriétés générales de la toxine diphtérique et celles des *diastases*, avec lesquelles ils l'ont comparée. Pour eux, il s'agissait d'un *produit*

soluble sécrété par le Bacille diphtérique au cours de sa culture dans le milieu employé.

Ehrlich envisage la toxine diphtérique comme constituée par deux substances : l'une, la *toxine* proprement dite, l'autre la *toxone*, peu toxique. Toutes deux seraient neutralisables par l'antitoxine; mais, d'après Madsen, l'intoxication aiguë relèverait de la première, alors que la seconde serait responsable des troubles plus tardifs de l'intoxication, les escarres, les paralysies notamment.

Les *toxoïdes*, troisième groupe de substances, apparaîtraient au contact de l'oxygène dans les cultures vieilles ; elles seraient très peu toxiques.

Enfin on a attiré récemment l'attention sur un poison particulier qui serait retenu par les corps microbiens, l'*endotoxine*, à laquelle Rist est tenté d'attribuer la production des paralysies du voile du palais dans la diphtérie humaine. Cruveilhier l'a étudiée ; elle ne serait pas neutralisable par l'antitoxine diphtérique.

BACILLE DIPHTÉRIQUE ET BACILLES PSEUDO-DIPHTÉRIQUES.

A côté du Bacille diphtérique, d'autres germes ont été décrits, sur la nature desquels de multiples opinions ont été émises ; elles n'ont pas encore abouti, parmi les bactériologistes, à un accord parfait.

En 1887, Löffler avait signalé, dans les fausses membranes diphtériques, l'existence d'un bacille analogue au Bacille diphtérique, mais non virulent pour le cobaye. Il l'avait nommé Bacille pseudo-diphtérique. Plus tard, Hoffmann le retrouve dans des cas de diphtérie, mais aussi dans des angines scarlatineuses, rubéoliques et chez des sujets sains. Roux et Yersin l'observent dans les mêmes conditions ; ils le signalent 26 fois sur 59 sujets, examinés dans une localité du Calvados, où la diphtérie ne s'était pas montrée depuis longtemps. De nombreuses constatations semblables ont été faites; mais, pour apprécier la nature véritable de ces germes, les auteurs se séparent encore actuellement en deux camps opposés ; les uns sont dualistes, les autres unicistes.

Conception dualiste. — Les dualistes estiment que le Bacille pseudo-diphtérique diffère totalement du Bacille diphtérique ; ce serait un hôte banal de la cavité bucco-pharyngée; il se séparerait nettement du Bacille de Löffler par des caractères bien tranchés.

Caractères morphologiques et culturaux. — Le pseudo-diphtérique est un Bacille court, analogue à la forme courte du Bacille de Löffler; la disposition réciproque de ces éléments serait la même. Il se colore fortement et uniformément sans présenter l'état granuleux du Bacille diphtérique.

On a signalé que le seul Bacille diphtérique présenterait les granulations polaires de Neisser; le pseudo-diphtérique en serait dépourvu.

Les cultures sur sérum coagulé seraient plus blanches, plus humides. Sur gélose, la culture serait plus rapide et plus abondante. Sur gélatine, d'après Zarniko, Escherich, etc., il pousserait bien à la température de la chambre, alors que le vrai diphtérique ne donne de maigres colonies qu'à partir de 23°.

Le pseudo-diphtérique ne formerait jamais d'acide dans le bouillon. Ensemencé en milieu sucré, il ne ferait pas fermenter les milieux glucosés, lévulosés, saccharosés.

Virulence. — Le caractère capital qui permettrait de différencier ces deux germes résiderait dans l'absence totale de virulence du pseudo-diphtérique pour les animaux de laboratoire.

A la dose de 4 à 5 centimètres cubes, une culture en bouillon injectée sous la peau serait totalement dénuée d'activité pour le cobaye. Toutefois, parmi les dualistes les plus convaincus, Spronck signale parfois la production d'un œdème léger au point d'inoculation, disparaissant en vingt-quatre à quarante-huit heures ; une dose de 1 à 3 centimètres cubes de la culture du même germe entraîne de l'inappétence, de l'amaigrissement, mais l'animal se rétablit. Enfin, d'après lui, le sérum antidiphtérique n'aurait sur cette lésion locale aucune action préventive.

Tels sont les arguments que les dualistes font valoir en faveur de leur conception. Pour eux donc, le Bacille pseudo-diphtérique, dit de Hoffmann, serait totalement différent du Bacille diphtérique de Löffler; il ne serait qu'un saprophyte banal de la cavité bucco-pharyngée et serait incapable de provoquer la diphtérie.

Conception uniciste. — Roux et Yersin, L. Martin, Lesieur, etc., admettent au contraire l'identité de ces deux germes : le pseudo-diphtérique ne serait qu'un Bacille de Löffler atténué. Les partisans de cette théorie s'appuient sur les faits suivants :

Pour eux, les différences morphologiques ne sont pas nettement tranchées; les dimensions du Bacille de Löffler sont très variables, et entre un vrai diphtérique court et le Bacille d'Hoffmann, aucune distinction ne peut être relevée.

L'existence ou l'absence de granulations n'est qu'une question de nuances à caractère bien contingent. Quant aux granulations polaires de Neisser, il est avéré actuellement que des échantillons dits pseudo-diphtériques peuvent les présenter comme le diphtérique légitime.

Les différences basées sur les fermentations sucrées sont assez variables; les dualistes eux-mêmes ne s'accordent pas à ce sujet, certains pseudo-diphtériques faisant parfois fermenter l'un ou l'autre des sucres étudiés.

La question de la virulence expérimentale est sujette à discussion : Si, d'une façon générale, le Bacille pseudo-diphtérique n'est pas virulent, en certains cas, on l'a vu, il provoque de l'œdème chez le cobaye. Or, certains Bacilles de Löffler, provenant de diphtéries légitimes, et recueillis à des périodes différentes de l'infection, montrent une atténuation progressive de leur virulence au fur et à mesure que la diphtérie évolue vers la guérison ; un Bacille diphtérique très virulent peut, au bout d'un certain temps, s'atténuer au point de ne plus provoquer que de l'œdème.

De plus, Roux et Yersin ont pu faire récupérer la virulence à un germe ne donnant que de l'œdème au cobaye, en l'associant au Streptocoque. Il est vrai qu'ils n'ont pu rendre virulent un microbe complètement inactif.

Une expérience de L. Martin semblerait démontrer que de tels microbes sont des Bacilles de Löffler dégénérés : dans une culture pure de Bacille diphtérique long et très virulent, abandonnée à l'étuve pendant huit mois, L. Martin n'a pu retrouver qu'un Bacille court ne donnant au cobaye que de l'œdème, mais tuant le moineau; le sérum antidiphtérique injecté préventivement préservait cet animal.

Roux et Yersin insistent d'ailleurs sur le peu d'importance qu'il faut accorder au caractère « virulence » dans cette séparation des germes. Entre les bacilles virulents et avirulents, il y a des bacilles à tous les degrés de virulence. « Où ferons-nous commencer le pseudo-diphtérique. Au bacille qui ne donne plus d'œdème au cobaye ou à celui qui le produit un peu ? »

Pour toutes ces raisons, Roux et Yersin admettent l'identité des deux germes comme très vraisemblable (1).

Conception mixte. — Pour d'autres auteurs, la dissociation précédente n'est peut-être pas l'expression exacte de la vérité. De Simoni, Veillon et Hallé, Barbier sont tentés d'admettre que le groupe des Bacilles dits « pseudo-diphtériques » n'est pas un.

Parmi les échantillons étiquetés comme tels, les uns ne seraient que des Bacilles de Löffler atténués, les autres en seraient différents et pourraient appartenir à des races variables.

RECHERCHE DU BACILLE DE LÖFFLER. — DIAGNOSTIC DE LA DIPHTÉRIE.

L'examen clinique ne renseigne pas toujours exactement sur la véritable nature d'un processus pseudo-membraneux; le secours

(1) Nous avons vu que les recherches sur l'agglutination et les sensibilisatrices contenues dans le sérum antidiphtérique n'ont pas éclairé la question.

du laboratoire est le plus souvent nécessaire. Il est à plus forte raison indispensable quand le Bacille de Löffler ne provoque qu'une inflammation d'apparence banale, sans production d'exsudat pseudo-membraneux.

Technique du prélèvement. — C'est au niveau de la *gorge* qu'on est appelé le plus souvent à prélever l'exsudat pseudo-membraneux : à l'aide d'un tampon d'ouate stérilisé, monté sur une tige métallique ou un agitateur de verre, on détache doucement, avec le moins de traumatisme possible, la fausse membrane à examiner. Si cette dernière est adhérente, on peut la recueillir à l'aide d'une pince, en faisant son possible pour éviter tout saignement de la muqueuse sous-jacente.

S'il n'existe pas d'exsudat, on frotte légèrement la surface de la muqueuse à l'aide du tampon d'ouate.

En cas de *rhinite* supposée diphtérique, se servir d'un écouvillon d'ouate monté sur fil métallique coudé ; on l'introduit derrière le voile du palais, et l'on frotte à l'aide du tampon la surface de la muqueuse rhino-pharyngée (Voy. *Méningocoque*, p. 323).

S'il s'agit de *croup*, recueillir simplement des fragments pseudo-membraneux expulsés par la toux ; s'il n'en existe pas, recueillir comme précédemment du mucus pharyngé (en cas de croup, même primitif, le bacille de Löffler existe souvent dans la gorge) ; se rappeler cependant que ce n'est pas la règle.

Pour une diphtérie de la *peau* ou des *muqueuses externes* (conjonctives, vulve, prépuce, etc.), la technique est la même.

Si l'examen ne peut être effectué sur place, expédier la fausse membrane au laboratoire le plus proche. L'envoi doit être fait dans un tube stérile, rigoureusement bouché pour éviter la dessiccation.

Examen microscopique direct. — Débarrasser tout d'abord la surface de la fausse membrane du mucus, de la salive et des impuretés qu'elle véhicule, en la comprimant entre deux feuilles de papier-filtre.

Faire ensuite des frottis en couche mince et uniforme. Laisser sécher, fixer et colorer.

Colorer une lame par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine diluée.

En cas de diphtérie, l'examen montre des bacilles prenant le Gram, légèrement incurvés, disposés souvent en broussailles (fig. 192), présentant en un mot l'aspect morphologique du Bacille de Löffler. Il est presque constant de constater, à côté de ce dernier, des cocci, bâtonnets, etc., dont l'examen ne doit pas être négligé en raison des associations secondaires qui aggravent souvent le pronostic.

Néanmoins la présence de bacilles dont la forme rappelle celle du Bacille de Löffler est insuffisante pour affirmer le diagnostic de diphtérie ; la mise en culture est indispensable pour bien les identifier.

Inversement l'absence de bacilles ressemblant au bacille diphtérique ne doit pas faire éliminer d'emblée le diagnostic de diphtérie. Ces germes présents dans la fausse membrane peuvent ne pas être abondants dans les frottis (faute de technique parfois), et être mélangés à une foule d'autres bactéries empêchant de les distinguer nettement. Ici encore, il est indispensable de recourir à la culture.

Mise en culture. — Les ensemencements se font sur les milieux électifs pour le Bacille de Löffler. Le sérum de cheval ou de bœuf coagulé présente ce grand avantage de convenir très bien au développement de ce germe, et beaucoup moins aux autres, dont les colonies apparaissent plus tardivement. Sur sérum peptoné de Löffler, au contraire, tous les germes poussent abondamment et se développent simultanément ; l'isolement devient alors plus malaisé.

A défaut de sérum, utiliser l'albumine d'œuf coagulée.

Les ensemencements s'effectuent à l'aide d'une spatule de platine, chargée d'une parcelle de la fausse membrane, ou, si le sujet ne présente pas de fausses membranes, à l'aide du tampon d'ouate qui a recueilli le mucus pharyngé. On ensemence ainsi en stries un premier tube de sérum, puis, sans recharger la spatule, un second, puis un troisième.

On porte à l'étuve à 37°. Les colonies sont bien développées après vingt-quatre heures, parfois après trente à quarante-huit heures seulement ; sur les deux premiers tubes, leur confluence empêche l'examen ; c'est habituellement sur le troisième qu'elles sont bien isolées et se prêtent à un examen rigoureux.

Les examiner d'abord macroscopiquement à l'œil nu et à la loupe pour bien déterminer leurs caractères. De celles qui paraissent suspectes, prélever une parcelle, qu'on dilue dans une goutte d'eau déposée sur une lame. Les colorer par la méthode de Gram, qui montrera, en cas de diphtérie, des bâtonnets présentant les caractères du Bacille de Löffler.

Pour poursuivre l'identification, prélever la parcelle restante de la colonie examinée, et l'ensemencer en bouillon et sur les milieux appropriés.

Interprétation des résultats. — L'isolement du Bacille de Löffler n'est pas difficile, mais l'interprétation que le bactériologiste doit donner de ses constatations est parfois malaisée.

Tout d'abord il ne suffit pas de déceler une ou deux colonies de Bacille de Löffler sur les tubes ensemencés pour se croire en droit de poser le diagnostic de diphtérie. On sait, en effet, que le Bacille diphtérique, même long et virulent, peut se rencontrer chez les sujets sains. La nature diphtérique de l'angine, de la rhinite, etc., ne

sera affirmée que si les colonies sont nombreuses. Toutefois, si les colonies sont rares, on pourra se méfier d'un ensemencement défectueux et recommencer l'opération.

Quand le germe isolé est un bacille appartenant à la forme courte, il est impossible, d'après les dualistes, de conclure, après les seules épreuves exposées plus haut, en faveur du Bacille de Löffler ou du pseudo-diphtérique. Il faut alors recourir aux épreuves d'inoculation au cobaye et des fermentations sucrées. Pour les

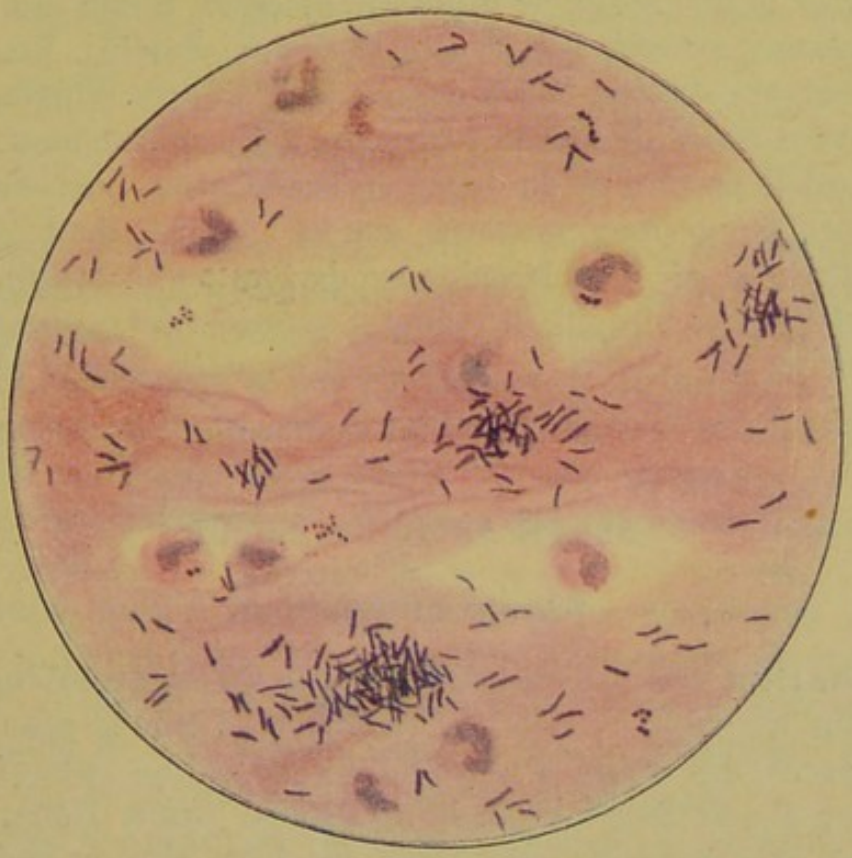


Fig. 192. — Frottis de fausse membrane diphtérique (coloration par le Gram composé). Buissons de Bacilles de Löffler, quelques cocci associés.

unicistes, point n'est besoin de compliquer la technique, puisque le Bacille pseudo-diphtérique est considéré par eux comme un diphtérique atténué, mais un diphtérique. En l'attente de nouveaux faits plus précis, concernant la différenciation de ces germes, il est prudent, à notre sens, de déclarer « diphtérie » toute atteinte où les ensemencements auront montré des colonies nombreuses de bacille à caractère diphtérique, quelles que soient leurs dimensions.

Recherche des germes d'association secondaire. — Le diagnostic de diphtérie doit souvent être complété par la re-

cherche des germes associés, dont quelques-uns, comme le Streptocoque, le Staphylocoque, aggravent le pronostic.

En principe, il conviendrait donc d'examiner et d'identifier les colonies qui ont poussé sur les tubes de culture ensemencés avec la fausse membrane. Mais les germes précédents sont des hôtes normaux de la cavité buccale et se trouvent souvent à la surface de la fausse membrane; ils peuvent donc pousser à côté du bacille de Löffler, même quand il ne s'agit pas de diphtérie « associée ».

En ce cas, il est vrai, les colonies qu'ils fournissent sont rares. Pour porter le diagnostic de diphtérie associée, il faut que les colonies de germes associés soient abondantes (L. Martin). Encore dans cette abondance existe-t-il des degrés, qui, d'après Widal et Bezançon, peuvent aussi bien tenir à un hasard du prélèvement.

Aussi est-il préférable de juger de l'association microbienne par l'abondance des germes constatés sur les frottis, dont l'examen direct renseigne sur la prédominance de l'un ou de l'autre.

Méry et Bonnus conseillent même d'examiner les coupes de fausse membrane où les germes véritablement associés siègent alors dans la profondeur et non à la surface.

SÉRUM ANTIDIPHTÉRIQUE.

Sérum antitoxique.

Vaccination des animaux. — Préparation du sérum. — La vaccination des animaux s'obtient en injectant sous la peau, à intervalles espacés, des doses d'abord faibles de toxine atténuée par le trichlorure d'iode (Behring) ou la liqueur de Gram (Roux, Nocard, L. Martin), puis de toxine pure, enfin des doses plus ou moins considérables.

Les animaux de laboratoire subissent difficilement l'accoutumance au poison diphtérique ; ils se cachectisent à la longue et succombent.

Les grands animaux (moutons, chèvres, âne, cheval) sont plus faciles à immuniser. Nous insisterons uniquement sur la vaccination du cheval, la plus intéressante au point de vue de la préparation du sérum.

On choisit un cheval jeune, de six à dix ans, sans tare organique ; on lui pratique sous la peau de l'encolure des injections successives de toxine, dans les conditions déterminées par le tableau devenu classique, indiqué par Roux et Nocard. Il s'agit d'un cheval ayant été injecté avec une toxine, dont 1/10 de centimètre cube tuait un cobaye de 400 à 500 grammes en quarante-huit heures. Au début, la toxine est mélangée avec 1/10 de liqueur de Gram ; plus tard, elle est injectée seule.

1er	jour.	1/4	cent. cube de toxine iodée.	Pas de réaction, ni locale ni générale.		
2e	—	1/2	—	—	—	—
4e, 6e, 8e	—	1/2	—	—	—	—
13e, 14e	—	1	—	—	Aucune réaction.	
17e	—	1/4	—	de toxine pure.	Léger œdème, pas de fièvre.	
22e	—	1	—	—	—	—
23e	—	2	cent. cubes.	—	—	—
25e	—	3	—	—	—	—
28e	—	5	—	—	—	—
30e, 32e, 36e	—	5	—	—	—	—
39e, 41e	—	10	—	—	—	—
43e, 46e, 48e, 50e	—	30	—	—	Œdème assez prononcé, dissipé en 24 heures.	
53e	—	60	—	—	—	—
57e, 63e, 65e, 67e	—	60	—	—	—	—
72e	—	90	—	—	—	—
80e	—	250	—	—	—	—

Le cheval s'immunise donc petit à petit contre des doses croissantes de toxine; il ne présente pas d'autre réaction qu'un œdème local transitoire. Il est vrai que, chez certains chevaux, cet œdème peut être dur, étendu et s'accompagner de température élevée.

Actuellement, on se sert, à l'Institut Pasteur, d'une toxine dont 1/100 de centimètre cube tue le cobaye en trente-six heures; la vaccination des chevaux doit alors être conduite beaucoup plus prudemment.

On peut encore employer un procédé utilisé en Amérique (W. Park). Le cheval est immunisé tout d'abord par un mélange de toxine et de sérum antitoxique. Dès la troisième injection, on vaccine à l'aide de toxine pure. Cette méthode donnerait plus rapidement que le procédé à l'iode un sérum très actif.

Dans l'un et l'autre cas, la saignée destinée à recueillir le sérum est pratiquée une dizaine de jours après la dernière inoculation; une saignée peut fournir 6 litres de sang, donnant 3 litres de sérum.

L'état d'immunisation des chevaux est entretenu dans la suite soit par des injections progressives de 25 à 150 centimètres cubes de toxine pratiquées tous les deux à trois jours, soit par deux seules injections de 300 centimètres cubes et, trois jours après, de 500 centimètres cubes; après quoi l'animal peut être de nouveau saigné au bout de vingt jours environ.

Propriétés du sérum. — Le sérum préparé par des injections progressives de toxine possède des propriétés agglutinantes assez restreintes, beaucoup moins marquées que celles du sérum antimicrobien; il n'est pas bactéricide et ne contient pas de sensiblisatrice pour le Bacille de Löffler. Par contre, il est *très antitoxique*.

A cet égard, il jouit d'un *pouvoir préventif* indiscutable vis-à-vis des effets nocifs de la *toxine* : On injecte à des cobayes du sérum antitoxique, puis une quantité de toxine qui fait sûrement périr l'animal de même poids en trente-six à quarante-huit heures. Alors que ce dernier succombe, les cobayes traités ne présentent aucun trouble et survivent.

Ce pouvoir préventif peut être mesuré, comme on le verra plus loin; il dépend du poids de l'animal, de l'activité de la toxine et du sérum utilisé.

Le *pouvoir thérapeutique* peut être mis en évidence de la façon suivante : à des cobayes de même poids, on inocule tout d'abord la toxine, puis, plusieurs heures après, le sérum. Ils résistent, alors que les témoins succombent.

Ces pouvoirs préventif et thérapeutique s'exercent aussi chez les cobayes inoculés avec les *cultures vivantes de bacille diphtérique.*

On injecte du sérum sous la peau d'un cobaye, puis on pratique une inoculation de cultures au niveau de la vulve ou de la trachée; la fausse membrane se développe néanmoins, mais tombe au bout de quarante-huit heures; l'animal ne présente aucun phénomène d'intoxication et survit.

Quand l'injection de sérum est pratiquée une fois que la fausse membrane s'est développée, la tuméfaction œdémateuse dont la muqueuse est le siège disparaît quelques heures après, et, au bout de quarante-huit heures, la fausse membrane se détache et tombe.

Cette action curative du sérum est beaucoup moins marquée quand au Bacille de Löffler on associe du Streptocoque.

Application à la thérapeutique humaine. — Le sérum antidiphtérique antitoxique est utilisé journellement en thérapeutique humaine. Personne n'ignore les résultats remarquables qu'il donne. La mortalité par diphtérie est beaucoup plus réduite que lors de la période antésérothérapique.

De plus, chez l'homme, le sérum jouit de propriétés préventives indéniables; injecté à des sujets qui sont en contact avec des diphtériques, il les préserve sûrement pendant une quinzaine de jours; pour que cette immunité passive soit plus durable, les injections doivent être renouvelées au bout de ce délai. Ces injections préventives sont employées journellement dans les salles d'enfants rougeoleux, qui, sans cette pratique, contractent fréquemment la diphtérie.

Essai du sérum. — Avant d'être livré à la consommation pour les besoins de la thérapeutique, il faut titrer le sérum. Divers procédés ont été conseillés.

Procédé de Behring. — Il titre le sérum d'après la quantité qui préserve 1 gramme de cobaye contre une dose mortelle de toxine, injectée douze heures après. Ainsi, quand 1 centimètre cube de sérum préserve 1 kilogramme de cobaye dans ces conditions, il serait actif au millième.

Procédé d'Ehrlich. — Ehrlich mesure les *unités antitoxiques*. L'unité antitoxique est la dose de sérum capable de protéger contre 100 doses mortelles de toxine, la dose mortelle étant égale à $0^{cc},1$. Si donc $0^{cc},01$ de sérum protège contre 100 doses mortelles de toxique, le sérum contient 100 unités antitoxiques par centimètre cube.

Procédé de Roux. — Pour Roux, l'unité antitoxique représente le rapport qui existe entre la quantité de sérum capable de préserver un cobaye inoculé douze heures après l'injection de sérum avec $0^{cc},5$ d'une culture virulente de Bacille diphtérique, et le poids de l'animal. Ainsi, quand $0^{cc},1$ de sérum protège un cobaye de 500 grammes, ce sérum est actif à 1/5 000.

C'est le procédé d'Ehrlich qui, actuellement, est employé dans tous les laboratoires.

Les propriétés du sérum ne s'acquièrent pas parallèlement : Martin, Momont et Loiseau ont montré qu'un sérum peut être très préventif et peu antitoxique ; la réciproque est vraie. Aussi pense-t-on en général que les méthodes de Roux et d'Ehrlich se complètent mutuellement et que chacune donne des indications utiles pour apprécier à sa juste valeur le sérum antidiphtérique.

Sérum antimicrobien.

Préparation. — L. Martin a obtenu un sérum antidiphtérique non plus antitoxique, mais antimicrobien, en injectant sous la peau, dans les veines, ou dans le péritoine du cheval, une émulsion de Bacilles de Löffler chauffée à 100° pendant une heure.

Propriétés du sérum. — Ce sérum est nettement agglutinant et possède une sensibilisatrice spécifique.

Applications thérapeutiques. — L. Martin utilise le sérum antimicrobien dans le traitement local de la diphtérie.

Les attouchements multiples des fausses membranes diphtériques restent inefficaces. Pour bien agir, le sérum doit rester en contact assez prolongé avec la lésion.

L. Martin a imaginé d'incorporer le sérum à de la gomme sous forme de pastilles que le malade garde dans la bouche et suce presque en permanence.

Sous l'influence de ce traitement, les fausses membranes se ramollissent et se détergent assez rapidement, mais il ne saurait lutter contre la toxine en circulation dans l'organisme.

On emploie de préférence les pastilles de Martin pour faire disparaître les Bacilles diphtériques, dont la persistance est parfois

longue après la chute des fausses membranes; le malade doit sucer une pastille par heure pendant le jour, soit environ douze pastilles par jour; le plus généralement, les Bacilles de Löffler disparaissent après trois jours, au plus cinq jours (L. Martin, Dopter).

L'inhalation de poudre de sérum pour faire disparaître le Bacille des fosses nasales peut être utilisée, à raison de huit à dix prises par jour; le Bacille diphtérique disparaît en moyenne en douze jours (Dopter).

CHAPITRE XXIX

BACILLE DE LA MORVE

Le Bacille spécifique de la morve a été découvert en 1881 par Bouchard, Capitan et Charrin, qui l'ont observé dans le pus d'un abcès provenant d'un cas de morve humaine, et ont reproduit

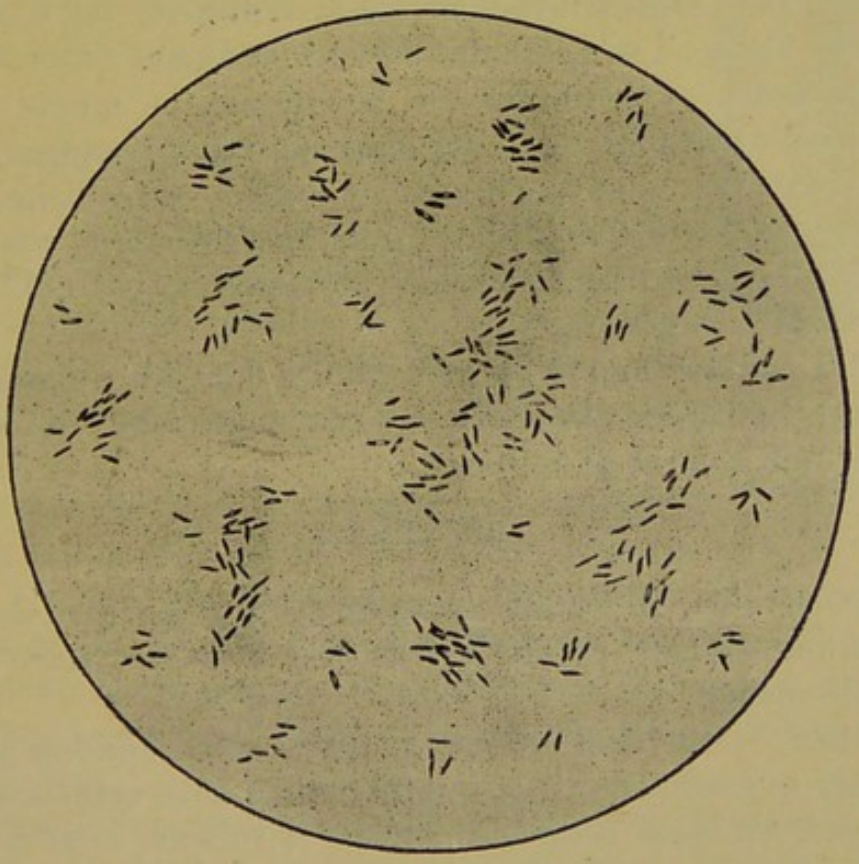


Fig. 193. — Bacille morveux provenant d'une culture sur pomme de terre.

l'infection expérimentale par inoculation de culture à l'âne et au cobaye. Du pus, du jetage de cheval morveux leur ont donné les mêmes résultats.

Peu après, Löffler et Schutz firent des constatations identiques, mais isolèrent le microbe en culture pure et définirent ses caractères.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le Bacille morveux est un bâtonnet droit ou légèrement courbé, à extrémités arrondies présentant les dimensions du Bacille de Koch, mais un peu plus épais (2 à 5 μ de long sur 1 μ à 1 μ, 5 de large) (fig. 193). Toutefois cet aspect peut se modifier suivant le milieu qui a servi à le cultiver et l'âge de la culture. En effet, s'il est cultivé en bouillon, le bâtonnet devient plus court et prend l'aspect d'un microcoque. Il en est de même sur les cultures âgées en pomme de terre. En d'autres cas, il se dispose avec ses congénères sous forme de chaînettes (streptobacilles).

Dans les vieilles cultures, on observe des formes d'involution sous l'aspect de longs filaments à extrémités renflées, ovoïdes, piriformes, etc.; elles peuvent même se ramifier.

Dans les tissus, il se présente souvent en amas.

Coloration. — L'affinité du Bacille de la morve pour les matières colorantes est peu marquée; aussi faut-il utiliser les solutions mordancées telles que le bleu de Löffler, la fuchsine de Ziehl; la thionine phéniquée, le bleu de toluidine. *Il ne prend pas le Gram.* Une fois coloré, ce germe présente des granulations qui tranchent sur les espaces incolores.

Dans les nodules morveux, perceptibles dans les coupes, sa coloration est malaisée. On peut employer cependant avec succès les procédés de Kühne et de Löffler.

CULTURES.

Germe aérobie, le Bacille morveux commence à se développer à 25°, la température optima est de 37°; à 45° la culture s'arrête; à 55°, elle meurt.

Bouillon. — En bouillon, et de préférence en bouillon glycériné, un trouble se produit en vingt-quatre heures, sans caractère spécial; à la longue, un léger voile se montre à la surface, avec un anneau sur les bords, puis un dépôt visqueux, blanchâtre, qui, par agitation du tube, monte en tourbillon jusqu'à la surface du liquide.

Gélatine. — Culture très grêle sur gélatine à 25° (12 ou 25 p. 100).

Gélose ordinaire. — Strié blanchâtre, semi-translucide, à bords minces, irisés, devenant opaque les jours suivants. Le pourtour est blanc grisâtre : le centre est jaunâtre et peut devenir brunâtre.

Gélose glycérinée. — Développement très abondant; en vingt-

quatre heures se forme une bande, blanc mat, à bords transparents.

Sérum coagulé. — Les colonies se montrent sous forme de gouttelettes légèrement jaunâtres, parfois brun fauve, demi-transparentes, de consistance visqueuse.

Pomme de terre. — Dès le deuxième jour, se montre une glaire mince, jaunâtre, transparente, devenant ambrée le lendemain; puis, après cinq à six jours, la culture devient opaque, visqueuse et se colore en brun rougeâtre (fig. 194). De plus, la zone environnant la culture devient verdâtre ou brunâtre. Cet aspect est constant et caractéristique.

Fig. 194. — Culture du Bacille morveux sur pomme de terre (cinquième jour).

Lait. — On observe la coagulation du lait vers le dixième ou douzième jour; elle se produit sous l'influence d'une présure et non d'un acide, car le milieu conserve une réaction neutre.

CARACTÈRES BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Virulence. — Le Bacille morveux n'offre qu'une résistance faible aux agents extérieurs. Dans les cultures, le temps de conservation est très restreint. Nicolle le conserve cependant assez longtemps en tubes scellés à la glacière.

Il est très sensible à la chaleur; il suffit d'un chauffage pendant cinq minutes à 55° pour le détruire. S'il est inclus dans le pus, il succombe en cinq minutes à la température de l'ébullition. Le pus morveux exposé pendant vingt-quatre heures à la lumière perd ses propriétés pathogènes. La dessiccation n'est favorable à sa conservation que s'il est inclus dans le sang ou le pus.

Les antiseptiques usuels le tuent en quelques minutes. Le crésol, le chlorure de chaux, le lait de chaux en ont rapidement raison.

Sur les cadavres, il résiste peu à la concurrence vitale créée par les bactéries de la putréfaction.

Les cultures récentes sont très virulentes, et leur manipulation est particulièrement dangereuse. Après un séjour d'une semaine à l'étuve à 37°, la virulence disparaît souvent. Enfin les passages par l'animal l'exaltent à un haut degré.

Pouvoir toxique. — Formation de la malléine. — Quand on injecte à un animal une culture de Bacille morveux virulent, tué

à 100°, il succombe rapidement. Par conséquent, en culture, ce germe fabrique des produits toxiques, qu'on a assimilés à une toxine; celle-ci peut encore être mise en évidence dans les filtrats de cultures entières. Ils sont en effet très toxiques pour les animaux réceptifs, chez lesquels ils produisent une cachexie progressive très rapide.

Les produits toxiques constituent ce que l'on nomme la *malléine*, étudiée par Helman et Kalming, puis Roux et Nocard.

Préparation de la malléine. — E. Roux ensemence en bouillon glycériné à 5 p. 100, dans des ballons très aérés, du Bacille morveux dont la virulence a été exaltée par plusieurs passages sur le lapin, en inoculation intraveineuse. Il est préférable d'ensemencer directement le sang du dernier lapin injecté. On porte à l'étuve à 37°, où la culture séjourne un mois. On la chauffe alors à 100° pendant une demi-heure; le liquide est alors concentré au bain-marie jusqu'au dixième de son volume; on filtre sur papier Chardin. Le filtrat obtenu est sirupeux et présente une teinte brun rouge. C'est la malléine brute.

On prépare de la malléine sèche, en l'additionnant de 20 à 30 fois son poids d'alcool absolu (Foth). Le précipité blanc qui se forme constitue la malléine sèche.

Babès prépare la malléine de la façon suivante. On cultive le Bacille morveux en pâte de pomme de terre glycérinée; après un séjour de cinq à six semaines à l'étuve à 37°, émulsionner dans l'eau, filtrer, précipiter par l'alcool à 95°. Après lavage à l'alcool et à l'éther, dessécher. On obtient une poudre dont l'activité dure plus de trois ans.

En Autriche, Snurer soumet les Bacilles virulents à l'action d'un mélange d'eau de Javel, d'ammoniaque et d'antiformine, qui les dissout. Neutraliser par l'acide sulfurique et précipiter par l'alcool absolu. Le précipité serait une malléine très toxique, mais moins active en réalité que celle de Roux.

Injection à l'animal. — La malléine brute, injectée au lapin à la dose de 1 centimètre cube, tue cet animal. Injectée dans le péritoine de cobayes sains, elle est inoffensive; mais, chez des cobayes morveux, elle amène la mort en quatre à cinq jours (Nicolle).

Si on l'emploie à très faible dose (dilution à 1 p. 10), l'injection sous-cutanée de trois quarts de centimètre cube n'est suivie, chez un *cheval normal* ou atteint d'une affection étrangère à la morve, d'aucun phénomène morbide. Si elle est pratiquée au contraire chez un *cheval atteint de morve avérée ou latente*, elle détermine des symptômes réactionnels : au point d'inoculation apparaît, quelques heures après, un œdème considérable avec engorgement lymphatique et ganglionnaire dans le territoire injecté; puis se produisent des frissons, de la fièvre (0°,5 à 3° au-dessus de la normale). Ces troubles, accompagnés de prostration marquée, durent deux à trois jours.

On verra plus loin le parti que Nocard a tiré de cette réaction pour le diagnostic de la morve.

Agglutination. — Bourges et Méry, Mac Fadyen, etc., ont montré que le Bacille morveux, agglutinable à 1 p. 100 par le sérum des chevaux sains, présentait cette réaction à des taux beaucoup plus élevés avec le sérum de chevaux morveux.

L'épreuve de l'agglutination s'effectue de la façon suivante : dans un mortier on broie des Bacilles morveux desséchés, recueillis sur pomme de terre où gélose glycérinée ; on les émulsionne dans l'eau physiologique de manière à obtenir une couche très homogène ; laisser reposer, verser dans les tubes le liquide décanté, et des dilutions décroissantes de sérum. Porter à l'étuve pendant vingt-quatre heures. La réaction doit être déclarée positive dans les tubes où le liquide s'est complètement éclairci.

Les sérums normaux donnent une agglutination qui n'excède pas 1 p. 300; celui des animaux morveux agglutine facilement à 1 p. 1 000, 1 p. 5 000 et même 1 p. 10 000.

On s'accorde à penser que cette réaction consiste beaucoup plus en une précipitation qu'en une agglutination véritable, cette dernière ne s'effectuant qu'avec des bactéries entières et intactes.

Précipitation. — Plusieurs auteurs ont prétendu que l'addition de sérum de cheval morveux à une dilution de malléine provoquait la formation d'un précipité spécifique, dont l'utilité pour le diagnostic serait incontestable (Wiesner). Des recherches ultérieures n'ont pu confirmer ces résultats, car le sérum de cheval normal peut être naturellement précipitant.

Fixation du complément. — Il en est de même de la fixation du complément, qui peut s'obtenir parfois avec des sérums normaux.

HABITAT ET MANIFESTATIONS PATHOLOGIQUES.

La morve s'observe surtout chez l'animal, et plus particulièrement sur les équidés, qui, en certains cas, peuvent la communiquer à l'homme.

Le Bacille morveux est responsable de toutes les manifestations pathologiques de l'infection morveuse; il provoque : 1° le *farcin*, aigu ou chronique, consistant en abcès cutanés ou boutons farcineux, s'ulcérant sous forme de chancres, en lymphangites, formant des cordons lymphatiques moniliformes allant jusqu'aux ganglions les plus proches qui s'hypertrophient (glandage); 2° la *morve* proprement dite, c'est-à-dire des lésions des fosses nasales, des poumons, puis de tous les viscères. En ce cas, il détermine, dans les parenchymes atteints, des nodules assez analogues à des tubercules

miliaires, translucides, mais à centre opaque et subissant comme eux la caséification.

Dans toutes ces lésions, qu'elles évoluent chez l'homme ou l'animal, se trouve en plus ou moins grande abondance le Bacille de la morve. Il siège dans le pus des ulcérations, des chancres, des boutons, des abcès, dans le jetage, les ganglions, enfin dans les nodules. Dans les ganglions et les lymphatiques, il se trouve en grand nombre. Il est rare dans le sang des animaux morveux, même chez l'âne, dont la morve prend une allure galopante ; au contraire, chez l'homme, on le rencontre assez fréquemment (Löffler, Sittmann). La sueur, la salive, l'urine, sont parfois virulentes ; on a signalé sa présence dans le suc musculaire ; cette éventualité, assez rare, expliquerait les cas d'infection morveuse contractée par ingestion.

Dans les viscères, foie et rate en particulier, il détermine de minuscules foyers blanchâtres, gros comme la pointe d'une aiguille.

INFECTION MORVEUSE EXPÉRIMENTALE.

Homme. — Plusieurs bactériologistes ont contracté la morve par inoculation accidentelle en maniant des cultures de Bacille morveux. Elle prend alors le caractère septicémique. L'homme est donc très réceptif au virus morveux. Quand elle est contractée par contact avec un animal, elle prend le type chronique.

Équidés. — Les solipèdes (âne, mulet, cheval) sont doués d'une grande réceptivité vis-à-vis de l'infection expérimentale ; l'âne est le plus réceptif.

Chez l'*âne*, il suffit de frictionner à l'aide d'un produit morveux quelques scarifications effectuées sur le front.

Tout d'abord, les plaies se referment, puis à leur niveau apparaît un gonflement puis un chancre ; la morve prend alors un caractère aigu, présentant beaucoup d'analogie avec une granulie. L'animal succombe en peu de jours. L'autopsie montre des boutons morveux développés sur la muqueuse nasale, le larynx et la trachée : au niveau des poumons et souvent des autres viscères, on perçoit comme des infarctus de teinte blanc sale, rappelant l'aspect d'une tumeur. La pression latérale de ces productions fait sourdre des gouttelettes caséeuses riches en Bacilles morveux (fig. 195).

Le *cheval* et le *mulet*, infectés d'une façon identique, présentent une forme subaiguë ou chronique.

Cobaye. — Le cobaye est un réactif très sensible à l'inoculation de produits morveux ou de cultures du Bacille spécifique. Il est

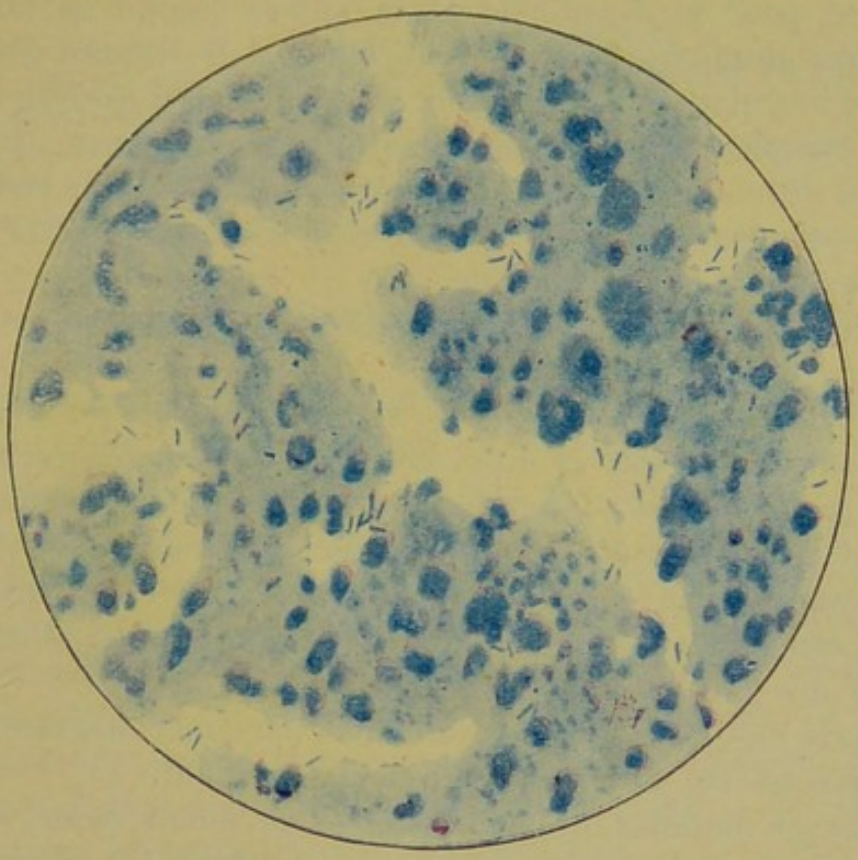


Fig. 195. — Bacilles morveux dans un nodule développé dans le poumon d'âne.

Fig. 196. — Frottis de pus de testicule morveux. — Bacilles morveux décolorés par le Gram.

très utilisé pour le diagnostic de la morve équine ou humaine.

Injection sous-cutanée. — L'injection sous-cutanée détermine au point d'inoculation la formation d'un abcès qui s'ouvre bientôt, suivi de lymphangite et d'adénite qui peut suppurer ; puis des nodules se développent dans la rate et le foie, des abcès se forment dans les testicules ; enfin, au bout de cinq à six semaines, l'animal, très amaigri, finit par succomber.

Injection cutanée. — L'inoculation par scarification donne lieu aux mêmes lésions.

Injection intrapéritonéale. — Si l'injection est pratiquée chez un mâle adulte, on voit évoluer, deux à trois jours après, un véritable *sarcocèle morveux* ; les testicules présentent un gonflement énorme et ne peuvent être refoulés dans l'abdomen ; le scrotum est tendu, luisant, rouge ; à son niveau un abcès s'ouvre, donnant issue à du pus chargé de Bacilles morveux (fig. 196). L'animal succombe en huit à dix jours.

L'autopsie montre la vaginale tuméfiée, parsemée de granulations, souvent recouverte d'un exsudat louche, purulent.

Les cobayes femelles, de même âge et de même poids, résistent à l'inoculation péritonéale. Il en est de même des cobayes très jeunes et des cobayes préalablement castrés. Ces derniers résistent à 100 doses mortelles.

D'après Straus, qui l'a fait connaître (*signe de Straus*), cette orchite morveuse expérimentale serait caractéristique et pourrait servir de pierre de touche pour le diagnostic. On a reconnu dans la suite que d'autres germes peuvent donner cette lésion : le Bacille pyocyanique, le *M. melitensis*, le *Sporotrichum Beurmanni*, etc.

Nocard a pu la déterminer avec un bacille tout différent, provenant d'une lymphangite ulcéreuse d'apparence farcineuse, observée chez le cheval. Le sarcocèle ne peut donc être considéré comme la signature du Bacille morveux.

Autres animaux. — Les *bovidés* sont réfractaires. Les *ovidés* (mouton, chèvre) contractent facilement la morve après l'inoculation sous-cutanée de produits virulents.

Certains carnassiers, le lion, le tigre, le léopard, contracteraient facilement la morve par ingestion de viande d'animaux morveux.

Le *chien* est peu sensible ; la morve se montre sous la forme de lésions cutanées qui guérissent spontanément. Seul le jeune chien présente une forme aiguë avec généralisation.

Le *chat* est facilement infectable : après un ulcère au point d'inoculation, l'infection se généralise.

Le *lapin* est assez réfractaire. Le chancre déterminé par inoculation cutanée guérit spontanément. Pour le tuer, il faut utiliser l'injection intraveineuse.

Le *porc*, les *rats* et *souris*, sont peu résistants.

Léo a montré que la souris devient réceptive quand on lui confère le diabète phlorizinique.

Enfin, contrairement à la souris domestique et à la souris blanche, le campagnol et le mulot sont réceptifs.

Les *oiseaux* sont totalement réfractaires.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA MORVE.

Recherche du Bacille morveux dans l'organisme. — ***Examen microscopique direct*** — Recueillir le pus, le jetage, etc., ou les sucs d'organes (ganglions, rate, etc.) ; en faire des frottis sur lame. Colorer par les solutions simples et par le Gram. On sait que le Bacille morveux ne prend pas le Gram. On peut utiliser des fragments d'organes prélevés à l'autopsie pour en faire des coupes.

En réalité, l'examen direct donne rarement des résultats suffisants. A côté des cas où les Bacilles sont abondants, il arrive fréquemment que ces derniers soient très rares et passent facilement inaperçus. Il faut donc, le plus souvent, recourir à la culture pour le mettre en évidence, l'isoler et l'identifier.

Cultures. — Ensemencer le produit suspect sur *pomme de terre*, qui constitue le milieu de choix. Pour obtenir des colonies isolées, il est bon d'ensemencer sans recharger l'öse, sur plusieurs pommes de terre. A côté d'impuretés, on verra se développer ainsi les colonies de Bacille morveux avec leur aspect et leur teinte caractéristiques.

Inoculation au cobaye mâle. — Straus recommandait, pour avoir un diagnostic rapide, d'inoculer directement le produit suspect dans la péritoine d'un cobaye mâle pour déterminer l'orchite morveuse. La pratique a montré qu'en pareil cas le Bacille spécifique est mêlé souvent à des germes d'impureté qui tuent l'animal par péritonite septique et masquent l'infection morveuse.

Pour éviter cet inconvénient, on conseille d'inoculer tout d'abord un cobaye sous la peau ; puis, quand les ganglions s'engorgent, on les prélève pour les introduire dans le péritoine d'un autre cobaye, qui présente ensuite les symptômes et les lésions habituels de la morve, avec le sarcocèle.

Rappelons que l'orchite n'est pas pathognomonique de l'infection morveuse. Sa constatation doit toujours être complétée par l'examen du pus.

Réactions à la malléine. — Le diagnostic de la morve, même latente, chez l'animal, par l'épreuve de la malléine, est entré dans la pratique courante.

Le cheval que l'ont veut malléiner est mis en observation pendant deux jours ; sa température est prise matin et soir.

Après cette période, on pratique une *injection sous-cutanée (sous-cuti-réaction)*, au niveau de l'encolure, de 2cc,5 de la dilution suivante : malléine brute, 1 partie ; acide phénique à 5 p. 100, 9 parties.

La température est prise trois fois en vingt-quatre heures. Rappelons que l'animal indemme de morve ne présente aucune réaction. S'il est atteint de morve, avérée ou latente, l'œdème local apparaît, et la température s'élève huit ou dix heures après, pour ne prendre fin que vers la cinquantième heure.

Quand l'animal est atteint de lésions trop accusées, la réaction ne se produit pas.

La méthode est inutilisable chez l'homme en raison de l'intensité de la réaction qu'elle provoque. Chez l'animal, son application, en permettant de faire des diagnostics précoces sur des animaux ne présentant encore ni jetage, ni aucune lésion apparente, a rendu les plus grands services au point de vue prophylactique.

Plusieurs auteurs ont tenté d'appliquer au diagnostic de la morve les procédés employés pour la tuberculose : *cuti-réaction*, *ophtalmo-réaction*. De l'avis de tous, Vallée entre autres, ces pratiques donnent des résultats inconstants, ne valant pas ceux que fournit la sous-cuti-réaction. L'ophtalmo-réaction, cependant, est devenue réglementaire en Autriche.

Sérodiagnostic. — L'agglutinabilité des cultures de Bacille morveux par le sérum des sujets atteints de morve pouvait faire songer à la possibilité d'établir un diagnostic par la séro-réaction. Le sérodiagnostic peut, en effet, donner des indications utiles. Mais, en raison des propriétés agglutinantes à 1 et même 3 p. 100 du sérum des animaux normaux, l'épreuve ne saurait être faite à un taux inférieur à 5 p. 100. Heanby, puis Courmont ont fait des observations identiques pour le sérum des hommes sains et atteints de morve.

IMMUNITÉ. — VACCINATION.

Les documents que l'on possède concernant l'immunité morveuse sont rares.

On s'accorde en général à penser qu'une atteinte de morve guérie ne confère pas l'immunité. Ainsi Galtier a pu inoculer cinq fois la morve chez un même chien, animal cependant assez résistant. Il est vrai que les symptômes furent de moins en moins intenses.

Straus cependant a vacciné un chien contre les effets de l'inoculation massive intraveineuse par inoculation de vieilles cultures sous la peau.

M. Nicolle a pu obtenir l'immunité chez le cobaye en le vaccinant de différentes manières; il a utilisé comme vaccin des Bacilles tués par l'alcool-éther, puis des microbes vivants à dose inoffensive; avec ces deux procédés, de nombreuses inoculations sont nécessaires; enfin il a obtenu l'immunité par une seule injection de microbes vivants à dose infectante, mais telle que l'animal en guérit. Ce dernier procédé est le plus efficace.

Les essais d'immunisation passive par injection de sérum de bovidés (réfractaires à la morve) sont restés sans résultat.

CHAPITRE XXX

BACILLE DU ROUGET DU PORC

Le rouget du porc est une infection qui se révèle par l'apparition de taches purpuriques siégeant sur les téguments, aux oreilles, dans la région anale et vulvaire, et au groin ; il présente en même temps de la diarrhée,

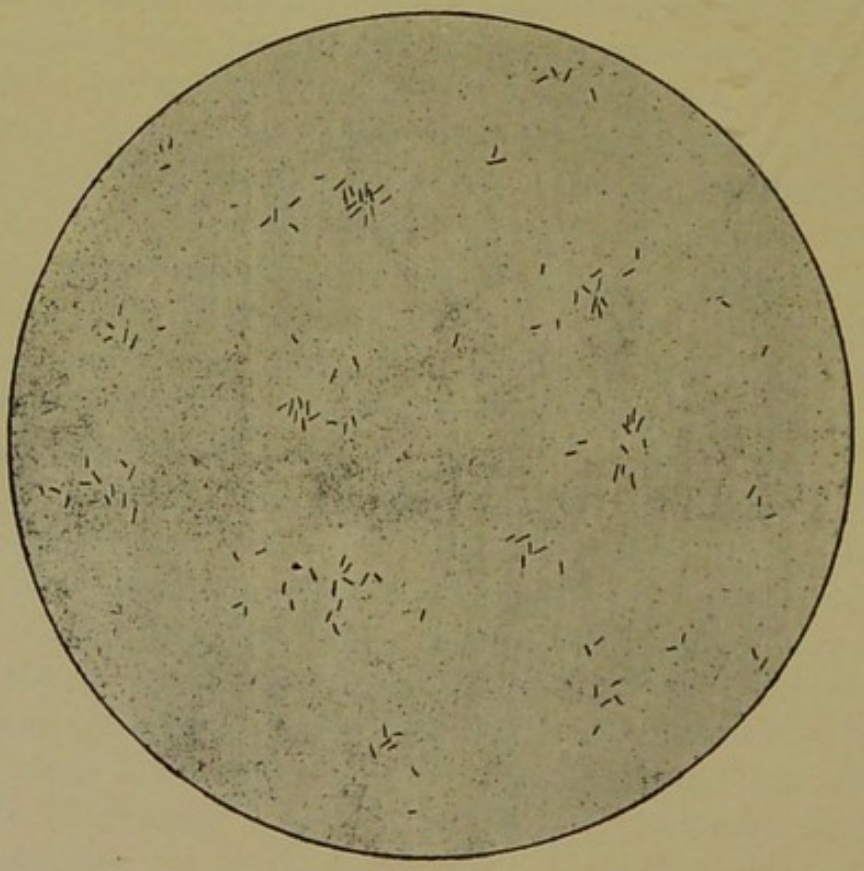


Fig. 197. — Culture de rouget du porc en bouillon.

de la fièvre. Dans les porcheries où l'infection règne, 50 p. 100 des animaux atteints succombent en deux à trois jours. Dans une forme chronique, les phénomènes sont moins bruyants, puis l'animal présente une tuméfaction des jointures qu'on a dénommée « goutte » ; on observe de la desquamation au niveau des taches purpuriques ; enfin la guérison est assez fréquente.

Le rouget du porc est causé par un Bacille spécial, découvert par Pasteur et Thuillier dans le sang des porcs atteints de cette affection. Il a été bien étudié par Löffler.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le germe spécifique du rouget est un bacille fin (fig. 197) de petites dimensions (1 μ environ de long sur 0 μ, 2 de large). Vu à l'état frais dans les cultures ou les produits pathologiques, il est immobile. Dans le sang et les tissus, ses éléments sont isolés ou groupés par deux. Dans les cultures en bouillon, il se groupe avec ses congénères sous forme de chaînettes.

Fig. 198. — Bacilles du rouget du porc dans le sang de pigeon.

Dans la pulpe des viscères et dans les coupes, ils sont souvent sous l'aspect d'amas et facilement englobés dans les leucocytes.

Coloration. — Il fixe bien toutes les couleurs d'aniline. *Il prend le Gram.*

CULTURES.

Il pousse indifféremment en vie aérobie ou anaérobie, mais préfère l'anaérobiose; ses cultures sont habituellement grêles.

Bouillon. — Le bouillon se trouble légèrement; une secousse imprimée au tube provoque la formation d'ondes moirées; vers le quatrième jour, un précipité blanchâtre se dépose au fond du tube.

Gélatine. — *En piqûre*, la culture est caractéristique : elle se développe de préférence dans les parties profondes peu aérées du culot de gélatine. Au bout de quelques jours, au niveau de la ligne d'ensemencement, se développent des colonies confluentes opaques d'où se détachent des rayons ou des houppettes, dont l'ensemble figure un « rince-bouteille ».

Mais, après une vingtaine de jours, cet aspect perd sa netteté; la culture diffuse dans toute l'épaisseur de la gélatine. Celle-ci ne subit aucune liquéfaction.

Les *colonies isolées* figurent des flocons d'où partent des filaments ramifiés. Plus tard, la colonie prend un aspect flou et est réduite à l'état d'une tache brunâtre.

Gélose. — La strie prend tout d'abord un aspect rayonné, puis devient complètement homogène.

Pomme de terre. — Culture nulle en aérobie; en anaérobie, elle est à peine perceptible.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Conservées en anaérobiose, les cultures du germe en question peuvent vivre pendant six mois : à cette époque, la virulence, bien qu'atténuée, existe toujours. Mais, dans les cultures aérobies, le Bacille succombe en quinze à vingt jours.

Virulence. — La virulence peut s'atténuer par un séjour prolongé dans les milieux de culture.

L'atténuation s'obtient encore de la façon suivante : on effectue plusieurs passages par le lapin ; un virus qui a subi cette épreuve possède une virulence renforcée pour le lapin, mais diminuée pour le porc. Au contraire, quand les passages en série sont effectués chez le pigeon, la virulence est accrue pour tous les animaux réceptifs.

Agglutinabilité. — Le Bacille du rouget du porc est agglutiné à des degrés variables par le sérum des animaux préparés par injections de cultures virulentes.

Fixation du complément. — Bordet et Gengou ont démontré que le sérum des animaux vaccinés contient une sensibilisatrice spécifique pour ce germe pris comme antigène.

Produits toxiques. — Une culture filtrée est toxique pour l'animal.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Le Bacille du rouget est très pathogène pour les animaux de laboratoire : lapin, souris, pigeon ; par contre, le cobaye est totalement réfractaire.

Inoculé sous la peau, le *lapin* succombe souvent en deux à cinq jours. Parfois, cependant, il présente des accidents à caractère chronique : amaigrissement, paraplégie, etc. ; ils ne comportent aucune gravité.

L'injection intraveineuse est plus sévère.

La *souris* est tuée par inoculation sous-cutanée en un à six jours, suivant l'activité du virus.

Le *pigeon* qui a reçu de la culture sous la peau ou de préférence dans le muscle pectoral meurt en deux à trois jours.

Le *porc*, si sensible à l'infection spontanée, l'est moins à l'infection expérimentale. Les inoculations sous-cutanées et même intraveineuses peuvent rester sans effet ; l'inoculation par les voies digestives paraît plus sévère. Il est ainsi facile d'infecter un porc en lui faisant avaler des organes d'animaux ayant eu le rouget, ou bien des aliments souillés par leurs déjections.

Les symptômes observés sont ceux du rouget contracté spontanément. A l'autopsie, les lésions portent principalement sur la rate, qui est tuméfiée et diffluente ; les ganglions sont rouges et congestionnés ; le foie est hypertrophié. Le sang est noir et à caractère asphyxique.

Le Bacille du rouget se rencontre en petite quantité dans le sang ; on le trouve surtout dans les leucocytes, où il peut être en grande abondance.

Il pullule et foisonne surtout dans la rate, qui en contient un nombre considérable ; avec les ganglions et la moelle osseuse, elle constitue le lieu d'élection du bacille ; les frottis de rein et de foie le montrent en assez grande abondance. L'examen des coupes de tous les viscères le fait percevoir nettement.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

La recherche du Bacille du rouget du porc est facile. Il suffit d'effectuer des frottis et des cultures à l'aide du sang, de la pulpe des différents organes.

On colore les frottis par la méthode de Gram, et les cultures sont effectuées en milieux ordinaires et surtout en gélatine, qui donne l'aspect caractéristique décrit plus haut.

Le diagnostic peut s'achever par les effets de l'inoculation au lapin, à la souris, ou au pigeon.

VACCINATION.

Par les virus atténués. — Pasteur et L. Thuillier avaient observé qu'un porc guéri d'une première atteinte de rouget était immunisé vis-à-vis d'une atteinte ultérieure. Ils eurent l'idée de conférer l'immunité à ces animaux, en pratiquant la vaccination artificielle par des cultures atténuées. Ils calquèrent la méthode sur celle de la vaccination charbonneuse.

L'infection atteignant de préférence les porcs adultes, on vaccine de préférence les sujets jeunes, âgés de deux à quatre mois, qui sont moins réceptifs. On leur inocule, sous la peau, tout d'abord un *premier vaccin* ; il consiste en une culture en bouillon atténuée par un séjour prolongé à l'étuve (un huitième de centimètre cube, par exemple) ; quinze jours après, ils reçoivent le *second vaccin* (un huitième de centimètre cube), culture moins atténuée ayant subi un moins long séjour à l'étuve.

Douze jours après la deuxième vaccination, l'animal peut être considéré comme vacciné ; l'immunité dure un an environ.

L'application de cette méthode a été faite sur de nombreux animaux, en Hongrie, notamment ; elle a contribué à abaisser dans des proportions importantes la morbidité et la mortalité dues au rouget, témoin les faits suivants :

En *France*, de 1890 à 1900, alors que les porcs non vaccinés donnaient un déchet de 20 p. 100, la perte chez les vaccinés ne s'élevait qu'à 1,68 p. 100.

En *Hongrie*, de 1884 à 1894, 1 085 686 porcs furent vaccinés ; on n'observa que 0,75 p. 100 de perte : 0,14 après la deuxième vaccination, et 0,07 après la seconde.

En *Russie*, d'après Kowaleski, en 1895, la perte ne s'éleva qu'à 0,04 p. 100.

Par les produits toxiques. — Lorenz vaccine des porcs par injection de cultures liquides stérilisées ; d'après lui, une seule injection de 3 à 7 centimètres cubes, suivant la taille de l'animal, lui confère l'immunité. D'après Töpper cependant, cette méthode ne donnerait qu'une immunité très passagère.

Par sérum-virus. — Leclainche effectue sur les porcs une vaccination mixte : dans une première vaccination, il injecte, suivant le poids de l'animal, 5 à 10 centimètres cubes d'antisérum, mélangés au moment du besoin à un demi-centimètre cube de culture. Douze jours après, il injecte le virus seul, sans sérum. Leclainche n'a eu qu'à se louer de cette nouvelle méthode.

SÉROTHÉRAPIE.

L'idée d'une sérothérapie dirigée contre le rouget revient à Emmerich et Mastbaum.

Ces auteurs démontrèrent en 1891 que le sérum de lapins, vaccinés par injections successives de cultures diluées, possédait des propriétés préventives et curatives vis-à-vis de l'infection du lapin et de la souris.

L'injection de suc musculaire filtré sur bougie Chamberland effectuée chez le lapin développe les mêmes pouvoirs dans le sérum de cet animal.

En 1893, Lorenz éprouve le sérum qu'il obtint chez les porcs vaccinés, puis ayant subi trois à quatre injections de 10 centimètres cubes de cultures virulentes. Il lui reconnaît un pouvoir préventif assez faible. Ce pouvoir préventif peut être accru en injectant tout d'abord du sérum, puis, douze jours après, une culture virulente sous la peau, enfin, dix jours après cette dernière, une culture virulente dans les veines.

En 1897, Leclainche vaccine des chevaux avec des cultures. Il leur injecte tout d'abord, par la voie veineuse, 50 à 100 centimètres cubes de culture en bouillon de veau, puis tous les huit jours 100 et même 300 centimètres cubes. Traité ainsi pendant deux mois environ, le cheval fournit un sérum dont 1 centimètre cube protège le pigeon contre l'action pathogène de $0^{cc},5$ de culture virulente, injectée simultanément ou vingt-quatre heures après. De plus, il agit efficacement à titre curatif chez les animaux qui le reçoivent plusieurs heures après l'inoculation microbienne.

Mesnil a démontré que ce sérum, qui n'est pas bactéricide, mais agglutinant, agit en excitant l'activité phagocytaire.

LIBRARY OF THE
PRESENTED
BY THE EDITOR OF
B. M. J.
BRITISH MEDICAL ASSOCIATION

CHAPITRE XXXI

BACILLE TYPHIQUE

Le Bacille typhique doit son nom à ce qu'il provoque chez l'homme la fièvre typhoïde. Il a été vu tout d'abord (1880) par Eberth (simple examen microscopique) dans les organes des

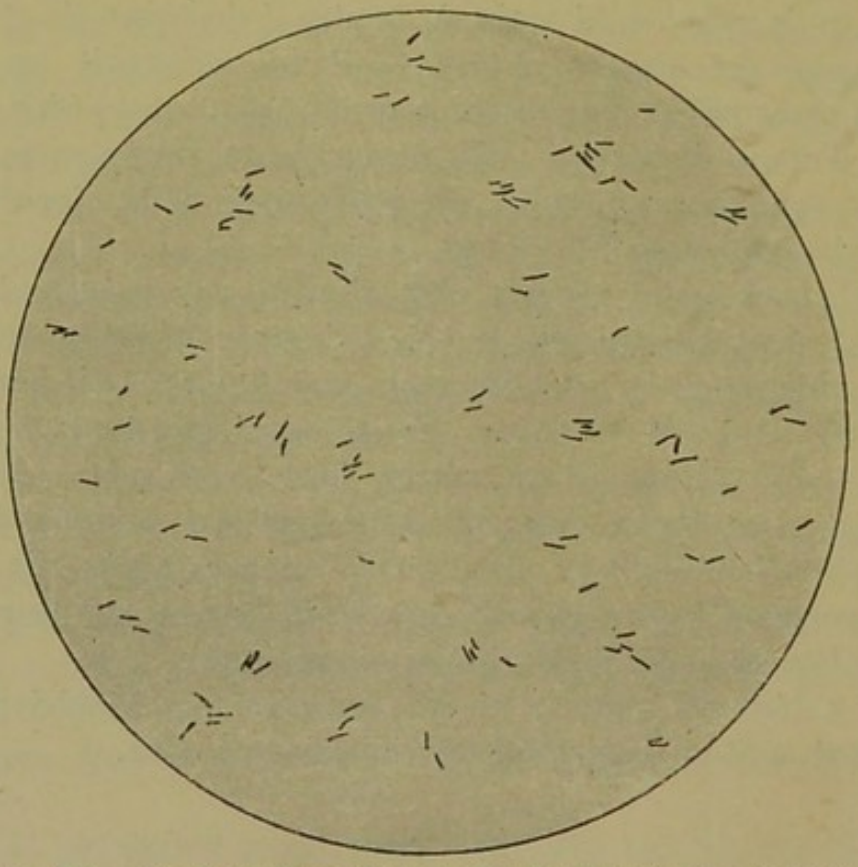


Fig. 199. — Bacille typhique. Culture sur gélose (vingt-quatre heures).

typhiques ; aussi l'appelle-t-on souvent *Bacille d'Eberth*. A Gaffky revient le mérite d'avoir obtenu les premières cultures. Dans la suite, nombre d'auteurs, spécialement Chantemesse et Widal, ont poursuivi son étude.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Dans l'organisme humain (rate surtout), le Bacille typhique est un bâtonnet, mesurant 2 à 3 μ sur 0 μ, 6 à 0 μ, 7, droit, à bouts arrondis.

En culture, son aspect est plus variable (fig. 199). C'est toujours un bâtonnet, à bouts arrondis, le plus souvent rectiligne, parfois un peu incurvé, plus effilé en bouillon, plus trapu sur gélose.

Dans les cultures jeunes, les bâtonnets sont presque toujours isolés, rarement bout à bout, par deux.

Des formes d'involution apparaissent dans certaines circonstances : aspect en navette (Artaud) avec espace clair central, sur culture âgée en bouillon ; formes filamenteuses dans les vieilles

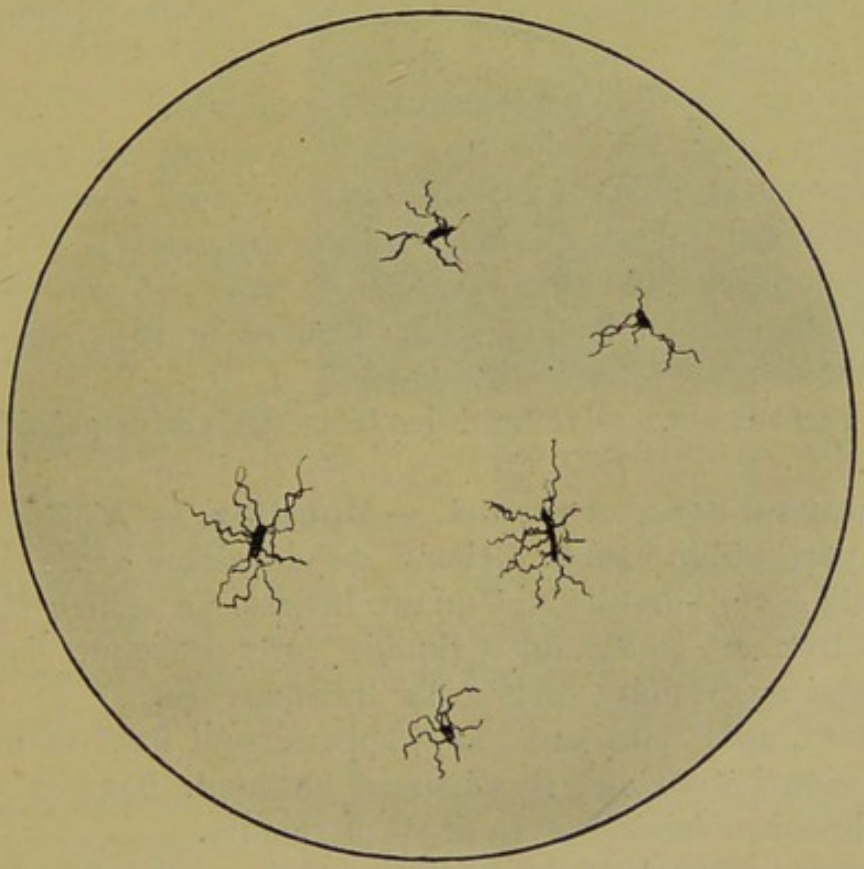


Fig. 200. — Cils du Bacille typhique. Coloration par le procédé de Zettnov.

cultures sur gélatine et pomme de terre; renflements terminaux, sur pomme de terre (acide) à 38° ou 40° (Chantemesse et Widal).

Quelques échantillons donnent beaucoup de formes filamenteuses, même en bouillon jeune.

Mobilité. — Le Bacille typhique est généralement très mobile ; on le voit traverser avec une extrême rapidité le champ du microscope. Sa motilité est due aux cils vibratiles. Exceptionnellement on peut rencontrer des échantillons peu mobiles ou même complètement immobiles.

Coloration. — Le Bacille typhique se colore facilement par les couleurs d'aniline. *Il ne prend pas le Gram.*

Cils. — Les cils sont nombreux, en moyenne neuf à douze, sou-

vent moins et souvent plus ; insérés sur tout le pourtour, non ramifiés, ils sont flexueux, grêles et assez longs (souvent plus de 8 μ, Rémy et Sugg). Colorables par les méthodes habituelles (fig. 200).

Spores. — Le Bacille d'Eberth ne donne pas de spores.

CULTURES.

Propriétés générales. — Anaérobie facultatif, le Bacille typhique se développe mieux en présence de l'air.

La température optima est 30° à 37°. Les limites extrêmes compatibles avec la culture sont + 4° et + 46°.

Il cultive sur les divers *milieux d'usage courant.*

En raison de ses analogies avec certains autres microbes, *B. coli* et Bacilles paratyphiques surtout, on est obligé d'employer pour le spécifier des milieux spéciaux (*milieux différentiels*).

D'autres milieux de culture (*milieux de recherche*) sont nécessaires pour la recherche du Bacille d'Eberth dans le sang, les excréta, l'eau, etc.

Nous verrons successivement les trois catégories précédentes de milieux.

I. **Milieux d'usage courant. — Bouillon.** — A 37°, la culture devient perceptible vers la dixième ou douzième heure, pour être abondante après vingt à vingt-quatre heures. Le milieu est uniformément trouble ; en agitant le liquide, on y provoque l'apparition d'*ondes moirées*, visibles surtout par transparence.

Plus tard, après plusieurs jours, apparaissent dans la masse des flocons blanchâtres qui se déposent au fond. Dans la suite, le liquide brunit, s'éclaircit et le dépôt augmente.

Jamais de voile net, mais parfois une légère collerette à la surface.

Pas d'odeur spéciale (quelques exceptions).

Eau peptonée. — Mêmes caractères qu'en bouillon.

Gélose inclinée. — La culture est abondante, mais peu caractéristique : en strie, traînée blanchâtre, parfois un peu irisée, d'aspect crémeux.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose, moins abondante.

Gélatine. — Développement abondant, *sans liquéfaction du milieu.* Les caractères sont acquis après deux jours à 16°-22°.

Sur plaque. — Les *colonies superficielles* forment le plus souvent un disque de 3 à 4 millimètres, transparent, bleuté, très mince à la périphérie, plus épais au centre ; le bord est irrégulier ; la surface est vallonnée par des sillons irréguliers rayonnant à partir pu centre ; c'est l'aspect dit en *montagne de glace* (fig. 201). — Sinon

elles sont constituées par un simple disque blanchâtre, sans les détails de structure précédents. — Les *colonies profondes* sont plus petites, plus opaques, rondes ou ovalaires.

En piqûres. — A la surface, disque peu étendu, 3 à 5 millimètres, mince, tantôt transparent, tantôt un peu opaque. — Le long de la piqûre, colonies petites, arrondies ou ovalaires, opaques.

En strie. — D'ordinaire, la culture est transparente, à reflets irisés, très mince aux bords, un peu surélevée au centre. Parfois, simple trait blanc, opaque.

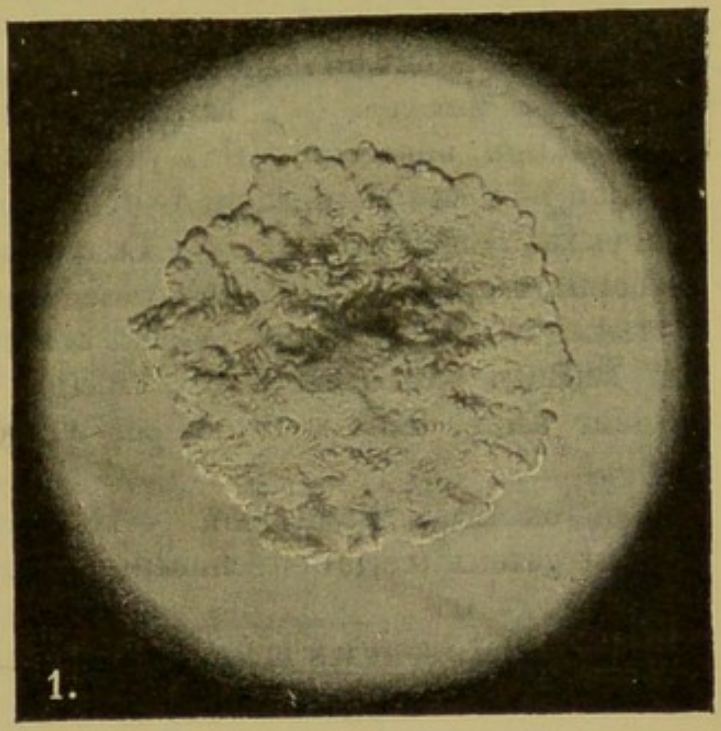


Fig. 201. — Bacille typhique, colonie isolée sur plaque de gélatine (d'après Macé).

Pomme de terre.— Après quarante-huit heures, la culture est à peine visible; en regardant attentivement, on voit une sorte de nappe incolore, brillante, donnant l'impression d'une *traînée de limaçon*.

Plus tard, apparaît souvent une teinte légèrement brunâtre.

Quelques échantillons donnent d'emblée cette teinte brunâtre, avec une culture plus épaisse.

Naguère, avant la connaissance des milieux différentiels et des propriétés des sérums, on attachait aux cultures sur pomme de terre une importance de premier ordre pour la diagnose du Bacille typhique. En réalité, l'intensité et l'aspect de ces cultures varient beaucoup suivant les qualités du tubercule; les variétés grasses sont les plus propices, ou bien les pommes de terre alcalinisées par le carbonate de soude (Buchner). Aussi, pour conserver à ce caractère la valeur qu'il mérite, est-il toujours nécessaire de procéder par comparaison avec un échantillon connu de Bacille typhique, ensemencé sur un autre fragment du même tubercule.

Lait. — La végétation est abondante, mais sans aucune modification appréciable du milieu; *pas de coagulation*.

II. **Milieux de recherche.** — Voy. *Procédés de recherche du Bacille typhique* (p. 454).

III. **Milieux différentiels.** — Pour l'appréciation des résul-

tats donnés par cultures sur milieux différentiels, voir le tableau page 440, et la figure 213. Certains milieux d'usage courant (lait, pomme de terre) de même que les milieux de recherche donnent également des indications différentielles précieuses.

Milieux sucrés. — *a.* **Milieux lactosés.** — Il n'y a pas de fermentation apparente; il n'y a pas de dégagement gazeux; la réaction n'est pas changée ou devient très légèrement acide.

Bouillon lactosé carbonaté. — La culture est abondante, comme en bouillon ordinaire, mais on n'observe pas de dégagement gazeux.

Mêmes résultats sur *eau peptonée lactosée*, *gélose lactosée*, etc.

b. **Milieux glucosés.** — La réaction du milieu est modifiée, devient acide, mais il n'y a pas de dégagement gazeux appréciable.

Bouillon glucosé carbonaté. — Culture abondante sans dégagement gazeux (certains échantillons donnent pourtant quelques bulles).

Les résultats sont les mêmes en *eau peptonée glucosée carbonatée*, en *gélose glucosée*.

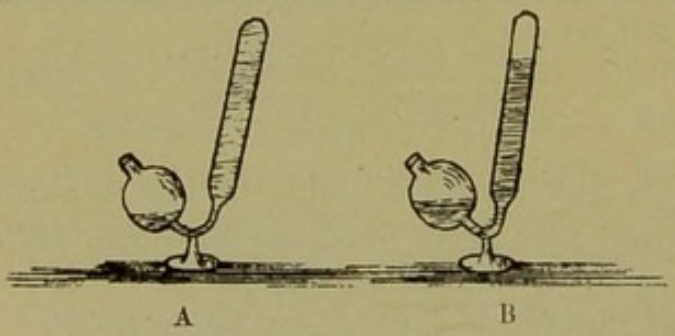


Fig. 202. — Culture en eau peptonée glucosée en tube à fermentation (vingt-quatre heures).
A, Bacille typhique; B, Bacille paratyphique B.

Eau peptonée glucosée en tube en U. — Le Bacille typhique ne donne *jamais* de gaz dans la branche anaérobie.

Le tube en U, ou tube à fermentation, comporte une branche aérobie et une branche anaérobie. On remplit comme l'indique la figure 202 (A), en veillant à ce qu'il ne persiste pas de bulles gazeuses au sommet de la branche anaérobie, avant l'ensemencement. Ce procédé est extrêmement sensible.

Milieux glucosés tournesolés (bouillon, gélose, etc.). — Ces milieux virent nettement au rouge en vingt-quatre heures.

Milieu de Barsiekow glucosé. — Rougit en vingt-quatre heures; la coagulation a lieu en un à quatre jours.

Le milieu de Barsiekow comporte :

Sucre	1 gramme.
Nutrose	1 —
Chlorure de sodium	0gr,50
Teinture de tournesol	0cc,5
Eau distillée	Q. S. p. 100.

Lait tournesolé. — Le développement est abondant, mais la teinte ne varie pas sensiblement. Souvent un peu — très peu — plus rouge les premiers jours ; légèrement bleue dans la suite.

Petit-lait tournesolé. — Le développement est à peine appréciable. Les variations de teinte sont les mêmes que sur lait tournesolé, mais plus accusées.

Milieux au rouge neutre. — On utilisera de préférence une gélose faible, glucosée, au rouge neutre.

Gélose au rouge neutre. — Préparer la gélose ordinaire, en employant seulement 0,4 p. 100 de gélose, de manière que le milieu soit à peine solide. Le reste de la préparation, comme d'habitude (p. 123). Ajouter à la fin 2 grammes de glucose par litre, et la quantité de rouge neutre juste suffisante pour teinter le milieu en rose très clair, soit environ $0^{cc},75$ de la solution au centième pour 100 centimètres cubes. Répartir en tubes droits.

Sur ce milieu, le Bacille typhique ensemencé soit en piqûre, soit dans la gélose fondue (vers 45°), se développe sans aucune modification appréciable : *ni décoloration, ni fluorescence.*

Milieux vaccinés. — Le Bacille d'Eberth est inapte à se développer à nouveau sur un milieu où il a été cultivé antérieurement (Chantemesse et Widal). On peut employer la gélose ou le bouillon.

Gélose vaccinée. — Ensemencer avec le Bacille typhique une série de tubes de gélose inclinée ; après quelques jours d'incubation, racler la culture.

Bouillon vacciné. — Ensemencer du bouillon ordinaire avec le Bacille d'Eberth ; filtrer après quinze jours à un mois ; recueillir le filtrat et répartir en tubes. On peut employer le bouillon Martin (p. 117) fabriqué avec la pulpe de rate (Émery).

Ensemencé sur les milieux précédents, gélose ou bouillon, débarrassés des corps microbiens comme il vient d'être dit, le Bacille typhique *ne donne pas de culture appréciable.*

Milieux métalliques. — Sur gélose additionnée de *sous-acétate de plomb* (1 p. 500), la culture est *noire.*

Pour préparer ce milieu : faire fondre un tube de gélose, 5 centimètres cubes ; au milieu très chaud, ajouter $0^{cc},1$ d'acétate de plomb en solution au dixième, mélanger ; laisser refroidir, ensemencer avant solidification, vers 45°.

Artichaut. — Culture imperceptible. Pas de verdissement (Roger).

Bouillon arsenical. — Le Bacille typhique ne pousse pas dans un bouillon renfermant $0^{gr},02$ d'acide arsénieux par litre (Thoinot et G. Brouardel).

Milieux minéraux. — Peu employés aujourd'hui, ils n'apportent au

diagnostic aucun élément nouveau. En général, le Bacille d'Eberth n'offre qu'un développement faible ou nul dans la plupart des milieux préconisés (milieux de Nægeli, de Frænkel, d'Ouchinsky, etc.).

Autres milieux colorés. — En dehors du rouge neutre, on a proposé un très grand nombre d'autres milieux colorés, dont l'usage ne s'est pas répandu. Citons ceux de Ramond et de Robin.

Milieu de Ramond. — Préparer de la gélose lactosée à 4 p. 100 ; ajouter de la rubine acide jusqu'à teinte rouge-cerise ; additionner enfin de carbonate de soude, jusqu'à décoloration. Filtrer, répartir, etc.

La rubine se recolore sous l'influence des acides.

Sur ce milieu, le Bacille typhique pousse sans modifier la couleur.

Milieu de Robin. — Formule :

Gélose	32 grammes.
Peptone Collas	20 —
Phosphate de soude	0gr,40
Bleu soluble à 1 p. 100	4 cent. cubes.
Eau	1000 —
Potasse (solution décinormale)	140 —

Dissoudre le tout à 115°. Le milieu doit être gris, sinon on ajoutera un peu de potasse.

Ajouter 40 grammes de lactose. Terminer suivant la technique habituelle

Le Bacille typhique se développe sur ce milieu sans modifier la teinte.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — En cultures, le Bacille typhique présente une assez grande vitalité; les repiquages sont généralement fertiles avec des cultures de deux à quatre mois.

Le Bacille d'Eberth est peu résistant vis-à-vis de la *chaleur*. Un chauffage de vingt minutes à 60° (Pfuhl) ou d'une heure à 53° (Leishmann) le tue sûrement.

Il est moins sensible au *froid*. Si les alternatives de gel et de dégel lui sont funestes (Prudden), par contre il survit à une congélation maintenue pendant cent trois jours (Mitchell).

La *lumière solaire* lui est très nocive. Dans l'eau claire, l'insolation le tue au bout de quatre heures et demie à cinq heures, et après huit ou neuf heures dans l'eau trouble ; l'action bactéricide est exercée surtout par les rayons bleus, violets et ultra-violets (H. Vincent).

Il résiste pendant un à deux mois à la *dessiccation* sur la terre, le sable, etc. (Uffelmann).

Les *antiseptiques usuels* le tuent facilement : le sublimé au 1 000e en trente minutes (Fraenkel), l'aldéhyde formique à 2 p. 1000 en quinze à vingt minutes (Pottevin).

Résistance à certains agents chimiques. — Diverses substances

modérément antiseptiques, sont moins nocives pour le Bacille d'Eberth que pour la plupart des autres microbes : ainsi la caféine (Roth), le kristall-violet (Drigalski et Conradi), le vert brillant et l'acide picrique (Conradi), la fuchsine décolorée par le sulfite de soude (Endo), l'iode (Elsner), le vert malachite (Lœffler), etc. Cette résistance relative est mise à profit dans les formules des milieux pour la recherche de l'espèce (Voy. p. 454).

Résistance dans les milieux naturels. — *Dans l'eau.* — Le Bacille typhique résiste longtemps dans l'eau ordinaire stérilisée; on peut le retrouver vivant après trois mois (Chantemesse).

Mais sa résistance paraît moindre dans l'eau brute, non stérilisée, où il doit compter avec la concurrence de bactéries diverses. On comprend que les résultats obtenus à ce sujet soient des plus variables suivant la composition chimique et bactériologique de l'eau en expérience : dans la plupart des observations, la survie ne dépasse pas quinze jours (Kraus, Hueppe, etc.). Certaines eaux sont moins défavorables, telle celle de la Tamise, où il persiste plus de vingt-cinq jours (Frankland et Applayard).

Dans le sol. — En pleine terre, le Bacille d'Eberth, très résistant, est encore vivant après cinq mois (Grancher et Deschamps).

Réactions biochimiques.

Action sur les sucres. — Ensemencé sur milieux glucosés, galactosés ou lévulosés, le Bacille typhique acidifie, sans provoquer de dégagement de gaz.

Il n'attaque pas du tout la lactose et la saccharose.

En réalité, le Bacille typhique fermente très nettement la glucose, de même que la lévulose, la maltose, la galactose, la mannite ; toutefois la fermentation est peu active. Il y a production d'acides, mais sans dégagement gazeux. La production d'acides est mise en évidence très simplement par cultures sur milieux glucosés, additionnés de tournesol : ces milieux virent au rouge en vingt-quatre heures. Mais on n'observe pas de dégagement gazeux appréciable, ni en bouillon carbonaté, ni en gélose profonde (piqûre), ni surtout dans la branche anaérobie des tubes à fermentation. Pour différencier le Bacille typhique de certains Bacilles voisins qui fermentent plus énergiquement la glucose (Bacilles paratyphiques surtout), il faut rechercher la fermentation gazeuse, que le Bacille d'Eberth est inapte à provoquer, et non l'acidification des milieux, propriété qui lui est commune avec les microbes les plus rapprochés de lui.

Action dénitrifiante. — En bouillon additionné de nitrate de potasse (1,5 p. 100), le Bacille typhique provoque un dégagement d'azote (Hugounencq et Doyon). Il se dégage de même de l'azote aux dépens des nitrites (Grimbert).

L'action dénitrifiante est commune avec le Colibacille ; elle n'a pas de valeur différentielle.

Tableau indiquant les caractères essentiels d
du Bacille paratyphiq

Caractères communs : Bacilles ou Coccobacilles, ne prenant pas le Gram,
avec ondes moirées ; poussent bien

Caractères différentiels.	**Bacille typhique.**	**Bacille para**
Mobilité.	Très mobile ; quelques exceptions.	Très mobile.
Cultivé sur pomme de terre.	Donne culture minime (Cf. *traînée de limaçon*).	Culture mini *typhique*).
Cultivé en lait.	Ne modifie pas le milieu.	Ne modifie pa
Cultivé en petit-lait tournesolé.	Rougit légèrement.	Rougit franch
Cultivé en milieux lactosés.	Ne donne pas de gaz.	Ne donne pas
Cultivé en milieux glucosés.	Ne donne pas de gaz.	Dégage des ga
Cultivé sur milieux d'Endo ou de Drigalski.	Donne des colonies incolores.	Donne des col
Cultivé sur milieux au rouge neutre.	Ne modifie pas.	Provoque la la fluoresce
Cultivé sur milieux au plomb.	Noircit.	Ne noircit pa
Formation d'indol.	Ne donne pas d'indol.	Ne donne pas
A dose limite,		
un Eberth — sérum :	Agglutine.	N'agglutine p
un Para A — sérum :	N'agglutine pas.	Agglutine.
un Para B — sérum :	N'agglutine pas.	N'agglutine p

Bacille typhique, du Bacille paratyphique A, et du Colibacille.

...orulés; se développent en bouillon en donnant un trouble uniforme ... gélatine, sans la liquéfier.

...typique A.	Bacille paratyphique B.	Colibacille.
	Très mobile.	Peu mobile, parfois immobile.
...f. *Bacille*	Enduit brun ou jaune, épais; exceptions.	Enduit brun ou jaune, épais.
...ilieu.	Ne coagule pas; éclaircit tardivement.	Coagule, parfois tardivement.
...	Rougit très vite, puis bleuit (caméléonage).	Rougit très fortement.
...z.	Ne donne pas de gaz.	Dégage des gaz.
	Dégage des gaz.	Dégage des gaz.
...incolores.	Donne des colonies incolores.	Donne des colonies rouges.
...ration et ...	Provoque la décoloration et la fluorescence.	Provoque la décoloration et la fluorescence.
	Noircit.	Ne noircit pas; quelques exceptions.
...ol.	Donne peu (traces) ou pas d'indol.	Donne de l'indol.
	N'agglutine pas.	N'agglutine pas.
	N'agglutine pas.	N'agglutine pas.
	Agglutine; exception : type Gärtner (p. 488).	N'agglutine pas.

Absence de production d'indol. — Le Bacille typhique ne produit pas d'indol.

Recherche de l'indol. — Les cultures seront faites en eau peptonée. On cherchera l'indol après deux jours de culture, à l'aide de l'une des réactions suivantes :

a. A 15 centimètres cubes de culture, ajouter d'abord XXX gouttes d'une solution de nitrite de potassium à 1 p. 1000, puis X gouttes d'acide sulfurique chimiquement pur ; mélanger. S'il existe de l'indol, il apparaît une teinte rosée.

C'est la *réaction de Salkowsky*.

b. *Procédé recommandé*. — A 10 centimètres cubes de culture, ajouter volume égal d'une solution alcoolique de furfurol à 1 p. 50 ; puis goutte à goutte, de l'acide chlorhydrique pur. La présence d'indol se traduit par une teinte jaune.

C'est la *réaction de Fleig et Sicre*.

Certaines peptones renferment des traces d'indol. Il est donc prudent de faire la même réaction sur un tube témoin, non ensemencé (Sicre).

Milieux vaccinés. — Voy. ci-dessus (p. 437).

Action des sels biliaires. — La bile et les sels biliaires (taurocholate de soude surtout), hostiles à la plupart des microbes, favorisent au contraire la culture du Bacille typhique, d'après Conradi, Dunschmann, etc. ; tout au moins ces substances ne gênent pas son développement.

Réactions à l'égard des sérums.

Agglutination. — Le Bacille typhique possède la propriété, très importante, d'être agglutiné par les sérums antityphiques, c'est-à-dire par les sérums provenant soit d'individus infectés par le Bacille typhique (malades atteints de fièvre typhoïde), soit d'individus vaccinés ou d'animaux inoculés avec ce Bacille.

Widal a montré que cette réaction apparaît au cours même de l'infection.

D'autre part, l'*agglutination du Bacille d'Eberth est spécifique*, c'est-à-dire spéciale au Bacille typhique. En effet, d'une part, un sérum antityphique n'agglutine pas, ou agglutine peu, les espèces microbiennes autres que le Bacille typhique ; d'autre part, et sauf de rares exceptions, les sérums autres que les sérums antityphiques n'ont pas d'action agglutinante appréciable sur le Bacille d'Eberth.

Ces diverses raisons permettent d'appliquer la *séro-réaction* au diagnostic de la fièvre typhoïde chez l'homme (Voy. p. 464) et également au diagnostic différentiel des espèces microbiennes.

I. **Spécificité de la réaction d'agglutination.** — *En ce qui concerne les maladies humaines*, les milliers d'observations accumulées depuis 1896 confirment les premières conclusions de Widal : l'existence de propriétés agglutinantes dans le sérum sanguin indique une infection de l'organisme par le Bacille typhique ; l'infection est le plus souvent *actuelle*, mais elle peut remonter à une époque antérieure plus ou moins éloignée.

Il va sans dire que cette proposition est exclusivement applicable aux réactions faites correctement, suivant les techniques indiquées plus loin.

Le fait de rencontrer des sérums agglutinants en dehors de la fièvre typhoïde, spécialement dans certains ictères, avait tout d'abord fait mettre en doute la spécificité de la réaction ; mais d'autres méthodes ont établi depuis que ces ictères sont en réalité d'origine typhique (Sacquépée et Fras).

Quelques exceptions sont actuellement connues : le sérum de malades atteints d'empoisonnements alimentaires, spécialement par le Bacille de Gärtner, peut agglutiner assez fortement le Bacille typhique (en même temps que le Bacille infectant). Mais l'allure clinique très particulière de ces accidents ne prête pas à confusion avec la fièvre typhoïde. On peut de même observer au cours de la granulie une agglutination peu intense (1 p. 60) à l'égard du Bacille d'Eberth.

En ce qui concerne les sérums expérimentaux, obtenus par inoculation à l'animal de cultures microbiennes, il est établi que :

Les sérums antityphiques agglutinent les Bacilles typhiques, tous sensiblement au même taux (sauf exception), sans exercer d'action bien appréciable sur les espèces les plus voisines.

Inversement, les sérums spécifiques pour les espèces les plus voisines, comme les Bacilles paratyphiques, n'ont que peu ou pas de pouvoir agglutinant à l'égard du Bacille d'Eberth.

Au point de vue clinique, comme au point de vue expérimental, la réaction d'agglutination des sérums antityphiques à l'égard du Bacille typhique doit donc être considérée comme spécifique.

II. **Aptitude agglutinative du Bacille d'Eberth.** — La grande majorité des Bacilles typhiques sont agglutinables au même degré par un même sérum spécifique.

Mais toute règle comporte des exceptions. De rares Bacilles typhiques, spécialement parmi ceux qui viennent d'être isolés de l'organisme humain ou des eaux typhogènes, tout en possédant par ailleurs l'ensemble des attributs de l'espèce, ne se laissent pas agglutiner par les sérums spécifiques (Sacquépée, Rodet, J. Courmont, etc.). L'aptitude agglutinative réapparaît dans la suite, après un nombre variable de repiquages sur milieux artificiels.

Il semble y avoir quelque parallélisme entre le défaut d'aptitude agglutinative et l'absence de mobilité, comme l'ont indiqué Ch. Nicolle et Trénel.

Il est bon de connaître l'existence de ces échantillons peu ou pas agglutinables : en premier lieu, pour les rejeter quand on veut pratiquer un séro-diagnostic; en deuxième lieu, pour ne pas se hâter de considérer comme étranger à l'espèce Bacille typhique un microbe qui par ailleurs présente les caractères de cette espèce. En pareil cas, il faut attendre, faire des repiquages, et s'adresser à d'autres moyens de vérification (déviation du complément en particulier).

III. **La substance agglutinante chez l'homme.** — *a.* A l'état normal, le sérum sanguin de l'homme ne possède pas de pouvoir agglutinant au delà de 1 p. 10 ou 1 p. 20.

A l'état pathologique, le pouvoir agglutinant apparaît au cours des infections diverses provoquées par le Bacille d'Eberth : en premier lieu, la fièvre typhoïde classique; puis, les formes anormales de cette dernière : embarras gastrique fébrile, méningo-typhus, etc.; enfin dans les ictères provoqués par le Bacille d'Eberth.

Chez l'homme, expérimentalement, le pouvoir agglutinant apparaît après la vaccination antityphique (Voy. p. 469).

b. Il est nécessaire de suivre un peu l'*évolution* du pouvoir agglutinant au cours de la fièvre typhoïde.

Dans cette maladie, le sérum acquiert presque toujours des propriétés spécifiques. Elles sont d'ordinaire nettement développées aux environs du sixième jour, un peu plus tôt ou un peu plus tard; persistent pendant toute la durée de l'infection; diminuent ensuite, pour disparaître dans les premières semaines de la convalescence.

A cette évolution habituelle il y a quelques exceptions :

Le pouvoir agglutinant peut faire défaut (1 fois sur 177 observations de Widal); il peut être retardé, ce qui est moins exceptionnel, et n'apparaître que dans la deuxième ou la troisième semaine; il peut persister pendant longtemps, trois ans et même sept ans après guérison (Widal).

c. Outre le sérum sanguin, d'autres sérosités peuvent être douées du pouvoir agglutinant. Ainsi on l'a constaté dans le lait d'une nourrice typhique (Achard et Bensaude) : dans l'urine, dans les larmes, dans l'exsudat pleural.

Il peut se transmettre de la mère au fœtus.

IV. **Application au diagnostic du Bacille d'Eberth.** — Malgré les exceptions signalées plus haut (Bacilles peu ou pas agglutinables), la réaction à l'égard des sérums spécifiques constitue un des meilleurs critériums de l'espèce. On ne doit jamais identifier un Bacille typhique sans l'avoir soumis au préalable à l'épreuve du sérum.

On emploie de préférence dans ce but des sérums expérimentaux d'intensité moyenne, 1 p. 1000 à 1 p. 10000. Plus faibles, ils ont parfois une action relativement marquée (coagglutination) sur d'autres espèces ; l'usage de sérums plus forts n'a aucun intérêt.

Le Bacille présentant par ailleurs tous les attributs nécessaires, on procédera à la recherche du taux limite d'agglutination, comparativement avec d'autres échantillons connus de Bacille typhique.

Si le microbe à l'étude est agglutiné par le sérum spécifique sensiblement au même taux que les témoins, on conclura : Bacille typhique. Au cas contraire, on procédera comme il a été déjà indiqué ci-dessus, II.

V. **Préparation de sérums expérimentaux agglutinants.** — Entre autres procédés, nous recommandons le suivant : émulsionner dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique une culture de vingt-quatre ou quarante-huit heures sur gélose inclinée ; stériliser par chauffage à 60° pendant une demi-heure. Éliminer les amas microbiens (filtration sur papier, ou centrifugation rapide, ou sédimentation pendant quelques heures). Inoculer 1 à 1^{cc},5 d'émulsion dans les veines du lapin.

Saigner au septième jour. Le sérum obtenu agglutine généralement au delà de 1 p. 300.

Pour préparer des sérums plus forts, pratiquer trois ou quatre injections, à doses croissantes, à intervalles de huit jours. Inoculer ensuite 1 centimètre cube d'émulsion de bacilles vivants ; saigner au septième jour après la dernière injection.

Sensibilisatrice. — Widal et Le Sourd ont appliqué au Bacille typhique la méthode de la déviation du complément, suivant la technique habituelle. Les résultats obtenus indiquent en général l'existence d'une sensibilisatrice spécifique dans le sérum des typhiques. La méthode est assez fidèle pour servir au diagnostic.

La déviation du complément est un appoint très utile quand le séro-diagnostic est peu net ou faible.

Elle peut être positive chez d'anciens malades porteurs de Bacilles (Schöne).

La sensibilisatrice spécifique existe de même dans les sérums expérimentaux.

Précipitines. — Les précipitines existent dans les sérums spécifiques (Kraus).

Opsonines. — Un index opsonique supérieur à 1,70 constitue une présomption en faveur du diagnostic de fièvre typhoïde (Milhit). L'indice est souvent élevé chez les anciens malades porteurs de bacilles (Gæthgens).

POUVOIR PATHOGÈNE.

Le Bacille typhique peut se montrer pathogène : 1° pour l'homme, dans les conditions naturelles ; 2° pour l'animal, expérimentalement.

Action pathogène dans les conditions naturelles, chez l'homme. — Le Bacille d'Eberth est l'agent constant de la fièvre typhoïde.

Il provoque non seulement la fièvre typhoïde classique, mais encore les complications habituelles de cette dernière et les formes anormales. Complications : ostéite, bronchopneumonie, abcès, etc. Formes anormales : méningo-typhus, pneumo-typhus, fièvre typhoïde sans lésions intestinales, etc.

Au même titre que d'autres germes, il peut provoquer l'embarras gastrique fébrile et des ictères essentiels.

Chez l'animal, on ne connaît aucune maladie provoquée par le Bacille typhique.

Action pathogène expérimentale. — Expérimentalement, le pouvoir pathogène peut être mis en évidence par inoculation ; mais c'est seulement par ingestion qu'on a pu réaliser chez l'animal une maladie rappelant la fièvre typhoïde humaine.

Inoculations. — On utilise surtout la *souris* et le *cobaye*.

A. Le **virus habituel**, tel qu'on l'extrait des organes des typhoïdiques, est généralement peu actif.

Injecté *dans le péritoine* à dose forte ($0^{cc},5$), il provoque une péritonite mortelle.

L'injection *sous-cutanée* donne lieu soit à un simple abcès (G. Roux, Gasser, Chantemesse et Widal), fait intéressant en ce qu'il montre l'aptitude pyogène du Bacille chez l'animal (comme dans certaines ostéites ou certains abcès chez l'homme) ; soit à une infection qui tue en un ou quelques jours, par intoxication, sans pullulation appréciable des microbes et sans lésions apparentes.

L'inoculation *intracérébrale* d'une culture de quinze jours tue le cobaye et le lapin à dose de 1/10 ou 1/20 de centimètre cube (H. Vincent).

B. Le **virus exalté** permet de réaliser une infection généralisée avec septicémie.

1° Exaltation de la virulence. — Plusieurs procédés sont applicables :

a. Chantemesse et Widal utilisent la constatation, faite par H. Vincent, que l'action concomitante du Streptocoque pyogène exalte la virulence du Bacille typhique. Ils inoculent en même temps sous la peau 4 centimètres cubes de culture de Bacille typhique, et dans le péritoine 8 ou 10 centimètres cubes de culture

de Streptocoque stérilisée par la chaleur. L'animal succombe le plus souvent en moins de vingt-quatre heures, présentant une infection généralisée (Bacilles dans le sang, le péritoine, etc.). — Avec la culture obtenue de ce premier animal, on inocule un deuxième animal : 4 centimètres cubes de Bacille typhique sous la peau, 5 centimètres cubes de culture stérilisée de Streptocoque dans le péritoine. On continue ainsi, en diminuant peu à peu la dose adjuvante de Streptocoque tué. Finalement on obtient un virus très actif, capable de tuer le cobaye à dose de 3 centimètres cubes sous la peau, ou de quelques gouttes dans le péritoine.

b. Sanarelli emploie une technique analogue. Partant d'une culture de laboratoire tout à fait avirulente, il en injecte sous la peau du cobaye $0^{cc},5$; en même temps, il inocule dans le péritoine 10 à 12 centimètres cubes d'une culture vieille et stérilisée de Colibacille. L'animal meurt en quatorze à vingt heures, présentant un exsudat péritonéal riche en Bacilles typhiques (parfois aussi des Bacilles dans la rate et le sang). On ensemence en bouillon la sérosité péritonéale ; de cette culture de premier passage, on inocule 5 centimètres cubes sous la peau, et en même temps dans le péritoine, 7 à 8 centimètres cubes de culture stérilisée de Colibacille. L'animal meurt, comme le premier. On continue ainsi les passages, en diminuant chaque fois la dose de Colibacille, jusqu'à ce que finalement on obtienne un Bacille suffisamment exalté pour tuer, sans aucun adjuvant, par injection intrapéritonéale (quelques gouttes) ou sous la peau (3 à 4 centimètres cubes).

Sanarelli a réussi de même en substituant au Colibacille des cultures stérilisées de *Proteus vulgaris* ou des selles filtrées et stérilisées.

c. Le simple passage de péritoine à péritoine exalte également la virulence. Après le premier passage, on inoculera la sérosité péritonéale elle-même (non la culture qui en provient).

d. Chantemesse et Balthazard ont recours aux cultures successives en sacs de collodion, placés dans le péritoine du cobaye.

e. Ces virus exaltés perdent rapidement leur virulence dans les cultures *in vitro*. Pour la conserver plus longtemps, Rodet et Lagriffoul conseillent de faire les cultures en bouillon alcalin, additionné de sang de cobaye au moment de l'usage.

2° Inoculation du virus exalté. — L'animal de choix est le *cobaye*.

En inoculant dans le péritoine quelques gouttes d'une culture du virus exalté, les symptômes se succèdent dans l'ordre suivant : deux à quatre heures après l'inoculation, la température s'élève à 40° et 41° ; l'animal est abattu. Puis, entre la sixième et la douzième heure, la température descend peu à peu, jusqu'à 34° et même 32° (hypothermie) ; à ce moment, l'animal

est immobile, pelotonné sur lui-même ; l'abdomen est devenu très sensible, et la moindre pression provoque des cris. Mort en un temps variable, douze à vingt-quatre heures si la virulence est suffisante.

A l'autopsie, sérosité louche dans le péritoine ; congestion des viscères et de l'intestin ; contenu intestinal diarrhéique ; tuméfaction des follicules clos et des plaques de Peyer. Bacilles typhiques dans la sérosité péritonéale, dans le sang et dans les organes.

Reproduction expérimentale de la fièvre typhoïde par ingestion. — L'ingestion a réussi jusqu'ici chez le singe et le lapin.

Singe. — Chantemesse et Ramond, expérimentant sur le singe macaque, soumettent d'abord l'animal au régime lacté pendant quinze jours. Ils font ingérer ensuite le Bacille typhique (produit d'une culture sur gélose) mélangé à de la confiture. Au troisième jour, fièvre, anorexie, diarrhée ; dans la suite, fièvre persistante mauvais état général. Mort au huitième jour. A l'autopsie, lésion caractéristiques (en particulier, ulcérations des plaques de Peyer).

La sensibilité du singe est confirmée par Grünbaum (chimpanzé), Weinberg, Metchnikoff et Besredka.

Lapin. — Remlinger a pu infecter quelques animaux en leur faisant ingérer des légumes largement arrosés de culture. Chantemesse et Ramond diminuent la résistance de l'animal en injectant d'abord dans le péritoine L gouttes de laudanum ; un quart d'heure après, à l'aide de la sonde, on porte dans l'estomac 3 à 5 centimètres cubes de culture typhique. Les mêmes auteurs rendent le lapin encore plus sensible en « l'humanisant » au préalable par injection quotidienne de sérum ou d'urine humains pendant vingt jours. Dans ces divers essais, les animaux ont présenté les symptômes essentiels et les lésions les plus caractéristiques de la fièvre typhoïde humaine.

Inoculation intradigestive. — Lépine et Lyonnet, ayant inoculé le Bacille typhique dans une anse intestinale isolée (procédé de Thiry), ont reproduit des ulcérations localisées à l'anse infectée.

TOXINES.

Cliniquement, il paraît manifeste que la fièvre typhoïde est le résultat d'une intoxication subaiguë ; on doit donc admettre que le Bacille typhique sécrète une toxine.

On a beaucoup cherché cette toxine ; on a présenté sous le nom de « toxine typhique » des poisons de nature complexe, ne présentant pas les caractères essentiels des vraies toxines.

Certains auteurs s'adressent aux cultures en milieux liquides, dont ils séparent une toxine soluble ; d'autres utilisent les corps microbiens, débarrassés de leur substratum nourricier.

A. **Toxines solubles.** — Les premiers essais de Brieger, de

Brieger et Fränkel, etc., ne réussirent à isoler sous le nom de « toxalbumine » qu'une impureté des milieux.

Toxine de Sanarelli. — Le virus exalté (p. 447) est cultivé en bouillon glycériné à 2 p. 100 pendant un mois à 37° ; on tue alors les microbes par chauffage ; les cultures sont abandonnées pendant huit mois à la température ambiante, après quoi les ballons sont scellés et portés quelques jours à 60°. On laisse déposer les corps microbiens ; le liquide clair surnageant constitue la toxine.

Ces manipulations ont pour but de permettre une macération prolongée, de façon à libérer les poisons intramicrobiens.

Action pathogène. — La toxine de Sanarelli, mélange de poisons solubles, de poisons intramicrobiens, auxquels s'ajoutent (Gautier et Balthazard) les substances provenant des albuminoïdes altérées du milieu, n'est pas très pathogène.

Doses mortelles, sous la peau : pour le cobaye, 1cc,5 par 100 grammes du poids du corps ; pour le lapin, 10 centimètres cubes par kilogramme ; pour la souris, 1 centimètre cube.

C'est chez le cobaye que les symptômes et les lésions se présentent avec le plus de netteté. A la suite de l'inoculation dans le péritoine d'une dose sûrement mortelle, l'hypothermie apparaît d'emblée et s'accentue dans la suite ; après une heure, météorisation abdominale avec sensibilité du ventre, hyperesthésie généralisée ; après quatre à cinq heures, prostration avec tremblement. Plus tard, dyspnée et mort en asphyxie.

A l'autopsie : exsudat péritonéal abondant, avec nombreux globules blancs, flocons fibrino-purulents ; rate friable, hypertrophiée ; congestion de l'intestin, des capsules surrénales, de l'utérus ; congestion et infiltration des follicules lymphatiques de l'intestin. Dans le contenu diarrhéique de l'intestin, *Bacterium coli* très abondant (plus que normalement) et virulent.

Toxine de Chantemesse. — Un virus exalté est ensemencé sur milieux spéciaux : au début, le milieu était un mélange de macération à froid de rate et de moelle osseuse avec du sang humain ; plus tard, Chantemesse s'est adressé à la peptone de rate (préparée suivant le procédé de L. Martin, p. 117). Les cultures sont faites à 37°, en large surface ; la toxicité est au maximum du quatrième au sixième jour ; elle diminue ensuite. On stérilise par chauffage vers le sixième jour, on centrifuge : le liquide décanté constitue la toxine.

La toxine de Chantemesse est fragile ; elle craint la lumière et l'oxygène de l'air ; l'acide tartrique la rend inoffensive, mais l'addition ultérieure de soude lui rend ses propriétés toxiques ; elle résiste une heure à + 58°, et le chauffage à 100° l'atténue, sans la détruire.

Assez active, la toxine de Chantemesse tue le cobaye à la dose de 1 centimètre cube par 80 grammes du poids du corps, en douze à vingt-quatre

heures (injection intrapéritonéale). La souris, le cheval sont proportionnellement plus sensibles que le cobaye.

Toxine de Rodet, Lagriffoul et Wahly ; toxine de M. et Mme Al. Werner. — D'après ces auteurs, l'oxygène exerce sur la toxicité des cultures une influence contradictoire : la toxine soluble n'est élaborée qu'en milieux largement aérés ; mais, d'autre part, elle s'altère au contact de l'oxygène. Elle est en outre très sensible à la chaleur, même modérée.

Pour obtenir leur toxine, Rodet, Lagriffoul et Wahly ensemencent en bouillon, en faisant barboter de l'air dans le milieu ; on filtre au troisième jour. Le filtrat est peu toxique : dose mortelle dans le péritoine, 4 p. 100 du poids du corps.

M. et Mme Werner cultivent en eau peptonisée, légèrement alcaline ; pendant les deux ou trois premiers jours, le milieu est aéré par barbotage d'air, à 37° ou à 25° (période d'oxydation) ; les deux jours suivants, on maintient à 25° en ballons scellés (période d'asphyxie). On filtre ensuite. La toxine ainsi obtenue est assez active : les doses mortelles sont de 1 centimètre cube pour un cobaye de 300 grammes (dans le péritoine), 2 centimètres cubes pour un lapin de 1800 à 2000 grammes (injection intraveineuse).

Toxine de Moreschi. — Le milieu employé par Moreschi est du bouillon (de viande et de rate) peptonisé et salé, additionné de 8 p. 100 de sang de bœuf et de 1 p. 100 de plasmon, et alcalinisé.

En repiquant le Bacille de jour en jour, la culture, d'abord homogène, se fait ensuite exclusivement en surface (voile, sans trouble du milieu). C'est à ce moment que la toxine s'élabore.

On ensemence le Bacille ainsi adapté ; on filtre au sixième jour.

Le filtrat est toxique ; il tue le cobaye, par injection intrapéritonéale, à la dose de 0^cc^,2.

Toxine de Shaw. — Ensemencer dans le sang défibriné, filtrer après trois semaines.

B. **Toxines des corps microbiens.** — On a supposé que la vraie toxine typhique est adhérente au corps microbien et ne diffuse que peu ou pas dans les milieux. Divers procédés ont été mis en œuvre pour obtenir cette toxine intraprotoplasmique, ou *endotoxine*.

Toxine de Conradi. — C'est un autolysat de bacilles. Une culture sur gélose est raclée, émulsionnée dans l'eau physiologique, abandonnée à 37° pendant vingt-quatre heures, puis filtrée ; le filtrat est concentré par évaporation dans le vide jusqu'à 1 p. 10 ou 1 p. 50.

Le filtrat concentré, très toxique, tuerait le cobaye à la dose de 0^cc^,2 (injection intrapéritonéale).

Toxine de Mac Fadyen et Rowland. — Le produit de raclage de cultures sur gélose est congelé et broyé dans un appareil à congélation par l'air liquide (— 190°) ; on mélange la pâte obtenue avec un peu d'eau physiologique ; on broie à nouveau et on centrifuge. Il ne persiste pas de bacilles vivants. Le liquide surnageant constitue un véritable « jus de cellules ». Il tue le cobaye à dose de 0^cc^,1 (dans le péritoine).

Toxine de Balthazard. — On part d'un virus exalté par passages en sacs de collodion. La culture est faite sur peptone Defresne (solution à 3 p. 100) gélosée, sans addition de viande. On racle et émulsionne dans

l'eau physiologique après un ou deux jours d'étuve ; l'émulsion est centrifugée, puis décantée ; on additionne le culot d'eau physiologique, et on centrifuge ; une dernière fois, on décante, ne laissant que le culot de bacilles. Ces diverses opérations lavent complètement les corps microbiens.

Pour donner issue aux toxines intracellulaires, on s'efforce de rompre le corps bacillaire par des moyens physiques. Les Bacilles lavés sont délayés dans une solution hypotonique, qui doit les gonfler et les faire éclater : urée à 2 p. 100 ou chlorhydrate d'ammoniaque à 1 p. 100. Puis les microbes sont soumis à des alternatives de congélation et de dégel : répartis en tubes scellés, ils sont congelés tous les jours pendant deux heures (appareil utilisant l'évaporation du chlorure de méthyle), et placés le reste du temps dans une étuve à + 58°. Après huit jours de ce traitement, on centrifuge ; le liquide surnageant est la toxine.

Cette toxine, assez active, tue le cobaye à la dose de 1 centimètre cube pour 100 grammes de poids, sous la peau.

Endotoxine de Besredka. — Les cultures de seize à dix-huit heures sur gélose sont délayées dans l'eau physiologique, stérilisées par chauffage à 60° pendant une heure, et desséchées dans le vide. On mélange 1 gramme de la poudre microbienne obtenue avec $0^{gr},30$ de chlorure de sodium sec ; on triture pendant une heure ; on ajoute ensuite, en continuant à triturer, 1 à 2 centimètres cubes d'eau distillée ; les Bacilles s'agglutinent. On additionne alors d'eau distillée en quantité suffisante pour ramener la solution à 0,75 p. 100 de chlorure de sodium ; après vingt-quatre heures de repos, le mélange est porté deux heures à 60° ; on laisse reposer à nouveau douze heures ; on décante enfin le liquide, qui renferme l'endotoxine.

L'endotoxine de Besredka coagule par chauffage prolongé à 65° et au delà. Elle est toxique pour le cobaye, le lapin, le cheval ; la dose mortelle pour le cobaye est $1^{cc},5$ (dans le péritoine).

Typholysine. — D'après E. et P. Lévy, les cultures en bouillon filtrées hémolysent les globules rouges du chien ; la typholysine apparaît au deuxième jour pour être au maximum vers le quinzième jour. Elle est résistante à la chaleur. Chez les chiens inoculés avec des filtrats hémolysants, le sérum acquiert des propriétés antihémolytiques.

Le Bacille typhique ne donne certainement pas dans les cultures jeunes d'hémolysine active sur les hématies humaines.

SIÈGE. — HABITAT.

Le Bacille d'Eberth peut être rencontré : 1° chez l'homme ; 2° dans les milieux extérieurs.

Bacille typhique chez l'homme. — A. **Au cours de la fièvre typhoïde.** — Agent de la fièvre typhoïde, le Bacille

d'Eberth se rencontre chez l'homme pendant toute la durée de la maladie.

Contrairement à ce qu'on pensait naguère, tout le monde accepte aujourd'hui que l'infection typhoïde est le résultat d'une véritable septicémie, avec localisation élective sur certains organes.

Aussi rencontre-t-on le Bacille d'Eberth dans le sang d'une manière à peu près constante (Castellani, Busquet, Courmont, Widal, Sacquépée et Perquis, Ruediger, etc.), en faisant usage de pro-

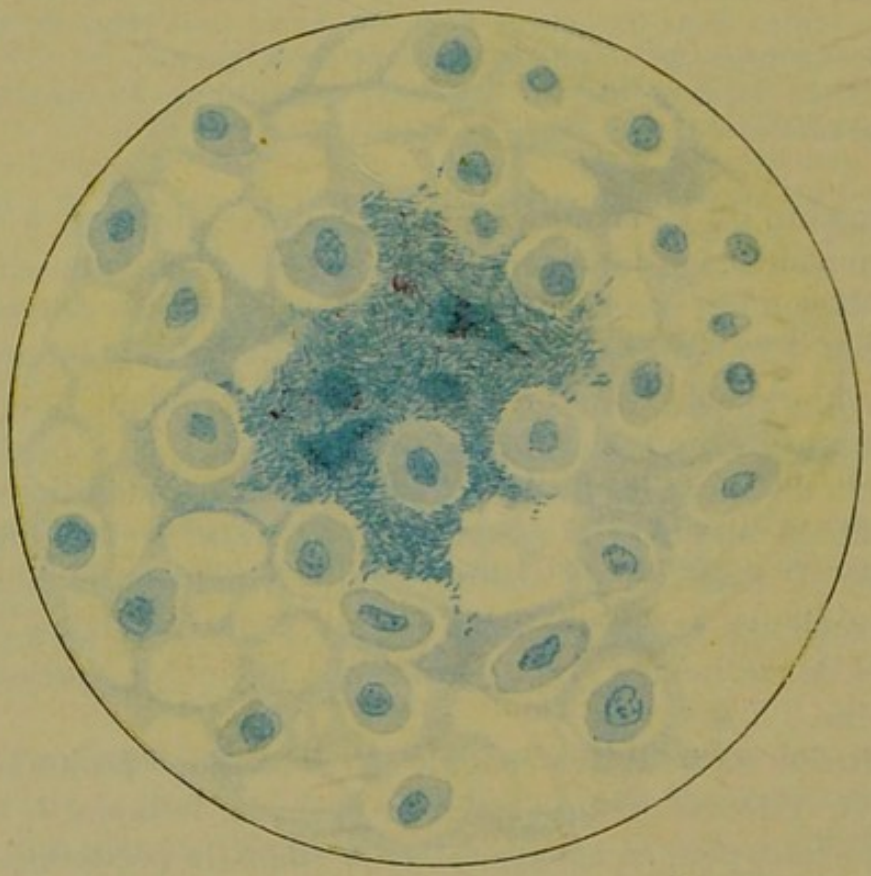


Fig. 203. — Rate typhoïde. Amas de Bacilles typhiques.

cédés de culture appropriés (Voy. p. 867). Les exceptions à cette règle sont infiniment rares, tellement rares que l'hémoculture constitue notre meilleur procédé de diagnostic. Le Bacille est présent dans le sang dès les premiers jours ; il a été signalé au deuxième jour ; il persiste ensuite pendant toute la période d'état, pour disparaître vers la troisième semaine le plus souvent ; mais on le rencontre parfois encore plus tard, même pendant la convalescence (Lesieur).

Le sang étant répandu dans tous les organes, on peut trouver le Bacille d'Eberth, amené par le sang, dans tous les points de l'organisme. Mais il se localise et se multiplie de préférence dans

la rate, les voies biliaires et le foie, la moelle osseuse, les ganglions mésentériques. A l'autopsie, on le rencontre le plus fréquemment dans le sang, les voies biliaires et la rate : cette dernière est parsemée d'amas considérables de bacilles (fig. 203).

Au niveau des taches rosées, on trouve également le Bacille d'Eberth en abondance (Neuhauss).

Le Bacille typhique s'élimine par les excreta les plus importants; outre la bile, il faut citer à ce point de vue l'intestin et l'urine.

Dans l'intestin, on peut trouver le bacille dès les premiers jours de maladie (Rémy) et même plusieurs jours avant l'apparition des tout premiers symptômes (Simon). Il devient ensuite plus abondant, pour disparaître le plus souvent pendant la convalescence ; mais on peut le retrouver beaucoup plus tard (Voy. ci-dessous). Il est inégalement réparti dans le tube digestif : sur 8 autopsies, Forster et Kayser le rencontrent 6 fois dans le haut du jéjunum ; 5 fois à la terminaison du grêle, à 10 centimètres de la valvule ; 2 fois dans le côlon descendant, d'autant moins souvent qu'on s'éloigne plus des voies biliaires.

Le bacille passe assez souvent dans l'urine (Bouchard), dans un cinquième des cas environ (H. Vincent), qu'il existe ou non des troubles urinaires.

La plupart des complications habituelles de la fièvre typhoïde sont ou peuvent être l'œuvre du Bacille typhique : c'est ainsi qu'on le trouve dans les ostéites, les pleurésies, les pneumonies, le laryngo-typhus, les angines, les péricardites, les abcès, etc.

B. **Persistance chez les typhiques guéris.** — Le Bacille peut persister quelque temps dans les excreta des typhiques guéris ; le plus souvent dans l'intestin, parfois dans les urines.

Sa persistance dans l'intestin est généralement due à une lésion chronique des voies biliaires (cholécystite), lésion qui est souvent bien tolérée et passe inaperçue ; de là, le Bacille est évacué dans l'intestin.

Les sujets qui éliminent ainsi des Bacilles sont dits *porteurs de Bacilles*.

L'élimination des Bacilles chez les malades guéris peut cesser moins de trois mois après le début de l'affection (*porteurs convalescents*) ou persister au delà de trois mois (*porteurs chroniques*).

Le nombre des porteurs chroniques peut être estimé en moyenne à 4 ou 5 p. 100. L'élimination de Bacilles est généralement intermittente. On l'a vu persister pendant quatre ans (Conradi).

C. **Présence chez les sujets sains.** — Le Bacille typhique a été signalé chez des sujets sains par Remlinger et Schneider. D'après Rémy et Minelli, on le trouverait seulement chez les personnes en contact avec des malades. Il est certain que le fait est en tout cas exceptionnel.

Bacille typhique dans les milieux extérieurs. — Le Bacille d'Eberth, issu de l'organisme malade, peut contaminer les milieux extérieurs. Si les circonstances s'y prêtent, ces milieux pourront devenir typhogènes.

On sait le rôle considérable attribué à juste titre à l'*eau de boisson* dans la genèse de la fièvre typhoïde ; à maintes reprises on a pu déceler le Bacille typhique dans les eaux suspectes.

Le lait (nombreuses épidémies), les huîtres, les légumes, les fruits à ras de terre, etc., peuvent de même se trouver contaminés par les excreta.

On a également constaté quelquefois la présence du Bacille d'Eberth dans de la terre, des poussières, des engrais desséchés, accusés d'avoir provoqué des épidémies de fièvre typhoïde.

PROCÉDÉS DE RECHERCHE DU BACILLE TYPHIQUE.

Nous envisagerons successivement la recherche dans les selles, puis dans l'eau. *Les procédés indiqués pour le Bacille typhique seront également utilisés pour la recherche des Bacilles paratyphiques.*

Recherche du Bacille typhique dans les selles. — La recherche du Bacille typhique dans les fèces se heurte à de sérieuses difficultés provenant de la présence constante de germes très nombreux, particulièrement du Colibacille ; les deux microbes, en effet, présentent sensiblement les mêmes caractères généraux de culture sur les milieux habituels, et d'autre part le Colibacille est plus résistant que le bacille typhique à l'égard de presque tous les agents physiques ou chimiques. En outre, la présence du Colibacille dans les cultures gêne à un tel point le développement du Bacille d'Eberth qu'on avait même pensé, à un moment donné, qu'il l'étouffait complètement ; cette conception était d'ailleurs inexacte.

1° On peut s'opposer au développement de la plupart des microbes intestinaux en additionnant les milieux de certaines substances, à doses telles qu'elles soient antiseptiques pour ces microbes sans gêner la culture du Bacille d'Eberth. La plupart de ces substances, acide phénique (Chantemesse), kristal-violet (Drigalski-Conradi), fuchsine (Endo) ou fuchsine acide (Kindborg), laissent se développer librement le Colibacille aussi bien que le Bacille d'Eberth. D'autres substances, caféine (Roth), vert-malachite (Löffler), vert brillant et acide picrique (Conradi), vert de Chine, azobleu, etc., ont été données comme susceptibles d'entraver le développement du Colibacille lui-même, sans gêner le Bacille typhique ; le fait n'est qu'en partie exact et l'extrême variabilité de l'espèce Colibacille explique facilement qu'on ne puisse aboutir dans cette voie à des conclusions absolues : certains Colibacilles se développent comme le Bacille typhique.

L'emploi du vert-malachite demande quelques explications. Löffler avait d'abord avancé qu'à dose de 1 p. 4 000 il ne gênait pas le développement du Bacille typhique, mais, par contre, mettait obstacle à la culture du Colibacille. On s'aperçut immédiatement que la dose optima de vert malachite est très variable suivant les échantillons de cette substance. Depuis lors, la préparation commerciale du vert-malachite a fait de grands progrès ; il est beaucoup plus antiseptique, de telle sorte que les indications données ces dernières années correspondent à des doses relativement très faibles, jusque 1 p. 38 000 environ (Gäethgens). Toutefois, même à l'heure actuelle, le vert-malachite demeure variable d'un échantillon à l'autre ; il appartient à chacun de déterminer la dose optima pour chaque flacon employé. Aussi les formules données ci-dessous, en ce qui concerne le vert-malachite, n'ont-elles qu'une valeur restreinte.

2° Le Colibacille et le Bacille typhique s'accommodent également bien des diverses substances nutritives habituellement présentes dans les milieux. Mais il semble que la bile (Conradi) et plus spécialement le taurocholate de soude (Dunschmann) favorisent plus le Bacille d'Eberth que le Colibacille.

3° De toute manière, on n'arrive jamais à empêcher qu'un certain nombre de Colibacilles ne se développent en même temps que le Bacille typhique.

Pour différencier les deux microbes, on s'adresse presque toujours à des procédés imités de Würtz : on additionne les milieux de lactose ; le Bacille coli seul donne des acides, qu'on met en évidence par un indicateur variable (tournesol, substances colorantes) ; le Bacille d'Eberth ne donne pas d'acides et ne change pas la teinte des milieux.

Milieux d'isolement et milieux d'enrichissement. — Au point de vue pratique, il y a lieu d'étudier des *milieux d'isolement* et des *milieux d'enrichissement*.

Sur les *milieux d'isolement*, le Bacille typhique donne des colonies assez bien différenciées ; mais ces milieux ne mettent généralement pas obstacle au développement du Bacille coli, de telle sorte qu'on ne peut y ensemencer que peu de fèces.

Les *milieux d'enrichissement*, au contraire, sont plus favorables pour le Bacille typhique que pour le Bacille coli ; ils permettent parfois d'isoler directement le Bacille d'Eberth, mais le fait est assez rare, parce que les colonies sont le plus souvent mal différenciées. Leur avantage est surtout de permettre une multiplication proportionnellement prédominante du Bacille typhique ; on pourra ensuite rechercher ce dernier par réensemencements sur les milieux d'isolement.

Marche générale des recherches. — A. Dans la pratique courante, et pour les besoins de la clinique, il suffit d'ensemencer les

fèces sur milieux d'isolement. Les milieux seront répartis en grandes boîtes de Petri et séchés avant usage par un séjour de quinze à trente minutes à l'étuve, couvercle en partie enlevé. On dilue les selles dans l'eau ordinaire stérilisée, de manière à obtenir une émulsion bien homogène et nettement trouble ; on dépose une ou deux gouttes de l'émulsion en bordure de la boîte, et on étale progressivement, à l'aide d'une spatule d'étalement (p. 154). Avec un peu d'habitude, une ou deux grandes boîtes suffisent.

Les boîtes sont ensuite placées à l'étuve, couvercle en bas. Après seize ou vingt-quatre heures, on examine ; les colonies suspectes sont soumises à un premier contrôle (morphologie, coloration simple et au Gram, mobilité) et réensemencées ensuite sur les divers milieux de différenciation. *On ne doit considérer comme Bacilles typhiques que les microbes présentant d'une manière incontestable tous les attributs de l'espèce* (morphologie, cultures, propriétés biologiques, réaction à l'égard des sérums).

B. Le procédé précédent donne toujours un résultat positif quand les Bacilles sont assez abondants. Spécialement pour la prophylaxie, il peut être utile de chercher à les déceler quand ils sont moins nombreux. On opérera alors comme suit.

Ensemencer en milieu d'isolement, comme ci-dessus.

En outre, ensemencer VI à X gouttes de l'émulsion en milieu d'enrichissement.

Après le temps voulu de séjour à l'étuve (vingt-quatre heures en général), examiner les deux plaques. S'il n'y a pas de colonies nettement suspectes et isolées, sur l'une ou l'autre, le produit de la culture sur milieux d'enrichissement est émulsionné dans l'eau stérile, et l'émulsion ainsi obtenue est réensemencée sur milieux d'isolement. Ces boîtes de milieu d'isolement seront traitées ensuite comme ci-dessus.

Parmi les milieux d'isolement, nous recommandons surtout le milieu d'Endo. Celui de Fawcus est également très bon, mais sa préparation est un peu compliquée.

Comme milieux d'enrichissement, le milieu de Lentz et Tietz et celui de Ficker et Hoffmann ont à peu près la même valeur.

Milieux d'isolement. — *Milieu d'Endo.* — Au milieu nutritif, on ajoute comme antiseptique la fuchsine (fuchsine basique), que l'on réduit ensuite à l'état de rosaniline, incolore, par le sulfite de soude. Le milieu renferme en outre de la lactose, que le Bacille coli attaque en donnant des acides ; ces acides, en se combinant à la rosaniline, font apparaître une teinte rouge ; au contraire, le Bacille d'Eberth et les Bacilles paratyphiques n'attaquent pas la lactose et ne recolorent pas.

A. On prépare les solutions suivantes :

a. Dans 1 litre d'eau, faire macérer 500 grammes de viande de bœuf, traiter comme d'ordinaire. Ajouter à la macération exprimée 10 grammes de peptone et 5 grammes de sel marin, puis 30 grammes de gélose; faire fondre à 100° (autoclave ouvert), filtrer.

b. Lactose, 10 grammes, dans 100 centimètres cubes d'eau ; stériliser.

c. Soude, solution à 10 p. 100; stériliser.

d. Fuchsine, 1 gramme dans 10 centimètres cubes d'alcool à 95°; broyer au mortier, laisser reposer vingt-quatre heures, filtrer.

e. Sulfite de sodium anhydre, 2gr,50 dans 25 centimètres cubes d'eau ; stériliser.

B. Sitôt la solution *a* filtrée, la neutraliser ; ajouter ensuite 10 centimètres cubes de soude stérile à 10 p. 100, puis la solution de 10 grammes de lactose ; puis 5 centimètres cubes de la solution de fuchsine, enfin les 25 centimètres cubes de sulfite de soude à 10 p. 100. Avoir soin de mélanger très soigneusement après chaque opération.

Répartir ensuite en flacons de 50 à 200 centimètres cubes ; stériliser. Conserver au froid et à l'obscurité. Le milieu peut être conservé plusieurs semaines. Au moment de l'usage, faire fondre au bain-marie et couler en boîtes de Petri.

C. On peut éviter de renouveler fréquemment toutes les manipulations. Dans ce but, on prépare la solution *a* comme ci-dessus; on neutralise, alcalinise et ajoute la lactose ; répartir à ce moment par fractions de 100 centimètres cubes (exactement).

Au moment de l'emploi, faire fondre le contenu d'un flacon de 100 centimètres cubes ; à la gélose fondue ajouter :

Fuchsine à 1 p. 10.....	0cc,5
Sulfite de soude à 1 p. 10.....	2cc,5

Le Bacille typhique donne des colonies incolores, de 3 millimètres de diamètre environ en vingt-quatre heures; le Bacille coli donne des colonies rouges, opaques.

Milieu de Gäethgens. — Identique au précédent, sauf deux modifications. Après neutralisation (à la phtaléine du phénol), ajouter par litre : 15 centimètres cubes de lessive normale de soude; 3gr,3 de caféine.

Milieu de Drigalski-Conradi. — Antiseptique : le kristall-violet.

A. On prépare les trois solutions suivantes :

a. Faire macérer pendant vingt-quatre heures 1 500 grammes de viande dans 2 litres d'eau, puis exprimer, faire bouillir une heure ; ajouter 20 grammes de peptone de Witte, 20 grammes de nutrose et 10 grammes de sel marin ; faire bouillir une heure; ajouter 60 grammes de gélose, porter une heure à l'autoclave, dans un ballon.

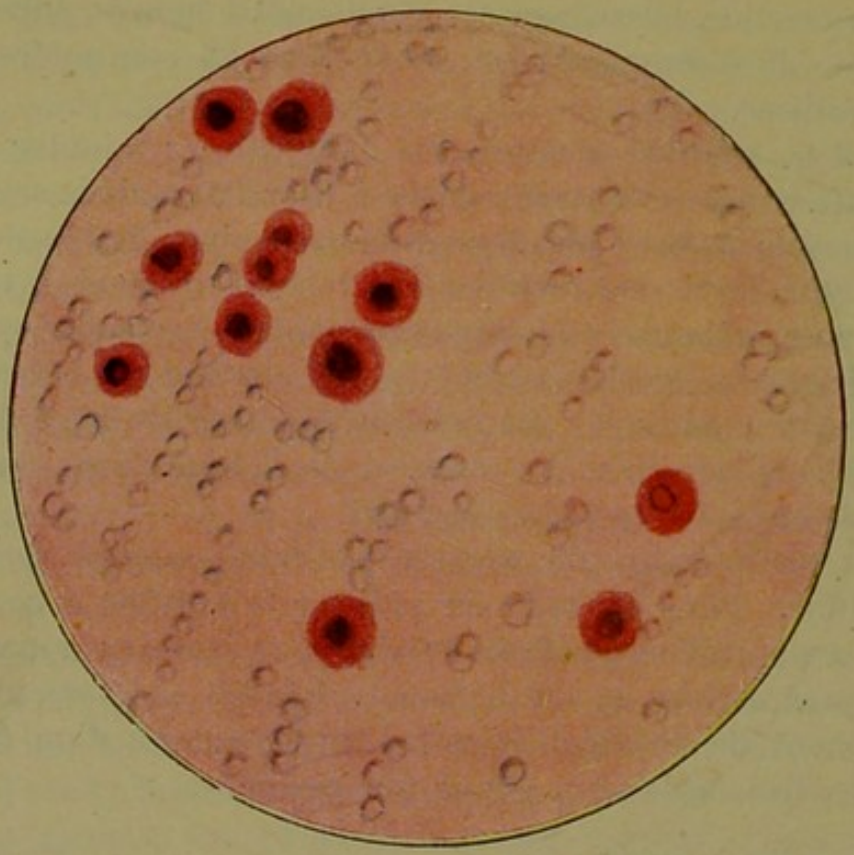
On peut remplacer la macération de viande par 20 grammes d'extrait Liebig.

b. Dissoudre 30 grammes de lactose dans 300 centimètres cubes de teinture de tournesol; faire bouillir quinze minutes.

c. Stériliser une solution de soude à 10 p. 100.

d. Dissoudre 0gr,10 de kristall-violet (marque Höchst) dans 100 centimètres cubes d'eau distillée chaude.

B. La solution *a* encore chaude et liquide, y verser la solution lactose-tournesol; puis agiter pour faire mousse et incliner pour porter la mousse dans le col; ajouter de la soude jusqu'à ce que la mousse soit légèrement



204. — Isolement du Bacille typhique venant des matières fécales sur milieu d'Endo. Colonies rouges : Colibacille ; colonies incolores : Bacille typhique.

bleue. A ce moment, ajouter encore 4 centimètres cubes de soude à 10 p. 100. Verser enfin 20 centimètres cubes de la solution de kristall violet. Répartir en flacons ou en boîtes de Petri.

Le Bacille d'Eberth et les Bacilles paratyphiques donnent des colonies incolores. Les colonies du Bacille coli sont rouges.

Milieu de Chantemesse. — Antiseptique : acide phénique.

Le milieu nutritif renferme : peptone, 3 grammes; lactose, 2 grammes; gélose, 2 grammes; eau, 100 grammes.

Au moment de l'emploi, on ajoute au milieu liquéfié, pour 10 centimètres cubes : 1° IV gouttes d'acide phénique à 3 p. 100; 2° 1 centimètre cube de teinture de tournesol. Répartir en boîtes de Petri.

Les colonies de Bacille typhique sont incolores ; celles du Bacille coli sont rouges.

Milieu de Kindborg. — Antiseptiques : fuchsine acide et vert-malachite.

Préparer 1 litre de bouillon gélosé à 3 p. 100; neutraliser; ajouter successivement :

Lessive normale de soude, 3cc,75.

Lactose, 50 grammes.

Fuchsine acide, solution aqueuse saturée, 50 centimètres cubes.

Vert-malachite, solution aqueuse à 1 p. 120, 40 centimètres cubes.

Les colonies de Bacille typhique décolorent le milieu; les colonies de Bacille coli sont rouges.

Milieu de Conradi. — Antiseptiques : vert brillant et acide picrique.

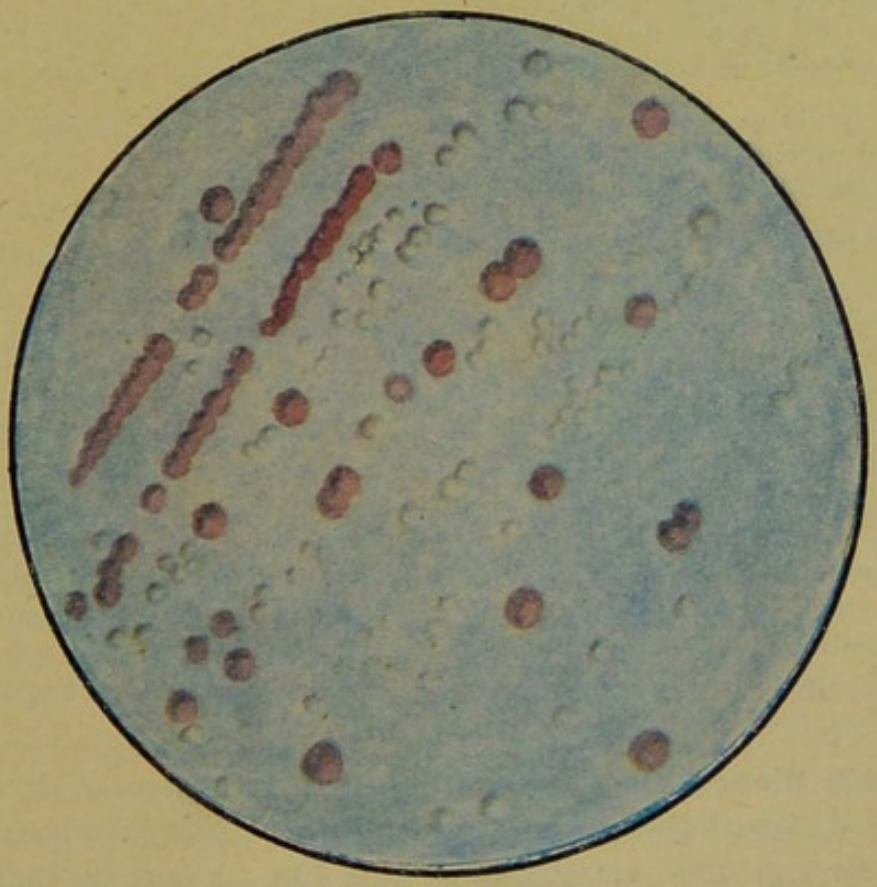


Fig. 205. — Isolement du Bacille typhique venant des matières fécales sur milieu de Drigalski-Conradi. — Colonies rouges : Colibacille; colonies incolores : Bacille typhique.

a. Dans 900 grammes d'eau, faire fondre 20 grammes d'extrait Liebig et 30 grammes de gélose ; stériliser, filtrer sur coton. Ajouter 100 centimètres cubes d'une solution stérilisée de peptone de Witte à 10 p. 100.

b. Acidifier le milieu à 3 p. 100 (de telle sorte que 100 centimètres cubes soient neutralisés à la phtaléine du phénol, par l'addition de 3 centimètres cubes de lessive normale de soude). Dans ce but, on prélève un échantillon de milieu ; on cherche combien il faut y ajouter d'alcali (lessive normale de soude), ou d'acide (solution normale d'acide phosphorique), pour obtenir le degré voulu d'acidité. Un calcul très simple fera connaître combien il faut ajouter d'acide ou d'alcali à la masse restante.

c. A 1 500 centimètres cubes du milieu acidifié, ajouter :

Vert brillant cristallisé, extra pur (Grübler), solution aqueuse à 1 p. 1 000.....	10 centimètres cubes.
Acide picrique, solution aqueuse à 1 p. 100.	10 — —

d. Répartir.

Le Bacille coli pousse très peu ou pas du tout. Les colonies de Bacille typhique sont d'un vert clair, transparentes; celles des Bacilles paratyphiques sont vert jaunâtre.

Milieu de Fawcus. — Antiseptiques : comme le précédent. Le milieu est analogue au milieu de Conradi, sauf les modifications suivantes.

Au temps *a*, ajouter en plus 5 grammes de taurocholate de soude et 20 grammes de sel marin.

Au temps *b*, porter l'acidité à 1,5 p. 100, avec les solutions normales de soude ou d'acide lactique. Ajouter 10 grammes de lactose, dissous dans 100 centimètres cubes d'eau.

Répartir en flacons de 150 centimètres cubes.

c. Au moment de l'emploi, faire fondre ; ajouter, par flacon :

Vert brillant, solution à 1 p. 1 000..... ... 3 centimètres cubes.
Acide picrique, solution à 1 p. 100..... 3 —

Couler en boîtes de Petri.

Les acides formés par le Colibacille précipitent le taurocholate (teinte noire).

Le Bacille d'Eberth et les Bacilles paratyphiques donnent des colonies transparentes ou vert pâle ; les colonies du Colibacille sont opaques et le plus souvent vert très foncé, parfois blanches.

Milieu de Dünschmann. — Ce milieu ne renferme aucun antiseptique susceptible de gêner le développement de la plupart des germes.

On emploie, pour 100 grammes d'eau : peptone, 3 grammes; lactose, 3 grammes ; gélatine, 1 gramme ; taurocholate de soude, 1 gramme ; gélose, 3 grammes. Faire dissoudre, chauffer à 120° ; filtrer, répartir par 10 centimètres cubes et stériliser. Ajouter après stérilisation 1 centimètre cube de teinture de tournesol par tube.

Pour l'emploi : répartir en boîtes de Petri; ensemencer quatre à cinq boîtes, sans recharger la spatule.

Milieux d'enrichissement. — *Milieu de Löffler et de Lentz et Tietz.* — Antiseptique : le vert-malachite. Préparer du bouillon gélosé à 3 ou 4 p. 100 ; alcaliniser à 1 p. 100 suivant les indications données ci-dessus, procédé de Conradi, temps *b*; ajouter enfin la proportion optima de vert-malachite, proportion très variable, comme nous l'avons dit plus haut.

On utilisera ce milieu comme il est indiqué ci-dessus (p. 456).

Milieu de Padlewsky. — A 1 litre de bouillon gélosé à 4 p. 100, ajouter 3 p. 100 de bile de bœuf et 1 p. 100 de lactose ; alcaliniser légèrement ; répartir et stériliser. Avant l'emploi, ajouter pour 100 centimètres cubes de milieu :

5 centimètres cubes de solution aqueuse de vert-malachite à 1 p. 100;

5 centimètres cubes de bile ;

1 centimètre cube de sulfite de soude à 10 p. 100.

Milieu de Werbitzki. — Antiseptique : le vert de Chine.

Préparer 1 litre de bouillon peptoné (peptone de Witte, 1 p. 100), et

gélosé à 3 p. 100, alcaliniser à 1,3 p. 100, chauffer à l'autoclave, filtrer, répartir par 100 centimètres cubes et stériliser.

Au moment de l'emploi, ajouter, pour 100 centimètres cubes de milieu, 1cc,4 à 1cc,5 de vert de Chine en solution aqueuse à 2 p. 1 000.

Recherche du Bacille typhique dans l'eau. — L'épidémiologie démontre à l'évidence que le Bacille typhique existe souvent dans l'eau ; mais l'analyse bactériologique est presque toujours impuissante à le déceler, pour des raisons diverses.

1° On pratique généralement l'analyse à propos d'une épidémie ; or, celle-ci apparaît en moyenne quinze jours au moins après la date de contamination de l'eau, et pendant ce laps de temps le Bacille typhique a le plus souvent disparu.

2° Le Bacille typhique provenant presque toujours de fèces est fatalement accompagné d'un nombre considérable de Colibacilles ; ces derniers, plus résistants dans l'eau et plus vivaces dans les cultures, gênent beaucoup la recherche. Il en est de même d'un très grand nombre d'autres microbes.

On a également avancé que le Bacille typhique modifie ses caractères quand il vit en présence de Colibacille, mais le fait nous paraît improbable, car il est en contradiction absolue avec les constatations faites tous les jours dans la fièvre typhoïde humaine ; le Bacille typhique de l'intestin conserve en effet ses attributs, malgré la présence concomitante du Colibacille.

Conduite de l'expertise. — Le mieux est d'ensemencer sur l'un ou l'autre des milieux d'isolement étudiés ci-dessus (p. 456). Mais, le Bacille typhique étant toujours peu abondant dans les eaux, il est presque constamment nécessaire d'user d'un artifice : on concentre les microbes, ou bien on favorise la pullulation du Bacille d'Eberth, ou bien on le sépare par mobilité.

Certains auteurs se contentent de simples cultures sur plaques de gélatine ; mais ce procédé est tout à fait insuffisant, la quantité d'eau examinée dans ces conditions étant forcément très restreinte.

Concentration par précipitation. — *Procédés de Vallet et de Schueder.* — A 1 litre d'eau à analyser, ajouter 10 centimètres cubes d'hyposulfite de soude à 7,75 p. 100 (stérilisé), puis 10 centimètres cubes d'azotate de plomb à 10 p. 100 ; on centrifuge, ou bien on laisse reposer pendant vingt-quatre heures. Le liquide surnageant est décanté ; on ajoute au dépôt 7 centimètres cubes d'hyposulfite de soude à 100 p. 100 ; on agite, laisse reposer et décante. Le liquide clair est ensemencé sur milieux d'isolement, à raison de 0cc,5 à 2 centimètres cubes par boîte.

Procédé de Ficker. — A 1 litre d'eau, ajouter 4 centimètres cubes de soude à 10 p. 100, puis 3cc,5 de sulfate de fer à 10 p. 100. Centrifuger après précipitation, dissoudre le dépôt dans son demi-volume de tartrate de potasse à 25 p. 100 ; ensemencer sur milieux d'isolement.

Procédé de Müller. — Pour 3 litres d'eau, ajouter 10 centimètres cubes de soude à 10 p. 100, puis 5 centimètres cubes d'oxychlorure de fer; enrichir le dépôt par cultures dans la bile ; ensemencer sur milieux d'isolement la culture obtenue.

Concentration par dépôt sur bougie filtrante. — On fait filtrer l'eau par aspiration (p. 108), à travers une bougie filtrante ; un enduit se dépose sur la paroi externe de la bougie. Cet enduit renferme la majeure partie des microbes. On le détache avec un tampon d'ouate stérile qu'on émulsionne ensuite dans une petite quantité d'eau ; l'émulsion obtenue est ensemencée sur milieux d'isolement. Ce procédé, très simple, est l'un des meilleurs.

Concentration par agglutination. — *Procédé de Chantemesse.* — Chantemesse fait justement observer que le Bacille typhique végète mal dans l'eau; pour le rajeunir, on fait tout d'abord une culture totale de l'eau, en l'additionnant de 3 p. 100 de péptone Defresne et plaçant vingt heures à l'étuve à 21°. On filtre ensuite sur papier stérile ; on additionne le filtrat de sérum antityphique. Les Bacilles typhiques s'agglutinent en grumeaux. On centrifuge ; le dépôt obtenu est additionné de bouillon, émulsionné, et filtré sur papier stérile : les amas restent sur le filtre. On tamponne le filtre avec un bouchon de verre ; le bouchon est essuyé sur des plaques de gélose lactosée phéniquée (p. 458).

Les procédés de Windelbandt et d'Altschüler sont identiques au précédent dans leurs points essentiels.

Séparation basée sur la mobilité. — *Procédé de Cambier.* — Le Bacille typhique, très mobile, traverse les bougies filtrantes plus rapidement que les autres microbes.

a. On filtre l'eau sur bougie filtrante et on recueille le dépôt (comme ci-dessus, concentration par dépôt); le tampon d'ouate est placé dans quelques centimètres cubes de la solution suivante : peptone Defresne, 100 grammes ; soude à 1 p. 100, 12 centimètres cubes; sel marin (solution saturée), 12 centimètres cubes. On met à l'étuve à 37°, pendant trois heures.

b. D'autre part, on place une bougie Chamberland F dans un grand tube à essais ; on stérilise le tout ; au moment de l'emploi, on introduit dans la bougie 20 centimètres cubes de la solution pepto-salée indiquée plus haut. On porte à 37°; le liquide filtre à travers la paroi et se répand dans le tube.

c. On ensemence l'émulsion microbienne, préparée en *a*, dans le liquide nutritif placé à l'intérieur de la bougie. On porte à 37°. On surveille le liquide extérieur ; dès qu'il se trouble, on en prélève une partie pour ensemencer sur les milieux habituels.

Dans les épreuves faites avec des Bacilles de laboratoire, le Bacille typhique passe généralement plus vite que le Bacille coli ; mais, en pratique, il en va tout autrement. Ce procédé, ingénieux, n'est guère utilisé.

Enrichissement dans un milieu électif. — On additionne l'eau à analyser des éléments d'un des milieux d'enrichissement étudiés plus haut (p. 460). La formule la plus employée est celle de Ficker et Hoffmann.

Procédé de Ficker et Hoffmann. — A 900 centimètres cubes d'eau, on ajoute successivement :

Solution de nutrose à 10 p. 80.....	80	centimètres	cubes.
Solution de caféine à 25 p. 100.....	20	—	—
Solution de kristal-violet à 0,1 p. 100.....	10	—	—

Placer douze heures à l'étuve à 37°. Ensemencer la culture obtenue sur les milieux d'isolement.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Pour le clinicien, il est d'une importance capitale de pouvoir baser sur les procédés bactériologiques un diagnostic d'infection typhoïdique.

Les procédés susceptibles d'applications cliniques essayent de déceler chez le malade l'existence soit du Bacille typhique lui-même, soit des anticorps spécifiques.

De beaucoup les plus importants sont l'hémoculture (recherche du Bacille dans le sang) et le sérodiagnostic (réaction de Widal).

I. **Recherche du Bacille dans le sang (hémoculture).** — Le Bacille typhique est présent dans le sang pendant toute la maladie (Voir p. 451). On peut le déceler en pratiquant des cultures du sang.

Les procédés à mettre en œuvre seront décrits plus loin (p. 867).

On trouve le Bacille d'autant plus facilement que l'affection est moins avancée. C'est ce qui ressort de la statistique de Coleman et Buxton, basée sur 581 cas empruntés à la littérature médicale.

Dans la 1re semaine.....	93 p. 100	résultats	positifs.
— 2e —	79	—	—
— 3e —	56	—	—
— 4e —	32	—	—

Dans tous les cas, une fois la culture obtenue, *il est toujours indispensable de procéder à un isolement* et de vérifier les caractères du microbe sur des colonies bien isolées. L'oubli de cette précaution élementaire entraîne à des erreurs grossières. L'isolement est toujours nécessaire, au moins toutes les fois que les cultures donnent lieu à quelque hésitation au point de vue de l'identification du microbe, et même si l'aspect microscopique ne décèle que des Bacilles de morphologie uniforme (il y a assez souvent infection mixte par le Bacille typhique et les Bacilles paratyphiques).

L'isolement s'obtient facilement par dilutions sur tubes de gélose. On peut d'ailleurs utiliser tout autre procédé (isolement sur un milieu différentiel, par exemple).

Une ou plusieurs colonies isolées seront ensuite identifiées. Dans cette recherche, on s'assurera que le Bacille possède bien l'ensemble des attributs du Bacille typhique, spécialement en ce qui concerne

la morphologie, les caractères culturaux et les réactions à l'égard des sérums.

On se souviendra que les cultures provenant directement du malade sont parfois peu agglutinables dans les premières générations (Sacquépée et Perquis). L'aptitude agglutinative réapparaît dans les cultures ultérieures (J. Courmont).

II. **La réaction de Widal, ou application de la séro-réaction au diagnostic des infections typhoïdes humaines.** — Nous avons vu plus haut que le sérum des malades infectés par le Bacille d'Eberth acquiert la propriété d'agglutiner ce Bacille ; cette réaction, ou réaction de Widal, peut être utilisée pour le diagnostic.

La réaction de Widal est aujourd'hui d'usage courant. Elle ne présente aucune difficulté ; certaines variantes permettent de la pratiquer en dehors même des laboratoires. Mais il est certaines précautions nécessaires dans la technique.

A. *Technique.* — **Précautions d'ordre général.** — On fera usage d'un échantillon de Bacille typhique connu, normalement agglutinable.

Avant de commencer ou de conclure une épreuve, il est indispensable de s'assurer que la culture employée ne présente pas d'amas (agglutination spontanée).

Toute réponse positive sera basée sur une réaction très nette, indiscutable, faite à un taux suffisamment élevé.

Procédé recommandé :

a. La veille de l'expérience, ensemencer le Bacille d'Eberth en eau peptonée (ou à défaut en bouillon). Une culture de vingt-quatre heures est celle qui se prête le mieux à la réaction (Bacilles très mobiles, nombreux, généralement pas d'amas spontanés).

b. Recueillir le sérum sanguin (Voy. p. 212).

c. Pour l'épreuve, disposer au moins deux verres de montre (ou deux petits tubes à essai). Répartir dans chacun, à la pipette, XX gouttes de culture. S'assurer (examen microscopique) que la culture ne présente pas d'amas (fig. 206).

Pour répartir la culture et, plus tard, le sérum, il faut employer des pipettes de même calibre, afin d'obtenir une mensuration exacte. C'est facile, avec un peu d'habitude. On peut d'ailleurs n'utiliser qu'une seule pipette pour une expérience. Si l'on devait prélever plusieurs sérums différents, laver la pipette (sérum artificiel) avant de prélever un nouvel échantillon de sérum.

On aura soin également de maintenir la pipette sous la même inclinaison pendant toutes les répartitions.

d. Diluer le sérum à un huitième dans l'eau physiologique.

e. Aux verres de montre, ajouter respectivement : au n° 1, 11 gouttes de sérum dilué ; au n° 2, 1 goutte.

Agiter (fil de platine) pour bien mélanger.

Un calcul très simple montre que les réactions sont faites respectivement à 1 p. 80 et 1 p. 160.

f. Laisser reposer en surveillant de temps à autre.

Si la réaction est nettement positive, on voit se former dans le mélange des flocons, qui grossissent peu à peu et se déposent au

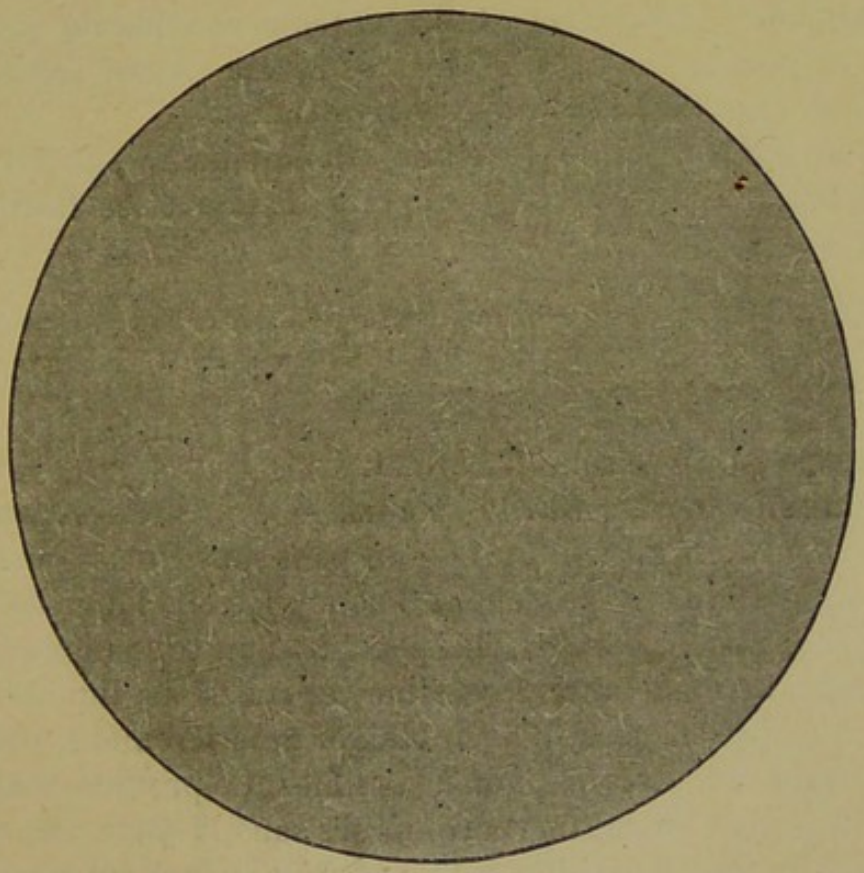


Fig. 206. — Culture de Bacille typhique (témoin) examiné à l'état frais.

fond du verre (ou du tube), en même temps que le liquide s'éclaircit.

Cet *examen macroscopique*, quand la formation de grumeaux ou flocons est bien nette, donne une indication de premier ordre : la réaction est positive. Mais il est toujours utile de contrôler par un *examen microscopique*.

g. Au bout d'une demi-heure, — plus tôt, si l'examen macroscopique en donne l'indication, — on procédera à l'*examen microscopique*.

Agiter les mélanges (fil de platine) pour répartir uniformément. Porter entre lame et lamelle une anse du mélange n° 2 (au 160e).

Examiner à l'état frais, sans coloration : objectif 7 ou 8. S'il y a

lieu (résultat négatif), répéter la même opération avec le mélange n° 1.

On reconnaîtra une *agglutination positive* aux caractères suivants : Les Bacilles isolés sont rares ou presque absents. La préparation renferme surtout des amas plus ou moins volumineux, nettement séparés les uns des autres ; les uns petits, formés de 4 à 5 Bacilles à peine déformés ; d'autres énormes, masses indistinctes de Bacilles agglomérés et comme fondus ensemble ; d'autres de volume intermédiaire (fig. 207).

Remarque. — L'épreuve est d'autant plus concluante que l'agglutination se produit à une dilution plus élevée. Aussi *est-il toujours très utile de chercher le taux d'agglutination.*

Dans ce but, et si la réaction est nettement positive dans le mélange n° 2 ci-dessus, on pratiquera de nouvelles dilutions, par exemple à :

1 p. 100, soit I goutte de sérum au 10e pour XX gouttes de culture.
1 p. 500, — — — 25e — — — —
1 p. 1 000, — — — 50e — — — —

Procéder ensuite comme plus haut.

Variantes. — Concernant la culture. — a. *Variante recommandée.* — A la culture en milieu liquide, on peut substituer avec avantage l'émulsion, faite avec soin, dans l'eau physiologique, de Bacilles cultivés sur gélose ; répartir le produit d'un tube incliné (culture vingt-quatre heures) dans 15 centimètres cubes de liquide. Laisser reposer quelques heures, ou centrifuger grossièrement, pour précipiter au fond les quelques amas possibles. Ce procédé a des avantages : il permet de conserver toujours sous la main une émulsion prête à servir, dans un milieu qui ne se prête pas aux contaminations ; la même émulsion peut servir pendant plusieurs semaines (en ayant soin de transvaser après dépôt et d'agiter au moment de l'emploi). Il évite complètement les amas spontanés.

b. Pour être toujours prêt à pratiquer un sérodiagnostic, on peut *conserver la culture.* Le meilleur procédé est celui décrit dans le paragraphe précédent (*a*). A défaut, on peut utiliser des cultures « fixées » par le formol, I goutte de formol par CL gouttes de culture (Widal et Sicard). P. Courmont préfère cultiver et conserver dans le milieu suivant, réparti en grands tubes remplis aux deux tiers (les amas tombent au fond) : eau, 100 ; peptone, 2 ; glucose, 1.

Concernant le mode de réaction. — *c.* Au procédé de choix ci-dessus, extemporané, on peut substituer un *procédé lent* (Voy. p. 64, *Procédés macroscopiques*, 1).

d. Quand on doit faire un grand nombre de réactions en peu de temps, on peut se contenter du *procédé extemporané avec simple examen macroscopique* ; se servir des tubes et ne jamais oublier le tube témoin. On se souviendra que le procédé macroscopique est moins sensible que le procédé de choix (avec examen microscopique) ; les taux-limites d'agglutination seront un peu moins élevés.

Concernant la température. — *e*. Spécialement pour le procédé *d*, il est avantageux de pratiquer les réactions à température élevée, 50° environ. Les résultats apparaissent beaucoup plus vite qu'à la température ambiante ; ne pas attendre plus de deux heures.

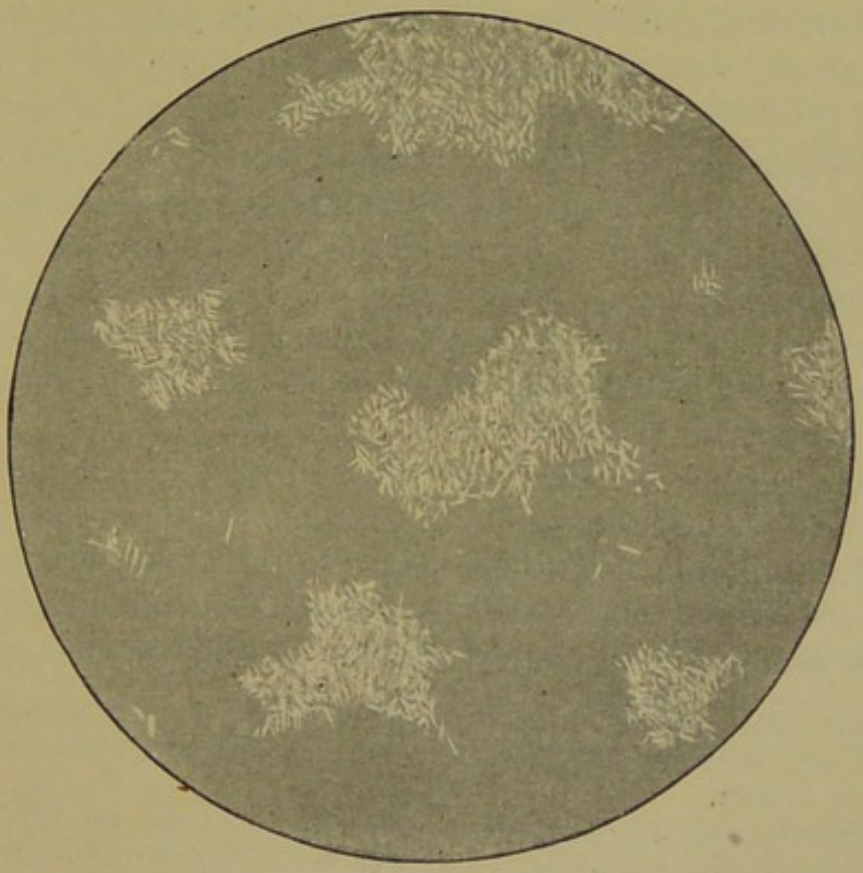


Fig. 207. — Culture du Bacille typhique agglutiné.

Concernant le sang desséché. — *f*. On a constaté que le sang desséché sur papier (Widal et Sicard) ou sur lame de verre (Besson) conserve ses propriétés agglutinantes pendant plusieurs mois. Le fait est intéressant mais inapplicable en clinique, car on ne peut faire de dosages sérieux. Pour l'emploi, on dissout d'abord le sang sec dans un peu d'eau ; cette solution sanglante est utilisée comme le sérum.

B. *Interprétation des résultats de la réaction de Widal.* — Le résultat peut être positif (agglutination) ou négatif (pas d'agglutination).

Un résultat positif à dilution élevée, au moins 1 p. 80, indique

une infection par le Bacille d'Eberth, si par ailleurs les signes cliniques ne contredisent pas ce diagnostic. La certitude est d'autant plus grande que le taux-limite est plus élevé.

Il appartient au clinicien de se souvenir qu'une infection éberthienne antérieure a pu laisser après elle des propriétés agglutinantes. Si le malade a présenté quelque affection provoquée par le Bacille typhique, un sérodiagnostic positif d'emblée n'a guère de signification ; il reprendrait au contraire toute sa valeur si, négatif au début de la maladie actuelle, il devenait positif dans la suite.

Un résultat négatif constitue un signe de grande présomption, mais non de certitude, contre l'existence d'une fièvre typhoïde (Widal). Il est alors nécessaire de répéter l'épreuve ultérieurement.

Nous engageons le médecin chargé d'un laboratoire à formuler ainsi ses réponses : *sérodiagnostic nettement positif pour le Bacille typhique à 1 p. x ; ou sérodiagnostic négatif à 1 p. x.*

C. ***Séropronostic.*** — D'après P. Courmont, la courbe d'agglutination est régulière, d'abord ascendante, puis descendante, dans la fièvre typhoïde normale. Elle demeure basse ou irrégulière dans les formes graves.

III. **Autres méthodes de diagnostic.** — ***Recherche du bacille dans les excreta.*** — La présence du bacille dans les selles est inconstante ; on le trouve dans la moitié ou le tiers des cas environ, suivant les estimations. Sans être difficile, l'examen bactériologique des fèces demande beaucoup d'application et d'habitude.

Le praticien du laboratoire fera bien de s'exercer au préalable en ensemençant un mélange de *B. coli* et de *B. typhique*, puis des selles de typhiques avérés.

La méthode est utile surtout quand l'hémoculture est impossible ou négative (particulièrement dans les formes légères) et que les résultats du sérodiagnostic ne sont pas suffisamment probants. Elle est nécessaire pour la recherche des porteurs de bacilles. On ne devrait pas rendre un typhique à la vie courante avant de s'assurer s'il excrète ou non des bacilles.

Au point de vue technique, on emploiera l'une ou l'autre des méthodes décrites ailleurs (Voy. p. 454) ; il est bon de s'habituer à l'une d'elles.

Ne pas oublier que toute colonie suspecte doit être identifiée avec le plus grand soin. Les microbes qui prêtent le plus à confusion avec le Bacille typhique sont : Bacilles paratyphiques, *B. fæcalis alcaligenes*, certaines races peu ou pas chromogènes de pyocyanique.

Recherche du bacille dans les urines. — La présence du bacille étant très inconstante, cette méthode ne saurait être généralisée. Mais on peut d'autant mieux l'utiliser que la recherche du Bacille typhique est beaucoup plus facile que dans les selles, en raison du nombre moins élevé de saprophytes (*B. coli* surtout).

Chez la femme, prélever l'urine par sondage. Chez l'homme, il suffit de laver le méat et de recueillir l'urine dans un verre stérile. Employer les milieux de recherche (p. 454).

Recherche du bacille dans la rate. — Préconisée naguère par Philippowitz et Lucatello. Dangereuse (rupture de la rate, hémorragie, etc.), elle ne peut être recommandée, surtout depuis que l'hémoculture nous donne les mêmes renseignements.

VACCINATION.

Il est connu que, chez l'homme, une première atteinte de fièvre typhoïde confère en général l'immunité. Aussi pouvait-on songer à vacciner les espèces sensibles. Les premiers essais ont été faits expérimentalement sur l'animal. Depuis quelques années, la vaccination antityphique est appliquée à l'homme.

Vaccination chez les animaux. — 1° Chantemesse et Widal (1888) ont démontré que des animaux (souris), injectés à plusieurs reprises à l'aide de cultures atténuées (tuées par la chaleur), sont vaccinés contre l'inoculation ultérieure de Bacilles virulents.

2° Dans la suite, on a vacciné les animaux à l'aide des méthodes les plus diverses.

En particulier, toutes les méthodes appliquées à l'homme (Voy. ci-dessous) ont été d'abord expérimentées, avec succès, sur l'animal.

3° Quelques auteurs ont obtenu accessoirement la vaccination des animaux inoculés dans le but de fournir un sérum antityphique (chevaux, chèvres, moutons). Le produit injecté consiste alors soit en cultures vivantes (Chantemesse, Besredka, Rodet), en toxine (Chantemesse), en cultures tuées, etc.

Vaccination chez l'homme. — La vaccination chez l'homme a été pratiquée à peu près simultanément par Wright et par Pfeiffer et Kolle.

Procédés employés. — Les nombreux procédés préconisés jusqu'ici utilisent :

a. Les bacilles vivants (Castellani) ;

b. Les cultures totales stérilisées par la chaleur (Wright-Leishman, Pfeiffer-Kolle, Chantemesse, etc.) ;

c. Les cultures totales stérilisées par l'éther (vaccin actuel de H. Vincent) ;

d. Les extraits de bacilles morts (Wassermann, Shiga et Neisser) ;

e. Les extraits de bacilles vivants (premier vaccin de H. Vincent ; vaccin de Bassenge et Mayer).

f. Les bacilles sensibilisés (Besredka).

A. **Vaccination par Bacilles typhiques (vivants Castel-**

lani). — On inocule 0cc,5 à 1 centimètre cube d'une culture de vingt-quatre heures en eau peptonée, chauffée à 50° pour atténuer la virulence sans tuer le microbe.

Le procédé est dangereux ; il peut disséminer la fièvre typhoïde ; aussi ne s'est-il pas répandu.

B. **Vaccination par cultures totales stérilisées.** — 1° Procédé de Wright-Leishman. — Dans la technique de Wright, modifiée par Leishman, on utilise des cultures en bouillon peptonisé, âgées de vingt-quatre à quarante-huit heures, stérilisées par un chauffage à 53° pendant une heure, additionnées enfin de lysol (2,5 p. 100) pour maintenir ultérieurement la stérilité du produit. La vaccination se fait en deux temps ; on injecte d'abord 500 millions de Bacilles (soit 0cc,5), et neuf à dix jours après 1 000 millions.

Dans toutes les méthodes, il faut respecter les doses indiquées. Plus faibles, elles seraient insuffisantes. Plus fortes, elles sont mal supportées, exagèrent la phase négative (p. 472) ; elles peuvent n'être pas vaccinantes (Wright, Paladino-Blaudini).

2° Procédé de Pfeiffer-Kolle. — Surtout pour éviter les produits toxiques du bouillon, ces auteurs préfèrent s'adresser aux émulsions dan l'eau physiologique de cultures de vingt-quatre heures sur gélose ; le produit de dix tubes est émulsionné dans 45 centimètres cubes de sérum artificiel. Premier chauffage d'une heure et demie à deux heures à 60°, addition de 3 p. 100 d'acide phénique ; après répartition, deuxième chauffage de trente minutes à 60°. Trois inoculations sont recommandées, aux doses respectives de 0cc,3, 0cc,8 et 1 centimètre cube.

3° Procédé de Chantemesse. — On émulsionne des cultures sur gélose dans le sérum artificiel. L'émulsion faite, on procède à la numération, puis on ajoute une quantité de sérum artificiel telle que le mélange renferme un milliard de germes par centimètre cube. Stérilisation par chauffage à 56° pendant quarante-cinq minutes ; addition ultérieure de 2,5 p. 100 de crésol.

La vaccination demande quatre inoculations à intervalles de huit à quatorze jours ; doses successives : 0cc,15, 0cc,50, 0cc,75 et 1 centimètre cube.

4° Procédé actuel de H. Vincent. — Le vaccin de H. Vincent est polyvalent ; la stérilisation est obtenue par l'éther. On ensemence sur gélose dix échantillons différents de Bacille typhique ; après vingt-quatre heures, la culture obtenue est émulsionnée dans l'eau physiologique (200 centimètres cubes pour une boîte de Roux). On ajoute de l'éther sur une épaisseur de 10 à 15 millimètres ; on agite, on laisse en contact. Après vingt-quatre heures de repos, on soutire

le liquide ; on fait disparaître les traces d'éther en solution soit par simple séjour à l'air, soit en faisant rapidement le vide avant de sceller. Le liquide soutiré est réparti en flacons scellés à la lampe.

La vaccination est faite en quatre inoculations, à huit jours d'intervalle, et aux doses de 0,5 ; 1 ; 1,5 et 2 centimètres cubes.

5° Autres procédés. — Le procédé de *Russell* (Amérique) ne semble différer du Pfeiffer-Kolle que par substitution du tricrésol à l'acide phénique.

Friedberger et Moreschi préconisent l'injection *intraveineuse* d'émulsion stérilisée à 120° ; doses très faibles, 1/50 à 1/4000 d'anse (une anse correspond à peu près à 1/10 d'une culture sur gélose inclinée).

Courmont et Rochaix ont utilisé la *voie rectale* ; le lavement vaccinal est additionné de laudanum.

Dans le procédé de *M. Renaud*, la stérilisation est obtenue par exposition de la culture à l'irradiation d'une lampe en quartz (vaccin irradié).

C. **Vaccination par autolysats de bacilles morts.** — Les procédés de *Wassermann* et de *Shiga et Neisser* sont à peu près identiques l'un à l'autre : émulsionner dans l'eau distillée des cultures de vingt-quatre heures sur gélose, chauffer à 60° ; abandonner le liquide à lui-même à 37° pendant trois à cinq jours : à ce moment se produit l'autolyse. Filtrer sur bougie filtrante. C'est le filtrat, liquide (Shiga et Neisser) ou concentré (Wassermann), qui sert aux inoculations. Une seule injection est prescrite, c'est certainement insuffisant.

D. **Vaccination par autolysats de bacilles vivants.** — *Bassenge et Mayer* soumettent à l'agitation pendant trois jours l'émulsion de bacilles, puis stérilisent par filtration sur bougie ; le filtrat, employé pour inoculation, serait vaccinant et peu toxique. Procédé inapplicable, la stérilisation demeurant un peu incertaine.

Premier procédé de H. Vincent. — Les cultures sur gélose d'un grand nombre de Bacilles typhiques (plus un Bacille paratyphique A et un Bacille paratyphique B) sont émulsionnées dans l'eau physiologique ; on laisse l'émulsion à l'étuve pendant deux à quatre jours. On centrifuge ensuite ; le liquide surnageant est stérilisé par contact avec l'éther pendant vingt-quatre heures. On soutire enfin le liquide autolysé ; un séjour de vingt-quatre heures à 37° suffit pour évaporer les traces d'éther en solution.

E. **Bacilles sensibilisés** (Besredka). — On s'adresse à un mélange de vaccin (immunisation active) et de sérum (immunisation passive) : émulsionner dans l'eau physiologique une culture sur gélose ; ajouter du sérum agglutinant ; laver à l'eau physiologique et centrifuger plusieurs fois de suite ; recueillir le culot. Stériliser par chauffage à 56° pendant une heure.

Technique. — La technique n'a rien de spécial ; on pratique les inoculations sous la peau dans presque tous les procédés (sauf exceptions, indiquées ci-dessus).

Réactions symptomatiques consécutives. — Ces réactions sont très variables comme intensité, parfois extrêmement marquées, le plus souvent tolérables, sinon presque imperceptibles.

Les procédés de Pfeiffer et Kolle, de Neisser et Shiga, de Wassermann, provoquent des réactions très vives.

La méthode de H. Vincent, au contraire, ne provoque le plus souvent pas d'incommodité sérieuse.

Les réactions constatées, de même ordre dans toutes les méthodes, sont essentiellement les suivantes : Localement, au point inoculé, trois à douze heures après l'injection, apparaît une tuméfaction rouge et sensible à la pression : elle persiste trente-six à quarante-huit heures pour disparaître ensuite.

Il peut exister, en outre, des réactions générales : frissons, fièvre, céphalée, fatigue générale, parfois vomissements, diarrhée, dyspnée, etc.

Réactions humorales; apparition des anticorps. — Comme il était facile de le prévoir, on a constaté que l'organisme humain, vacciné, réagit en produisant les anticorps qui accompagnent habituellement l'infection ou l'immunité : agglutinines, opsonines, substances bactéricides, etc.

Phase négative. — Pendant les quelques jours (trois ou quatre jours) qui suivent les inoculations, on constate parfois une diminution du pouvoir bactéricide, qui précède l'augmentation ultérieure. Cela est dû à ce que les microbes injectés se combinent à une certaine quantité de substance bactéricide et « saturent » partiellement cette dernière. — Parallèlement Wright a constaté qu'à ce même moment de la vaccination les sujets inoculés se trouvent parfois en état de moindre résistance et contractent plus facilement la fièvre typhoïde que les sujets non inoculés. C'est ce qu'on a appelé la *phase négative*. — Avec les doses relativement faibles employées à l'heure actuelle, on ne constate plus ni phase négative, ni diminution du pouvoir bactéricide.

Résultats pratiques des vaccinations. — L'effet utile des vaccinations antityphiques est bien démontré.

C'est dans l'armée anglaise des Indes que la vaccination antityphique a été le plus largement appliquée (procédé de Wright-Leishman). Au total, 216 811 hommes non vaccinés ont présenté une mortalité typhique de 21,5 p. 1 000 avec une mortalité de 4,08 ; les vaccinés ont été moins éprouvés : morbidité 7,29 p. 1 000, avec une mortalité de 1,20 (H. Vincent), soit environ trois fois moins de décès parmi les hommes vaccinés.

Les résultats favorables obtenus dans les troupes allemandes de l'Afrique du Sud (procédé de Pfeiffer-Kolle), ceux plus heureux encore enregistrés par Russell aux États-Unis, par H. Vincent et par Chantemesse parmi les troupes des confins algéro-marocains, permettent d'accorder dès maintenant crédit à l'efficacité de la vaccination antityphoïdique.

VACCINOTHÉRAPIE.

Divers auteurs ont essayé de traiter l'homme atteint de fièvre typhoïde par des produits analogues ou identiques aux vaccins que nous venons d'étudier. La fièvre typhoïde présentant d'ordinaire une évolution relativement lente, on pouvait supposer que le bénéfice de la vaccination — très appréciable d'ordinaire vers le septième jour après l'injection — serait acquis assez tôt pour aider l'organisme à se défendre.

C'est dans cette idée qu'ont été injectés au malade, sous la peau :

1° Des cultures rendues au préalable inoffensives par l'action d'un courant électrique puissant (Krüger);

2° Des filtrats de vieille culture en bouillon (Richardson) ;

3° Des cultures tuées par la chaleur. A ce groupe appartiennent la *typhoïne* de Petruschki et les vaccins actuels, employés plus récemment par Smallman, Hollis, Thiroloix, etc ;

Les résultats thérapeutiques paraissent irréguliers ; en moyenne, la mortalité et la gravité semblent amoindries. Mais la vaccinothérapie paraît être pour le moment une méthode thérapeutique un peu aveugle.

SÉROTHÉRAPIE.

I. Il est démontré que le *sérum* des *sujets guéris de fièvre typhoïde* présente des propriétés préventives et curatives, d'ailleurs peu développées (Chantemesse et Widal).

Divers auteurs, Hammerschlag, Pollack, etc., mettant à profit cette remarque, ont injecté au malade typhoïdique le sérum de convalescents. Les résultats n'ont pas été encourageants.

II. On obtient facilement des sérums *doués de propriétés préventives et curatives* plus marquées. Il suffit pour cela de vacciner les animaux; le sérum des animaux vaccinés se montre assez actif.

Le sérum antityphique expérimental, à dose de $0^{cc},5$, mélangé à une dose mortelle de culture virulente, suffit à préserver la souris. Il est donc préventif. Injecté à plus forte dose (6 centimètres cubes), plusieurs heures après l'inoculation de virus, il se montre curatif (Brieger, Kitasato et Wassermann). Ces faits ont été confirmés maintes fois dans la suite (Beumer et Peiper, Chantemesse et Widal, etc.).

III. Mais, quand on a voulu appliquer à l'homme les premiers sérums antityphiques expérimentaux, on a rapidement constaté que la plupart d'entre eux n'avaient pas grande valeur thérapeutique (sérums de Klemperer et Levy, de Beumer et Peiper, etc.). D'après Pfeiffer et Kolle, les sérums étaient trop bactéricides ; détruisant les microbes dans l'organisme, ils mettaient en liberté des toxines et risquaient d'aggraver l'intoxication. Aussi essaya-t-on alors d'obtenir des sérums purement antitoxiques, par inoculation de toxines (essais de Shaw, de Meyer et Bergell, etc.).

Dans la suite, Besredka ayant démontré l'existence d'une endotoxine, il parut indiqué de chercher à produire un sérum anti-endotoxique, par inoculation de corps microbiens. Par suite de considérations diverses, les sérums sont donc préparés les uns par inoculation de toxine, d'autres par inoculation de microbes.

IV. ***Sérum de Chantemesse.*** — Le sérum est obtenu en injectant au cheval d'abord la toxine soluble sous la peau, puis des cultures virulentes dans les veines. La préparation est longue.

D'après Balthazard, le sérum de Chantemesse est très agglutinant, 1 p. 50 000 à 1 p. 100 000. Il n'est pas bactéricide *in vitro*, mais la culture faite sur sérum se montre avirulente.

Il possède des propriétés anti-infectieuses et antitoxiques :

Injecté préventivement (vingt-quatre heures avant) dans le péritoine du cobaye, il protège l'animal contre l'inoculation ultérieure du Bacille d'Eberth dans le péritoine (action anti-infectieuse).

Il est antitoxique, surtout préventivement : inoculé deux à vingt-quatre heures d'avance, il protège le lapin contre l'inoculation de quatre doses mortelles de toxine. Mais l'action curative est peu marquée; injecté après la toxine, le sérum n'a d'efficacité que si l'intervalle entre les deux inoculations est très faible.

La durée de l'immunité conférée par injection de sérum varie entre six et quinze jours.

Chez l'homme, l'injection de sérum provoque une poussée leucocytaire (Balthazard) et une élévation de l'indice opsonique (Chantemesse et Milhit).

Applications thérapeutiques. — Injecté au typhique, à doses très faibles (1/20 de centimètre cube pour le sérum actuel), le sérum de Chantemesse provoque d'abord une phase *de réaction*, avec maintien ou légère élévation de la température; puis la fièvre diminue progressivement, l'état général s'améliore ; on constate de la polyurie, une amélioration du pouls, de l'hypertrophie de la rate. La mortalité est faible : sur 1 000 malades traités, 43 décès seulement, soit 4,3 p. 1 000 (Chantemesse).

V. ***Sérum de Besredka.*** — Obtenu par inoculation à l'animal de cultures d'abord tuées, puis vivantes.

Expérimentalement, le sérum protège les petits animaux contre l'injection d'endotoxine. Cliniquement, le sérum a été essayé chez l'homme par Montefusco ; l'action paraît avoir été favorable.

VI. ***Sérum de Rodet et Lagriffoul.*** — Obtenu par injections dans les veines de cultures vivantes.

Expérimentalement, le sérum de Rodet et Lagriffoul se montre anti-infectieux et antitoxique. Cliniquement, il a été appliqué à 65 malades, aux doses de 5 à 10 centimètres cubes, qui peuvent être répétées. On a souvent noté une chute rapide de la température. La mortalité chez les sujets traités est de 6,5 p. 100.

CHAPITRE XXXII

BACILLES PARATYPHIQUES ET SALMONELLOSES

Sous le nom commun de *Bacilles paratyphiques*, on désigne deux espèces différentes, *Bacille paratyphique A* et *Bacille paratyphique B*.

Les Bacilles paratyphiques ont été rencontrés pour la première fois chez l'homme par Achard et Bensaude (1896) et différenciés en deux types par Schottmüller, puis par Brion et Kayser.

L'expression de *Bacilles paratyphiques* est mauvaise, — malheureusement elle est consacrée par l'usage, — parce qu'elle enchaîne l'une à l'autre deux espèces certainement distinctes, et parce que l'une d'elles, le Bacille paratyphique B, est identique bactériologiquement avec toute une série d'autres microbes décrits antérieurement sous d'autres dénominations. A la suite de Lignières, il convient de grouper ces derniers microbes, y compris le Bacille paratyphique B, sous le terme générique de *Salmonelloses*.

Nous décrirons successivement :

1° Le Bacille paratyphique A ;

2° Les Salmonelloses (Bacille paratyphique B, Bacilles des empoisonnements alimentaires, etc.).

BACILLE PARATYPHIQUE A.

Le Bacille paratyphique A est l'agent chez l'homme des infections paratyphoïdes type A et de certains ictères.

Les infections paratyphoïdes type A ne se différencient guère de la fièvre typhoïde classique, à Bacille d'Eberth. Elles sont très rares.

MORPHOLOGIE.

1° **Caractères microscopiques.** — Dans les cultures, bâtonnets courts, 3 à 4 μ sur 0,6 à 0,7, le plus souvent ovoïdes, pouvant présenter un espace clair central (aspect bipolaire). Un peu allongés dans les cultures en bouillon.

2° **Mobilité.** — Très mobile (comme le Bacille d'Eberth).

3° **Coloration.** — Se colore facilement par les couleurs d'aniline. *Ne prend pas le Gram.*

4° **Cils.** — Au nombre de quatre à six, plus longs que ceux

du Bacille typhique, souvent ondulés, généralement bipolaires.

5° **Spores.** — Ne donne pas de spores.

CULTURES.

Anaérobie facultatif. La température optima est 37°, mais le développement se fait également à la température ambiante.

Même classification des milieux de culture que pour le Bacille typhique (Voy. p. 434; voy. en outre le tableau p. 440 et la planche, fig. 214).

I. **Milieux d'usage courant.** — **Bouillon.** — En vingt-quatre heures à 37°, trouble homogène avec ondes moirées. Plus tard, éclaircissement du liquide et formation d'un dépôt. Parfois légère collerette à la surface. Pas d'odeur spéciale.

Gélose inclinée, sérum coagulé. — Comme le Bacille typhique.

Gélatine. — Développement facile, *sans liquéfaction du milieu.* Sur plaques, les colonies superficielles sont arrondies, un peu grisâtres, presque transparentes, mais ne présentent pas les vallonnements caractéristiques du Bacille d'Eberth.

Mêmes caractères sur gélatine en strie.

Pomme de terre. — Culture à peine apparente (comme le Bacille d'Eberth).

Lait. — Végétation abondante; pas de modification appréciable; pas de coagulation.

II. **Milieux de recherche.** — Voy. page 454.

III. **Milieux différentiels. — Milieux sucrés.** — *a.* Milieux lactosés. — Comme le Bacille typhique (p. 436).

b. Milieux glucosés. — Bouillon glucosé carbonaté. — Culture abondante; dégagement gazeux très apparent.

Mêmes résultats sur les milieux suivants :

Eau peptonée glucosée carbonatée;

Eau peptonée glucosée en tube en U (gaz dans la branche anaérobie, fig. 202);

Gélose peptonée glucosée (dislocation de la colonne solide).

Solution de Barsiekow glucosée. — Teinte franchement rouge, coagulation rapide (en vingt-quatre heures).

c. On peut substituer à la glucose, avec des résultats identiques, la *lévulose*, la *galactose*, la *mannite*.

Lait tournesolé. — Teinte rouge en vingt-quatre heures, fonce un peu dans la suite. Pas de coagulation.

Petit-lait tournesolé. — Teinte rouge; peu ou pas de trouble.

Gélose au rouge neutre (pour préparation, voy. p. 473). — Déve-

loppement abondant avec formation de gaz (dislocation) ; décoloration avec fluorescence. Généralement appréciable en vingt-quatre heures.

Milieux vaccinés. — Le Bacille paratyphique A est inapte à se développer dans les milieux où il a déjà cultivé antérieurement.

Il ne se développe pas davantage dans les milieux vaccinés contre le Bacille typhique, le Bacille paratyphique B ou le Colibacille.

Milieux métalliques (pour la préparation, voy. p. 437). — Ne noircit pas les milieux additionnés de *sous-acétate de plomb*.

Artichaut. — Ne verdit pas l'artichaut.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Dans les cultures, le Bacille paratyphique A est assez fragile ; la vitalité s'épuise en un à trois mois.

Un chauffage d'une à cinq minutes à 60° suffit à le détruire.

Réactions biochimiques. — Le Bacille paratyphique A fermente énergiquement la glucose, la lévulose, la galactose, la maltose, moins énergiquement la dulcite ; les milieux deviennent acides et il se dégage des gaz (H et CO^2).

Il ne fermente pas sensiblement la lactose et la saccharose.

Recherche de l'indol. — Le Bacille paratyphique A ne forme pas d'indol.

Action des antiseptiques et de la bile. — Comme pour le Bacille typhique (p. 438 et 442).

Réactions à l'égard des sérums. — Agglutination. — Les *sérums de malades* atteints n'ont qu'une action presque toujours faible sur le Bacille infectant ; d'autre part, ces mêmes sérums peuvent agglutiner au même taux le Bacille d'Eberth ou le Bacille paratyphique B ; aussi *ne peut-on, pour le moment, baser le diagnostic de la maladie exclusivement sur la recherche de la séro-réaction.*

Au contraire, *les sérums expérimentaux sont rigoureusement spécifiques* ; ils agglutinent à peu près au même taux tous les échantillons de l'espèce, sans avoir d'action appréciable sur les espèces les plus voisines (Bacille d'Eberth et Bacille paratyphique B). — De même, le Bacille paratyphique A n'est que très peu ou pas agglutiné par les sérums spécifiques pour ces deux dernières espèces.

Le sérum expérimental sera utilisé avec profit pour le diagnostic du microbe.

Sensibilisatrice. — Dans les sérums faibles, il existe une sensibilisatrice spécifique. Dans les sérums forts, on trouve, outre la sensibilisatrice précédente, une cosensibilisatrice active (hémolyse incomplète, voy. p. 73) sur le Bacille d'Eberth et le Bacille paraty-

phique B (Rieux et Sacquépée). Éventuellement, la réaction de Bordet-Gengou peut être utilisée pour contrôler un diagnostic.

POUVOIR PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Chez l'homme, voy. p. 475.

Dans les conditions naturelles, le Bacille paratyphique A n'a pas été signalé jusqu'ici au cours de maladies des animaux.

Expérimentalement. — La *virulence* est variable, généralement plus forte que celle du Bacille typhique.

Un échantillon non renforcé, injecté sous la peau, tue les souris à la dose de $0^{cc},33$; le cobaye, à dose de 4 centimètres cubes (Brion et Kayser).

On peut exalter le virus par inoculation sous-cutanée en série; le virus exalté arrive à tuer le cobaye à la dose de $0^{cc},5$ de culture en bouillon après vingt-quatre heures (Sacquépée et Chevrel).

La souris est sensible à l'ingestion (Kempf).

SIÈGE.

Le Bacille paratyphique A est peu répandu.

Certains auteurs signalent sa présence chez divers animaux (cobaye) à l'état normal.

A l'état pathologique, chez l'homme, le Bacille paratyphique A se rencontre dans le sang et dans tous les tissus, au cours des infections générales qu'il provoque.

On le rencontre en outre parfois dans l'intestin (embarras gastrique, ictère) et dans les voies biliaires (cholécystites).

TOXINES.

Toxines. — Les cultures en bouillon de virus exalté, stérilisées par la chaleur ou filtrées, se montrent toxiques pour le cobaye aux doses de 3 à 10 centimètres cubes, par injection sous la peau.

Il existe donc une toxine soluble.

Vaccinations. — Chez l'animal, on vaccine facilement le cobaye et le rat blanc contre l'inoculation de doses plusieurs fois mortelles ; on ne réussit pas chez le lapin.

Les animaux vaccinés se montrent généralement moins sensibles que les témoins à l'inoculation du Bacille typhique (intervaccination).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Il faut isoler le microbe, les réactions sériques étant *toujours* à elles seules insuffisantes.

I. En cas d'infection générale, on cherchera le microbe par hémoculture, en suivant la même marche que pour le Bacille d'Eberth (p. 867). On vérifiera rigoureusement les caractères des colonies isolées :

morphologie, cultures, agglutination par le sérum du malade et par les sérums spécifiques, absence d'agglutination par d'autres sérums.

II. S'il n'y a pas d'infection générale, on cherchera le microbe dans les excreta, par les procédés spéciaux (p. 454). En pareil cas, pour conclure à une infection par le Bacille paratyphique A, il faut s'assurer : 1° que les excreta renferment ce Bacille, bien caractérisé, et ne renferment pas le Bacille typhique ; 2° que le sérum du malade renferme des anticorps spécifiques pour le Bacille type A. Ces deux ordres de recherches se contrôlent mutuellement, mais l'un et l'autre sont insuffisants, si on les emploie isolément.

SALMONELLOSES. — BACILLE PARATYPHIQUE B.

I. Au point de vue bactériologique, il est actuellement impossible de différencier les uns des autres des agents pathogènes rencontrés au cours d'affections pourtant disparates : le Bacille paratyphique B, agent chez

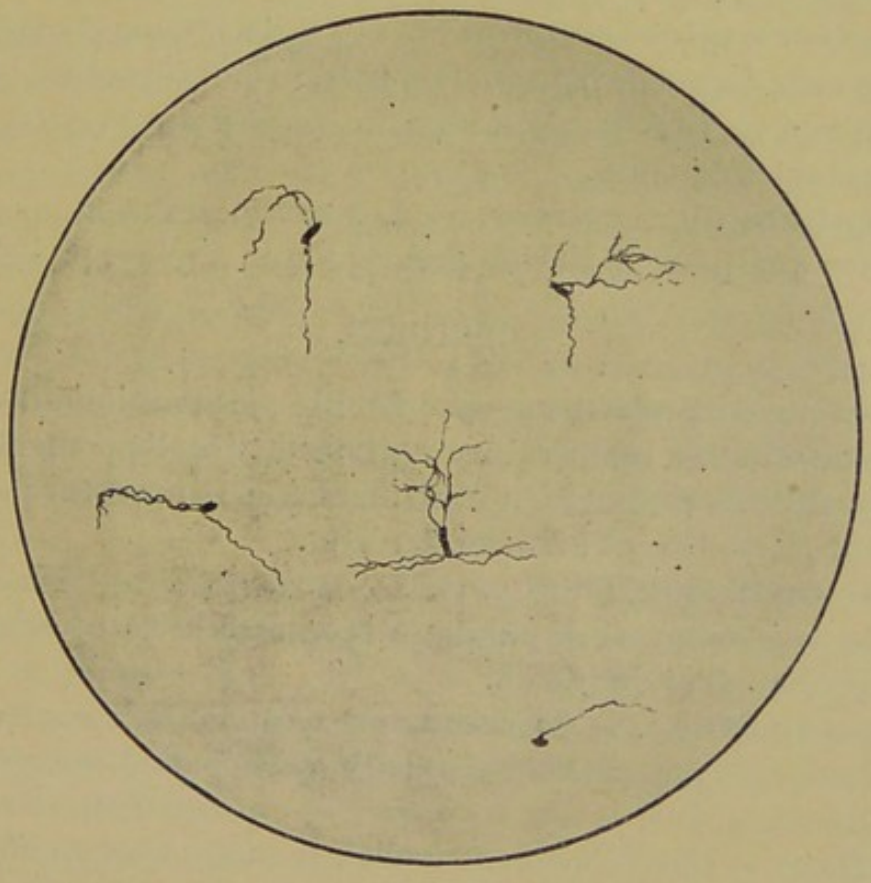


Fig. 208. — Cils de Bacille paratyphique B. Coloration par le procédé de Zettnov.

l'homme des infections paratyphoïdes; le Bacille de la psittacose; le *B. typhi murium* de Löffler; le Virus Danysz; le Bacille de la septicémie des veaux de Thomassen.

II. Au même groupe appartient le Bacille décrit par Salmon sous le nom de Bacille du hog-choléra (pneumo-entérite épidémique du porc) : d'où le terme générique de *Salmonelloses*.

III. On est également obligé de faire rentrer dans le groupe des Salmonelloses un grand nombre de microbes rencontrés, depuis Gärtner, au cours des épidémies d'empoisonnements alimentaires, et désignés en bloc sous le nom de *Bacilles des empoisonnements alimentaires*.

Parmi ces derniers, un certain nombre, appartenant au *type Aertrycke*, ne se différencient pas sensiblement des autres salmonelloses (entre autres le Bacille paratyphique B) ; d'autres, appartenant au *type Gärtner*, tout en présentant les mêmes caractères généraux que les précédents, se séparent cependant par leurs réactions à l'égard des sérums spécifiques.

Nous étudierons d'abord le Bacille paratyphique B, en comprenant sous cette désignation le Bacille rencontré chez l'homme dans les injections paratyphoïdes B et le Bacille type Aertrycke (ou type paratyphique B des auteurs allemands) des empoisonnements alimentaires. Nous dirons ensuite quelques mots des Bacilles du hog-choléra, de la psittacose, des virus des rongeurs et du Bacille de Gärtner.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Le Bacille paratyphique B se présente sous forme de bâtonnets courts, ovoïdes (comme le Bacille paratyphique A). La coloration bipolaire (aspect en navette) est particulièrement fréquente.

Coloration, cils, spores. — Les caractères sont exactement les mêmes que pour le Bacille paratyphique A (Voy. p. 475).

CULTURES.

Caractères généraux. — Le Bacille paratyphique B est anaérobie facultatif. La température optima de développement est 37°, mais les cultures se font bien également à la température ambiante (Voy. tableau p. 440, et planche fig. 214).

I. **Milieux d'usage courant. — Bouillon.** — Mêmes caractères que le Bacille paratyphique A. Toutefois certains échantillons dégagent une odeur fécaloïde.

Gélose inclinée. — La culture est abondante, sous forme d'un enduit épais, opaque, souvent visqueux (parfois plus discrète, moins opaque).

Gélatine. — Développement facile ; *le milieu n'est pas liquéfié.*

Sur plaques, après quatre jours, les colonies atteignent 4 millimètres ; elles sont brillantes, un peu opaques. Les colonies profondes sont blanchâtres et opaques.

En strie, la plupart des échantillons donnent un enduit abondant, visqueux, opaque, blanc jaunâtre. Mais parfois la culture est plus discrète et transparente.

En piqûres, disque à la surface, très variable comme aspect, générale-

ment blanc, opaque. Petites colonies blanc jaunâtre en profondeur.

Pomme de terre. — La culture est abondante, épaisse, brunissant rapidement. Exceptionnellement, culture maigre, analogue à celle du Bacille typhique.

Lait. — Développement abondant. Il n'y a pas de modification apparente au début ; plus tard, vers la deuxième semaine, le milieu s'éclaircit (opalescence) et prend une teinte brunâtre. Ces deux caractères s'accusent davantage par la suite.

Le lait n'est jamais coagulé.

II. **Milieux de recherche.** — Voy. page 454.

III. **Milieux différentiels.** — **Milieux lactosés.** — Mêmes caractères que le Bacille typhique (pas de fermentation apparente, p. 436).

Milieux glucosés. — Mêmes caractères que le Bacille paratyphique A (fermentation apparente, p. 476).

Autres milieux sucrés. — Vis-à-vis des milieux *lévulosés*, *galactosés*, *mannités*, le Bacille paratyphique B se comporte comme à l'égard des milieux glucosés.

Lait tournesolé. — Au début (premières heures), la teinte vire un peu au rouge (acidité), puis revient à son état initial, et finalement vire au bleu (alcalinisation ; *caméléonage* du lait). La teinte bleue commence à apparaître en général du troisième au sixième jour et fonce ensuite de plus en plus.

Petit-lait tournesolé. — Le milieu devient trouble. La teinte, très passagèrement rosée au début, passe rapidement au bleu (alcalinisation), en général du premier au quatrième jour.

Gélose au rouge neutre. — Mêmes caractères que le Bacille paratyphique A (fluorescence, décoloration, dégagement gazeux).

Milieux vaccinés. — Irrégulier ; sur milieu vacciné contre un échantillon de Bacille paratyphique B, certains échantillons cultivent, et d'autres pas.

Par contre, le Bacille paratyphique B se développe bien sur milieux vaccinés contre les Bacilles typhique ou paratyphique A.

Milieux métalliques. — Noircit en un à trois jours la gélose additionnée de *sous-acétate de plomb*.

Artichaut. — Verdit l'artichaut en deux à trois jours.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Dans les cultures, le Bacille paratyphique B est très résistant ; des cultures âgées de plus de six mois et même un an sont d'ordinaire réensemencées avec succès.

Par contre, il résiste peu à la chaleur ; cinq minutes de chauffage à 60° le tuent sûrement.

Réactions biochimiques. — Action sur les sucres. — Le Bacille paratyphique B possède exactement les mêmes propriétés fermentatives que le Bacille paratyphique A (p. 477) ; ces propriétés sont toutefois un peu plus développées.

Recherche de l'indol. — Le Bacille paratyphique B ne produit généralement pas d'indol ; cependant de rares échantillons en donnent quelques traces.

Action des antiseptiques et de la bile. — Comme le Bacille typhique (p. 438 et 442).

Réactions à l'égard des sérums. — Agglutination. — I. Tous les Bacilles paratyphiques ne sont pas également agglutinables. Certains le sont très peu; d'autres le sont trop. Pour éviter toute erreur d'appréciation, on s'adressera de préférence aux échantillons étiquetés « Schottmüller » ou « Rennes ».

II. On se souviendra que les sérums normaux agglutinent parfois à 1 p. 80.

III. *Au cours des infections à Bacille paratyphique* B, *le sérum agglutine nettement* le Bacille paratyphique B vers les cinquième ou sixième jour ; le pouvoir agglutinant suit la même évolution que dans la fièvre typhoïde (p. 444). Le taux limite d'agglutination est d'ordinaire assez élevé, 1 p. 500 et bien au delà, même jusque 1 p. 40 000 (Korte). Ces mêmes sérums humains n'ont que peu ou pas d'action sur le Bacille typhique.

IV. Mais il est établi, par contre, que le Bacille paratyphique peut être agglutiné fortement *par le sérum de malades atteints de fièvre typhoïde* (à Bacille d'Eberth), parfois autant et même plus que le Bacille typhique lui-même. Cette constatation invite à n'utiliser qu'avec prudence le séro-diagnostic à l'égard du Bacille paratyphique B ; une agglutination nettement positive pour le Bacille paratyphique B peut en effet se rencontrer non seulement dans les infections paratyphoïdes, mais encore dans la fièvre typhoïde.

V. Les *sérums expérimentaux*, obtenus comme les sérums antityphiques (p. 445), agglutinent fortement le Bacille paratyphique B ; mais les divers échantillons de l'espèce sont agglutinés à des taux assez inégaux.

Ces mêmes sérums expérimentaux n'agglutinent pas sensiblement les Bacilles voisins (Bacille d'Eberth et Bacille paratyphique A). Inversement, le Bacille paratyphique B n'est pas agglutiné par les sérums spécifiques pour les Bacilles voisins.

Aussi l'agglutination doit-elle éventuellement être utilisée pour le diagnostic de l'espèce microbienne.

Sensibilisatrice. — Les sérums de malade et les sérums expérimentaux dévient le complément en présence du Bacille paratyphique B, mais le dévient également en présence du Bacille d'Eberth ; la sensibilisatrice n'est donc pas strictement spécifique (Rieux et Sacquépée).

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Le Bacille paratyphique B détermine diverses affections chez l'homme et chez l'animal.

Chez l'homme. — Il provoque surtout deux séries d'accidents.

En premier lieu, les infections paratyphoïdes B, infections qui rappellent par leurs symptômes et leur évolution tantôt la fièvre typhoïde à Bacille d'Eberth, tantôt l'embarras gastrique fébrile.

En deuxième lieu, certains cas d'empoisonnements alimentaires à forme gastro-intestinale.

En outre, il peut déterminer l'ictère catarrhal, des abcès, etc.

Chez l'animal. — Un certain nombre de syndromes morbides sont déterminés par le Bacille paratyphique B. La question a été étudiée surtout à propos des empoisonnements alimentaires provoqués par la viande d'animaux malades. C'est ainsi qu'on a rencontré le Bacille paratyphique B chez les veaux atteints de diarrhée, d'arthrites ; chez les vaches, dans la mammite ; chez le cheval, dans des abcès ; chez diverses espèces, au cours de septicémies sans manifestations extérieures apparentes.

Action pathogène expérimentale. — Les Bacilles paratyphiques B comptent parmi les microbes les plus pathogènes que nous connaissions.

Ils présentent ceci de particulièrement intéressant que la simple ingestion suffit à provoquer une maladie mortelle chez l'animal, sans aucun artifice expérimental surajouté.

Inoculation. — Par voie *sous-cutanée*, les Bacilles paratyphiques B tuent le *cobaye* à la dose de 1/2, 1/4 et même 1/40 centimètre cube de culture de vingt-quatre heures en bouillon ; à la dose de 1/10 et même 1/100 d'anse de culture sur gélose. Au point d'inoculation se forme souvent un abcès (Widal et Nobécourt).

Par voie *intrapéritonéale*, les doses mortelles sont beaucoup moins élevées : 1/1 000 à 1/100 000 d'anse de culture sur agar, alors que la dose mortelle de Bacille typhique est au moins 1/30 à 1/100 d'anse (Kutscher et Meinicke).

Quelle que soit la voie d'inoculation, on constate souvent pendant la vie de la diarrhée, des parésies, la fièvre ou l'hypothermie.

A l'autopsie des animaux, il existe habituellement des suffusions sanguines des voies digestives, de l'hypertrophie de la rate, parfois de l'entérite ulcéreuse ; le Bacille se retrouve dans le sang, les organes, l'intestin.

La *souris* est aussi sensible que le cobaye. Le *lapin*, le *rat blanc*, le *chien*, sans être réfractaires, sont moins réceptifs.

Ingestion. — Une seule ingestion de Bacilles paratyphiques B provenant des infections paratyphoïdes suffit à provoquer chez le cobaye une affection mortelle en cinq à vingt jours (Sacquépée et Chevrel). A l'autopsie, on constate de l'entérite diarrhéique, de la tuméfaction des follicules clos, de l'hypertrophie de la rate. L'examen histologique décèle une infiltration embryonnaire des plaques de Peyer et de la sous-muqueuse voisine, et de la nécrose superficielle de l'intestin grêle.

Les Bacilles paratyphiques B provenant des empoisonnements alimentaires sont au moins aussi actifs. Par ingestion, ils tuent la souris, le cobaye, le chien, le lapin, le veau (Basenau), et provoquent chez le singe une maladie identique à l'empoisonnement alimentaire de l'homme (van Ermengem). A l'autopsie, on trouve le microbe dans la plupart des organes.

Par erreur (Van Ermergem) ou expérimentalement (Poels et Dhont), un certain nombre de personnes ont ingéré de la viande d'animaux inoculés avec un Bacille d'empoisonnements alimenmentaires : la plupart présentèrent de la gastro-entérite.

TOXINES.

La faculté de sécréter des poisons solubles, *thermostabiles* (résistant à la chaleur), est à peu près générale pour tous les Bacilles paratyphiques B. Elle paraît toutefois être portée à un plus haut degré chez les Bacilles des empoisonnements alimentaires.

1° Le Bacille provenant des infections paratyphoïdes, cultivé en bouillon Martin, donne des cultures qui, stérilisées par la chaleur ou par filtration, tuent le cobaye à doses de 3 à 9 centimètres cubes, sous la peau (Sacquépée et Chevrel). Franchetti constate également le pouvoir toxique, tant du filtrat des cultures en bouillon que de l'autolysat des Bacilles émulsionnés dans l'eau distillée.

2° Les Bacilles provenant des empoisonnements alimentaires sécrètent une toxine qui passe dans le filtrat (Drigalski).

Ils présentent une autre propriété importante : leurs cultures demeurent toxiques après l'action de la chaleur, même intense ou prolongée. Ainsi le filtrat d'une culture, chauffé à 100° pendant trente minutes, ne perd rien de son activité (Fischer).

SIÈGE.

Les Bacilles paratyphiques B peuvent être rencontrés : 1° Chez l'homme ; 2° chez les animaux ; 3° dans les milieux extérieurs.

1° **Bacille paratyphique B chez l'homme.** — A. Il existe tout d'abord *chez l'homme malade.*

a. Au cours des infections paratyphoïdes, il se rencontre dans le sang, si l'infection est un peu sévère, et dans tous les organes. On le trouve également dans l'intestin, parfois dans les urines.

b. Dans les empoisonnements alimentaires, le Bacille paratyphique B reste localisé à l'intestin. On ne le trouve pas dans le sang.

c. D'autres processus pathologiques peuvent être dus au Bacille paratyphique B : ictère (bacille dans les fèces), abcès, etc.

B. On peut le déceler *chez des individus sains.*

a. Les anciens malades, guéris d'infections paratyphoïdes, peuvent continuer à excréter le bacille pendant plusieurs mois et même plusieurs années (*porteurs de bacilles* , selles ou urines).

b. Exceptionnellement, et d'une manière tout à fait transitoire, on peut rencontrer le même germe dans l'intestin de sujets qui, sans avoir été atteints antérieurement d'infection paratyphoïde, se sont trouvés au contact des malades, ou bien ont ingéré un aliment contaminé (Conradi).

2° **Bacille paratyphique B chez l'animal.** — A. *Au cours des processus pathologiques* divers énumérés plus haut (arthrite et entérite des veaux, etc.), on trouve le Bacille paratyphique B d'abord dans les lésions locales si elles existent; dans le tube digestif; enfin dans le sang, les viscères et les organes. Il peut se développer *in situ* et constituer dans les capillaires des amas de microbes formant embolie (Gärtner).

B. On rencontre parfois des microbes identiques au Bacille paratyphique B *chez des animaux sains* : chien, cobaye, porc ; généralement dans l'intestin. Par exception, on pourrait le trouver dans la viande, saine par ailleurs, d'animaux abattus, mais le fait est douteux.

3° **Bacille paratyphique B dans les milieux extérieurs.** — A. On l'a rencontré *dans certaines eaux*, eaux de rivière, eaux de fruits. L'eau est d'ailleurs un des véhicules des infections paratyphoïdes.

B. Sa présence *dans les aliments* est moins rare. C'est ainsi qu'on l'a trouvé à maintes reprises dans la viande et les abats (viscères) de boucherie (Gärtner, Van Ermengem, Trautmann, etc.) ; dans les produits de charcuterie (de Nobelé, Van Ermengem, etc.); parfois dans les crèmes, plus rarement dans les légumes. Ces divers aliments sont eux-mêmes infectés, soit parce qu'ils proviennent d'animaux malades, soit parce qu'ils ont été contaminés après l'abatage. Ce sont de tels aliments qui provoquent chez l'homme les empoisonnements alimentaires.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le procédé de choix est l'hémoculture. A défaut, on cherchera le microbe dans les excreta, mais on aura soin de contrôler son action pathogène par la constatation du pouvoir agglutinant du sérum. Le sérodiagnostic, employé seul, demeure un procédé un peu aléatoire.

I. **Hémoculture.** — On suivra exactement la même technique et on observera les mêmes précautions que pour le Bacille d'Eberth (p. 867), *mutatis mutandis*.

II. **Recherche dans les excreta.** — De même que dans le cas précédent, on opérera comme pour le Bacille d'Eberth (p. 454).

III. **Sérodiagnostic (agglutination).** — La technique est la même que pour le Bacille typhique ; on n'utilisera que des échantillons normalement agglutinables (p. 482).

a. Il faut toujours chercher le taux limite d'agglutination. Les chances d'erreur sont d'autant moindres que le taux limite est plus élevé.

b. L'interprétation des résultats est délicate, au moins en présence de formes cliniques susceptibles d'être causées aussi bien par le Bacille d'Eberth que par le Bacille paratyphique B (fièvre continue, embarras gastrique, ictère).

Si l'agglutination est intense (supérieure à 1 p. 1 000) à l'égard du Bacille paratyphique B, et insignifiante (inférieure à 1 p. 60) à l'égard du Bacille d'Eberth, on peut conclure à une infection paratyphoïde.

Si, au contraire, les taux limites d'agglutination du Bacille typhique et du Bacille paratyphique B sont assez rapprochés, il faut être réservé ; on pourra avoir recours à la saturation des agglutinines (Voy. p. 65), qui dira s'il s'agit d'une infection mixte ou d'une infection microbienne avec coagglutination.

Avec ces précautions, l'agglutination peut donner des indications très utiles; ces indications donnent un diagnostic de très grande probabilité, mais non de certitude absolue.

c. En cas d'empoisonnements alimentaires, le problème est plus limité ; un pouvoir agglutinant élevé pour le Bacille paratyphique B est l'indication certaine d'une infection par ce Bacille.

Vaccination. — Chez l'animal, en injectant à plusieurs reprises des cultures tuées, on vaccine assez facilement les animaux de laboratoire (cobaye, rat blanc, lapin) contre une dose plusieurs fois mortelle de Bacille paratyphique B.

Les animaux vaccinés contre le Bacille paratyphique B sont partiellement immunisés contre le Bacille typhique (intervaccination).

Bacille de la psittacose.

Nocard (1892) a découvert ce Bacille chez des perroquets importés, atteints d'une maladie infectieuse mortelle. Gilbert et Fournier (1896) l'ont retrouvé dans un cas de psittacose humaine.

Toutes les propriétés autres que l'action pathogène sont identiques à celles du Bacille paratyphique B.

Pouvoir pathogène. — 1° Chez l'homme : affection généralement grave, présentant les allures ou d'une fièvre continue, ou d'une pneumonie.

La maladie se transmet du perroquet à l'homme.

L'homme se contagionne soit directement, par gavage de bec à bouche, soit indirectement, par ingestion ou inhalation de poussières provenant d'excréments desséchés, des plumes, etc.

2° Chez l'animal : les cultures, inoculées dans les veines ou le péritoine des perroquets, provoquent une infection mortelle en quelques jours ; pendant la vie, l'animal se tient en boule, yeux clos, somnolent, les ailes pendantes ; diarrhée. A l'autopsie, Bacille dans tous les organes. Chez le même animal, les inoculations sous-cutanées sont moins sévères.

La réceptivité n'est d'ailleurs pas spéciale au perroquet : la souris, le lapin, la poule sont également très sensibles aux inoculations. Le cobaye peut être infecté par simple ingestion (Böhme).

Bacille du hog-choléra.

Prototype des Salmonelloses, ce Bacille a été décrit par Salmon (1886) comme étant l'agent pathogène du hog-choléra (choléra du porc).

Depuis lors, et jusqu'à ces derniers temps, il avait gardé aux yeux des bactériologistes la même spécificité ; sa présence à peu près constante à l'autopsie des animaux atteints, la ressemblance frappante des lésions provoquées expérimentalement avec les lésions constatées naturellement ne laissaient guère de doute à ce sujet.

Mais des expériences multiples (Dorset, Schweinitz, Carré, Leclainche et Vallée, etc.) ont depuis lors démontré que le hog-choléra est certainement dû à un virus filtrant et invisible.

Des expériences de Lourens et de Gläser permettraient de supposer que c'est le Bacille du hog-choléra lui-même, réduit en granules, qui passe à travers les filtres. La question est encore à l'étude (Voy. p. 843).

Toutes les propriétés autres que l'action pathogène sont identiques à celles du Bacille paratyphique B.

Pouvoir pathogène. — A. Chez l'homme, il est probable que le Bacille du hog-choléra est l'agent des intoxications alimentaires provoquées par le porc (Pouchet, Rocchi).

B. Chez l'animal, le microbe se rencontre au cours du hog-choléra du porc, probablement à titre d'agent infectieux surajouté (infection secondaire), mais non spécifique.

C. Expérimentalement, le *lapin*, la *souris* sont très réceptifs. Les inoculations se montrent souvent pyogènes (au point d'inoculation) ; mort en quelques jours avec foyers de nécrose dans les organes, foie surtout, souvent bronchopneumonie ; septicémie généralisée.

Le *porc*, peu sensible à l'injection sous-cutanée, l'est davantage à l'injection intraveineuse et à l'ingestion. Les symptômes et lésions sont identiques à ceux de la maladie naturelle : noyaux d'infarctus pulmonaire et de bronchopneumonie ; congestion de l'intestin avec hypertrophie et ulcé-

ration des plaques de Peyer (analogie avec la fièvre typhoïde humaine).

Le *cobaye* est un peu moins réceptif.

Virus des rongeurs.

Pour des raisons diverses, économiques (dégâts commis par les rats) ou hygiéniques (prophylaxie de la peste et de la suette miliaire), on s'est efforcé de détruire les rats, spécialement en leur faisant ingérer des cultures microbiennes de *virus des rongeurs*. Ces virus ont été isolés au cours d'épizooties survenues spontanément chez les souris (Löffler), les campagnols ou *Mus decumanus* (Danysz). D'autres microbes analogues sont utilisés dans le même but : *Ratinbacillus*, *Liverpoolvirus*.

Ces différents virus des rongeurs présentent tous les caractères des Salmonelloses (Voy. *Bacille paratyphique B*).

Les réactions d'agglutination permettent d'identifier le virus de Löffler avec le Bacille paratyphique B ; les mêmes réactions rapprochent le virus Danysz du Bacille de Gärtner.

A plusieurs reprises, le virus de Löffler a provoqué des accidents sérieux chez des personnes qui l'avaient ingéré par erreur (Trommsdorf, Shibayama).

Virus Danysz. — Il est nécessaire de « spécialiser » la virulence du microbe à l'égard de l'espèce de rat qu'on veut combattre. Dans ce but, on pratique alternativement des passages sur la souris (par ingestion ; recueillir le Bacille dans le sang du cœur) et, en sacs de collodion, dans le péritoine du rat. Quand la virulence (par ingestion) est assez exaltée, on substitue à la souris le rat qu'on veut combattre (*Mus ratţus* ou *Mus decumanus*), en débutant par des animaux jeunes pour continuer par des rats de plus en plus âgés ; même technique que pour la souris. Dix à douze passages suffisent pour obtenir la virulence voulue.

Pour l'emploi, le virus est expédié en bouteilles ; on y projette des fragments de pain (ou de l'avoine) qui absorbent les Bacilles et sont ensuite projetés sur le sol. Les rats ingèrent le poison avec son support et périssent d'ordinaire en grand nombre.

Bacille de Gärtner.

Le Bacille de Gärtner, ou *Bacillus enteritidis*, est un des agents les plus fréquents des empoisonnements alimentaires ; c'est la seule manifestation pathologique qui lui ait été attribuée jusqu'ici chez l'homme. On le rencontre en outre chez l'animal au cours de diverses maladies : diarrhée, septicémie (veaux), métrite (vache), etc.

Ses propriétés morphologiques, culturales, biologiques, de même que ses aptitudes pathogènes, sont exactement celles du Bacille paratyphique B. Seules les *réactions à l'égard des sérums* le séparent de ce dernier. Les sérums spécifiques, humains ou expérimentaux agglutinent le Bacille de Gärtner, sans exercer d'action appréciable sur le Bacille paratyphique B (quelques exceptions pour les sérums humains) ; et inversement, les sérums spécifiques pour le Bacille paratyphique B n'agglutinent pas le Bacille de Gärtner.

On établira le diagnostic bactériologique de l'infection par la recherche du Bacille dans les excreta et par l'étude des propriétés du sérum sanguin.

CHAPITRE XXXIII

COLIBACILLE

Le Colibacille a été isolé pour la première fois par Escherich (1885) des selles du nouveau-né ; il est constamment présent dans l'intestin humain (gros intestin surtout), d'où ses diverses désignations : *Coli-*

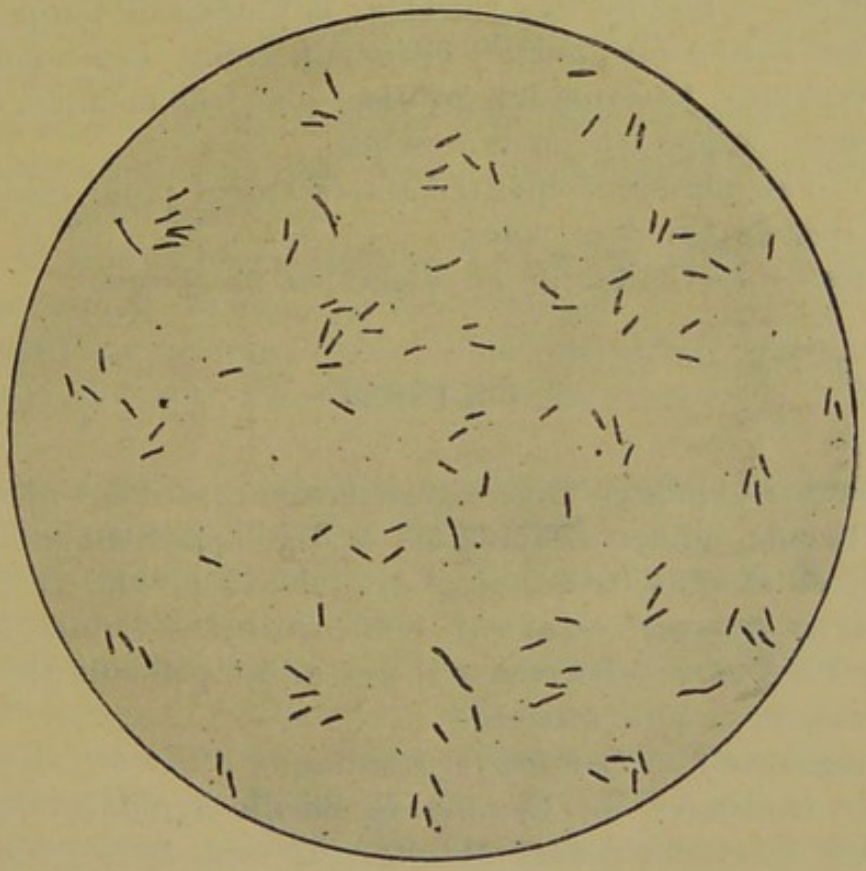


Fig. 209. — Colibacille. Culture en bouillon.

bacille, *Bacterium coli*, *Bacillus coli communis*, *Bacille d'Escherich*.

Il est extrêmement répandu chez l'homme, chez les animaux et dans tous les milieux. Le plus souvent réduit à l'état de simple saprophyte inoffensif, il devient parfois pathogène, tant pour l'homme que pour l'animal.

Le Colibacille constitue une « mauvaise espèce », c'est-à-dire une espèce bactériologique dont les divers représentants peuvent pré-

senter des propriétés assez variables. Les seules bases de classification résident dans leurs caractères microscopiques et dans leurs caractères de culture. Encore les réactions culturales sont-elles assez souvent atypiques à certains égards ; à ces Colibacilles atypiques on donne généralement le nom de *Paracolibacilles* (Gilbert et Lion). Nous dirons en temps utile quelques mots de ces Colibacilles aberrants (p. 493).

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Identiques à ceux du Bacille typhique. L'aspect bipolaire et la forme coccobacillaire sont toutefois plus fréquents.

Mobilité. — Elle est très variable ; la plupart du temps, le Colibacille est nettement mobile, beaucoup moins cependant que le Bacille typhique. Certains échantillons sont très mobiles ; d'autres, au contraire, complètement immobiles.

Cils. — Peu nombreux, quatre à six, rarement plus ; courts, assez souvent insérés aux deux pôles.

Spores. — Le Colibacille ne donne pas de spores.

CULTURES.

Les conditions générales de développement sont les mêmes que pour le Bacille d'Eberth. Toutefois le développement est souvent plus précoce et plus luxuriant (Voy. tableau p. 440, et fig. 213).

I. **Milieux d'usage courant.** — **Bouillon.** — Comme le Bacille d'Eberth. En plus, il existe souvent une mince pellicule à la surface. Odeur fécaloïde le plus souvent.

Eau peptonée. — Comme en bouillon.

Gélose inclinée. — Comme le Bacille typhique. Parfois la profondeur du milieu dégage des gaz, par suite de la fermentation des traces de glucose contenues dans toute viande.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Gélatine. — Culture abondante ; *le milieu n'est pas liquéfié.*

Certains échantillons donnent un aspect identique à celui du Bacille typhique, sur plaques, en strie et par piqûres.

La plupart des échantillons donnent une culture différente.

Sur plaques. — Les colonies superficielles sont opaques, luisantes, un peu plus larges que celles du Bacille typhique. Les colonies profondes, comme le Bacille typhique.

En strie. — Enduit opaque blanc, parfois visqueux ; les bords sont souvent minces et transparents.

En piqures. — Disque blanc, luisant à la surface ; ce disque peut atteindre les bords du tube. Dans la profondeur, colonies petites, opaques, souvent confluentes.

Pomme de terre. — Presque toujours il se forme un enduit saillant, jaunâtre ou brunâtre. Exceptionnellement, la culture est minime, comme celle du Bacille typhique.

Lait. — Développement abondant ; *coagulation* en un temps variable, vingt-quatre ou quarante-huit heures en moyenne, mais parfois plusieurs jours.

II. **Milieux de recherche.** — Voy. *Procédés de recherche du Bacille typhique* (p. 454).

III. **Milieux différentiels. — Milieux lactosés.** — Bouillon lactosé carbonaté. — Dégagement de gaz en douze à vingt-quatre heures, parfois plus tôt.

Gélose lactosée. — Même résultat ; dislocation du milieu.

Eau peptonée lactosée en tube en U. — Dégagement abondant de gaz dans la branche anaérobie.

Solution de Barsiekow lactosée. — Coloration rouge et coagulation en vingt-quatre heures, parfois davantage.

Autres milieux sucrés. — Les milieux *glucosés*, *lévulosés*, *galactosés*, *maltosés* donnent les mêmes résultats que les milieux lactosés.

Lait tournesolé. — La teinte initiale vire nettement au rouge en vingt-quatre heures ; le milieu est coagulé.

Petit-lait tournesolé. — Vire nettement au rouge en vingt-quatre heures ; le milieu est trouble.

Gélose au rouge neutre (p. 437). — Comme les Bacilles paratyphiques : fluorescence, décoloration, dislocation.

Autres milieux colorés. — Vire au rouge le milieu de Ramond. Vire au bleu le milieu de Robin (p. 438).

Milieux vaccinés. — Le Colibacille se développe sur milieux vaccinés contre le Bacille d'Eberth ou les Bacilles paratyphiques (ce caractère peut être en défaut tout à fait exceptionnellement).

Milieux métalliques. — Ne noircit pas les milieux au *sous-acétate de plomb* (quelques exceptions).

Artichaut. — Le Colibacille verdit rapidement (Roger).

Bouillon arsenical (p. 437). — Le Colibacille s'y développe.

Milieux minéraux. — Le Colibacille végète dans la plupart d'entre eux (Voy. p. 119 : *Liquides d'Ouchinsky, de Fraenkel et Voges*).

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — A l'égard de la chaleur, la résistance du *B. coli* est la même que celle du Bacille typhique.

Dans les cultures, il se montre plus robuste que ce dernier.

Si on ensemence en même temps les deux microbes dans un même milieu, on ne retrouve plus que le Colibacille après quelques jours.

D'après Rémy, dans l'expérience précédente, les deux microbes se modifient, le coli perd ses propriétés fermentatives et ne donne plus d'indol.

On peut considérer que le Bacille coli fait partie de la flore normale du sol et de certaines eaux ; sa vitalité y serait donc considérable.

Réactions biochimiques. — Action sur les sucres. — Le Colibacille fermente la plupart des sucres (Chantemesse et Widal, Péré) : lactose, glucose, lévulose, galactose, maltose, mannite, glycérine ; beaucoup d'échantillons fermentent la saccharose.

La *fermentation de la glucose*, prise comme type, donne naissance :

a. A des acides, surtout acide lactique, acide acétique, un peu d'acide formique. Le Colibacille du nourrisson donne l'acide lactique lévogyre ; celui de l'adulte, l'acide lactique dextrogyre (Péré) ;

b. A des gaz, formés surtout d'hydrogène (les deux tiers), d'acide carbonique et un peu de gaz des marais.

Les propriétés fermentatives du Colibacille sont largement utilisées dans les milieux de culture différentiels (Voy. p. 491). Ces milieux mettent en évidence soit la formation d'acides, soit la production de gaz.

Certains échantillons peuvent perdre apparemment leurs propriétés fermentatives, spécialement vis-à-vis de la lactose. La plupart du temps, cette propriété persiste, mais très atténuée ; le dosage de la lactose permet de constater une légère attaque (Grimbert et Legros).

Action dénitrifiante.— Identique à celle du Bacille typhique (Voy. p. 439).

Formation d'indol. — Le Colibacille type donne toujours de l'indol aux dépens des peptones.

Réaction à l'égard des sérums. — Agglutination. — Le Colibacille est agglutiné par certains sérums.

I. Le *sérum normal*, humain ou animal, n'agglutine pas chez le nouveau-né, alors qu'il agglutine presque toujours chez l'adulte (Pfaundler) ; mais le taux d'agglutination dépasse rarement 1 p. 60.

II. Les *sérums provenant de malades infectés* par le Colibacille ou *d'animaux inoculés* avec ce microbe, agglutinent ordinairement le Colibacille à des taux élevés (1 p. 500 et plus). Cette agglutination est presque toujours strictement *homologue*, c'est-à-dire que chaque sérum agglutine l'échantillon infectant, sans exercer d'action appréciable sur les autres Colibacilles.

Ainsi le sérum de malades atteints de cystite colibacillaire agglutinera le Colibacille isolé de cette cystite, mais n'agglutinera pas d'autres Colibacilles, même pas ceux provenant de l'intestin du même sujet ou ceux isolés dans d'autres cas de cystite.

Cependant Lesage a soutenu que, dans une même épidémie de diarrhées infantiles, le sérum de tous les malades agglutine le Colibacille isolé des selles de n'importe quel malade. Le fait, confirmé par Valagussa, est contesté par Nobécourt ; on peut en conclure que l'observation de Lesage s'applique seulement à certains épisodes, analogues sans doute aux empoisonnements alimentaires ; ces derniers, exceptionnellement, sont colibacillaires, et les sérums de tous les malades sont actifs sur les Bacilles de tous les malades, et *vice versa* (Haibe).

III. Le *sérum des typhiques* n'agglutine pas les races de *B. coli* conservées dans les laboratoires (P. Courmont et Lesieur) ; mais il agglutine presque toujours le Colibacille provenant de l'intestin du malade (Sacquépée).

ANOMALIES DU COLIBACILLE. — PARACOLIBACILLES.

Un certain nombre de microbes présentent l'ensemble des attributs du Colibacille, mais se séparent de l'espèce type par un ou deux caractères essentiels. Depuis Gilbert et Lion, on les appelle communément *Paracolibacilles*.

On a étendu dans la suite très abusivement le groupe des Paracolibacilles. On y trouvait confondus à un moment donné le Bacille de la psittacose, le Bacille du hog-choléra, le *B. lactis aerogenes*, le *B. fæcalis alcaligenes*, etc., aujourd'hui considérés comme formant des espèces distinctes. Il convient de limiter le groupe et de ne pas en faire un *caput mortuum* de la bactériologie.

Les types les plus répandus sont les suivants :

1° Type immobile. Le plus bel exemple est le Colibacille rencontré dans l'endocardite infectieuse par Gilbert et Lion ; ce Colibacille, inoculé aux animaux, produit de l'endocardite, de l'aortite et de la méningite.

2° Type ne donnant pas d'indol. Ce type est le plus fréquent. On le rencontre souvent dans les eaux. Achard et Renault l'ont signalé dans les infections urinaires.

3° Type immobile et ne donnant pas d'indol ; ce type est très voisin du Pneumobacille et surtout du *B. lactis aerogenes*.

4° Type ne réduisant pas le rouge neutre.

5° Le Bacille de la diarrhée verte des enfants, d'après Lesage, est un Colibacille chromogène, à pigment vert.

On avait décrit en outre un type de Paracolibacille ne fermentant pas la lactose, mais il est probable que ce microbe était, en réalité, un Bacille paratyphique.

ACTION PATHOGÈNE.

Le Colibacille peut se montrer pathogène pour l'homme et pour l'animal.

Dans les conditions naturelles. — Le Colibacille peut déterminer les affections les plus variées.

Chez l'homme. — A. Il provoque parfois des *septicémies*, de gravité variable. Elles prennent généralement leur point de départ dans un foyer infectieux localisé, dont l'agent pathogène est le Colibacille : à la suite de métrites (septicémie puerpérale), d'affections des voies urinaires, etc. Parfois la porte d'entrée est inconnue.

B. Des affections *localisées* sur presque tous les tissus ou appareils :

a. *Appareil digestif :* choléra nostras, diarrhée des nourrissons, appendicite ; parfois des amygdalites, des abcès du foie ;

b. *Voies biliaires :* angiocholite suppurée (fréquemment), ictère bénin ou infectieux (fréquemment), peut-être lithiase biliaire ;

c. *Voies urinaires :* cystite, pyélonéphrite, infection urinaire : le Colibacille paraît être l'*agent habituel* de ces diverses manifestations morbides. C'est lui qu'on avait décrit antérieurement sous le nom de *bactérie urinaire* (Clado) et de *bactérie pyogène de la vessie* ;

d. *Voies génitales :* métrite, salpingite ;

e. *Appareil respiratoire :* pleurésie, bronchopneumonie ;

f. *Appareil circulatoire :* endocardite infectieuse (Gilbert et Lion), péricardite, phlébite ;

g. *Système nerveux :* méningite ;

h. *Appareil locomoteur :* ostéite ;

i. *Tissu cellulaire :* phlegmon, phlegmon gazeux. Le *Bacillus pyogenes fœtidus* de Passet, agent des phlegmons gazeux, est identique au Colibacille.

Chez l'animal. — Le rôle pathogène du Colibacille est, jusqu'ici, moins étendu. On le signale particulièrement dans la diarrhée des veaux, l'entérite de la vache (Jensen), dans les infections urinaires du chien et du porc, dans l'ictère épidémique du chien.

Action pathogène expérimentale. — A l'égard des animaux de laboratoire, le pouvoir pathogène du Colibacille se montre extrêmement variable.

Virulence. — La virulence est souvent nulle ou très réduite. Les Bacilles pathogènes dans les conditions naturelles (chez l'homme ou l'animal) sont d'ordinaire virulents pour les animaux de laboratoire.

Les maladies de l'intestin (Lesage et Macaigne), toutes les maladies fébriles en général (Bard et Aubert) font apparaître ou exaltent la virulence du Colibacille de l'intestin humain.

Mais, d'autre part, un Colibacille de l'intestin d'individus parfaitement sains peut se montrer virulent par inoculation à l'animal.

Pour obtenir un Colibacille virulent (*virus exalté*), il suffit de faire des passages en série par l'animal (péritoine ou plèvre de préférence). On peut encore suturer l'anus du cobaye (occlusion intestinale) : l'animal succombe rapidement ; prélever la sérosité péritonéale, riche en Bacilles virulents.

La description ci-dessous concerne des Bacilles fortement virulents. Des Bacilles virulents à un moindre degré produiraient les mêmes effets, mais à doses plus fortes.

L'animal de choix est le cobaye.

Cobaye. — Les procédés les plus sévères sont l'inoculation intrapéritonéale et l'inoculation intrapleurale.

Inoculation intrapéritonéale. — Quelques gouttes de culture virulente provoquent une véritable péritonite avec hypothermie ; mort en moins de vingt-quatre heures. A l'autopsie, on trouve de la péritonite avec exsudats fibrino-purulents, de la congestion viscérale généralisée ; dans l'intestin, un liquide diarrhéique ; il existe de la tuméfaction des organes lymphoïdes (rate, plaques de Peyer) ; parfois des ecchymoses (intestin) ou des hémorragies (utérus). Bacille dans le sang et les organes (Rodet et G. Roux).

Inoculation intrapleurale. — Mêmes symptômes. A l'autopsie, pleurésie avec exsudats fibrino-purulents, parfois hémorragiques ; épanchement péricardique; congestion viscérale (poumons, intestin); rate hypertrophiée. Bacilles dans le sang et les organes.

Inoculation sous-cutanée. — Un centimètre cube de culture virulente provoque un abcès au point d'inoculation ; l'animal meurt en quelques jours, avec les lésions décrites ci-dessus dans les organes lymphoïdes et dans l'intestin.

Si la virulence est moindre, il se produit seulement un abcès, qui guérit par la suite.

Souris. — Un peu moins sensible que le cobaye. Mêmes procédés, mêmes lésions.

Lapin. — Moins sensible que le cobaye. A doses plus fortes, on reproduit les mêmes symptômes et les mêmes lésions que chez ce dernier. La résistance relative du lapin explique certaines lésions lentes, inconstantes : quelques jours après l'inoculation, suppurations multiples (ganglions mésentériques, foie, rate); quelques semaines après inoculation intraveineuse, une poliomyélite antérieure (Gilbert et Lion).

TOXINES.

I. Les bouillons de culture, stérilisés par filtration, demeurent toxiques pour les animaux, mais à doses fortes seulement.

II. Le précipité obtenu par le sulfate d'ammoniaque est un peu

toxique (Malvoz). D'après Vaughan, la véritable toxine serait adhérente au corps bacillaire et ne diffuserait pas (endotoxine).

III. Les effets des filtrats de cultures paraissent assez nets.

Chez le lapin (Gilbert), l'inoculation intraveineuse d'une dose mortelle est suivie des trois phases suivantes : d'abord parésie, anesthésie, mydriase, somnolence et même coma ; puis hyperexcitabilité musculaire (secousses convulsives); enfin, myosis, violente contraction tétanique généralisée persistant jusqu'à la mort. A doses moindres, on peut provoquer une intoxication chronique avec diarrhée, le plus souvent mortelle; à l'autopsie, on trouve parfois des altérations et des escarres de l'intestin.

Chez le cobaye : par injection intrapéritonéale, hypothermie, collapsus, mort (Boix) ; invasion du Colibacille intestinal dans le sang (Achard et Renault).

Chez la grenouille (Roger), trois phases successives : parésie d'abord, puis hyperexcitabilité, enfin paralysie.

Colilysine. — Les cultures faites en bouillon acide, filtrées, présentent une hémolysine active sur les globules rouges de chien, de cheval, de bœuf (Kayser). Elle apparaît au deuxième jour pour augmenter jusqu'au quatrième et demeure stationnaire jusqu'au quinzième. Très résistante, elle n'est pas détruite par un chauffage à 120° prolongé pendant trente minutes. Il existe une *anticolilysine* dans le sérum normal de l'homme et du cheval, de même que dans le sérum de lapins inoculés.

SIÈGE.

Le Colibacille peut être rencontré : 1° chez l'homme ; 2° chez l'animal ; 3° dans les tissus et organes cadavériques ; 4° dans les milieux extérieurs.

A. **Chez l'homme**. — 1° *A l'état normal*. — Le Colibacille fait partie de la flore intestinale normale, dont il constitue l'espèce prédominante. Il est présent dès les premières heures après la naissance, même avant toute alimentation (Escherich). Il habite en outre les parties inférieures des voies excrétrices des glandes annexes : voies biliaires (Gilbert et Lippmann), voies pancréatiques.

Il est souvent présent (43 fois sur 100, Grimbert et Choquet) dans la bouche, particulièrement sur les amygdales.

Il fait généralement partie de la flore normale de l'urètre.

2° *A l'état pathologique*, il se rencontre parfois dans le sang (septicémies), plus souvent dans les diverses manifestations morbides qu'il provoque (Voy. p. 494).

B. **Chez l'animal.** — Mêmes sièges que chez l'homme.

C. **Dans les tissus et organes cadavériques.** — Le Colibacille émigre de l'intestin dans les organes et tissus peu de temps après la mort (Würtz et Herman), et même pendant la période organique (Achard et Phulpin, Beco).

Cette pénétration est favorisée par des circonstances multiples: élévation de la température extérieure, existence de lésions intestinales. Mais ces conditions ont pour seul résultat d'accélérer la migration du Colibacille ; elles ne sont pas indispensables.

Comme conséquence, *la constatation du Colibacille sur le cadavre n'a pas de signification pathogénique.*

D. **Dans les milieux extérieurs.** — Provenant des excreta, le Colibacille peut être disséminé partout. Il est souvent rencontré dans les eaux, à peu près constamment dans le lait, souvent dans les aliments les plus divers (légumes, viandes, etc.). Sa présence dans le sol peut être considérée comme constante.

VACCINATION.

Expérimentalement, il est facile d'immuniser les animaux contre un Colibacille (Cesaris Demel et Orlandi, Albarran et Mosny, Rodet). Mais le fait a peu d'intérêt pratique, vu le particularisme étroit des différents échantillons de l'espèce.

C. Demel et Orlandi (1894) ont avancé que les animaux vaccinés contre le Bacille typhique étaient également vaccinés contre le Colibacille, et inversement. Ce fait n'a pas été confirmé.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic bactériologique ne peut être basé que sur la constatation du microbe. Il est souvent nécessaire, en outre, de contrôler son action pathogène par la recherche des propriétés sériques.

Recherche du microbe. — I. Pour chercher le Colibacille dans le sang, on s'adressera aux procédés habituels d'hémoculture (p. 866).

II. L'isolement du Colibacille dans les produits pathologiques est extrêment facile; pour le pus (cholécystites, par exemple), on peut se contenter de simples isolements sur gélose. La recherche dans les produits habituellement très impurs (cystites), et surtout dans les selles, sera facilitée par l'emploi de procédés spéciaux (p. 454).

III. L'identification du Colibacille ne présente aucune difficulté.

Interprétation des résultats. — I. Le Colibacille étant un agent habituel d'infections cadavériques, la constatation de sa présence sur le cadavre n'a aucune signification.

II. La présence du Colibacille dans le sang, pendant la vie, est

toujours un fait pathologique. Il sera toutefois prudent de s'assurer qu'il n'existe pas en même temps un autre microbe (Bacille typhique en particulier).

III. De même, la présence du Colibacille, pendant la vie, dans les organes qui lui sont normalement fermés (poumons, foie, vésicule biliaire, etc.) suffit à caractériser une infection colibacillaire.

IV. En ce qui concerne les organes ou tissus qui peuvent héberger normalement le Colibacille (vessie, intestin, bouche), le rôle pathogène du Colibacille peut être affirmé s'il existe une lésion grossière (cystite, angine) dont la culture donne exclusivement le Colibacille. En tout autre cas, avant de conclure à une infection Colibacillaire, il faut constater la présence dans le sérum d'anticorps spécifiques pour le Colibacille incriminé.

CHAPITRE XXXIV

BACILLUS FÆCALIS ALCALIGENES

Le *Bacillus fæcalis alcaligenes*, décrit par Petruschky, est peut-êtr pathogène pour l'homme (entérites, infection typhoïde), mais le fait n'est pas nettement établi. C'est avant tout un microbe rencontré fréquemment dans l'intestin humain, à l'état normal ou à l'état pathologique ; *il ressemble par nombre de caractères au Bacille d'Eberth et a certainement été bien souvent confondu avec ce dernier*. C'est surtout pour éviter cette confusion qu'il faut le connaître.

Étude du « Bacillus fæcalis alcaligenes », comparé au Bacille typhique. — Le lecteur voudra bien se reporter au chapitre *Bacille typhique* (p. 432), au tableau de la page 440 et à la figure 214.

Caractères communs. — Le *B. fæcalis alcaligenes* rappelle le Bacille typhique par les caractères suivants :

C'est un Bacille à bouts arrondis, mobile (souvent très mobile), ne prenant pas le Gram.

Il se développe bien sur tous les milieux usuels ; l'optimum de température est vers 37°. Les cultures sur gélose, sur gélatine, sur rouge neutre, de même que les colonies sur les milieux de recherche (milieux d'Endo, de Drigalski, Conradi et similaires) présentent l'aspect des cultures ou colonies du Bacille typhique. Il ne fermente pas la lactose, ne coagule pas le lait et ne donne pas d'indol.

Caractères différentiels. — Mais d'autres caractères séparent nettement les deux microbes :

Les cils du *B. fæcalis alcaligenes* sont polaires (uni ou bipolaires, en moyenne trois à cinq) et non péritriches.

Ses cultures sont exclusivement aérobies et non facultativement anaérobies. Les caractères de culture sont un peu différents en bouillon, nettement différents en lait, lait tournesolé, et surtout pomme de terre et petit-lait tournesolé :

En bouillon, le *B. fæcalis alcaligenes* donne un trouble uniforme avec voile assez épais à la surface.

Le lait n'est pas coagulé, mais il se clarifie un peu (opalescence) après une huitaine de jours.

Sur pomme de terre, il se forme un enduit épais, brun.

Le lait tournesolé devient alcalin (teinte bleue), en un temps variable, souvent deux à quatre jours.

Le petit-lait tournesolé présente en vingt-quatre heures un trouble homo-

gène avec voile à la surface, et prend en même temps une réaction alcaline (teinte bleue) très accusée.

L'action sur les sucres est un peu inconstante. Le *B. fæcalis alcaligenes* ne fermente jamais la mannite, presque jamais la glucose, la galactose, la lévulose ; en milieux mannités, glucosés, etc., additionnés de tournesol, le *fæcalis* provoque presque toujours l'alcalinisation (teinte bleue).

Les sérums spécifiques pour le Bacille d'Eberth n'agglutinent pas ou presque pas le *B. fæcalis alcaligenes.*

L'action d'un sérum spécifique pour le *B. fæcalis alcaligenes* est fort variable (Klimenko) ; certains échantillons de l'espèce sont agglutinés à hautes dilutions, d'autres ne sont pas agglutinés. En tout cas, un tel sérum est sans action sur le Bacille typhique.

Cet ensemble de caractères éloigne nettement le *B. fæcalis alcaligenes* du Bacille typhique. La confusion est impossible ; il suffit d'y penser.

Cause d'erreur. — Il peut arriver qu'une colonie, en apparence bien isolée, contienne en réalité à la fois le Bacille typhique et le *B. fæcalis alcaligenes* ; les cultures issues de cette colonie seront également mixtes. Berghaus n'a pas eu de peine à montrer que Atschüler, puis Dœbert étaient partis de telles cultures mixtes quand ils ont prétendu « transformer » le Bacille de Petruschky en Bacille typhique ; en réalité, les deux espèces sont foncièrement distinctes.

Remarque. — I. Klimenko a bien montré qu'on rapporte souvent au *B. fæcalis alcaligenes* des germes producteurs de pigment fluorescent vert ou verdâtre ; ces bactéries appartiennent au *B. fluorescens non liquefaciens.* Elles sont alcaligènes et se rapprochent par leurs caractères généraux du microbe que nous étudions, mais elles se séparent de lui par leur pouvoir chromogène et par leur propriété de fermenter la glucose et la lévulose.

II. L'espèce *B. fæcalis alcaligenes* est bien définie par les attributs énumérés ci-dessus. On a décrit en outre d'autres Bacilles alcaligènes, dont les relations avec les espèces classées ne sont pas toujours très bien établies.

CHAPITRE XXXV

BACILLE DYSENTÉRIQUE

On admet actuellement que la dysenterie n'est pas une. Cette expression ne s'applique qu'à un syndrome, qui traduit un état inflammatoire du côlon, ressortissant à des causes étiologiques variables. Il n'existe donc pas *une* dysenterie, mais *des* dysenteries, produites par différentes causes parasitaires. On connaît en effet une dysenterie produite par les amibes (dysenterie amibienne), une dysenterie balantidienne, etc., enfin, la plus connue dans nos régions, la *dysenterie bacillaire*.

Cette dysenterie bacillaire sévit de préférence dans les pays tempérés, mais aussi parfois sous les tropiques; elle est épidémique et essentiellement saisonnière. Enfin elle est produite par un Bacille spécifique : le *Bacille dysentérique*, découvert en 1888 par Chantemesse et Widal, étudié ensuite et bien identifié par Shiga et de nombreux auteurs.

Les recherches ultérieures montrèrent que ce Bacille dysentérique pouvait n'être pas toujours égal à lui-même au cours des diverses épidémies étudiées ; certains échantillons se différencient en effet les uns des autres par leurs propriétés biologiques. C'est ce qui a déterminé les auteurs allemands à démembrer la dysenterie bacillaire, et à prétendre qu'il n'existait pas *un*, mais *plusieurs* Bacilles dysentériques.

En réalité ces germes doivent être considérés comme les différentes races d'un seul et même bacille spécifique. Mais, comme ils se distinguent les uns des autres par quelques caractères spéciaux, il nous faut les étudier séparément. Nous envisagerons donc successivement les Bacilles du *type Shiga*, du *type Flexner*, du *type Hiss*.

BACILLE DYSENTÉRIQUE DU TYPE SHIGA.

MORPHOLOGIE. — ASPECT MICROSCOPIQUE.

L'aspect est le même dans l'organisme et les cultures. C'est un bâtonnet court de 1 à 3 μ, aussi long que le Bacille typhique, mais

plus trapu et plus épais (fig. 210) ; il est arrondi à ses extrémités. Dans les cultures liquides, au bout de quelques jours, se montrent des formes longues d'involution.

Examiné à l'état frais, il est dénué de mouvements propres, mais présente des *mouvements d'oscillation sur lui-même* (comme l'aiguille d'une boussole) ; il tournoie sur lui-même ou fait comme une pirouette. Mais, à l'inverse du Bacille typhique, il n'effectue aucun mouvement de projection ni de reptation.

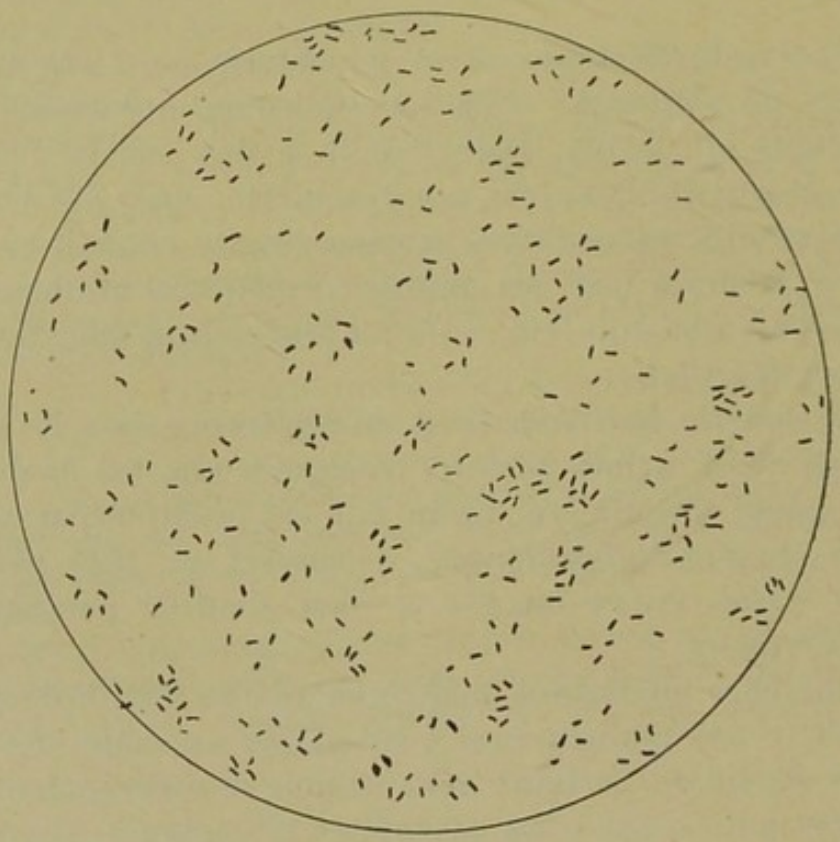


Fig. 210. — Culture de Bacille de Shiga sur gélose âgée de vingt-quatre heures.

Il ne possède pas de *cils* et ne forme pas de *spores*.

Coloration. — Il se colore aisément par toutes les couleurs d'aniline et *ne prend pas le Gram*. Dans les préparations colorées par la fuchsine de Ziehl diluée ou le bleu de méthylène, il présente souvent des granulations polaires, retenant davantage la coloration ; le corps du microbe présente une teinte plus claire.

CULTURES.

Il cultive abondamment dans les milieux aérobies et anaérobies. Sa température optima est de 37°. A la température du laboratoire, il pousse, mais moins bien ; au-dessous de + 6°, il ne se développe

plus. La réaction des milieux doit être alcaline; en milieu légèrement acide, sa culture est grêle ou nulle.

Bouillon ordinaire. — Le développement apparaît vers la sixième ou huitième heure; au bout de vingt-quatre heures, le trouble est uniforme; une légère agitation produit des ondes moirées, analogues à celles du Bacille typhique. Les jours suivants, un dépôt glutineux se forme.

Il ne forme jamais de voile à la surface, mais, au bout de quelques

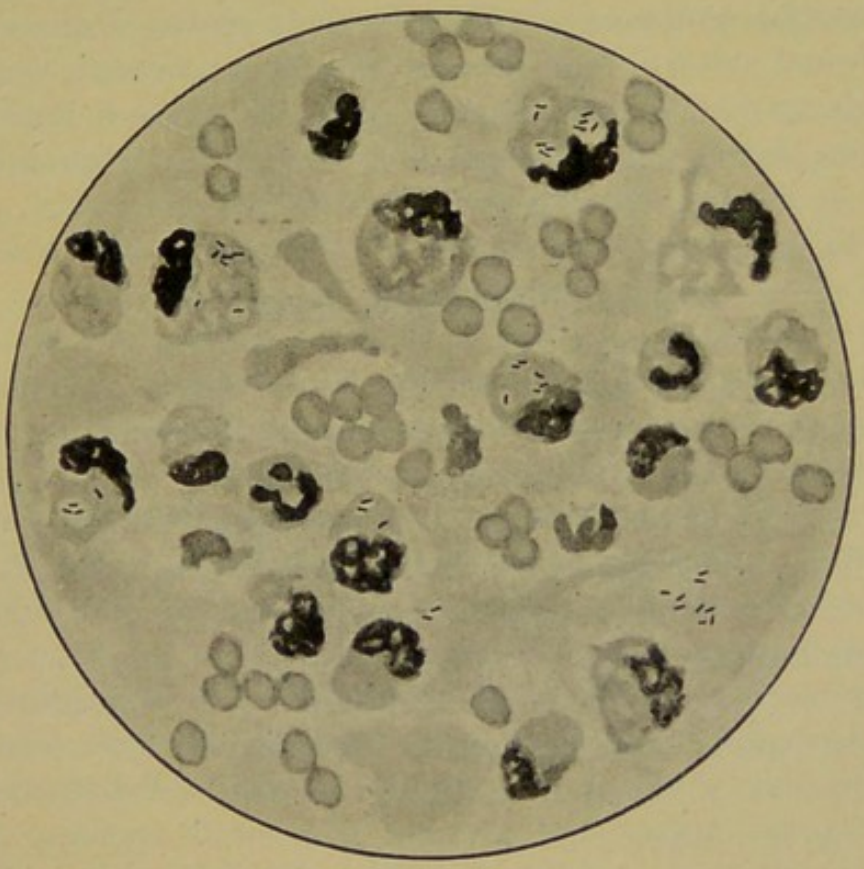


Fig. 211. — Bacille dysentérique dans un frottis de selles.

ours, une légère collerette se montre sur les bords du tube, à la partie la plus superficielle du liquide.

Gélatine. — La gélatine n'est pas liquéfiée. En *surface inclinée*, il se forme une membrane mince, pelliculaire, opaline, à bords irréguliers, presque identique à celle du Bacille typhique.

Les *colonies isolées* sont minces, transtucides, à bords découpés, traversés par des sillons semblables aux nervures d'une feuille de vigne.

En piqures. — Vers le deuxième jour, un pointillé blanchâtre, confluent, apparaît le long de la piqûre : à la surface, c'est un disque mince, transparent, à bords irisés, qui s'opacifie dans la suite.

Gélose. — La strie d'ensemencement est mince, blanc opalin, humide, glutineuse, semi-transparente, à peine saillante ; elle est un peu plus épaisse que celle du Bacille typhique.

Les colonies isolées présentent les mêmes caractères.

Sur gélose d'Endo, les colonies restent rosées, prenant seulement la teinte du milieu, alors que le Colibacille donne des colonies rouge vif.

Sérum coagulé. — Culture blanc jaunâtre différant peu des cultures sur gélose.

Pomme de terre. — Au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures, prend naissance une glaçure humide, très mince, peu visible. Suivant la qualité de la pomme de terre, elle devient, dans la suite, grisâtre ou jaunâtre. Les formes d'involution sont fréquentes.

Lait. — Pousse abondamment sans le coaguler.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — La vitalité du Bacille dysentérique est faible. Dans les cultures, il ne vit pas plus de trois à quatre semaines.

Il est très sensible aux influences extérieures.

Il est tué en quelques minutes par la température de l'ébullition ; un chauffage à 58° pendant une heure le fait succomber. Par contre, G. Schmidt a constaté sa résistance pendant deux mois à l'action d'un froid modéré.

La dessiccation, la lumière du soleil ont sur lui une influence bactéricide énergique ; sous l'action du soleil, il ne résiste pas plus de trente minutes (Shiga). L'humidité, au contraire, l'obscurité favoriseraient sa résistance.

Dans les selles rejetées dans le milieu extérieur, où il souffre de la concurrence vitale des germes intestinaux, il disparaît au bout de deux à trois jours.

Dans l'eau, sa résistance varie suivant la qualité de cet élément :

Eau de source stérilisée à 15° : survie de six à sept jours ;

Eaux impures stérilisées à 15° : survie de dix à douze jours ;

Plus l'eau est impure, plus courte est la vitalité.

Diverses conditions influent défavorablement sur cette dernière, notamment la lumière et la température de l'eau. Il résiste cinquante-quatre à soixante-huit jours par une température de 6°, et beaucoup moins par une température de 38° que de 20° (H. Vincent).

Réactions biochimiques. — Absence de production d'indol. — La recherche de l'indol dans les cultures en bouillon ou en eau peptonée reste toujours négative avec le Bacille de Shiga.

Action sur les sucres. — Le Bacille dysentérique du type Shiga ne fait fermenter aucun sucre (lactose, mannite, maltose, saccharose, etc.). Ce caractère est important à retenir pour le différencier des types Flexner et Hiss.

Le lait n'est pas coagulé. En *lait tournesolé*, la teinte bleue n'est pas modifiée; ou bien il se produit un faible virage au violet rougeâtre; la teinte bleue reparaît au bout de quarante-huit heures.

En *petit-lait tournesolé* (*milieu de Petruschky*), il se produit une culture légère; après vingt-quatre heures d'étuve, le milieu vire légèrement au rouge; la teinte améthyste reparaît quarante-huit à soixante-douze heures après.

En *bouillon lactosé carbonaté*, aucun dégagement de gaz.

Les *milieux au rouge neutre* ne sont pas influencés; la teinte est conservée, sans *aucune fluorescence*.

En *gélose lactosée tournesolée*, le Bacille de Shiga ne fait pas virer la teinte bleue du tournesol : pas de bulles de gaz. Il en est de même de tous les milieux sucrés à composition semblable (gélose *mannitée*, *maltosée*, *saccharosée*, additionnée de tournesol).

Ce germe ne produit donc *aucune fermentation sucrée* (fig. 215).

Ces caractères se retrouvent avec les *milieux de Barsiekow*, que l'on prépare avec les sucres précédents.

Action sur les milieux minéraux (Dopter et Sicre). — Sur gélose au *tartrate de fer* à 3 p. 100, pas de changement de coloration (le Bacille typhique donne une teinte noire en deux jours, le Colibacille plus tardivement).

Sur gélose au *nitroprussiate de soude*, la teinte devient bleue ou verte en quarante-huit heures (réaction identique à celle du Colibacille; le typhique donne une teinte bleue légère en plusieurs jours).

Sur gélose à l'*acétate basique de plomb*, la coloration ne change pas (comme avec le Colibacille; teinte noire en quarante-huit heures avec le bacille typhique).

Cultures en bouillon phéniqué et arsénié. — En bouillon phéniqué à 0,75 p. 100 à 41°, en bouillon arsénié à 1 p. 100, la culture est positive.

Milieux vaccinés. — Le Bacille de Shiga, ensemencé sur une culture de Shiga raclée, ne pousse pas. Le Bacille typhique y pousse maigrement, le Colibacille abondamment.

Sur cultures raclées de typhique et de Colibacille, le Shiga ne pousse pas.

Réactions vis-à-vis des antisérums. — Le sérum des animaux préparés par injections de Bacille de Shiga et le sérum des

malades contient des anticorps vis-à-vis de ce dernier, parfois aussi mais moins abondants, vis-à-vis les Bacilles voisins.

Agglutination. — **Sérum des animaux immunisés.** — Le sérum des animaux (lapin, chèvre, âne, cheval, etc.) qui ont reçu, à doses croissantes, des injections sous-cutanées intraveineuses, intrapéritonéales de Bacille de Shiga acquiert des propriétés agglutinatives élevées vis-à-vis de ce germe.

Ce pouvoir agglutinant est spécifique, car :

1° Le sérum normal n'est jamais agglutinant pour les Bacilles dysentériques (le Flexner cependant peut être agglutiné à 1/50 et même 1/80) ;

2° L'antisérum ne contient d'agglutinines spécifiques que pour le germe qui a servi d'antigène; il en est totalement dépourvu vis-à-vis de germes cependant très voisins : le Bacille typhique, les paratyphiques, le Colibacille ;

3° *Le sérum d'un animal vacciné contre le type Shiga agglutine exclusivement ce germe et reste sans action sur les Bacilles des types Flexner et Hiss ;*

4° Inversement, *le sérum d'un animal vacciné respectivement contre les Bacilles de Flexner et de Hiss agglutine respectivement ces germes et reste sans action sur ceux du type Shiga.*

Sérum des sujets atteints de dysenterie bacillaire. — Les recherches concernant les sérums humains montrent que :

1° En général, le sérum des malades atteints de dysenterie bacillaire agglutine les cultures du Bacille dysentérique qui a provoqué l'infection intestinale, et ce seul germe.

Ainsi, *le sérum d'un sujet infecté par le type Shiga agglutinera le Shiga et tous les germes qui rentrent dans ce groupe ; mais il reste sans action sur les Bacilles de Flexner et de Hiss.*

Inversement, *le sérum d'un malade infecté par un bacille autre que le Shiga agglutinera les bacilles correspondants ; mais ses propriétés agglutinatives seront nulles pour les germes du type Shiga.*

Telle est la loi établie par Martini et Lentz : elle souffre cependant des exceptions, et l'on peut voir des sérums d'animaux vaccinés et de malades qui agglutinent plusieurs germes. Il s'agit alors le plus souvent d'*agglutinines de groupe*, ainsi que le montre l'épreuve de saturation des agglutinines (épreuve de Castellani).

2° Le sérum de sujets sains ou atteints d'infections étrangères à la dysenterie bacillaire n'agglutine spécifiquement aucun des bacilles dysentériques (mention spéciale doit être faite des malades atteints de dysenterie amibienne et de diarrhée de Cochinchine, dont les sérums sont dénués d'agglutinines quand ces affections sont seules

en cause). Dans les cas d'infection mixte par l'Amibe et le Bacille dysentérique, l'agglutination peut se produire vis-à-vis de ce dernier.

3° Quel que soit le germe infectant, l'agglutination ne se montre que dans les formes moyennes ou graves ; elle apparaît habituellement vers le huitième ou dixième jour de la maladie, persiste pendant toute sa durée, s'observe pendant la convalescence et survit parfois deux à trois mois à la guérison.

Dans les formes légères, son absence est la règle, car elles guérissent avant le délai minimum d'apparition du pouvoir agglutinant. Si elles se prolongent, celui-ci peut se montrer, même dans le cas de diarrhée simple survenant en pleine épidémie, à côté d'atteintes bien caractérisées (Dopter).

Précipitines. — Un Shiga-sérum mélangé à une culture filtrée de Bacille de Shiga (I goutte de sérum pour X gouttes de filtrat) donne lieu immédiatement à un précipité (réaction de Kraus) qui s'amasse au fond du tube. La même culture, mélangée à un Flexner-sérum, donne également un précipité, mais moins abondant.

Cette réaction des précipitines est nulle avec le sérum normal ou d'autres antisérums.

Sensibilisatrice. — **Sérums expérimentaux.** — Le sérum des animaux vaccinés contre le Bacille de Shiga contient une sensibilisatrice spécifique vis-à-vis de ce germe. Contrairement à ce qui se passe pour l'agglutination, l'action spécifique des ambocepteurs s'exerce aussi vis-à-vis des autres types connus de Bacille dysentérique. L'épreuve s'effectue classiquement par la *fixation du complément*.

Sérums humains. — La même expérience effectuée avec le sérum des malades atteints de dysenterie bacillaire donne des résultats identiques. Autrement dit, le sérum d'un sujet infecté par le Shiga possède une sensibilisatrice non seulement pour le Shiga, mais pour le Flexner, le Bacille de Hiss (Dopter).

Cette sensibilisatrice est constante dans les formes graves et moyennes ; elle est parfois perceptible dans les formes légères.

Elle apparaît vers le cinquième, sixième ou septième jour de la maladie, et persiste habituellement pendant la convalescence. Sa production est indépendante de celle des agglutinines.

Le sérum des sujets normaux, des sujets atteints de dysenterie amibienne en est complètement dépourvu.

ACTION PATHOGÈNE. — DYSENTERIE EXPÉRIMENTALE

La réalisation de la dysenterie expérimentale chez l'homme et l'animal constitue la preuve la plus évidente du rôle pathogène spécifique du bacille dysentérique.

Expérimentation sur l'homme. — En 1901, Strong et Musgrave, aux Philippines, font ingérer à un condamné à mort une culture de Bacilles dysentériques; six heures après, il fut atteint des symptômes classiques de la dysenterie; il guérit dans la suite.

Plus tard, Kruse, Lüdke, ayant avalé par mégarde des cultures du Bacille de Shiga, contractèrent la dysenterie.

Expérimentation sur l'animal. — En général, l'animal est sensible au Bacille de Shiga. Le chien, le lapin, le rat, la souris sont les plus réceptifs ; le cobaye est plus réfractaire.

Inoculation intrapéritonéale. — Elle est suivie d'une péritonite suppurée, caractérisée par la production d'un pus grisâtre, filant, visqueux, contenant en foule des Bacilles spécifiques, inclus dans les globules pyoïdes, mais aussi extracellulaires. Le Bacille se généralise et se retrouve dans tous les viscères. La mort survient en douze à quarante-huit heures, suivant la dose injectée.

Inoculation intraveineuse. — Elle détermine chez le lapin une septicémie qui s'accompagne de phénomènes paralytiques, d'hypothermie, de diarrhée. A l'autopsie, on constate de l'œdème de la muqueuse du gros intestin, parfois des suffusions hémorragiques. Mais la mort survient trop rapidement pour qu'on puisse réaliser au complet la dysenterie expérimentale.

Inoculation sous-cutanée. — Lapin. — L'inoculation sous-cutanée de 3 à 4 centimètres cubes d'une culture en bouillon de Bacille de Shiga, âgée de vingt-quatre heures, détermine chez un lapin de 2 kilos les phénomènes suivants :

Au point d'inoculation se développe un œdème inflammatoire énorme, où le Bacille injecté pullule ; la température s'élève à 40°. Le lendemain, l'animal est abattu, son poil se hérisse; il présente une diarrhée muqueuse abondante, parfois sanguinolente.

Vers le troisième jour, on observe une paralysie du train postérieur ou antérieur, parfois généralisée, précédée ou non de convulsions. Puis l'hypothermie apparaît, et l'animal succombe vers le quatrième ou cinquième jour.

A l'autopsie, le gros intestin est extrêmement épaissi et œdématié; la surface de la muqueuse est hyperémiée et parsemée de suffusions hémorragiques. A un degré plus avancé, la congestion

œdémateuse est intense et, sur la teinte lie de vin que présente la muqueuse, se détachent, principalement au niveau des replis, des taches grisâtres, s'effritant facilement, et laissant à nu, une fois soulevées, une surface rouge vif, extrêmement vascularisée. Quand ces taches, véritables plaques de nécrose, se détachent d'elles-mêmes, elles sont remplacées par des ulcérations irrégulières, à bords anfractueux, dont le fond est constitué par un tissu friable, sanieux, comme gangrené (Vaillard et Dopter).

L'intestin grêle, habituellement sain, ne contient qu'un liquide diarrhéique. Il est remarquable de voir le contraste frappant entre cette intégrité relative et les lésions cæcales qui débutent à la face inférieure de la valvule de Bauhin.

L'estomac est parfois parsemé, au niveau de la muqueuse, d'hémorragies punctiformes, lenticulaires, qui font saillie dans la cavité gastrique.

Le foie, la rate, le rein sont indemnes ; les capsules surrénales sont hypertrophiées et très congestionnées. Les ganglions mésentériques sont hyperémiés et hypertrophiés.

Chien. — Chez le chien jeune ou débilité par un artifice, l'inoculation sous-cutanée réalise mieux encore l'image de la dysenterie humaine (Vaillard et Dopter).

L'inoculation sous la peau d'un à deux tubes de culture en gélose développe un œdème sous-cutané énorme, dont le liquide, riche en bacilles, prend un caractère hémorragique. Puis l'animal perd l'appétit, devient triste, reste couché dans sa cage et paraît souffrir ; parfois il gémit et semble torturé par des besoins répétés. Les selles sont tantôt dures, ovillées, striées de sang, tantôt molles visqueuses, semblables aux crachats rouillés de la pneumonie ; tantôt plus fluides et s'étalant en nappes de mucus mélangé de sang. On voit alors l'animal rejeter des placards glaireux et sanglants identiques à ceux de la dysenterie grave de l'homme. Il maigrit rapidement, et meurt du quatrième au sixième jour dans l'hypothermie (32° à 33°).

A l'autopsie, les lésions sont calquées sur celles de la dysenterie humaine : le gros intestin est épaissi, œdémateux ; la muqueuse est boursouflée, tuméfiée, rappelant l'aspect du velours rouge sombre, marbrée d'ecchymoses ; à ces lésions initiales se surajoutent des foyers de nécrose superficielle : plaques jaunâtres, diphtéroïdes, écailleuses, friables, dont la chute amène des ulcérations superficielles, à bords irréguliers.

L'épiploon, le mésentère sont œdémateux et congestionnés ; les ganglions mésentériques sont rouges et hypertrophiés.

L'intestin grêle est presque indemne ; il en est de même des autres viscères.

On ne peut qu'être frappé de la similitude de ces lésions macroscopiques avec celles de la dysenterie humaine ; la similitude s'accuse encore quand on compare entre elles les *lésions histologiques* qui présentent un parallélisme absolu dans les différents stades qu'elles parcourent. Signalons, en outre, l'affinité élective bien curieuse de ce virus, qui, introduit sous la peau, va se localiser exclusivement sur le gros intestin. A elle seule, cette propriété prouverait déjà la spécificité du microbe en cause.

Inoculation par les voies digestives. — Jusqu'en 1909, on n'avait pu reproduire expérimentalement la dysenterie bacillaire chez l'animal par ingestion. On peut cependant arriver à ce résultat (Kazarinow, Dopter et Repaci) en faisant ingérer à de jeunes lapins de 700 à 800 grammes des doses énormes de Bacilles dysentériques (émulsion de deux boîtes de Roux raclées dans du bouillon).

Le lendemain ou les jours suivants, l'animal présente une diarrhée intense ; il maigrit considérablement. Puis les membres postérieurs se paralysent, et l'animal meurt dans l'hypothermie, cinq à vingt jours après le repas infectant.

A l'autopsie, on retrouve les mêmes lésions que quand l'inoculation a été pratiquée par la voie sous-cutanée. Le Bacille dysentérique se rencontre dans les déjections; il ne se généralise pas aux viscères.

TOXINE DYSENTÉRIQUE.

L'observation montre que les cultures tuées par la chaleur ou le chloroforme sont douées du même pouvoir pathogène que les cultures vivantes (Drigalski et Conradi, Vaillard et Dopter). Elles provoquent les mêmes symptômes et les mêmes lésions. Ces résultats ont conduit à penser que la nocivité du Bacille de Shiga devait avoir pour cause une substance toxique retenue à l'intérieur des cellules microbiennes et libérée dans l'organisme, autrement dit une toxine. Cette toxine existe en effet :

Préparation de la toxine. — ***Procédé de l'autolyse aseptique*** (Conradi). — On émulsionne dans 20 centimètres cubes d'eau physiologique une culture sur agar en boîte de Roux. Mise à l'étuve à 37° pendant vingt-quatre à quarante-huit heures. On filtre au filtre Berkefeld : $0^{cc},1$ du filtrat injecté dans les veines d'un lapin de 2 à 3 kilogrammes lui donne de la diarrhée, des paralysies, de l'hypothermie ; il succombe en quarante-huit heures.

Neisser et Shiga, puis Dœrr ont proposé un procédé presque

identique : Dœrr émulsionne une culture en boîte de Roux dans 50 centimètres cubes d'eau physiologique ; et, sans chauffer, sans mettre à l'étuve, il filtre sur bougie Reichel : $0^{cc},3$ ou $0^{cc},5$ du filtrat tuent le lapin dans les veines en trois jours.

Procédé de Todd et Rosenthal. — Ensemencer du Bacille de Shiga en bouillon assez fortement alcalin ; mettre à l'étuve à 37° pendant trois semaines, puis on filtre sur bougie Chamberland. On obtient ainsi un liquide extrêmement toxique pour l'animal : $0^{cc},01$ injecté dans les veines d'un lapin de 1 600 à 1 700 grammes le tue en quarante-huit heures. Quand la filtration est effectuée avant le délai indiqué, la toxicité est moindre ; mais plus elle se rapproche du vingtième jour, plus elle est accusée. Après la troisième semaine, la toxicité décroît progressivement.

La toxine obtenue peut être précipitée par l'addition de sulfate d'ammoniaque à saturation : un précipité brunâtre se forme à la surface du liquide ; on le recueille, on le dialyse, on le dessèche, puis il est pulvérisé. $0^{gr},002$ de cette poudre dissoute dans l'eau tue en deux à cinq jours un lapin de 1800 grammes injecté dans les veines.

La précipitation peut être opérée par l'alcool absolu (5 à 6 volumes pour 1 volume de filtrat). Un précipité se forme qui se sédimente. Sa toxicité est égale à celle de la poudre précédente.

Procédé de Besredka. — Des cultures sur agar en boîtes de Roux, âgées de seize à dix-huit heures, sont émulsionnées dans l'eau physiologique, tuées à 60° pendant une heure et desséchées dans le vide. $0^{gr},4$ de bacilles secs sont mélangés avec $0^{gr},15$ de chlorure de sodium sec, puis triturés dans un mortier d'agate jusqu'à l'obtention d'une poudre impalpable.

Dans le mortier, on verse alors goutte à goutte 1 à 2 centimètres cubes d'eau distillée qui dissout le sel ; les microbes s'agglutinent ; ajouter 20 centimètres cubes d'eau pour ramener la concentration à celle de l'eau physiologique ; transvaser dans un tube à essai cette émulsion, dont les germes se déposent au fond du tube. Après agitation, abandonner le mélange à la température ordinaire. Le lendemain, décanter la partie liquide supérieure, opalescente, renfermant la toxine en solution.

Propriétés de la toxine dysentérique. — La toxine dysentérique possède plusieurs propriétés qui la distinguent des toxines similaires :

Elle est assez résistante à la chaleur, puisque un chauffage de 75° pendant une heure l'affaiblit sans la détruire ; elle n'est détruite que par un chauffage d'au moins 81° pendant une heure.

Dœrr a montré sa résistance à la lumière, aux acides minéraux à 20 p. 100, à la bile, aux ferments du tube digestif, comme la trypsine.

Par contre, son activité est anéantie quand on la met en contact avec la pulpe d'intestin grêle du lapin normal pendant deux heures à l'étuve (Dœrr). La pulpe des autres viscères la laisse indemne.

Nature de la toxine. — Deux opinions sont en présence : les uns (Kraus et Dœrr), s'appuyant sur l'obtention de la toxine par le procédé de Todd et Rosenthal, l'envisagent comme une toxine soluble ; les autres la considèrent comme une toxine retenue dans les corps microbiens, autrement dit comme une endotoxine.

Cette conception paraît être la plus vraisemblable ; la toxine obtenue par le procédé de Todd et Rosenthal possède les mêmes qualités et propriétés que celle qu'on extrait des corps microbiens par les méthodes d'autolyse ; son pouvoir pathogène est identique encore ; enfin le poison contenu dans les ballons de bouillon de Todd et Rosenthal est assurément celui qui a été, non pas sécrété par les germes, mais dégorgé par les corps microbiens dans le liquide ; en effet, dans ces ballons, la culture cesse, et les microbes succombent vers le dixième jour, alors que la toxicité du filtrat présente son maximum au vingtième jour. Il se produit non pas une sécrétion, mais une excrétion de toxine.

Effets pathogènes de la toxine sur l'animal. — La toxine dysentérique, injectée seule dans les veines ou sous la peau des animaux, reproduit trait pour trait les symptômes et les lésions qu'on provoque avec les cultures vivantes ; les lésions portent principalement sur le gros intestin et le système nerveux.

Sur le *gros intestin*, on a l'image de la dysenterie humaine.

Au niveau du *système nerveux*, on observe des altérations plus particulièrement au niveau de la moelle. Elles atteignent l'axe gris, sont diffuses ou de préférence localisées ; elles consistent alors en de véritables foyers de ramollissement se développant dans les cornes antérieures : lésions nécrotiques détruisant les éléments cellulaires et les fibres myéliniques. En somme, on observe une véritable poliomyélite, dont dépendent les phénomènes paralytiques observés pendant la vie.

Ces faits permettent d'expliquer la pathogénie de la dysenterie bacillaire humaine : le Bacille pullule dans le gros intestin, s'y cantonne, mais élabore une toxine qui diffuse dans l'organisme et y produit les phénomènes d'intoxication qu'on observe régulièrement.

BACILLES DYSENTÉRIQUES DU TYPE FLEXNER.

Morphologie. — Les caractères morphologiques du Bacille dysentérique du type Flexner ne diffèrent en rien de ceux qui ont été assignés au Bacille de Shiga.

Cultures. — Les caractères de culture, à part quelques variantes, sont sensiblement les mêmes.

Notons cependant qu'en *bouillon*, au bout du deuxième jour environ, se forme au niveau de la partie la plus superficielle du liquide une collerette abondante, adhérente aux bords du tube.

Sur gélose, gélatine, sérum coagulé, pomme de terre, les cultures sont un peu plus abondantes que celles du Bacille de Shiga.

b. **Propriétés biochimiques. — Indol.** — Les Bacilles du type Flexner fabriquent de l'*indol* dans les milieux utilisés habituellement pour cette recherche (p. 442). Il existe toutefois quelques différences dans l'intensité de la réaction, suivant l'échantillon employé.

Action sur les sucres. — Dans le *lait simple*, le *lait tournesolé*, le *bouillon lactosé carbonaté*, l'action est identique à celle du Bacille de Shiga.

En *petit-lait tournesolé*, en vingt-quatre heures, le milieu prend une teinte rose, qui vire à l'améthyste après plusieurs jours.

Dans les *milieux au rouge neutre*, pas de fluorescence; le milieu reste inchangé comme le Bacille de Shiga; le Bacille de Flexner ne fait pas fermenter la lactose. Par contre, il fait fermenter la *mannite*, la *maltose*, la *saccharose*. La gélose tournesolée à laquelle on ajoute ces sucres devient violette au bout de vingt-quatre heures, puis rouge après quarante-huit heures; mais cette fermentation s'opère sans production de bulles de gaz, sans l'éclatement du milieu qu'on observe avec le Colibacille.

Les mêmes particularités sont perceptibles avec les *milieux de Barsiekow* (fig. 215).

Action sur les milieux minéraux. — Ils se comportent comme le Bacille de Shiga.

Cultures sur milieux vaccinés. — Ni le Flexner, ni le Shiga ne poussent sur les cultures de Flexner raclées. Le Bacille typhique y pousse maigrement, le Colibacille abondamment.

Le Flexner ne pousse pas sur les cultures raclées de Shiga, de typhique, de Colibacille.

Cultures en bouillon phéniqué et arsénié. — Mêmes caractères que pour le Bacille de Shiga.

Réactions aux antisérums. — Agglutination. — Le sérum d'un animal vacciné contre le Flexner agglutine les divers échantillons de ce germe; il reste sans action sur le Bacille de Shiga; notons qu'il agglutine les Bacilles du type Y de Hiss. Les Bacilles du type Flexner, inversement, ne sont pas agglutinés par un Shiga-sérum.

Les mêmes particularités s'observent avec le sérum des malades infectés par le Bacille de Flexner.

Précipitines. — Un Flexner-sérum, ajouté à une culture de ces germes, produit un précipité spécifique abondant, moins abondant quand la culture provient d'un type Shiga.

Sensibilisatrice. — Un Flexner-sérum possède pour le Flexner

et tous les autres germes, le Shiga entre autres, une sensibilisatrice spécifique (Voy. p. 507).

Action pathogène expérimentale. — D'une façon générale, les Bacilles de Flexner sont infiniment moins pathogènes que le Bacille de Shiga.

L'*inoculation intraveineuse*, même à des doses énormes, ne provoque habituellement d'autres troubles qu'une légère hyperthermie transitoire.

L'*inoculation intrapéritonéale*, par contre, donne chez le cobaye, le rat, la souris, des phénomènes analogues à ceux que produit le Bacille de Shiga. On provoque dans ces conditions, chez le cobaye, une péritonite mortelle avec pus filant et visqueux. Le Bacille, abondant dans le péritoine, se retrouve dans le sang et les viscères.

L'*inoculation sous-cutanée* est presque inoffensive. Au point d'inoculation, un gros œdème se forme puis s'abcède au bout de quatre à cinq jours, et l'animal guérit. Mais on n'observe en aucune façon la dysenterie expérimentale que donne le Bacille de Shiga.

Toxines. — Les Bacilles du type Flexner n'élaborent pas de toxine appréciable ; les vieilles cultures en bouillon injectées à forte dose amènent à la longue l'amaigrissement et la cachexie, mais ne produisent rien de comparable à la toxine dysentérique véritable.

BACILLES DYSENTÉRIQUES DU TYPE Y DE HISS.

Le Bacille Y de Hiss ne présente, aux points de vue morphologique ou cultural, aucune différence avec les germes rentrant dans le type Flexner proprement dit.

Il possède de plus les mêmes propriétés d'agglutination, de précipitation, de fixation du complément vis-à-vis du Flexner-sérum expérimental ou provenant de malades.

Il se sépare cependant du Flexner en ce qu'il ne fait pas fermenter la maltose : ce n'est peut-être pas un caractère suffisant pour en faire un type nettement différencié du type Flexner.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA DYSENTERIE BACILLAIRE.

Le diagnostic bactériologique de la dysenterie bacillaire s'effectue par la recherche du Bacille dysentérique dans les déjections ou, à son défaut, par le séro-diagnostic.

Tableau résumant les caractères différentiels des Bacilles dysentériques.

	TYPE SHIGA.	TYPE FLEXNER.	TYPE HISS.
Production d'indol.....	Pas d'indol.	Indol.	Indol.
Lait.....	Pas de coagulation.	Cf. Shiga.	Cf. Shiga.
Petit-lait tournesolé.....	Rougit faiblement. Redevient améthyste après 24 heures.	Rougit plus que Shiga.	Cf. Flexner.
Milieux lactosés.....	Pas de fermentation.	Cf. Shiga.	Cf. Shiga.
— mammités.....	Pas de fermentation.	Fermente (pas de gaz).	Fermente (pas de gaz).
— maltosés.....	Pas de fermentation.	Fermente (pas de gaz).	Pas de fermentation.
— au neutral-roth.	Pas de modification.	Cf. Shiga, parfois légère fluorescence.	Cf. Flexner.
Agglutination : avec un Shiga-sérum.....	+	0	0
Avec un Flexner-sérum.	0	+	+
Avec un Hiss-sérum....	0	+	+
Action pathogène expérimentale.....	Reproduit la dysenterie expérimentale.	Néant.	Néant.

Examen microscopique des selles. — Prélever un flacon muqueux de selles dysentériques fraîchement émises ; le déposer sur une lame porte-objet ; recouvrir d'une lamelle.

Observer ainsi à l'état frais, à l'aide d'un objectif à sec (Vérick 7 ou 8) ; on constate : des fibres de mucus, des cellules épithéliales, des hématies et une foule de leucocytes (poly et mononucléaires), véritable leucocytorrhée (fig. 212), spéciale à cette variété de dysenterie. On note, de plus, l'*absence d'amibes dysentériques* ; enfin des bâtonnets sont perceptibles, intra ou extracellulaires, que ce seul examen, même après coloration, est incapable de différencier du Colibacille ; aussi est-il indispensable de recourir à la technique de l'isolement par les cultures.

Isolement du Bacille dysentérique. — Prélever un flocon muqueux, épais, le laver à trois reprises dans un tube de bouillon ou d'eau physiologique stérile pour le débarrasser des impuretés qu'il véhicule. Ensemencer en strie sur trois boîtes de Petri où l'on a coulé le milieu de culture (gélose lactosée tournesolée,

gélose d'Endo). L'ensemencement peut encore se faire par étalement à l'aide d'un agitateur de verre coudé. Mettre à l'étuve à 37° et examiner les boîtes au bout de vingt-quatre heures.

Gélose lactosée tournesolée. — Les colonies qui ont poussé sont les unes rouges, les autres bleues ; on élimine les premières (Colibacille) ; on porte l'attention sur les secondes, dont la plupart sont constituées par le Bacille dysentérique.

On prélève alors une parcelle des colonies bleues qui paraissent

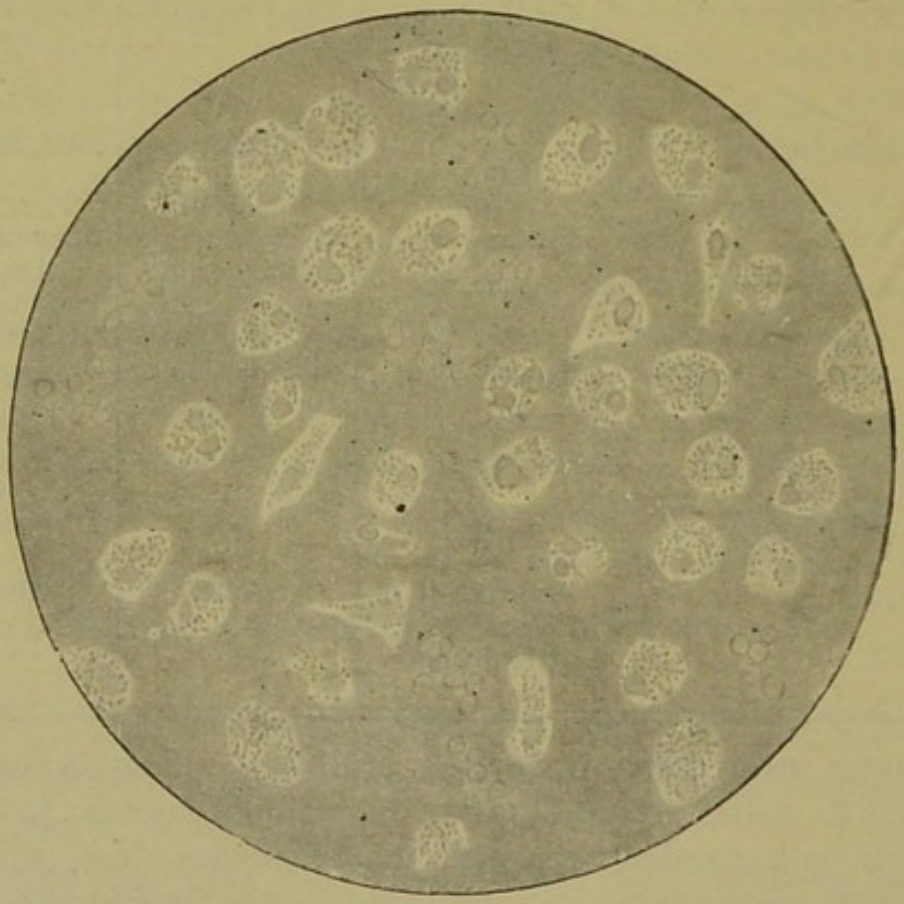


Fig. 212. — Examen à l'état frais d'une selle de dysenterie bacillaire. Cellules épithéliales de l'intestin et leucocytes très abondants.

suspectes, pour l'examen microscopique et les cultures destinées à l'identification du germe.

Gélose d'Endo (p. 456). — Les colonies qui ont pris naissance sont les unes rouges, les autres incolores. C'est parmi ces dernières que se trouve le Bacille dysentérique. On opère ensuite l'identification comme pour le milieu précédent.

Identification. — Prélever une parcelle des colonies suspectes et la soumettre aux épreuves suivantes :

1° *Examen à l'état frais* (émulsion dans une goutte d'eau physiologique pour déterminer l'aspect général du germe et sa mobilité).

2° ***Examen après coloration***, pour se rendre compte de la forme des germes prélevés et de ses propriétés tinctoriales (Gram négatif).

3° ***Ensemencement.*** — S'il s'agit d'un microbe rappelant le Bacille dysentérique, ensemencer dans les divers milieux usuels : gélose, gélatine, bouillon, lait, pour en étudier les caractères généraux

4° ***Différenciation.*** — Une fois ces caractères déterminés et la nature dysentérique des germes reconnue, pousser la différenciation pour savoir à quel type ce microbe appartient : on cherchera alors les *fermentations sucrées* par ensemencement sur les divers milieux sucrés : soumettre enfin le germe à l'*agglutination* par les immun-sérums : Shiga-sérum, Flexner-sérum, etc.

Sérodiagnostic. — Il arrive parfois que, même dans les cas les plus typiques et à la période la plus favorable pour la recherche du Bacille dysentérique, ce germe ne puisse être isolé. Utiliser alors les *propriétés agglutinantes* du sérum du malade : effectuer le séro-diagnostic.

Le sang est prélevé comme pour toute recherche semblable. S'il n'existe pas de laboratoire sur place, on peut faire l'envoi, en tubes scellés, au laboratoire le plus proche.

L'agglutination s'effectue comme pour le Bacille typhique, de préférence par l'examen microscopique. Mais, dans le cas particulier du Bacille dysentérique, en raison des différences connues de l'agglutinabilité suivant le type envisagé, l'épreuve devra être faite simultanément vis-à-vis des divers microbes conservés au laboratoire : Shiga, Flexner, etc.

Rappelons que la recherche peut être faite au minimum au vingtième avec le Shiga, au trentième avec le Flexner.

Enfin le sérodiagnostic pourra être assuré encore par l'épreuve de la *fixation du complément*, le sérum possédant pour tous les germes dysentériques le même pouvoir sensibilisateur.

VACCINATION.

Les bases expérimentales. — Vaccination par Bacilles seuls. — Les petits animaux supportent mal les inoculations de Bacilles dysentériques, vivants ou morts, destinés à les vacciner. Néanmoins, chez la souris, avec des faibles doses (0^{gr},0001 de Bacilles desséchés) injectées sous la peau, qui assurent sa survie, on peut observer ce qui suit, si plusieurs jours après on les éprouve sous la peau avec une dose mortelle :

Dans 40 à 50 p. 100 des cas, l'immunité est acquise vers le douzième ou quinzième jour. Mais, avant ce délai, pendant que l'animal prépare son immunisation, il est plus sensible que les témoins à l'épreuve mortelle (phase négative). L'immunité obtenue dure quatre à six semaines.

Vaccination par les produits d'autolyse. — L'immunité obtenue par les produits d'autolyse donne des résultats sensiblement identiques.

Vaccination par le sérum (immunisation passive). — La vaccination préventive par le sérum confère une immunité immédiate, mais celle-ci ne dure que dix à douze jours.

Vaccination par sérum-virus. — Par cette méthode mixte, l'immunité est immédiate, mais ne dépasse pas en durée vingt à vingt-cinq jours.

Vaccination par Bacilles sensibilisés. — La préparation du vaccin est la suivante :

On pèse 0gr,005 de Bacilles tués par la chaleur et desséchés dans le vide ; on les émulsionne dans II à III gouttes d'eau physiologique. Les additionner de sérum antidysentérique non chauffé, de façon que toute la masse mesure 2 centimètres cubes. Laisser reposer à la température ordinaire pendant douze heures : les microbes se déposent au fond du tube. Décanter, laver par centrifugation prolongée pour enlever l'excès de sérum. Émulsionner le dépôt dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique. Ce liquide constitue le vaccin. L'expérience montre que :

1° L'immunité obtenue se montre vers le quatrième jour ;

2° Elle dure au moins cinq mois ;

3° Pendant que l'animal prépare son immunisation, il n'est pas plus sensible que les témoins à l'épreuve mortelle ; la période négative n'existe donc pas.

Vaccination par les voies digestives. — La souris peut être vaccinée par l'ingestion de Bacilles dysentériques vivants ou tués :

On émulsionne 0gr,005 de Bacilles dans une petite quantité de lait ; la souris ingère facilement ce repas ; on le lui fait prendre trois jours de suite, et quinze jours après on la soumet à l'épreuve mortelle.

L'immunité est obtenue au bout de dix à douze jours ; elle dure cinq à six semaines.

Application à la vaccination préventive humaine. — La vaccination antidysentérique a été peu employée chez l'homme.

Dès 1898, Shiga signalait que, chez l'homme, l'injection sous-cutanée de cultures tuées de Bacilles dysentériques donnait lieu à des troubles locaux et généraux assez sérieux pour que la méthode ne puisse être mise en pratique. Il y renonça pour employer le procédé suivant :

Il injectait simultanément sous la peau du sérum et une demi-öse de culture sur agar. Trois à quatre jours plus tard, il injectait une dose double de culture, mais sans sérum ; l'épreuve faite sur 1 000 Japonais parut inefficace.

Plus tard, il injecta la première fois parties égales de sérum et de culture, et la deuxième fois 80 de culture pour 20 de sérum. La réaction locale et générale fut faible. Les résultats furent meilleurs que les précédents.

Quelques faits ont été signalés, montrant que la vaccination par *sérum seul* était douée d'une haute efficacité, dans les familles où un cas de dysenterie s'était produit : sur 18 sujets ainsi traités, Rosenlet ne vit survenir aucun cas ; sur 18 autres qui ne furent pas injectés, 14 atteintes se produisirent. Autre fait (Dr Michiels) : 15 sujets reçoivent primitivement 10 centimètres cubes de sérum ; 14 restent indemnes ; un seul est atteint neuf jours après l'injection.

L'immunité immédiate conférée par cette méthode constitue un avantage appréciable ; mais, comme toutes les immunités passives, elle ne dure que douze à quinze jours, si au bout de ce laps de temps les injections ne sont pas renouvelées.

SÉROTHÉRAPIE.

Préparation du sérum. — Le sérum antidysentérique est obtenu chez le cheval par inoculations hebdomadaires de cultures vivantes de Bacille de Shiga introduites dans les veines. En raison de la grande sensibilité du cheval, les premières vaccinations doivent être faites à doses faibles, un quart de centimètre cube d'une culture en bouillon, puis 0cc,5, 1, 2, 3 centimètres cubes, etc.

On arrive ainsi progressivement jusqu'à la dose de 50 centimètres cubes, suffisante pour que l'animal fournisse un sérum actif.

Propriétés du sérum. — *Sur la toxi-infection expérimentale.* — Le sérum possède des effets *préventifs* et *curatifs* contre l'action des cultures et de la toxine (Vaillard et Dopter).

1° **Effets préventifs.** — Des lapins du poids de 1800 à 2000 grammes reçoivent sous la peau 0cc,5 à 0cc,25 de sérum spécifique ; soit au même moment, soit plusieurs heures ou même deux jours après, on leur inocule dans le tissu sous-cutané une dose de culture sûrement mortelle en quatre jours. *Tous ces animaux résistent*, tandis que les témoins meurent du troisième au quatrième jour.

Les lapins qui ont reçu le sérum présentent, au point infecté, un œdème d'étendue variable et riche en polynucléaires, contenant à leur intérieur une grande quantité de microbes. Chez les témoins, l'œdème est peu marqué, pauvre en leucocytes, et la phagocytose fait défaut. La comparaison des deux états indique bien le mécanisme de la préservation.

Les résultats sont identiques avec la toxine, mais alors la dose de sérum doit être augmentée (1 centimètre cube).

Il résulte donc nettement de ces faits que le sérum spécifique est à la fois *antimicrobien* ou phagocytaire et *antitoxique*.

2° **Effets curatifs.** — Intervenant vingt-quatre heures *après* l'infection par une quantité de virus sûrement mortelle en quatre jours, le sérum assure la guérison des animaux à la dose de 1 à 2 centimètres cubes : *tous les témoins meurent du troisième au quatrième jour ; tous les lapins traités résistent après avoir présenté un léger état morbide.*

Si l'application du sérum est retardée jusqu'à la quarante-huitième heure qui suit l'infection, la survie devient alors très aléatoire ; certains animaux guérissent, la plupart finissent par succomber.

Avec la toxine, la marge laissée à l'action curatrice du sérum devient moindre. La survie n'est pas certaine lorsque le sérum est injecté vingt-quatre heures après la dose mortelle. Après quarante-huit heures, tous les lapins meurent.

Sur la dysenterie bacillaire humaine. — L'action curative du sérum antidysentérique sur la dysenterie bacillaire humaine est prouvée par :

1° La diminution de la mortalité ;

2° L'atténuation et la disparition rapide des phénomènes dysen-

tériques, comparées à la lenteur habituelle de la guérison par les traitements médicamenteux usuels.

Ce sérum s'emploie en injections sous-cutanées à des doses variables suivant la gravité de l'atteinte. Il ne faut pas hésiter à répéter journellement les injections à dose même élevée (100 centimètres cubes par jour par exemple), quand l'amélioration obtenue ne paraît pas suffisante.

Action du sérum sur les différents types de Bacille dysentérique. — En raison des différences biologiques existant entre les divers types de Bacille dysentérique, plusieurs auteurs, Kraus et Dœrr, Shiga, Coyne et Auché, ont pensé que, pour les besoins de la pratique un sérum monovalent (Shiga-sérum) ne pouvait lutter efficacement sur les dysenteries bacillaires produites par ces divers germes. Pour formuler cette affirmation, ils se sont appuyés surtout sur des expériences de laboratoire.

Or la nécessité d'un sérum polyvalent ne semble pas démontrée jusqu'ici. Bien que les seules cultures du type Shiga aient servi à Vaillard et Dopter pour l'immunisation de leurs chevaux, toutes les dysenteries, qu'elles fussent produites par le Bacille de Shiga ou celui de Flexner, ont été influencées d'une manière également favorable par leur sérum monovalent.

Dosage du sérum. — On peut doser l'activité du sérum antidysentérique par l'appréciation de ses propriétés préventives et curatives. L'animal de choix pour ces essais est la souris.

On mélange *in vitro* $0^{gr},0005$ (une dose mortelle) de microbes desséchés dans le vide avec $0^{cc},01$ de sérum. On injecte le tout dans le péritoine d'une souris de 18 à 20 grammes : cet animal survit. D'après la méthode d'Ehrlich, un tel sérum contient 100 unités antitoxiques. D'après la notation de Roux, il est dit préventif à 1/2 000.

Un sérum préventif à 1/2 000 est assez actif pour être employé efficacement dans le traitement de la dysenterie bacillaire.

En ce qui concerne le pouvoir curatif, un sérum qui guérit une souris de 20 grammes, injectée sous la peau par la dose minima mortelle, et qui reçoit seize heures après un quart de centimètre cube ou même un dixième de centimètre cube de sérum par la même voie, peut être considéré comme utilisable chez l'homme.

Nous croyons utile de donner ici, à la fin de la description des bacilles des types Coli, Eberth, dysentérique, etc., un tableau récapitulatif, montrant les différentes réactions fermentatives de ces germes, réactions dont l'utilité diagnostique est indiscutable.

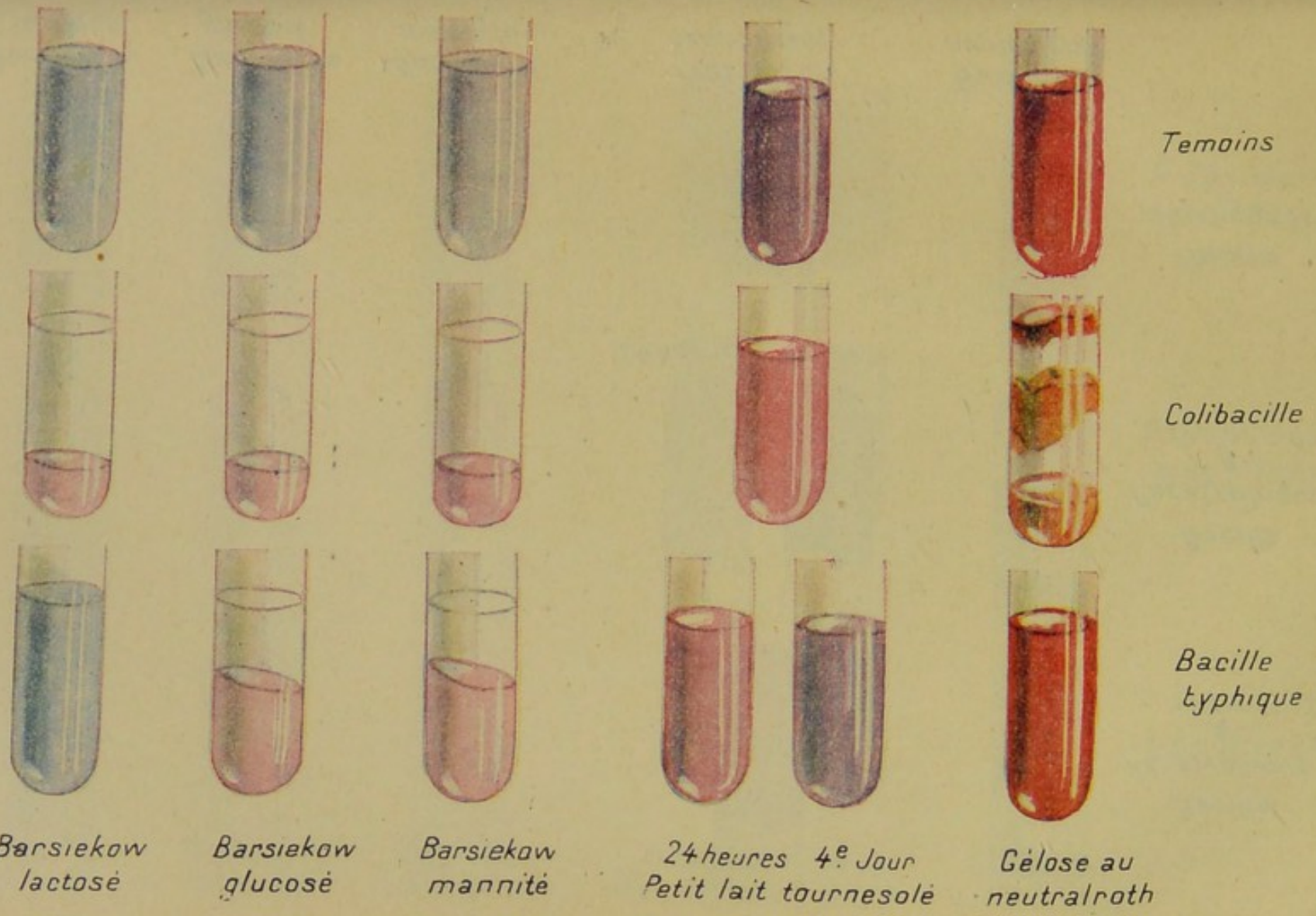


Fig. 213. — Fermentations sucrées des bacilles des types Coli et Eberth.

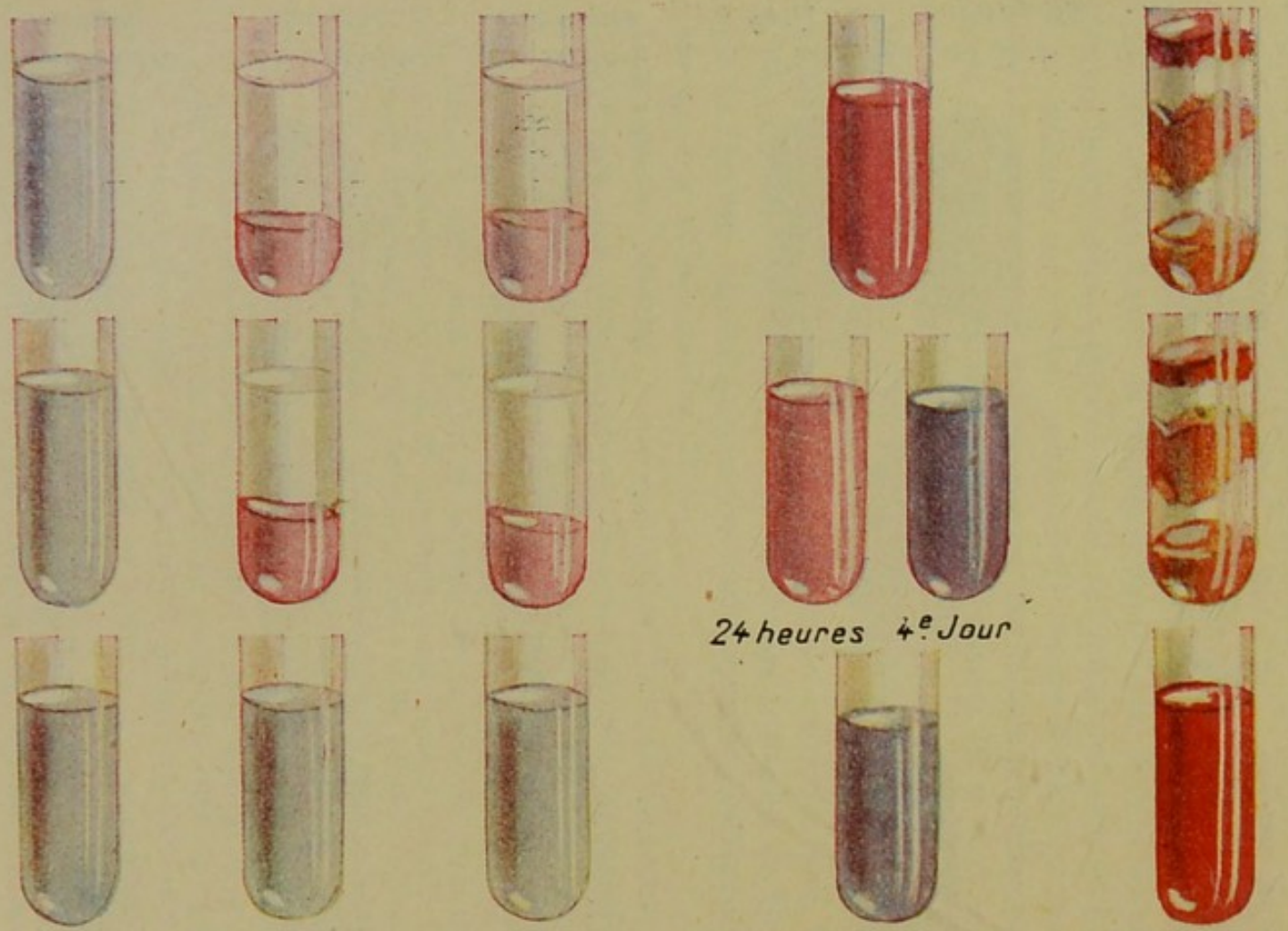


Fig. 214. — Fermentations sucrées des bacilles des types Coli et Eberth.

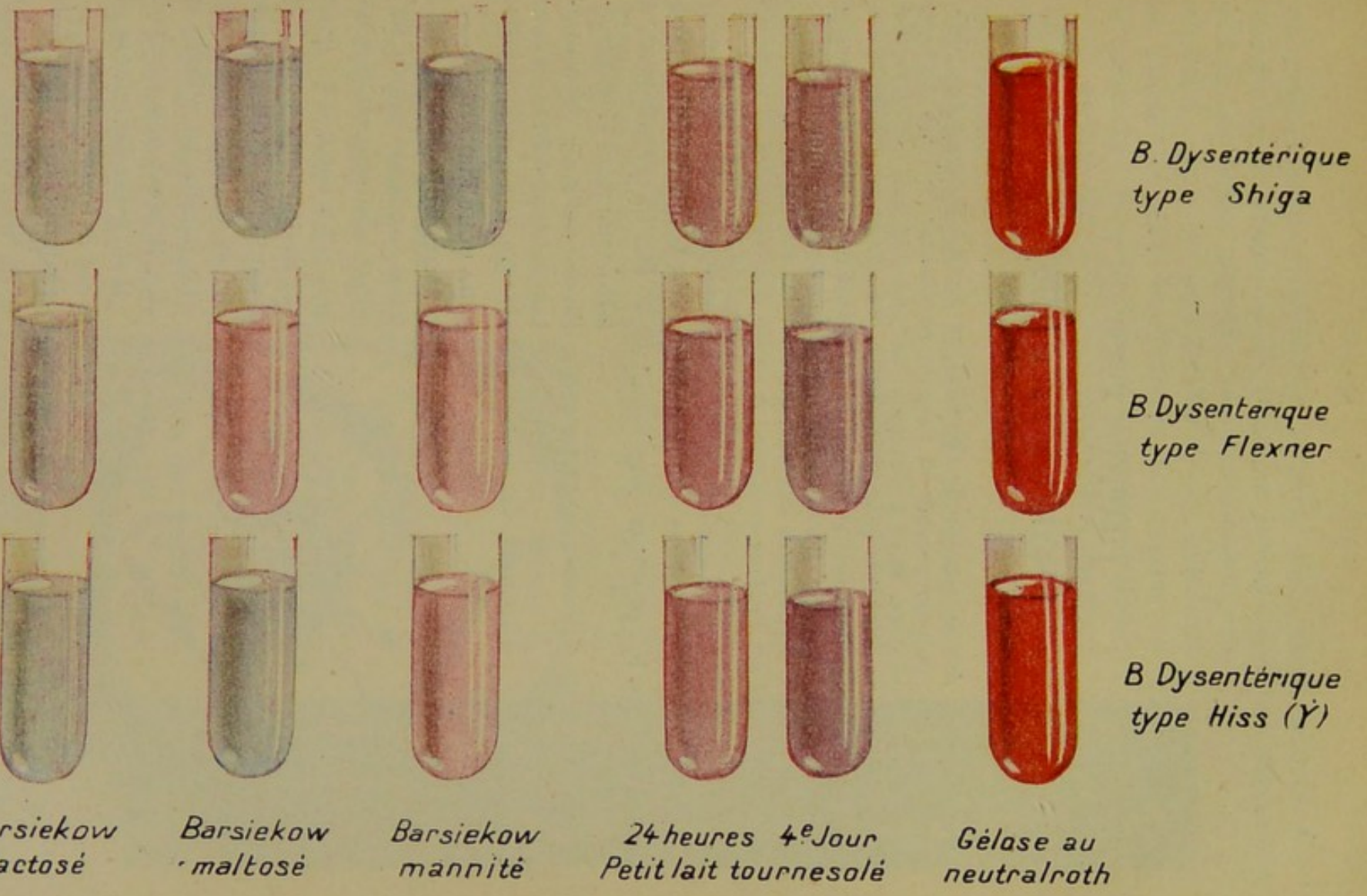


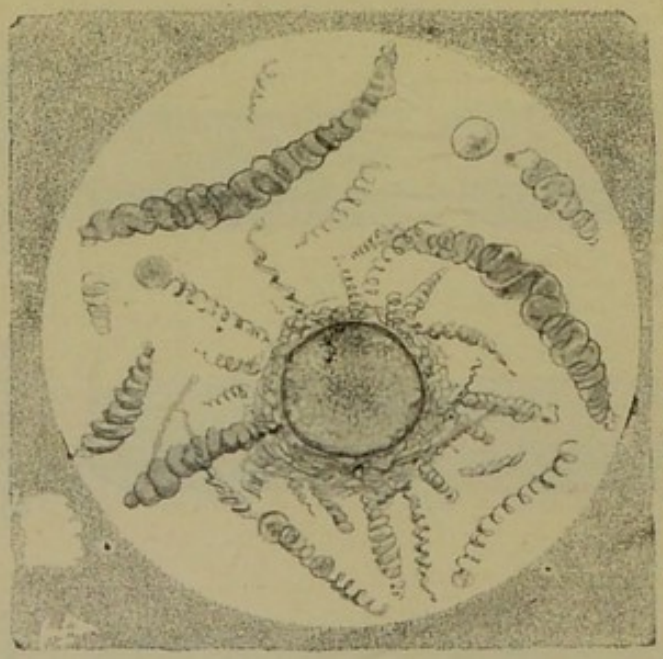
Fig. 215. — Fermentations sucrées des bacilles dysentériques.

CHAPITRE XXXVI

PROTEUS VULGARIS

Hauser a cru devoir séparer des Bacilles un groupe de microbes différenciés par leur polymorphisme et l'aspect particulier de leurs cultures sur plaques de gélatine. Macé a justement fait observer que ces caractères sont tout à fait insuffisants pour légitimer la séparation, car certains Bacilles authentiques peuvent les présenter au même degré ; les microbes du groupe *Proteus* sont des Bacilles. Mais, pour nous conformer à l'usage, nous conservons l'expression *Proteus*, universellement usitée. L'espèce la plus importante est *Proteus vulgaris* ; il existe d'autres espèces, en particulier *Proteus mirabilis*. Nous étudierons surtout le *Proteus vulgaris*.

Le *Proteus vulgaris* est un agent habituel de la putréfaction ; on le trouve dans les produits putréfiés, dans les eaux impures ; il fait partie de la flore intestinale normale. Habituellement saprophyte, il peut être éventuellement pathogène pour l'homme.



Fig, 216. — *Proteus vulgaris*, colonie isolée sur plaque de gélatine. Gr. : 80/1 (d'après Macé).

Morphologie. — La forme normale est un Bacille, mesurant en moyenne 1 à 2 μ sur 0 μ, 8 ; mais les dimensions sont très irrégulières ; on trouve parfois de longs filaments.

Le Bacille est mobile et *cilié*. Il n'est pas *sporulé*.

Il se colore facilement et *prend le Gram*.

Cultures. — Les cultures se font facilement à la température ambiante ; l'optimum du développement est 20° à 25°. Anaérobie facultatif.

Gélatine. — Sur plaque (fig. 216). — L'aspect est presque caractéristique. Après quelques jours, la colonie est constituée par

un centre opaque, blanchâtre, entouré d'un large anneau filamenteux; du centre et de l'anneau partent des prolongements radiés, de forme variable, en tire-bouchon, en chapelet, etc.; ces prolongements se détachent et cheminent sur les plaques. *La gélatine est liquéfiée.* Les plaques dégagent une odeur putride.

En piqures (fig. 217). — Liquéfaction rapide ; liquide trouble; odeur putride.

Gélose. — Couche muqueuse, blanc grisâtre, très étendue.

Pomme de terre. — Trait blanc jaunâtre, peu développé.

Bouillon. — Trouble uniforme, dégagement gazeux, odeur putride.

Lait. — Coagulation d'abord, puis le caillot se redissout.

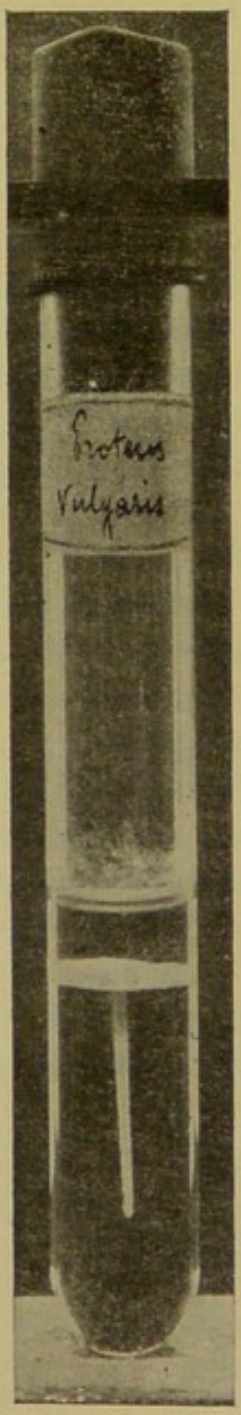


Fig. 217.— *Proteus vulgaris*, culture en piqûres sur gélatine, troisième jour.

Propriétés biologiques. — Le *Proteus* résiste à la chaleur; il succombe à 65° en quelques minutes.

Action sur les peptones. — Aux dépens des peptones, le *Proteus* donne de l'indol. Il se dégage de l'hydrogène sulfuré, cause de l'odeur putride. En même temps le milieu devient très alcalin.

Action fermentative. — Le *Proteus* attaque la plupart des sucres. Il transforme l'urée en carbonate d'ammoniaque.

Réaction à l'égard des sérums. — Le sérum des malades infectés peut agglutiner le *Proteus* cause de l'infection à doses assez élevées (1 p. 640, Jochmann). D'après Klieneberger, les sérums expérimentaux préparés par inoculation d'un microbe pathogène agglutinent au même taux tous les *Proteus* pathogènes.

Chose assez curieuse, il semble que les sérums d'hommes ou d'animaux infectés par le *Proteus* peuvent agglutiner en même temps le Bacille typhique.

Action pathogène. — I. Dans les conditions naturelles, chez l'homme. — Le *Proteus* est rarement pathogène. Il cause parfois des empoisonnements alimentaires, dus à une altération accidentelle des aliments : putréfaction de la viande (Lévi, Glücksmann) ou contamination de pommes de terre (Dieudonné).

En dehors des cas précédents, on a également rencontré le *Proteus* dans diverses affections : ictère à rechutes (Weil), diarrhée infantile, méningite (Lannelongue et Achard), pleurésie. Il est parfois associé à d'autres microbes (Streptocoque) au cours d'infections généralisées.

II. **Action pathogène expérimentale.** — La *virulence* est très inégale suivant les échantillons.

Un certain nombre de Bacilles, par inoculation sous-cutanée au cobaye, déterminent des suppurations parfois étendues. L'injection intraveineuse au lapin peut provoquer la mort par intoxication.

Les Bacilles isolés des empoisonnements alimentaires sont presque toujours pathogènes. Ils peuvent déterminer chez la souris, après inoculation sous-cutanée, une septicémie mortelle. Ces mêmes Bacilles sont pathogènes par ingestion.

Toxines. — Les cultures de Bacilles pathogènes, filtrées, sont encore toxiques. La toxine, très affaiblie à 60°, est détruite à 68°.

Diagnostic de l'infection. – Il est très facile de constater la présence du *Proteus*. Mais il ne suffit pas de le déceler pour conclure à son action pathogène : c'est en effet un hôte habituel des voies digestives, et c'est de plus un des agents très fréquents d'infections cadavériques. Sa présence dans les maladies intestinales ou sur le cadavre ne peut donc revêtir une signification pathologique que si l'étiologie, la clinique, les réactions sériques (agglutination) et l'expérimentation en imposent l'idée.

Au contraire, la présence du *Proteus* sur le vivant, au cours d'infections générales ou localisées aux organes fermés, est toujours un fait pathologique.

Proteus mirabilis. — Très voisin du précédent, dont il ne se distingue guère que par la présence de formes d'involution un peu spéciales (grosses formes arrondies), par l'aspect brunâtre des cultures sur gélatine et la finesse des prolongements radiés en cultures sur plaques de gélatine.

Cette espèce a le même habitat que la précédente ; elle a de même été signalée dans les empoisonnements alimentaires (Pfuhl).

CHAPITRE XXXVII

BACILLE DE PFEIFFER

Ce Bacille a été découvert en 1890 par Pfeiffer dans les produits d'expectoration pulmonaire des malades atteints d'influenza; ayant constaté son absence chez les sujets non grippés, il lui accorda un caractère de spécificité tel qu'il le dénomma « Bacille de l'influenza ». Aussitôt après la publication de son travail, de nombreux auteurs confirmèrent cette découverte (Kitasato, Weichselbaum, Huber, Klein, etc.).

Depuis quelques années cependant, cette spécificité grippale est contestée. En effet, le Bacille a été retrouvé tout d'abord en de nombreux cas où la grippe n'était pas en cause; on l'a rencontré dans les bronchopneumonies ou bronchites banales, dans les crachats de coqueluche, de rougeole, bref dans de multiples atteintes étrangères à l'influenza. De plus, en plusieurs épidémies de grippe, il a été décelé rarement; en d'autres, comme en 1904-1905 (Bezançon et Israels de Jong) il était absent.

Dans ces conditions, il est difficile d'attribuer à ce Coccobacille particulier la spécificité à laquelle Pfeiffer l'avait élevé. Il est néanmoins intéressant et utile à étudier, car à lui seul il peut provoquer des états infectieux qui ne semblent relever que de son action pathogène.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Ce germe est un bâtonnet très court, très grêle (fig. 218), le plus petit des microbes pathogènes perceptibles au microscope; ses extrémités sont arrondies; deux fois plus long que large, prenant par conséquent la forme d'un Coccobacille. Ses éléments sont isolés ou groupés deux à deux; il forme parfois des chaînettes. A l'état frais, il est dénué de mobilité et ne sporule pas.

Dans les crachats, il se trouve souvent en amas et est parfois inclus dans les leucocytes; on ne lui connaît pas de capsules.

Dans les cultures, il est un peu plus long; il se montre parfois, d'après Klein, sous l'aspect de filaments strepto-bacillaires; enfin,

dans les vieilles cultures, il subit des phénomènes d'involution (formes ovoïdes, en massue, ou allongées et sinueuses).

Coloration. — Le Bacille de Pfeiffer se colore faiblement par les couleurs d'aniline usuelles. Pour le bien percevoir, il faut recourir de préférence à l'emploi de la fuchsine de Ziehl diluée, ou de la thionine phéniquée, en ayant soin de prolonger la coloration pendant dix à quinze minutes. *Il ne prend pas le Gram.*

Dans les coupes, il est en général assez peu perceptible. Pour le

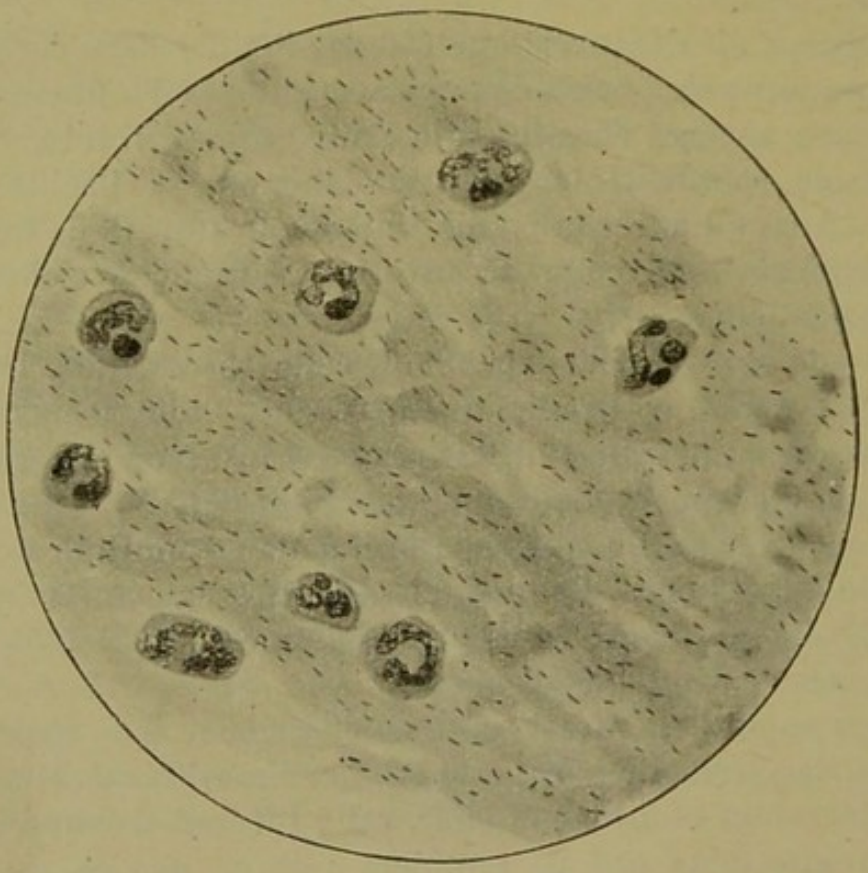


Fig. 218 — Bacille de Pfeiffer dans les crachats.

bien mettre en évidence, il faut, d'après Pfeiffer, laisser la coupe en contact avec une solution de fuchsine diluée pendant trente minutes ; décolorer et déshydrater par l'alcool absolu légèrement acétisé ; arrêter la décoloration quand la teinte devient rose violacé ; éclaircir au xylol et monter. Le Bacille de Pfeiffer se détache alors en rouge vif, tranchant sur le fond faiblement teinté en rose.

CULTURES.

Strictement aérobie, le Bacille de Pfeiffer ne donne aucune culture sur les milieux usuels (1). Celle-ci ne se produit que si on les

(1) Toutefois il n'est pas rare d'observer une culture quand une parcelle de crachats a été ensemencée sur gélose ordinaire ; elle ne s'effectue qu'à la faveur des matières albuminoïdes

additionne de sang ou d'hémoglobine, ce qui lui a fait donner le qualificatif d'*hémoglobinophile*. Sur les milieux ainsi préparés, il pousse entre 25° et 42° ; 37° est la température optima.

Bouillon-sang. — En bouillon additionné de sang de pigeon, le Bacille de Pfeiffer pousse assez bien ; un trouble général apparaît tout d'abord, puis des flocons blanchâtres se déposent au fond du tube, et le milieu s'éclaircit.

Gélose-sang. — A la surface d'un tube de gélose ordinaire ou d'une boîte de Petri, contenant ce milieu, on verse une ou deux grosses gouttes de sang que l'on étale (sang de lapin, de pigeon, sang humain). On ensemence une émulsion de crachats contenant le germe à l'étude. Après trente-six heures environ d'étuve à 37°, se développent de très fines colonies transparentes, plus ténues encore que celles du pneumocoque, n'étant perceptibles presque qu'à la loupe : elles sont toujours isolées, jamais confluentes.

Sur *sang gélosé*, la culture présente le même aspect.

Les cultures provenant de l'ensemencement d'un crachat ne sont jamais pures; en même temps que le Bacille de Pfeiffer, on perçoit des colonies de Streptocoques, Staphylocoques, etc., provenant de la flore banale des voies respiratoires. Fait curieux, Grossberger a constaté qu'autour de ces colonies, celles qui appartiennent au Coccobacille sont beaucoup plus volumineuses, et, en vingt-quatre heures, sont perceptibles à l'œil nu ; Meunier, Rosenthal ont fait des constatations identiques.

Cette action favorisante peut d'ailleurs être prouvée par l'ensemencement des cultures :

Sur un tube de gélose-sang, on ensemence en surface une culture pure de Coccobacille. Après trois heures de séjour à l'étuve, permettant l'évaporation du liquide, on effectue des ensemencements punctiformes à l'aide de staphylocoque ; des colonies géantes de Coccobacille poussent en satellites autour des colonies de staphylocoque.

Rosenthal pense que cette action favorisante est due à une modification du milieu produite par la sécrétion de substances par les germes surajoutés. Si, en effet, on coule dans une boîte de Petri une culture de Staphylocoques tuée par la chaleur, et qu'on l'additionne de sang, on obtient un milieu où le Coccobacille pousse sous forme de colonies géantes.

Pour Neisser, cette action favorisante peut être mise en évidence dans les tubes de gélose ordinaire. Ensemencé seul, le Coccobacille de Pfeiffer n'y pousse pas ; en symbiose avec les bactéries précédentes, il y donne une culture.

Gélose-hémoglobine. — Les études de Pfeiffer ont montré que la substance qui, dans le sang, permettait la culture de son Coccobacille était l'hémoglobine. Huber a additionné la gélose d'hémo-

nutritives du crachat lui-même apporté avec l'anse de platine. Mais, si on repique sur gélose ordinaire les colonies qui y ont poussé, cette culture reste stérile.

globine cristallisée. La culture présente le même aspect que sur gélose-sang.

Sérum liquide. — En sérum liquide où se trouve dissoute une certaine quantité d'hémoglobine, le Bacille de Pfeiffer pousse assez abondamment.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité, résistance. — Le Bacille de Pfeiffer, dans les cultures, est très fragile ; conservé à la température du laboratoire, il succombe en cinq ou six jours (Rosenthal). D'après Bezançon, la vitalité est plus grande dans les milieux additionnés d'hémoglobine, surtout en sang gélosé ; il y vivrait dix à quinze jours et pourrait être conservé par des repiquages successifs.

La dessiccation le tue en deux heures à 37°, en un jour à la température du laboratoire. La chaleur (température de 56°) le fait rapidement succomber.

Dans les crachats, sa résistance est plus forte ; il peut y rester vivant pendant deux semaines environ.

Production de toxine. — Plusieurs auteurs ont constaté que les cultures tuées (chaleur ou chloroforme) étaient douées de toxicité pour l'animal (L. Martin et Dujardin-Beaumetz).

Les expériences de Slatinéano tendent à prouver qu'il s'agit d'une toxine retenue par le corps microbien, en un mot une *endotoxine*. On tue par chauffage à 56° une émulsion de bacilles obtenus par raclage de culture sur gélose-sang ; on centrifuge, puis on dessèche. Additionner 0gr,25 de la poudre obtenue de 10 centimètres cubes d'eau distillée et de sérum normal de cheval à parties égales; conserver à la glacière pendant douze heures et centrifuger à nouveau ; le liquide décanté est toxique pour le cobaye en injection intrapéritonéale (5 centimètres cubes) et intracérébrale (1/20 de centimètre cube).

Agglutinabilité. — L'agglutination, nulle avec le sérum de de l'homme grippé, est au contraire positive avec le sérum des animaux vaccinés contre ce germe.

ACTION PATHOGÈNE.

Chez l'homme. — Le Bacille de Pfeiffer se rencontre dans la muqueuse des voies respiratoires à l'état saprophytique ; mais, à l'occasion, il peut devenir virulent et pathogène et déterminer, seul ou associé à d'autres germes d'ordre banal, des infections graves de l'arbre respiratoire, et même exercer au loin son action nocive.

Il se localise de préférence, et avec une certaine électivité, sur les muqueuses respiratoires, depuis les fosses nasales jusqu'aux plus fines bronchioles. Il détermine des bronchopneumonies, des *pleurésies purulentes*. En pathologie infantile, il n'est pas rare de le voir s'associer aux virus des fièvres éruptives, notamment de la rougeole. Des *méningites purulentes* mortelles à Bacilles de Pfeiffer ont été signalées.

On a cru qu'il n'envahissait jamais la circulation sanguine. Cependant Cornil et Chantemesse, puis récemment Rosenthal, l'ont décelé dans le sang du cœur. Entre les mains de Ghedini, l'hémoculture, pratiquée pendant la vie, aurait donné 18 résultats positifs sur 28.

D'ailleurs, on le rencontre dans certaines *ostéo-périostites*, qu'il ne peut provoquer qu'après envahissement de la circulation.

Action pathogène expérimentale. — La plupart des animaux sont peu sensibles à l'action du Bacille de Pfeiffer ; certains même sont réfractaires, tels le porc, le rat, le pigeon, le chien.

Lapin. — Le lapin est peu sensible.

En *injection sous-cutanée*, le Coccobacille de Pfeiffer détermine des abcès et l'animal résiste.

En *injection intrapéritonéale*, une péritonite purulente se déclare.

En *injection intraveineuse*, de fortes doses de culture (deux à trois tubes de gélose-sang) peuvent amener la mort (Meunier, Elmassian) ; en certains cas, l'animal meurt intoxiqué, car le sang reste stérile. En d'autres, on observe une véritable septicémie avec déterminations broncho-pulmonaires et rénales.

En *injection intracérébrale* (Cantani, Slatinéano), la mort est rapide. Il en est de même quand l'injection est faite par la *voie rachidienne* (L. Martin et Dujardin-Beaumetz).

Cobaye. — Chez le cobaye, Delius et Kolle, Elmassian ont réalisé une péritonite mortelle par injection intrapéritonéale. Infecté par les autres voies, le cobaye est très résistant.

Singe. — Pfeiffer a infecté des singes en leur inoculant directement dans la *trachée* des cultures de Coccobacille ou des crachats de sujets atteints d'influenza. Mêmes résultats par inoculation dans les *fosses nasales* ou dans le *parenchyme pulmonaire*. D'après lui, les animaux présentent les symptômes de l'influenza humaine, mais ils survivent. Quand l'inoculation est mortelle, il se produit des lésions bronchopneumoniques semblables à celles de l'homme.

Associations secondaires. — Dans les cultures, on a vu l'action favorisante, *in vitro*, des colonies de germes banaux (Streptocoque, Colibacille, Staphylocoque doré) sur le développement des colonies du Coccobacille.

Cette influence s'exerce aussi *in vivo*. Rosenthal a inoculé dans le poumon du lapin une culture de Coccobacille et de Staphylocoque doré *non virulent* ; il détermina ainsi une congestion pulmonaire accompagnée de septicémie. Un résultat analogue fut obtenu par Jacobson, qui injecta dans les veines le Bacille et du Streptocoque ; il obtint une septicémie due au Bacille de Pfeiffer.

RECHERCHE DU COCCOBACILLE DE PFEIFFER.

La recherche s'effectue surtout dans les mucosités rhino-pharyngées et les crachats.

Prélever la partie la plus épaisse de la mucosité recueillie ; laver à plusieurs reprises dans l'eau stérilisée.

Colorer par la fuschsine diluée les frottis effectués, et de préférence par la méthode de Gram composée.

En aucun cas, on ne saurait se dispenser de l'ensemencement qui donne les caractères de culture et permet la différenciation avec des bactéries saprophytes de la bouche ou de l'arrière-gorge, étrangères au Coccobacille de Pfeiffer. L'ensemencement devra être pratiqué sur gélose au sang.

CHAPITRE XXXVIII

BACILLE DE WEEKS

(Conjonctivite aiguë contagieuse).

Weeks, puis Morax ont décrit dans l'exsudat de la conjonctivite aiguë contagieuse un Bacille présentant beaucoup d'analogie avec le Coccobacille de Pfeiffer.

Aspect microscopique. — Bâtonnet très fin, très court, isolé ou en Diplobacille, voire même en chaînettes, dépourvu de capsules et de spores, prenant parfois une forme allongée.

Il est immobile.

Dans l'exsudat, il est extracellulaire ou inclus dans les leucocytes polynucléaires.

Coloration. — Se colore par les colorants usuels. Ne prend pas le Gram.

Cultures. — Il pousse mal sur les milieux ordinaires. Sur gélose-sang, ou gélose-sérum, ou gélose-ascite, il donne des colonies semblables à celles du Bacille de Pfeiffer. C'est un aérobie strict.

Pouvoir pathogène. — Une trace de culture déposée sur la conjonctive de l'homme détermine une conjonctivite aiguë. L'inoculation conjonctivale chez l'animal ne produit aucun trouble appréciable.

CHAPITRE XXXIX

COCCOBACILLE DE LA COQUELUCHE

Les nombreuses recherches effectuées par une foule d'auteurs, et destinées à découvrir l'agent pathogène de la coqueluche étaient restées vaines jusqu'en 1906. On a accusé plusieurs bactéries diverses de jouer un rôle spécifique dans l'étiologie de cette infection. En 1906, Bordet et Gengou ont signalé, dans l'exsudat bronchique, l'existence d'un Coccobacille ressemblant au Bacille de Pfeiffer, mais en différant par ses caractères de culture et ses réactions vis-à-vis du sérum des coquelucheux. La spécificité du Coccobacille de Bordet et Gengou est nettement prouvée par son agglutinabilité avec le sérum des malades et son pouvoir de fixer le complément en présence de ce dernier.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le microbe de la coqueluche est un petit bâtonnet ovoïde dans sa forme moyenne, parfois un peu allongé, parfois plus court au point de ressembler à un microcoque. La coloration teinte ses contours et ses extrémités polaires ; le centre, au contraire, reste incolore.

Il se montre à l'état isolé ; quelquefois il est accolé à un germe semblable pour figurer un diplococcobacille. Dans l'exsudat bronchique, il est libre (fig. 219), mais parfois phagocyté.

Dans les cultures en milieu solide, ses dimensions sont un peu plus petites, mais il reprend sa forme primitive quand on le réensemence en milieu liquide.

Coloration. — Les solutions d'aniline le colorent faiblement, se fixant de préférence, comme il a été dit, aux deux pôles opposés. Il se décolore par la méthode de Gram.

Bordet et Gengou conseillent de colorer par le bleu de méthylène phéniqué ordinaire, ou le bleu de Kühne, ou mieux encore par le bleu de toluidine phéniqué, préparé comme suit :

Bleu de toluidine (Grübler)..... ...	5 grammes.
Alcool.....	100 cent. cubes.
Eau....	500 —

On attend la dissolution complète, puis on ajoute 500 grammes d'eau phéniquée à 5 p. 100. Filtrer après vingt-quatre ou quarante-huit heures.

CULTURES.

Le microbe de la coqueluche est un aérobie strict. Il ne cultive pas sur les milieux ordinaires. Comme beaucoup de microbes fragiles, il

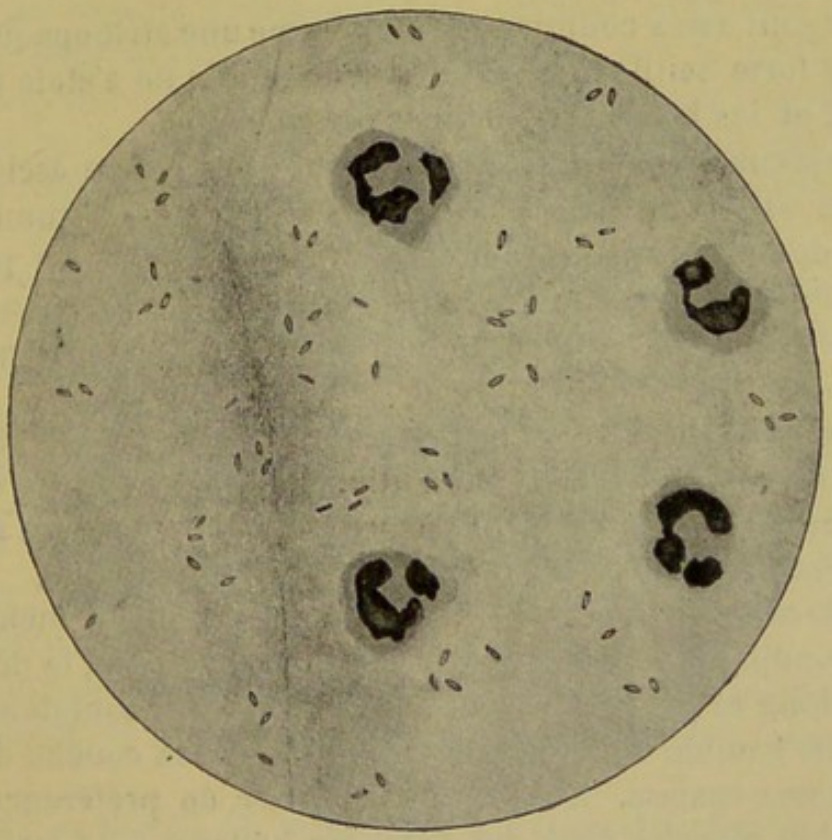


Fig. 219. — Examen bactériologique de la coqueluche.

exige, pour se développer, des milieux dans la composition desquels entre l'albumine et de préférence l'albumine humaine.

Milieux solides. — Bordet et Gengou préconisent le milieu suivant :

A 200 centimètres cubes d'eau glycérinée à 4 p. 100, ajouter 100 grammes de pommes de terre coupées en tranches. Cuire à l'autoclave, séparer le liquide, et l'on obtient ainsi un extrait concentré glycériné de pommes de terre.

A 50 centimètres cubes de cet extrait, ajouter 150 centimètres cubes d'eau physiologique et 5 grammes de gélose. Faire fondre à l'autoclave. Répartir en tubes. Stériliser.

A chaque tube contenant ce milieu fondu, ajouter partie égale de sang défibriné de lapin ou d'homme. Agiter et laisser figer en tubes inclinés.

Sur ce milieu ensemencé avec l'exsudat bronchique coquelucheux prélevé à la période initiale, la culture se développe avec une certaine lenteur ; au bout de vingt-quatre heures à 37°, elle n'apparaît même pas à l'œil nu.

Vers le cinquième jour cependant, à côté des colonies de la flore banale des bronches ou de la salive, apparaissent des colonies blanches, saillantes, à bords nettement circonscrits. Ce sont celles des Coccobacilles coquelucheux.

Si elles sont assez confluentes, il se forme une strie opaque, faisant une assez forte saillie : les jours suivants, elle ne s'étale pas, mais s'épaissit, et les bords sont inclinés presque à pic.

Les repiquages peuvent être effectués en gélose-ascite, où se développe alors une strie blanche, « d'aspect gras et humide, assez opaque, demeurant, après deux à trois jours, à peu près aussi épaisse que l'est une culture de Bacille typhique sur gélose ordinaire » (Bordet et Gengou). Le microbe finit donc par s'acclimater à la vie artificielle.

Milieux liquides. — Les cultures peuvent encore s'obtenir en bouillon glycériné à 1 p. 100, additionné de sang ou de sérum de lapin à parties égales. On peut encore employer le sérum de cheval normal chauffé à 57° pendant quarante-cinq minutes.

Dans les milieux liquides, le germe ne se développe bien qu'en de bonnes conditions d'aérobiose ; si le tube est vertical, le développement est long et pénible ; s'il est tenu presque horizontalement, il se produit un trouble accentué dans la partie où la couche de liquide est le moins épaisse. Aussi faut-il utiliser de préférence la culture liquide répartie dans des fioles ou boîtes à fond large et plat, sur une épaisseur de 1 centimètre. La culture présente l'aspect suivant : le liquide est à peine troublé, et, vers le quatrième ou cinquième jour, on perçoit au fond du vase un dépôt blanchâtre, épais et visqueux.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

On ne possède encore aucune indication concernant la vitalité de ce germe dans les produits pathologiques, ni même les cultures.

Réactions vis-à-vis de l'immun-sérum. — Agglutination. — Bordet et Gengou ont montré que le microbe de la coqueluche est nettement agglutinable par le sérum des chevaux vaccinés par ses cultures, de même aussi par le sérum des convalescents de coque-

luche; par contre, le sérum de sujets n'ayant jamais contracté l'affection reste totalement inactif vis-à-vis de lui.

Fixation du complément. — Il fixe le complément quand on le met en présence d'un antisérum, ou du sérum de convalescents. Cette propriété a été utilisée pour le diagnostic (Voy. plus loin).

Pouvoir pathogène expérimental. — L'injection dans le péritoine du *cobaye* d'une émulsion provenant d'une culture en milieu solide âgée de deux à trois jours ($1^{mg},5$ à 2 milligrammes de microbes) amène la mort de l'animal en vingt-quatre ou quarante-huit heures.

L'autopsie montre l'existence d'un exsudat péritonéal pauvre en microbes, dont la plupart sont phagocytés; sur le péritoine sont disséminées des taches pétéchiales; les viscères sont congestionnés; le foie est en état de dégénérescence; enfin on constate des épanchements liquides, teintés en rouge, dans la plèvre et le péricarde.

Chez le *lapin*, les lésions sont identiques.

L'injection des cultures tuées par le toluol ou une température de 56° pendant trente minutes produit les mêmes troubles, mais, pour tuer l'animal, la dose de microbes doit être supérieure.

Signalons enfin les expériences de Klimenko, qui a reproduit la coqueluche, chez les singes inférieurs et les jeunes chiens, par inoculation au niveau du naso-pharynx d'une culture du Coccobacille de Bordet et Gengou, ou en plaçant ces animaux dans un brouillard microbien provenant de la pulvérisation d'une culture de bacilles coquelucheux.

Les singes présentent de la fièvre, du catarrhe oculo-nasal, de l'éternuement, de la toux rauque, avec vomissements, avec ou sans quintes.

Toxine. — Quand on injecte les cultures vivantes au cobaye ou au lapin, le microbe ne se multiplie pas; souvent même il disparaît, et cependant l'animal succombe. Le microbe semble donc agir par une véritable intoxication. Bordet et Gengou ont en effet extrait une toxine des cultures en milieu solide.

Mode d'obtention. — Les cultures en milieu liquide sont peu toxiques. Le liquide, en effet, décanté après centrifugation, et inoculé au cobaye, ne provoque aucun trouble appréciable.

En traitant les cultures en milieux solides par le procédé de Besredka (Voy. p. 511) pour la préparation des endotoxines, ils ont obtenu au contraire un produit éminemment toxique.

Effets de la toxine sur l'animal. — Injecté à la dose d'un quart ou un demi-centimètre cube *dans le péritoine* du cobaye, il tue l'animal en vingt-quatre heures. L'autopsie montre une exsudation péritonéale hémorragique abondante. Le péritoine est parsemé de pétéchies; en un mot les

lésions sont analogues à celles que provoque l'injection de microbes vivants.

En injection *intraveineuse* (1 à 2 centimètres cubes) chez le lapin, ce dernier succombe en dix-huit heures ; à l'autopsie, on observe de la congestion du foie et des reins ; les capsules surrénales présentent des foyers hémorragiques.

L'injection *sous-cutanée* chez le cobaye détermine au point d'inoculation un œdème hémorragique qui, quarante heures après, s'affaisse et est remplacé par une plaque noire nécrotique qui s'élimine les jours suivants, formant ainsi une ulcération.

Ce poison, qui est sans aucun doute contenu dans le corps microbien, présente donc des propriétés nécrosantes marquées. Bordet et Gengou font observer que les lésions de nécrose constatées par Leonardo Dominici chez l'enfant, dans la région sus-glottique et sous-glottique, sont du même ordre et relèvent vraisemblablement de la toxine coquelucheuse. La nature de cette lésion expliquerait, d'après eux, la persistance de la toux quinteuse, à un moment où le Bacille spécifique devient rare ou même disparaît.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

En dehors des moyens cliniques, parfois insuffisants quand l'atteinte n'est pas nettement caractérisée, la coqueluche peut être diagnostiquée par les procédés de laboratoire.

1° **Recherche du microbe.** — La recherche du germe spécifique ne peut être un moyen pratique que si elle est effectuée à la période initiale de l'infection. Bordet et Gengou ont en effet montré qu'il ne se trouve en grande abondance dans l'exsudat bronchique que dans les premiers jours ; plus tard, il est associé à de nombreuses bactéries banales, et son isolement devient difficile, sinon impossible.

Ensemencer l'exsudat sur tubes ou boîtes de Petri contenant de la *gélose pomme de terre au sang*, préparée comme il est dit plus haut. Identifier les colonies par les caractères morphologiques et culturaux précédemment décrits.

On ne devra pas confondre le Coccobacille coquelucheux avec le Bacille de Pfeiffer, qui présente, à première vue, une certaine analogie avec lui. Le Bacille de Pfeiffer est plus long ; ses colonies sont bleuâtres et diaphanes ; il ne pousse que sur les milieux contenant de l'hémoglobine ; les formes d'involution sont fréquentes ; enfin il ne présente aucune agglutinabilité vis-à-vis d'un antisérum ; la fixation du complément reste aussi négative.

2° **Séro-agglutination.** — On peut tenter un sérodiagnostic en mettant en présence d'une émulsion de bacilles spécifiques le sérum du sujet. Mais l'agglutination ne se produit que si ce dernier est atteint depuis quelque temps, souvent pendant la période de convalescence ; la réaction n'est toutefois pas constante ; c'est ce qui limite son emploi dans les recherches diagnostiques.

3° **Fixation du complément.** — La propriété du virus coquelucheux de fixer le complément en présence du sérum de coquelucheux a été appliquée au diagnostic de la coqueluche par Bordet et Gengou, puis Alb. Delcourt. Par cette méthode, on peut ainsi dépister non seulement les atteintes avérées, mais les cas frustes, les cas larvés où, les symptômes ne se montrant pas au complet, l'affection peut rester méconnue.

Ce procédé peut être de la plus haute utilité au point de vue prophylactique pour dépister des cas qui risqueraient de passer inaperçus.

SÉROTHÉRAPIE ET VACCINOTHÉRAPIE.

Bordet et Gengou ont obtenu un *sérum anticoquelucheux* en vaccinant le cheval à l'aide de cultures vivantes.

Il est agglutinant, précipitant, sensibilisateur, et paraît agir davantage sur les microbes que sur la toxine.

Une première série d'essais curatifs avait été tentée par les auteurs ; les résultats avaient été encourageants. Duthoit vient d'appliquer cette nouvelle sérothérapie sur 21 enfants atteints de coqueluche. Voici ses constatations : le lendemain de l'injection sous-cutanée de 10 centimètres cubes de sérum, ou quelques jours plus tard, le nombre des quintes diminue, les reprises deviennent plus rares, les vomissements s'arrêtent ; de plus l'expectoration devient plus facile ; habituellement muqueuse, elle devient muco-purulente et jaunâtre comme dans un rhume de poitrine sur son déclin. La guérison est plus rapide dans les cas traités que dans ceux qui ont subi la thérapeutique usuelle.

Ch. Nicolle et Conor ont imaginé de traiter la coqueluche par des cultures du microbe spécifique de Bordet et Gengou (cultures de quarante-huit heures sur pomme de terre gélose-sang, émulsionnées dans l'eau physiologique, ayant subi une température de 46° pendant trente minutes, puis centrifugées et lavées). Ces injections vaccinantes sont pratiquées dans les veines; chez le tout jeune enfant, elles sont effectuées sous la peau. En général, l'amélioration obtenue est très rapide; dès la première ou deuxième inoculation, les quintes diminuent de nombre et d'intensité.

CHAPITRE XL

BACILLE DU CHANCRE MOU

Le germe spécifique du chancre mou a été découvert par Ducrey. Les travaux ultérieurs de Unna, Ch. Nicolle, Queyrat, Bezançon et

Fig. 220. — Bacille de Ducrey (culture sur sang gélosé).

ses collaborateurs Griffon et L. Lesourd ont contribué à déterminer la plupart de ses caractères.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — C'est un Bacille assez court à extrémités arrondies; il est long de 1 μ, 50 à 2 μ, large de 0 μ, 50. Son aspect diffère un peu suivant qu'on l'observe dans le pus du chancre, ou dans les cultures.

Dans le pus, on le trouve soit extracellulaire, soit inclus dans les leucocytes d'aspect pyoïde, isolé ou formant des chaînettes (fig. 209), les unes courtes, les autres longues. Les chaînettes peuvent se grouper en amas plus ou moins volumineux. Queyrat a signalé un aspect parfois cocciforme.

Dans les cultures : en milieu solide, le Bacille de Ducrey est un peu plus épais et trapu (fig. 220), disposé quelquefois en courtes chaînettes. Dans l'eau de condensation, les chaînettes sont plus abondantes, plus longues, mais les éléments sont plus grêles.

Enfin, en sérum liquide, on observe surtout des chaînettes longues, flexueuses, voire même enchevêtrées.

Coloration. — Les couleurs d'aniline usuelles le colorent bien, mais la partie centrale reste incolore, contrastant avec les extrémités qui fixent énergiquement la substance colorante. Il prend ainsi l'aspect d'un Bacille en navette. La fuchsine de Ziehl diluée à 1/10, la thionine phéniquée sont les colorants de choix. *Il ne prend pas le Gram.*

CULTURES.

Le Bacille de Ducrey est aérobie ; il ne cultive sur aucun des milieux usuels. Après diverses tentatives, notamment de Petersen à l'aide de gélose-sérum, Bezançon, Griffon et L. Lesourd se sont servi avantageusement du sang gélosé préparé par leur procédé.

Gélose-sang. — En vingt-quatre ou quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°, apparaissent des colonies rondes, saillantes, grisâtres, opaques, de 1 à 2 millimètres de diamètre. Quand on veut en prélever une parcelle, la colonie a « tendance à fuir en masse devant le fil de platine » ; elle est difficile à émulsionner dans une gouttelette d'eau déposée sur une lame.

Repiquées sur le même milieu, les colonies ont tendance à devenir plus volumineuses et plus abondantes, mais ne deviennent jamais confluentes. De multiples passages ne permettent pas un acclimatement capable de faire obtenir une culture sur les milieux usuels.

Sérum liquide. — Culture grêle, qui se manifeste par un léger trouble avec quelques flocons.

SIÈGE DU BACILLE DE DUCREY.

Le Bacille du chancre mou siège dans le pus de la chancrelle, où il se trouve associé aux bactéries habituelles de la suppuration, le Staphylocoque notamment. Dans les coupes, le Bacille de Ducrey se

rencontre dans le derme. Là, on le décèle entre les fibres conjonctives, mais il n'envahit ni les cellules fixes ni les vaisseaux.

Il est perceptible encore dans les bubons, où il accède selon toute vraisemblance par la voie lymphatique. Il s'y trouve en minime abondance; l'examen direct du suc ganglionnaire ne permet pas toujours de l'y déceler.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Homme. — Il est facile de reproduire expérimentalement le chancre mou chez l'homme, en lui inoculant le pus de la chancrelle.

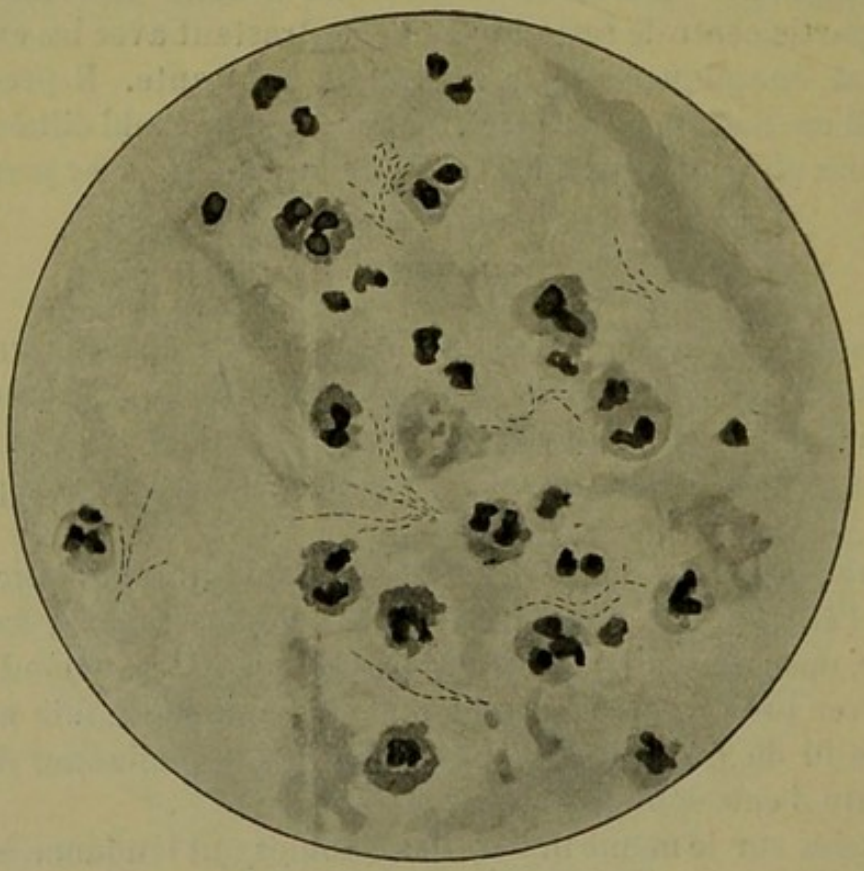


Fig. 221. — Frottis de chancre mou. Bacilles de Ducrey.

Il suffit de pratiquer sur un point du tégument une excoriation superficielle à l'aide d'une lancette chargée du virus. Dès la fin du premier jour, la lésion spécifique commence à se produire ; c'est vers le quatrième ou sixième jour qu'elle revêt son aspect typique.

Le même résultat est obtenu avec l'inoculation de cultures.

Animal. — On n'a pas encore pu reproduire le chancre mou chez les animaux de laboratoire, ni avec le pus de chancrelle, ni avec les cultures. Le singe seul est réceptif : divers auteurs ont reproduit le chancre mou chez le macaque et le bonnet chinois

par inoculation de pus chancreux humain. Tomasczewski, inoculant du pus chancreux d'un singe infecté à l'homme, a observé chez ce dernier l'évolution d'un chancre mou typique. Thibierge, Ravaut et Le Sourd ont déterminé sur la paupière inférieure du macaque une chancrelle en miniature, qui évolue en seize jours en moyenne.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

La recherche du Bacille de Ducrey pourra être utile au diagnostic ; elle portera sur la lésion chancreuse elle-même. Le suc ganglionnaire des bubons pourra être l'objet de la même expertise.

Examen direct. — Après avoir enlevé le pus qui recouvre l'ulcère et qui contient de nombreuses souillures microbiennes, on racle à l'aide d'une spatule de platine flambée le fond de la perte de substance. Étaler sur lames le produit recueilli. Laisser sécher, fixer, colorer par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée.

Mise en culture. — L'isolement par les cultures provenant du pus chancreux est difficile, car ce dernier est souillé, comme il a été dit, par des germes étrangers, dont le développement envahit la culture et masque les colonies spécifiques.

Pour éviter ces souillures le plus possible, désinfecter tout d'abord la surface de l'ulcération par un badigeonnage à la teinture d'iode, puis laisser accumuler le pus sous un pansement sec aseptique, et l'ensemencer abondamment sur gélose-sang. Après vingt-quatre à quarante-huit heures de séjour à l'étuve à 37°, les colonies caractéristiques sont perceptibles.

Le suc ganglionnaire est ensemencé directement après prélèvement par ponction aspiratrice à l'aide d'une seringue stérile.

Inoculations. — Faire une scarification à la lancette chargée de pus recouvrant la surface du chancre sur la peau de la cuisse et du bras du malade ; on sait que le chancre mou est réinoculable à toute tentative chez le même sujet.

On peut faire la même opération à l'aide d'une culture pure dans le but d'identifier les germes qu'on a préalablement isolés.

Employer encore le procédé des scarifications sur le bord libre de la paupière du macaque (Thibierge, Ravaut et Le Sourd).

Pour le diagnostic, se rappeler que le Bacille de Ducrey et le Tréponème de la syphilis peuvent évoluer sur la même ulcération.

CHAPITRE XLI

VIBRION CHOLÉRIQUE

Le Vibrion cholérique a été découvert par Koch en 1885, dans les matières alvines de sujets atteints de choléra épidémique. Pour lui, ce germe représentait une espèce particulière, différente des autres bactéries. Joint à sa présence constante et exclusive dans les déjections des malades, ce caractère constituait à ses yeux une preuve suffisante de spécificité. Mais, plus tard, à la faveur de multiples recherches, et grâce aux perfectionnements des méthodes bactériologiques, de nombreuses espèces vibrioniennes furent décrites, semblant présenter des rapports assez étroits avec le Vibrion de Koch, mais en différant par certains caractères, importants pour les uns, contingents pour d'autres. La découverte des propriétés biologiques du sérum des animaux vaccinés sembla permettre alors de faire le départ entre ces Vibrions étrangers au choléra et ceux dont la spécificité n'était pas douteuse. Néanmoins, aujourd'hui même, les rapports réciproques de ces divers vibrions isolés des selles et des eaux ne sont pas tous encore nettement définis. Quelques points obscurs persistent, que des recherches nouvelles doivent pouvoir éclairer. Cependant, s'il est des vibrions dont la nature cholérique est douteuse, le Vibrion cholérique vrai possède des caractères qui permettent de bien l'identifier et de lui assigner un rôle indéniable dans la pathogénie du choléra.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le Vibrion cholérique se présente sous la forme d'une bactérie, longue de 1 μ, 5 à 2 μ, 5, large de 0 μ, 6, légèrement incurvée, à extrémités fines et figurant assez bien une virgule (d'où son nom de *Bacille virgule*).

L'examen d'une culture à l'état frais montre, outre ces caractères généraux, *une extrême mobilité*. Souvent peu marquée quand la préparation vient d'être effectuée, elle s'accuse dans la suite. Ces Vibrions traversent le champ de la préparation avec une grande

rapidité. Suivant l'expression de Koch, on jurerait assister aux ébats d'un essaim de moucherons. Cette mobilité le différencie à cet égard de vibrions peu ou pas mobiles, étrangers au choléra.

Dans les selles, après coloration. — On écrase sur une lame un grain riziforme, ou bien on étale une gouttelette des matières « soupe au lait » : on constate, outre des cellules épithéliales de l'intestin grêle, des filaments de fibrine et les germes de la flore intestinale, des vibrions présentant la morphologie précédente ; ils sont le plus

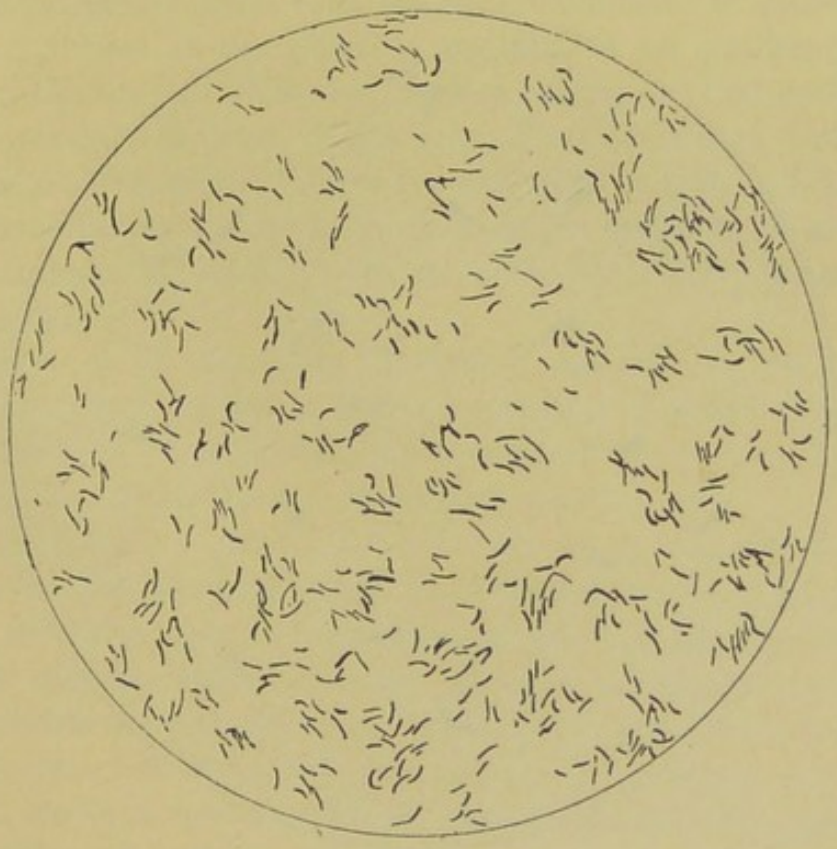


Fig. 222. — Vibrion cholérique. Culture sur gélose âgée de vingt-quatre heures.

souvent incurvés, mais parfois prennent l'aspect de bâtonnets rectilignes, quand le plan de courbure est perpendiculaire à la lame. Ils sont assez fréquemment disposés en files, en bancs de poissons, suivant l'expression de Koch (fig. 234) ; mais cette apparence est loin d'être la règle. Il n'est pas rare de voir plusieurs éléments disposés bout à bout et figurant un S, un Z.

Dans les cultures (fig. 222). — L'aspect microscopique est en général identique et se ramène en somme aux caractères précédents ; quelques variantes doivent cependant être notées.

Dans les cultures de première génération, il n'est pas exceptionnel de voir le vibrion plus ramassé sur lui-même que dans la forme type ; après un ou deux passages, il reprend un aspect caractéris-

tique; certains vibrions se présentent même ainsi au début sous un aspect coccobacillaire.

On a décrit encore des formes différentes, notamment une forme filamenteuse, mince, rectiligne ou incurvée, comme celle du Vibrion de Massaouah, isolé des eaux. Chez les cobayes vaccinés, de même à la suite de l'ingestion expérimentale, Metchnikoff a pu transformer des Vibrions filamenteux en Vibrions courts et incurvés ; par contre, entre ses mains, le Vibrion d'Angers, dont la forme était

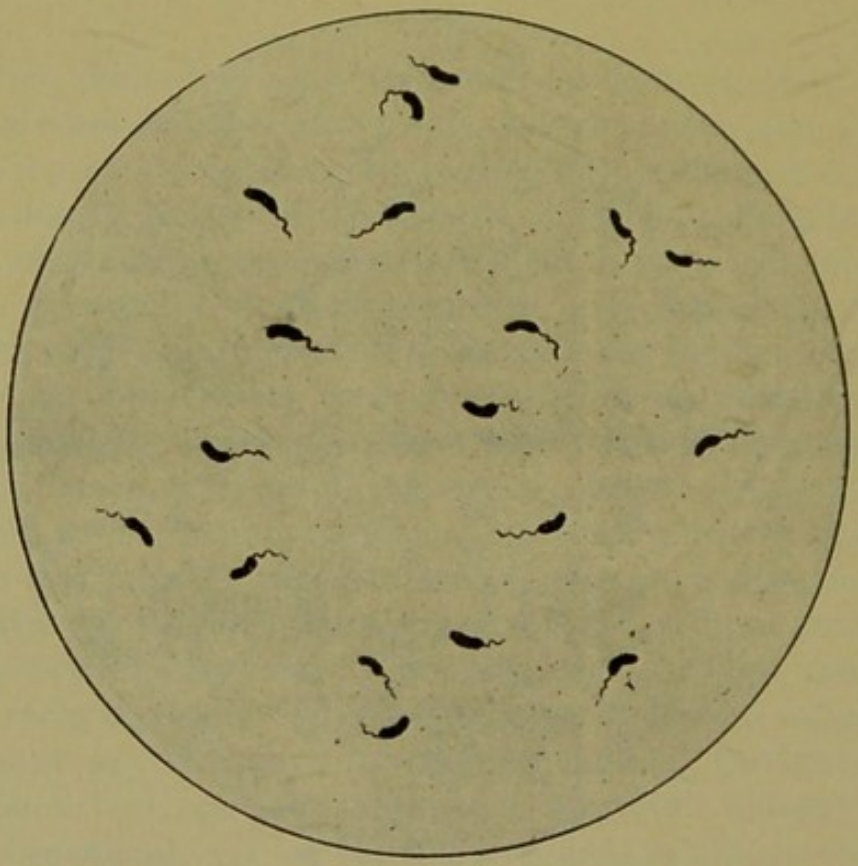


Fig. 223. — Cils vibratiles du Vibrion cholérique.

classique, s'est transformé en un germe mince et long, après un long séjour en eau peptonée.

Enfin, dans les cultures anciennes, on constate des formes d'involution : Vibrions à extrémités renflées, voire même des formes arrondies dans lesquelles Hueppe a vu à tort des arthrospores, dont l'existence est niée actuellement.

Coloration. — Le Vibrion cholérique se colore par toutes les couleurs d'aniline, mais faiblement. Le colorant de choix est la fuchsine de Ziehl diluée au quart ou au cinquième. Ce germe se décolore par la méthode de Gram.

Cils vibratiles. — Le Vibrion cholérique est un organisme cilié : suivant les échantillons, les procédés classiques de coloration des

cils n'en révéleraient qu'un, situé à l'une des extrémités, ou bien deux (un à chaque extrémité, ou deux à la même), ou bien davantage encore. Suivant Gaffky, le Vibrion cholérique vrai ne posséderait qu'un cil (fig. 223). C'est une affirmation à vérifier.

CULTURES.

Le Bacille virgule ne pousse que très maigrement dans les milieux privés d'oxygène ; il est presque strictement aérobie. Il donne des cultures abondantes dans tous les milieux usuels et pousse entre 12° et 40° : 37° est sa température optima. Il ne pousse pas dans les milieux légèrement acides et préfère ceux à qui l'on confère une réaction alcaline. Il peut même supporter des doses d'alcali qui empêchent le développement des germes tels que le *B. coli*, le *Proteus vulgaris*, avec lesquels il est mélangé dans les matières fécales. Nous verrons plus loin qu'on tire parti de cette propriété pour pratiquer son isolement.

Bouillon. — En bouillon, il donne rapidement en quelques heures un trouble uniforme avec production d'ondes moirées par agitation du tube. A la surface se développe un mince voile blanchâtre. Après quelques jours, la culture se sédimente.

Eau peptonée. — Dans l'eau peptonée à 3 p. 100, très employée depuis les travaux de Metchnikoff pour l'isolement du Vibrion cholérique, ce germe pousse plus rapidement que les germes de la flore intestinale banale. Même dans les cas où le matériel d'ensemencement ne renferme que de rares vibrions mêlés à une foule d'autres bactéries, ceux-ci finissent par prédominer et s'amasser à la surface du milieu. En six à sept heures, on observe un trouble léger et un voile identique à celui des cultures en bouillon. Le trouble s'accuse dans la suite, et le voile s'épaissit ; le voile est constitué par une quantité énorme de Vibrions qui viennent à la surface rechercher l'oxygène dont ils ont besoin pour vivre et se multiplier.

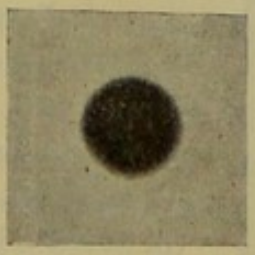


Fig. 224. — Colonie de Vibrion cholérique sur gélatine (premier jour).

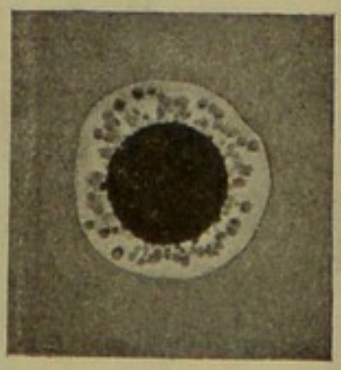


Fig. 225. — Colonie de Vibrion cholérique sur gélatine (soixante-douze heures).

Gélatine. — Milieu essentiel pour l'identification du vibrion ; ce dernier *liquéfie la gélatine*.

Colonies isolées. — Entre vingt et vingt-quatre heures à 20°, de petites colonies apparaissent blanchâtres et transparentes. La liquéfaction commence vers le deuxième jour (en cupule) (fig. 225) ; la

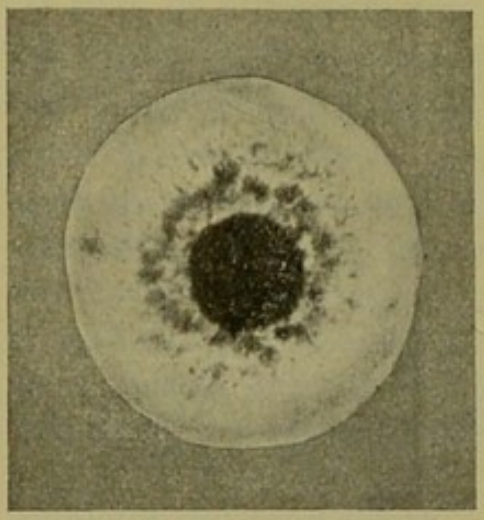


Fig. 226. — Colonie de Vibrion cholérique (troisième jour).

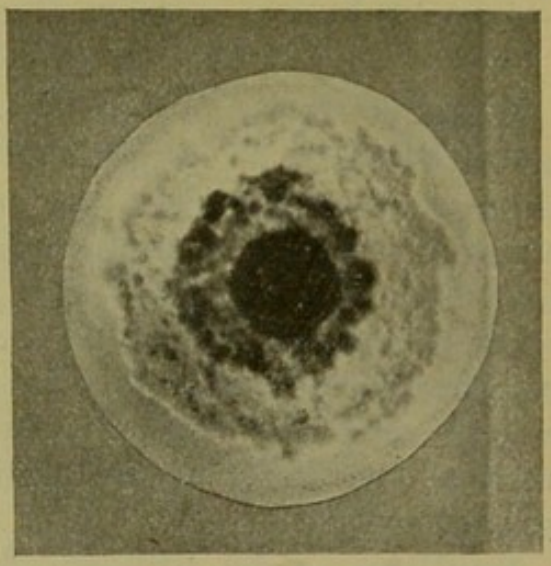


Fig. 227. — Colonie de Vibrion cholérique (cinquième jour).

colonie prend alors l'aspect suivant : centre granuleux entouré d'un cercle granuleux sinueux ; autour de ce cercle, un troisième constitué par la zone de liquéfaction (fig. 226). Celle-ci se poursuit les jours suivants et envahit tout le milieu.

Ensemencement en piqûres. — Vers la vingtième heure, de petites colonies blanches se développent le long de la piqûre. Elles sont plus abondantes dans les régions superficielles, où le milieu ne tarde pas à se liquéfier d'une façon caractéristique : il se produit en effet à la surface une *cupule* avec la formation d'une *bulle d'air* ; la liquéfaction se poursuivant, il se développe vers le deuxième jour un *entonnoir* dont la base siège à la surface, où persiste la bulle d'air jusque vers le quatrième jour ; au fond de l'entonnoir, les germes se disposent sous forme de grumeaux blanchâtres. Puis la liquéfaction envahit progressivement, de haut en bas, toujours en entonnoir, la totalité du tube de culture (fig. 228).

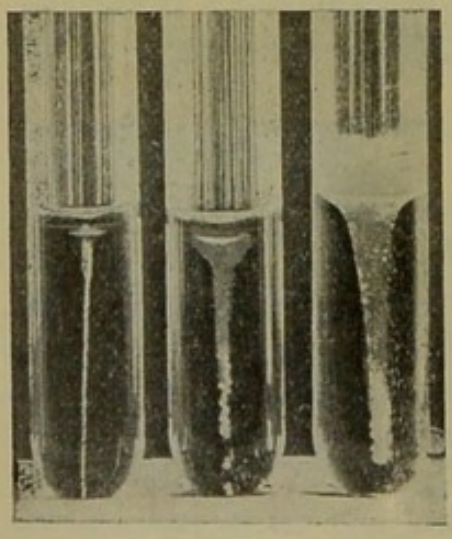


Fig. 228. — Culture de Vibrion cholérique sur gélatine en piqûres aux deuxième, troisième et huitième jours.

Gélose. — *En strie*, à 37°, se forme en seize à dix-huit heures

une glaire, semi-transparente d'abord, plus opaque ensuite, ne présentant aucune caractéristique.

Les colonies isolées jeunes (six à huit heures) sont petites, transparentes, bleutées, homogènes ; plus âgées (vingt-quatre à quarante-huit heures), elles sont plus étendues ; vues à la loupe, leur centre est granuleux et sombre.

Lait. — Le Vibrion cholérique pousse abondamment dans le lait sans le coaguler (R. Koch). Ce caractère ne serait pas constant.

Sérum coagulé. — Le Bacille virgule s'y développe rapidement et le liquéfie, grâce à l'action d'un ferment peptonisant.

Pomme de terre. — Développement abondant, sous forme d'une glaire épaisse de teinte brunâtre.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Résistance aux agents antiseptiques. — La résistance du Vibrion cholérique à l'action des antiseptiques est faible. Le sublimé à 1 p. 10 000, les sels de quinine, le sulfate de cuivre à 1 p. 25 000, les solutions acides arrêtent immédiatement son développement dans les *cultures* : le suc gastrique, par l'acide chlorhydrique qu'il contient, est très vibrionicide.

Vitalité dans les milieux extérieurs. — Dans les cultures conservées à l'obscurité et à l'abri de l'air, le Vibrion cholérique garde sa vitalité pendant trois à quatre mois ; mais il n'en est pas de même quand il subit l'action de l'oxygène, de la lumière et surtout de la dessiccation : la lumière le fait périr en une heure ; sous l'influence de la dessiccation, il succombe en trois jours (Koch, Williams) ; Germano prétend qu'il ne vit pas plus de quatre jours dans les poussières.

Il est très sensible à la chaleur ; une température de 55° pendant une demi-heure le tue sûrement ; il succombe à 60° pendant cinq minutes, instantanément à 100°.

Dans les *déjections*, il est détruit, d'après Koch, Krause, en vingt-quatre heures : en deux à trois jours d'après Kitasato ; Karlinski cependant l'a vu résister pendant quatre à six semaines. Tout semble dépendre des germes qui réalisent la concurrence vitale, comme aussi de la réaction acide ou alcaline des milieux.

Dans le *sol humide* (terre de jardin), Dempster l'a vu résister soixante-trois jours, Germano cent vingt jours dans le pain humide.

Dans l'*eau stérilisée*, d'après Krause, Strauss et du Barry, Nicati et Rietsch, le Vibrion cholérique reste vivant de trente à cent trente-cinq jours ; dans l'eau *non stérilisée*, deux à trois jours (Karlinski),

sept jours (Dunham), sept à treize jours (Stutzer et Burri), quinze jours (Piccinninni) ; dans l'eau de mer non stérilisée, vingt-quatre heures (Piccinninni).

Dans l'eau de l'Ourcq, Strauss et du Barry ont constaté une survie de trente jours ; dans l'eau de la Vanne, trente-neuf jours.

Ces différences de vitalité dépendent moins de la nature intrinsèque de l'eau envisagée que des germes qu'elle véhicule. On sait en effet l'influence marquée de certains microbes dits « empêchants » ou au contraire « favorisants » sur la vitalité du Vibrion cholérique. Nous aurons l'occasion d'en parler dans l'étude du choléra expérimental par ingestion.

Dans le lait et le beurre, le Vibrion cholérique peut rester vivant jusqu'à cinquante jours (Heim).

Réactions biochimiques. — Réaction de l'indol. — Le Bacille virgule produit de l'indol dans les milieux où on le cultive.

Réaction indol-nitreuse. — En culture dans l'eau peptonée, il réduit les nitrates, donne naissance à des nitrites et engendre de l'indol. La production des nitrites est rendue plus évidente quand on ajoute une petite quantité de nitrate de potasse à l'eau peptonée ; pour cette réaction, la peptone de Witte est préférable à toute autre.

On prépare la solution suivante, qu'on répartit en tubes et qu'on stérilise à 115° pendant vingt minutes :

Peptone de Witte	10 grammes.
Nitrate de potasse	1 gramme.
Sel marin	5 grammes.
Eau	1 litre.

On ensemence un tube contenant ce milieu : après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve à 37°, on verse 1 à 2 centimètres cubes d'acide chlorhydrique ou sulfurique purs ; on obtient immédiatement une teinte rose qui se fonce au bout de quelques heures. C'est la réaction *indol-nitreuse*, ou du *choléra-roth*, découverte par Poelh en 1886.

Cette réaction n'est pas spécifique : plusieurs vibrions étrangers au Vibrion de Koch peuvent la produire. On a prétendu que certains Vibrions cholériques vrais ne la fournissaient pas ; cette affirmation demanderait à être contrôlée avec des Vibrions cholériques bien authentiques, et en culture pure, car les impuretés microbiennes empêchent souvent la réaction de se produire.

Hémolysines. — D'après Kraus et ses élèves, les Vibrions cholériques agglutinables ne produiraient pas d'hémolysine. La propriété hémolytique ne serait réservée qu'à certains vibrions voisins du

Bacille virgule, mais n'en possédant pas la spécificité. Le Vibrion d'El-Tor cependant, considéré comme cholérique, est hémolysant.

En réalité, l'observation a démontré qu'un certain nombre de Vibrions cholériques vrais possédaient, à des degrés divers, des propriétés hémolysantes; mais, suivant la même espèce, elles sont sujettes à des variations.

De plus, d'autres espèces vibrioniennes ne possèdent pas cette propriété (Kütscher, Meinicke, Schumacher).

On ne saurait donc faire de ce phénomène un caractère nettement distinctif des vrais ou des faux vibrions.

L'hémolyse peut être mise en évidence en cultivant les vibrions sur gélose au sang. Si le vibrion est hémolytique, les colonies s'entourent d'une auréole claire contrastant avec la teinte sombre, opaque, du reste du milieu.

Réactions au sérum anticholérique. — Agglutination. — Un sérum obtenu par la vaccination microbienne ou la vaccination par autolysats du vibrion cholérique vrai est doué de propriétés agglutinantes manifestes, et à un taux élevé, pour le vibrion spécifique ; il reste sans action sur les vibrions voisins. Tel est le principe. Cette recherche, appliquée à l'identification des vibrions isolés des selles et des eaux, présente une importance considérable.

On a beaucoup discuté sa valeur cependant pour les raisons suivantes : à côté des vibrions nettement agglutinables, il en est qui le sont peu ; d'autres ne s'agglutinent pas à la première génération et ne deviennent agglutinables qu'après plusieurs passages dans les milieux de culture. Ces constatations ne sont pas de nature à infirmer la valeur de cette propriété, car tous les germes, quels qu'ils soient, sont soumis à des variations semblables. Mais où la réaction paraît être en défaut, c'est vis-à-vis de vibrions retirés des selles, et ayant tous les caractères morphologiques, culturaux, etc., du vibrion cholérique, mais n'agglutinant pas malgré les multiples passages qu'on leur a fait subir. Le tout est de savoir si ces vibrions, si voisins soient-ils du Vibrion de Koch, sont bien des Vibrions cholériques ; on aura plus loin à revenir sur ce fait intéressant.

La recherche se fait par le procédé macroscopique.

On verse dans des tubes stériles 1 centimètre cube d'une dilution de sérum à 1 p. 100, 200, etc., 1 p. 1000, 2000, etc., et on ajoute dans chaque tube 1 centimètre cube d'une émulsion d'une culture sur agar de vingt-quatre heures, raclée dans 20 centimètres cubes d'eau physiologique stérile. Après mélange, on met à l'étuve à 37° et on observe les résultats au bout d'une heure. Un simple coup d'œil permet de se rendre compte de l'agglutination (fig. 229) et du taux auquel elle se produit.

L'agglutination du vibrion peut se produire parfois, mais à des taux minimes (1/20) avec le sérum des sujets atteints de choléra (Achard et Bensaude).

Fixation du complément. — Le sérum anticholérique possède une sensibilisatrice spécifique pour le Vibrion cholérique ; la méthode connue de Bordet-Gengou permet de s'en assurer d'une façon précise. La fixation du complément ne s'obtiendrait pas avec les germes qui lui sont étrangers (Betsche et Kohn). D'après les recherches de Crendiropoulo, parmi les vibrions qui ne réagissent ni à l'agglutination, ni au phénomène de Pfeiffer, il en est d'assez nombreux qui cependant fixent le complément ; peut-être les sensibilisatrices mises en jeu ne sont-elles que des sensibilisatrices de groupe, non spécifiques.

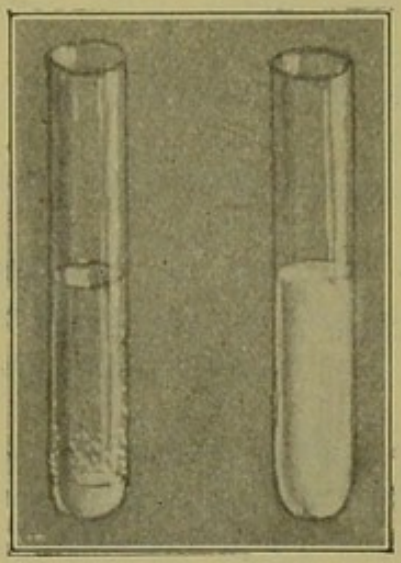


Fig. 229. — Agglutination du Vibrion cholérique. — Tube de gauche: formation des amas. — Tube de droite : tube témoin ; trouble homogène.

Phénomène de Pfeiffer. — La description a été donnée par Pfeiffer et Israëff ; il a été surtout étudié par Metchnikoff et Bordet. Il peut être mis en évidence de deux façons : *in vivo* (Pfeiffer) et *in vitro* (Bordet).

In vivo. — A un cobaye vacciné fortement contre le Vibrion cholérique, on injecte dans le péritoine une demi-culture du Vibrion de Koch, émulsionnée dans 2 centimètres cubes d'eau physiologique stérile. Dix ou vingt ou soixante minutes au plus, on prélève l'exsudat péritonéal à l'aide d'une pipette capillaire. On l'examine en goutte pendante ou sur lame après coloration. Alors que chez les animaux témoins, non immunisés, les vibrions se montrent en foule, avec leur aspect classique et toute mobilité, chez le cobaye vacciné, les vibrions présentent des modifications importantes : tout d'abord ils perdent leur mobilité, s'agglutinent, et bientôt on observe leur transformation en *granules sphériques* (fig. 230), bien colorés d'abord, mais perdant peu à peu leur colorabilité, puis se dissolvant complètement. Des vibrions non cholériques conservent leur apparence normale, et la transformation en granules ne se produit pas (fig. 231).

On peut encore réaliser la même expérience avec les mêmes résultats, en opérant chez des cobayes neufs : on leur injecte alors la même quantité de culture, additionnée d'une petite quantité d'un sérum anticholérique actif (1/4 ou 1/10 de centimètre cube). L'exsudat prélevé montre la même transformation en granules.

Aux yeux de Pfeiffer, cette réaction présenterait une grande importance pour l'identification d'un vibrion.

In vitro. — Metchnikoff et Bordet ont réalisé le phénomène de Pfeiffer

in vitro, en mélangeant dans des tubes stériles une dilution de sérum anticholérique, quelques gouttes de sérum frais de cobaye (alexine) et l'émulsion microbienne. Après un séjour de deux à trois heures à l'étuve à 37°, on examine en gouttes pendantes et sur lames après coloration : l'agglutination et la transformation en granules s'observent comme dans l'exsudat péritonéal de cobaye.

La réaction de Pfeiffer peut s'obtenir avec le sérum des sujets convalescents de choléra.

SIÈGE DU VIBRION CHOLÉRIQUE DANS L'ORGANISME.

Chez les malades. — Le Vibrion cholérique pullule avec abondance dans l'intestin grêle. On le décèle aisément dans son contenu,

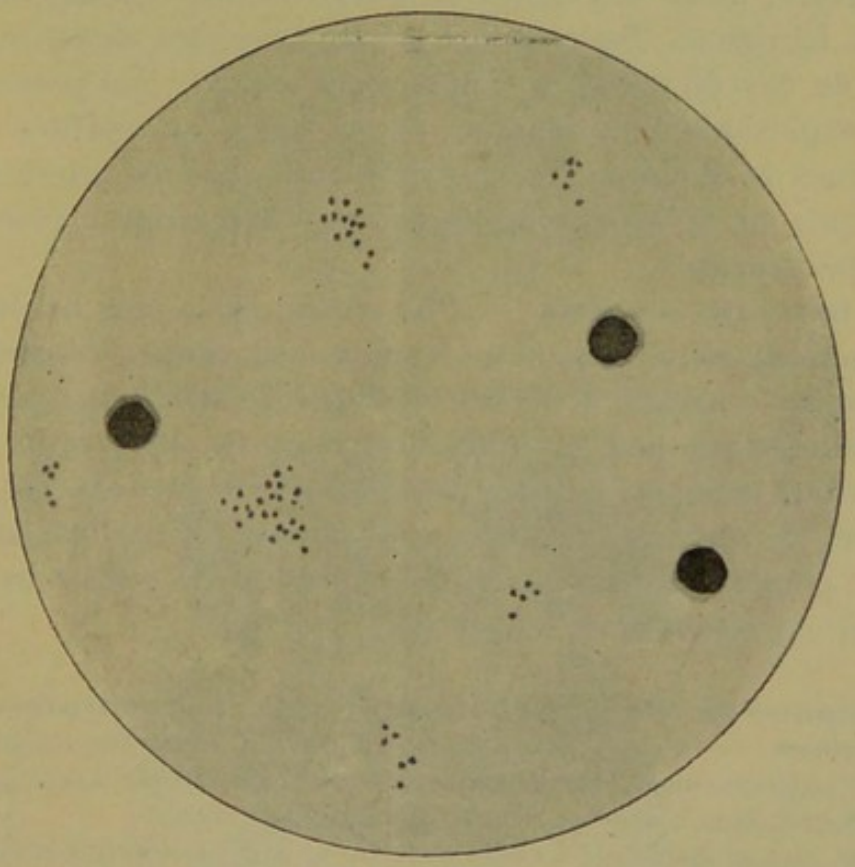


Fig. 230. — Phénomène de Pfeiffer positif : agglutination et transformation du Vibrion cholérique en granules.

où il se voit plus particulièrement dans les *flocons*, les *grains riziformes* ; dans les coupes de la paroi intestinale, il est perceptible au niveau des glandes de Lieberkühn et dans le tissu interstitiel interglandulaire (fig. 232) ; il se rencontre encore dans les matières alvines qui sont évacuées par le gros intestin. Là, il se trouve en plus ou moins grande abondance suivant la période de l'infection cholérique : au début, il se trouve le plus souvent en

culture presque pure; puis, au fur et à mesure que l'infection décline, les microbes de la flore intestinale normale reprennent le dessus, et il est associé à de nombreuses bactéries. Sa présence dans les selles constitue un grand danger pour la contagion. Koch a constaté deux fois le Bacille virgule dans les *vomisssements*.

Le Vibrion cholérique se cantonne dans l'intestin et ne se généralise pas. Telle est la règle générale. Elle semble comporter quelques exceptions : Deycke l'aurait décelé dans les parois de l'estomac, Girode, Mills dans le foie; Nicati et Rietsch, Girode, Lesage, Gaffky, Kulescha, Defressine et Cazeneuve, dans les voies biliaires.

Le Vibrion cholérique se rencontre dans toutes les formes de choléra avéré, dans les atteintes foudroyantes comme dans les atteintes bénignes. Sa présence a été constatée dans un certain nombre de cas de *diarrhée* d'apparence banale, qui précèdent les grosses explosions épidémiques et ne sont, en réalité, que des cas atténués de choléra ; il en est de même dans les atteintes semblables qui, en plein foyer épidémique, s'observent à côté des cas les plus foudroyants.

Chez les sujets sains . — Une notion de la plus haute importance au point de vue épidémiologique est venue se greffer sur cette dernière : comme le Bacille typhique, le Méningocoque, etc., le Vibrion cholérique peut se rencontrer chez des sujets sains qui ont été en contact direct ou indirect avec des cholériques avérés. Il s'agit, ici encore, de *porteurs de germes*, dont le pouvoir contagionnant est d'autant plus à redouter qu'ils ne présentent aucun symptôme intestinal et passent ainsi inaperçus.

Persistance du Vibrion cholérique chez les convalescents et les porteurs. — Depuis que la technique de la recherche du Bacille virgule s'est perfectionnée, on possède des renseignements assez précis sur sa persistance dans l'intestin des sujets qui l'hébergent.

Malades. — La durée de l'excrétion du germe spécifique a été étudiée par de nombreux auteurs. Sur 30 cas, Gaffky a noté les chiffres suivants :

Moins de 5 jours	17 cas.
De 5 à 10 jours	7 —
De 10 à 20 jours	5 —
35 jours	1 —

Porteurs sains. — Durant l'épidémie de Saint-Pétersbourg (1908), quarante-sept porteurs sains ont été examinés systématiquement : quelques-uns ont gardé le germe un à deux jours ; la plupart, quatre à cinq jours ; dix une semaine ; deux l'ont gardé dix jours.

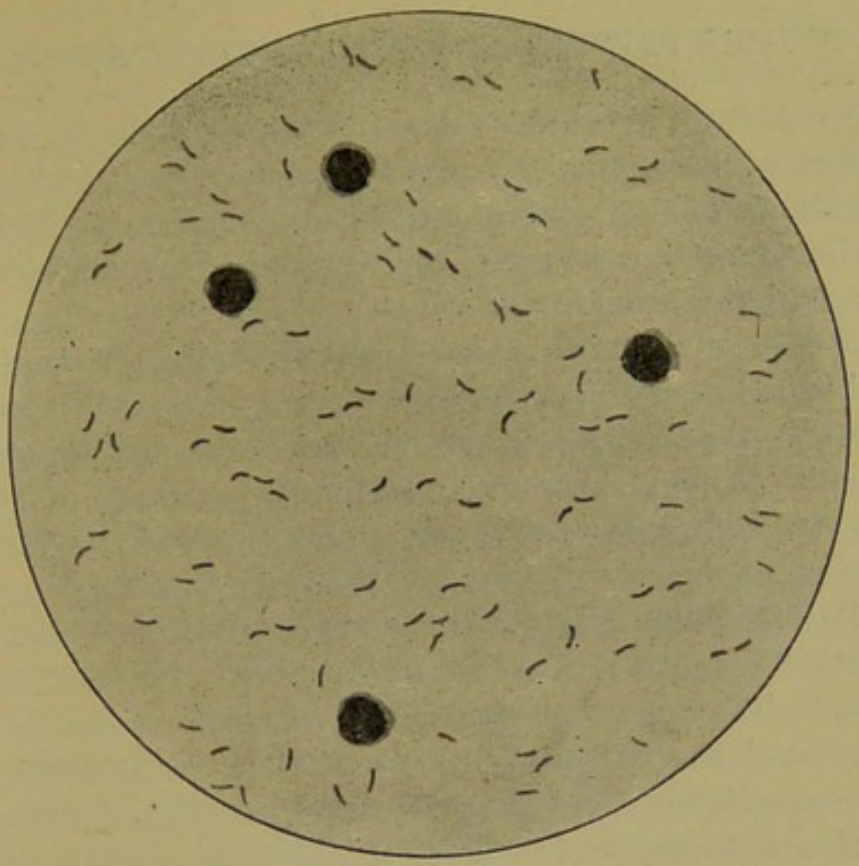


Fig. 231. — Expérience témoin chez un cobaye neuf : vibrions mobiles, pas de modifications de forme ni d'agglutination. Réaction négative.

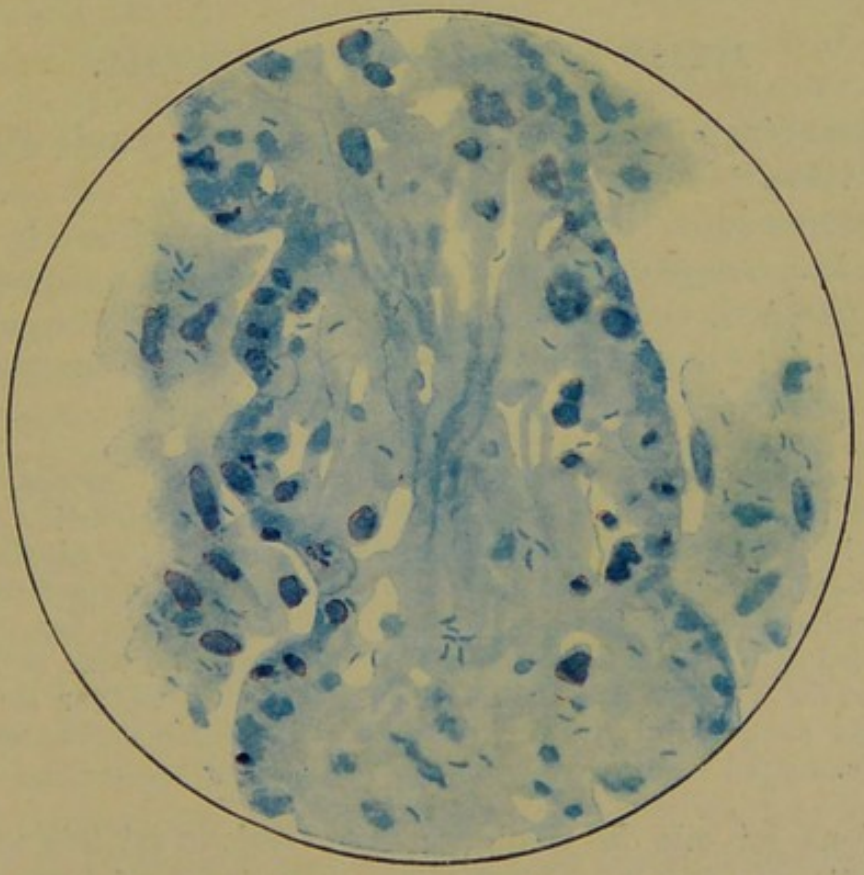


Fig. 232. — Vibrion cholérique dans une coupe de villosité intestinale.

POUVOIR PATHOGÈNE SPÉCIFIQUE CHEZ L'HOMME.

La spécificité du Vibrion cholérique dans l'étiologie du choléra épidémique est incontestable. Elle est prouvée non seulement par les propriétés connues (agglutination, phénomène de Pfeiffer) que possède le sérum des malades, mais aussi par les expériences tentées par plusieurs observateurs.

Pettenkoffer et Emmerich essayèrent de réaliser le choléra expérimental humain, en ingérant des cultures pures de Vibrions cholériques après neutralisation du suc gastrique par absorption de bicarbonate de soude. Ils ne réussirent qu'à provoquer une diarrhée choléri forme; il en fut de même des essais de Ferran. Les expériences ne furent réellement positives qu'entre les mains de Metchnikoff et de ses élèves. Après avoir absorbé 1 gramme de bicarbonate de soude, ils ingérèrent des cultures de Vibrions cholériques sur gélose. Des diarrhées d'aspect riziforme se déclarèrent ainsi, et l'un des expérimentateurs contracta un véritable choléra avec les symptômes classiques au grand complet. Enfin on connaît plusieurs exemples de bactériologistes qui furent atteints de choléra, en dehors de toute période épidémique, après s'être infectés accidentellement en maniant des cultures de Bacille virgule.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

L'animal réagit d'une façon différente suivant la voie d'introduction du virus.

L'*injection sous-cutanée* provoque chez le *cobaye*, le *lapin* et surtout le *spermophile* une *septicémie vibrionienne* à laquelle ils ne tardent pas à succomber après avoir présenté de l'hypothermie, des convulsions et du collapsus. A l'autopsie, on retrouve le Vibrion dans le sang et les viscères.

On obtient les mêmes résultats, mais plus facilement encore, en pratiquant les inoculations dans les *masses musculaires*. Gamaléia, puis Metchnikoff les ont utilisées pour vaincre la résistance des *pigeons*. Par la voie sous-cutanée, en effet, le pigeon paraît réfractaire à l'infection cholérique. Pour certains mêmes, le fait qu'un Vibrion n'était pas pathogène pour un animal constituait un caractère important en faveur de la nature cholérique du Vibrion employé. Les résultats obtenus par les auteurs précédents avec les injections intramusculaires écartent ce moyen de diagnostic.

Signalons ici que la virulence des Vibrions est très variable : certains d'entre eux, provenant même de selles cholériques, restent

inoffensifs pour l'animal. Aussi la virulence est-elle considérée comme un caractère trop contingent pour l'identification du Vibrion spécifique; d'autant que certains Vibrions sûrement non cholériques sont plus virulents que le Vibrion de Koch.

L'*injection intrapéritonéale* chez le cobaye provoque rapidement une péritonite vibrionienne mortelle (Hueppe et Pfeiffer). Quelques heures après l'inoculation, le poil de l'animal se hérisse, la température fléchit, des convulsions se produisent, puis le collapsus survient, et l'animal succombe.

A l'autopsie, on constate que la cavité péritonéale renferme un exsudat louche ou purulent, contenant des Vibrions cholériques; l'intestin présente une teinte hortensia; enfin, dans son contenu, des vibrions sont perceptibles; ils se généralisent parfois en déterminant une septicémie.

Dans cette épreuve, les Vibrions cholériques manifestent encore une virulence très variable suivant les échantillons utilisés. Pour être mortelle, la dose employée doit varier avec chacun d'eux.

Quoi qu'il en soit, sous l'influence de ces inoculations diverses, l'animal contracte l'infection cholérique, mais les symptômes observés ne présentent aucune analogie avec le choléra intestinal tel qu'il se présente chez l'homme. Seules les expériences tentées par la voie digestive ont pu atteindre ce but.

Inoculation par les voies digestives. — Choléra expérimental. — Nicati et Rietsch paraissent avoir été les premiers à provoquer un véritable choléra intestinal chez le cobaye, en injectant, après laparotomie, des cultures de vibrions de Koch dans l'intestin grêle. Depuis lors, des essais ont été tentés par Koch, puis Metchnikoff, en utilisant une technique différente.

Expériences de Koch sur le cobaye. — Koch introduit tout d'abord dans l'estomac du cobaye, par une sonde, une solution de bicarbonate de soude à 5 p. 100, puis une culture de Vibrions cholériques. Immédiatement après, pour immobiliser l'intestin, il injecte dans le péritoine 1 centimètre cube de teinture d'opium.

Au bout de dix à vingt heures, l'animal perd l'appétit et présente de la faiblesse du train postérieur; la respiration se ralentit, puis le collapsus s'établit, la température baisse et il succombe. A l'autopsie, l'intestin grêle est fortement tuméfié, et son contenu est constitué par un liquide aqueux, incolore, floconneux, où des Vibrions cholériques pullulent en abondance.

Expériences de Metchnikoff sur les jeunes lapins. — Metchnikoff, pensant que la difficulté de réaliser le choléra intestinal provenait de l'influence nocive exercée par certains germes de l'in-

testin, s'adressa au jeune lapin d'un à quatre jours, encore à la mamelle, sans employer les artifices imaginés par Koch. Pour lui, le lapin de cet âge devait se prêter mieux que tout autre à l'expérience, car il se nourrit exclusivement à cette époque du lait de sa mère, et sa flore intestinale est pauvre en bactéries.

Il infecte les animaux en leur faisant ingérer une culture d'agar raclée. Dans ces conditions, 50 p. 100 des animaux en expérience présentent de la diarrhée avec hypothermie et collapsus terminal. L'intestin grêle est le siège de lésions identiques à celles du choléra humain ; le liquide qu'il contient fourmille de Vibrions cholériques.

Les résultats positifs sont beaucoup plus nombreux et plus nets (20 sur 22), quand, à la culture du Vibrion cholérique, on ajoute des *microbes favorisants* (torula, sarcine, un bacille coliforme).

L'importance de ces derniers faits expérimentaux est à souligner particulièrement, car ils sont de nature à expliquer certaines obscurités régnant sur l'étiologie du choléra. Tous les épidémiologistes ont remarqué en effet que, dans un groupe de sujets exposés au même foyer de contagion cholérique, certains contractaient le choléra, d'autres restaient indemnes ou restaient simplement porteurs sains. Il est fort vraisemblable, d'après les données de Metchnikoff, que, chez les premiers, l'éclosion des symptômes cholériques s'est effectuée grâce à la présence de microbes intestinaux qui ont favorisé la pullulation et la virulence du germe spécifique ; chez les autres, ou bien ces germes favorisants n'existaient pas, ou bien le vibrion a éprouvé, au contraire, l'action néfaste de germes dont la nature « empêchante » a été démontrée par Metchnikoff sur les cultures en plaques.

Expériences de Zabolotny sur les spermophiles. — Sur les spermophiles, très réceptifs, Zabolotny a réalisé des expériences d'ingestion qui se rapprochent davantage des conditions de l'infection humaine. Il leur fait ingérer des aliments arrosés de cultures de Vibrion de Koch. 50 p. 100 des animaux succombent en présentant les symptômes du choléra, diarrhée, hypothermie, crampes, cyanose du nez et de la langue ; l'autopsie montre les lésions typiques du choléra humain.

La proportion des atteintes et de la mortalité est plus élevée si, à la nourriture spécifiquement contaminée, on ajoute une petite quantité d'un sel alcalin.

TOXINE CHOLÉRIQUE.

Dès 1883, Koch attribuait le choléra à un empoisonnement aigu, dû à l'absorption d'une substance toxique élaborée dans l'intestin par le Vibrion cholérique. De nombreux travaux ont, depuis lors,

été consacrés à la mise en évidence et à l'étude de la toxine cholérique.

Petri prépara une toxine soluble qui résistait à la température de 100°. Il l'obtenait par filtration de cultures de Vibrions en solutions peptonées à 10 p. 100. Le filtrat tuait le cobaye en injection péritonéale à la dose de 2 centimètres cubes, en provoquant tous les phénomènes connus de l'intoxication cholérique. Il assimilait cette toxine à une toxo-peptone.

En 1892, Gamaleia cultive le Vibrion cholérique en bouillon de pied de veau ; après un séjour de deux semaines à l'étuve à 37°, il abandonne les cultures à la température du laboratoire pour laisser macérer les corps microbiens et permettre aux poisons qu'ils contiennent de diffuser dans le liquide. Dans ce liquide de macération, il trouve deux poisons : l'un thermolabile qui provoque de la diarrhée au lapin, l'autre thermostabile, pouvant tuer le lapin sans qu'il présente de diarrhée.

Pour Pfeiffer et ses élèves, la toxine cholérique est un poison contenu dans le corps des microbes, une *endotoxine* qui ne serait mise en liberté qu'après la mort et les obstructions des vibrions.

Préparation de la toxine. — Pour préparer une toxine active, il faut avoir recours soit au procédé de Metchnikoff, Roux et Salimbeni, soit à celui de Brau et Denier.

Procédé de Metchnikoff, Roux et Salimbeni. — Les auteurs choisirent tout d'abord un vibrion provenant directement de selles cholériques et n'ayant jamais subi de passage sur les animaux. (Ils ont abandonné la méthode de l'exaltation de la virulence par la méthode des sacs de collodion, ce procédé accroissant la virulence mais diminuant la toxicité.)

Ils emploient comme milieu de culture la solution de peptone à 2 p. 100, additionnée de 2 p. 100 de gélatine, de 1 p. 100 de sel marin.

On chauffe à 100° pour fondre la gélatine ; alcaliniser à raison de 12 centimètres cubes de solution normale de soude par litre, après neutralisation. On autoclave à 115° pendant vingt minutes ; filtrer sur papier ; stériliser à 110-112°.

Après refroidissement, on ajoute 25 p. 100 de sérum de cheval normal, puis on répartit dans des boîtes de Roux stériles, à raison de 50 centimètres cubes par boîte. Un nouveau chauffage à 60° pendant trois heures assure la destruction des substances bactéricides du sérum de cheval.

Pour avoir une toxine active, « il faut réaliser des cultures rapides, très abondantes, et en retirer la toxine avant que celle-ci ne soit modifiée. Il faut que le milieu soit ensemencé largement avec des microbes jeunes et en pleine activité, et que la culture se fasse en couche mince et en large surface pour faciliter l'aération » (Salimbeni).

On ensemence chaque boîte, préparée comme il a été dit, avec le quart de l'émulsion d'une culture ; mettre à l'étuve à 37°, en couchant les boîtes à plat pour augmenter la surface ; pour augmenter l'aération, on agite chaque jour.

L'expérience montre que la toxicité atteint son maximum au septième

jour. On filtre alors les cultures obtenues sur papier d'abord, puis sur bougie Chamberland ou Berkefeld.

Procédé de Brau et Denier. — Il permet d'obtenir une toxine à effets plus constants : à 45 centimètres cubes de bouillon Martin gélatiné, on ajoute 45 centimètres cubes de sérum de cheval et 10 centimètres cubes de sang de cheval défibriné, ayant séjourné à la glacière pendant trois semaines après la saignée. La suite de la technique est la même que dans le procédé précédent.

Propriétés de la toxine cholérique. — La toxine cholérique n'est aucunement modifiée par la température de l'ébullition prolongée pendant vingt minutes. A 60° pendant vingt-quatre heures, elle est au contraire très affaiblie. L'air et la lumière l'altèrent rapidement. A la glacière et en tubes scellés, elle garde longtemps son activité.

Elle dialyse à travers les membranes de collodion : comme les autres toxines, elle est précipitable par l'alcool absolu et le sulfate d'ammoniaque.

Son action sur les animaux. — Un centimètre cube de toxine, injecté sous la peau ou dans le péritoine d'un cobaye de 200 à 300 grammes, le tue en seize à dix-huit heures. C'est la dose minima mortelle d'une toxine de moyenne activité.

Aussitôt après l'inoculation, d'après Salimbeni, le cobaye est triste, son poil se hérisse; la respiration devient courte, les extrémités se refroidissent, les muqueuses se cyanosent, et il succombe en hyperthermie. L'autopsie montre un léger œdème gélatineux au point d'inoculation ; l'intestin grêle est hyperémié, distendu par un liquide diarrhéique; les viscères sont congestionnés, particulièrement les capsules surrénales.

Le lapin est moins sensible que le cobaye ; seule l'injection intraveineuse permet d'observer les lésions décrites précédemment ; elles sont identiques à celles que présente le cobaye.

CARACTÈRES DISTINCTIFS DES RACES VIBRIONIENNES VOISINES.

Avant de fixer la règle à suivre pour l'identification du Vibrion cholérique destinée au diagnostic bactériologique du choléra, il nous faut passer rapidement en revue les caractères principaux des vibrions étrangers au Vibrion de Koch.

Vibrion de Finkler-Prior. — Ce vibrion a été isolé par Finkler et Prior des selles d'un malade atteint d'entérite aiguë, et retrouvé dans les matières de sujets présentant un syndrome cholériforme.

Il présente la même morphologie que le Vibrion cholérique vrai ; ses extrémités seraient un peu plus effilées ; mobile, il ne possède qu'un cil.

Les cultures sont semblables à celles du Vibrion de Koch ; la culture en gélatine est cependant plus abondante, la liquéfaction plus rapide, et il ne forme pas de bulle d'air à la surface (fig. 233). Il coagule le lait.

La réaction indol-nitreuse est peu intense ; elle se produit lentement.

Chez le cobaye, inoculé dans le péritoine, il donne une péritonite mortelle. Injecté dans le muscle pectoral du pigeon, il le fait succomber rapidement. Chez l'homme, il provoque, par ingestion, de la diarrhée légère.

Vibrion de Deneke. — Isolé d'un vieux fromage par Deneke, ce vibrion présente une morphologie analogue à celle du Vibrion cholérique vrai ; il liquéfie la gélatine dans les mêmes conditions que lui (fig. 221).

La réaction indol-nitreuse est peu marquée ; enfin il tue le cobaye par injection intrapéritonéale et le pigeon par injection intramusculaire. Donné en ingestion à l'homme, il provoque de la diarrhée.

Vibrio Metchnikovi. — Ce vibrion, découvert par Gamaleia, est l'agent pathogène d'une infection qui sévit chez les poules à Odessa. Il détermine chez ces animaux de l'abattement et de la diarrhée. L'autopsie montre un intestin hyperémié, contenant un liquide jaunâtre, riche en vibrions.

Au point de vue morphologique, il ne se différencie du Vibrion de Koch que par son aptitude à former des spires de quatre à cinq tours ; mobile, il ne possède qu'un cil vibratile. Par ses caractères de culture, il se rapproche étroitement du Bacille virgule ; le lait se coagule en une semaine environ. La réaction indol-nitreuse est très nette.

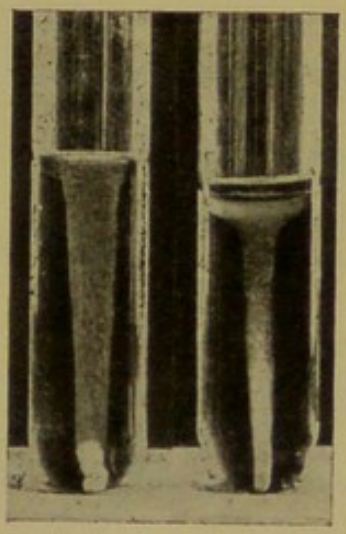


Fig. 233. — A gauche : Vibrion de Deneke ; à droite : Vibrion de Finkler-Prior (culture en gélatine).

Chez les jeunes poulets, l'injection sous-cutanée, péritonéale, l'ingestion amènent la mort. Chez le pigeon, l'ingestion reste inefficace, alors que les autres inoculations sont mortelles. L'homme n'éprouve aucun dommage à la suite de l'ingestion de ses cultures.

Autres vibrions. — En dehors de ces germes, il en existe d'autres, mal catalogués, dont les uns se rapprochent étroitement du Vibrion cholérique, mais en diffèrent par leurs réactions biologiques, notamment l'agglutination, qui reste nulle malgré de multiples passages. S'agit-il de Vibrions cholériques transformés ou dégénérés ? C'est ce qu'on ne peut affirmer. L'un de nous en a rencontré dans l'eau de certains échantillons de moules, dans certaines eaux d'alimentation qui, au même moment, contenaient du Vibrion cholérique vrai. D'autres enfin se distinguent par leur aspect morphologique ; ils sont gros, épais, ou longs, liquéfient ou non la gélatine ; ils sont inagglutinables. Ils s'écartent donc sensiblement du Vibrion de Koch, avec lequel on ne peut les confondre.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DU CHOLÉRA.

Le diagnostic bactériologique du choléra comporte plusieurs épreuves, dont la première est la mise en évidence et l'isole-

ment du vibrion, et la seconde l'identification de ce vibrion.

Recherche. — 1° ***Examen microscopique.*** — On prélève un grain riziforme, ou à son défaut une gouttelette de la selle recueillie ; on l'étale sur une lame, et, après fixation, on colore par la méthode de Gram et suraddition de fuchsine diluée à 1 dixième. L'examen microscopique montre, à côté de germes colorés ou non par le Gram, des bactéries incurvées, teintées en rose pâle par la fuchsine (fig. 234) ayant les caractères décrits plus haut. Dans

Fig. 234. — Frottis de selles cholériques (grains riziformes) coloré par le Gram composé. Vibrions décolorés par le Gram et germes de la flore intestinale ayant pris le Gram.

les cas typiques et récents, ces vibrions peuvent être en culture pure. En d'autres circonstances, ils sont rares et accompagnés d'une foule d'éléments microbiens appartenant à la flore intestinale normale.

En réalité, cet examen ne donne que des renseignements insuffisants. Il permet de constater l'existence d'une forme vibrionienne, mais sans donner d'indications sur sa véritable nature. Cet examen direct n'a d'autre importance que d'orienter l'observateur. Dans tous les cas, il y a lieu de recourir aux cultures et aux épreuves biologiques destinées à la spécification du germe suspect.

2° ***Enrichissement.*** — L'enrichissement a pour but de rendre plus

abondants les vibrions et de faciliter grandement leur isolement ultérieur. On emploie dans ce but des milieux peu nutritifs et alcalins, favorisant le développement des vibrions, empêchant dans une certaine mesure celui des autres germes de la flore intestinale banale.

Le milieu le plus employé et le plus simple est l'*eau peptonée* à 1 p. 100, additionnée de 0,5 p. 100 de sel marin et légèrement alcalinisée. Dans ce milieu réparti en tubes stériles, on ensemence 1 centimètre cube de déjections liquides. Si elles sont solides (convalescents et porteurs de germes), on en ensemence un volume équivalent, en ayant soin de les diluer et de les émulsionner pour mettre plus sûrement en liberté les Vibrions cholériques qui peuvent y être contenus.

En certains cas où le vibrion est peu abondant, Gaffky conseille d'ensemencer 5 centimètres cubes de déjections.

Après six heures de séjour à l'étuve à 37°, un trouble s'est produit dans le milieu et, à la surface du liquide, un léger voile contenant en grande partie du vibrion cholérique, mais aussi, en minime quantité, quelques germes associés.

Pour purifier cette culture, réensemencer une parcelle du voile dans un deuxième tube et, après six nouvelles heures, le voile qui s'est développé contient presque exclusivement du Vibrion cholérique. On peut alors, sur ce matériel « enrichi », faire les épreuves d'isolement qui seront décrites plus loin.

On opère d'une façon identique avec le milieu préconisé par Metchnikoff : la solution *pepto-gélo-sel* :

Peptone sèche.....	1 gramme.
Sel marin.....	0gr,5
Gélatine.....	2 grammes.
Eau distillée.....	100 cent. cubes.

Alcaliniser légèrement à la sonde.

Ottolenghi emploie comme milieu d'enrichissement la *bile de bœuf*, qui présenterait sur l'eau peptonée cet avantage que les autres germes de la flore intestinale ne se développent pas ou presque pas dans ce milieu. L'isolement du Vibrion n'en est que plus facilité.

Filtrer sur papier de la bile de bœuf fraîche ; ajouter au filtrat 3 p. 100 d'une solution à 1 p. 10 de carbonate de soude cristallisé, et 0,1 p. 100 de nitrate de potasse. Répartir en tubes et stériliser à l'autoclave pendant quinze minutes.

Kraus a récemment proposé de substituer à l'eau peptonée du

bouillon additionné de sang alcalinisé (3 centimètres cubes de sang alcalinisé et 6 à 7 centimètres cubes de bouillon neutre). Ce milieu, qui ne doit pas être bouilli, permettrait au vibrion de cultiver et empêcherait le développement de tous les autres germes.

3° ***Isolement.*** — Quel que soit le milieu d'enrichissement employé, il reste à isoler le vibrion qui s'y est développé. On utilise pour cela la méthode connue de l'isolement sur les milieux solides.

a. Sur de la *gélose ordinaire* coulée en boîtes de Petri, ensemencer en stries une anse de platine, chargée d'une parcelle du voile qui s'est formé sur les milieux précédents. Mettre à l'étuve à 37°. Au bout de six à huit heures, on voit se développer, si la gélose est fraîche, le long des stries et sur ses bords, de fines colonies transparentes qui partent sous forme de rayons. C'est le plus souvent du Vibrion cholérique qui, grâce à sa mobilité et à l'humidité du milieu, a fusé depuis la strie d'ensemencement. Si l'examen microscopique montre qu'il s'agit d'un vibrion, repiquer la colonie suspecte sur les milieux ordinaires pour avoir à l'état de pureté une nouvelle culture qui servira aux épreuves d'identification.

Ce procédé, s'il convient dans nombre de cas, ne permet pas d'isoler à coup sûr le Vibrion cholérique, car, malgré l'enrichissement préalable, le Bacille virgule peut se trouver mêlé à des bactéries dont le développement étouffe sa culture ; on a ainsi parfois des colonies nombreuses et exubérantes de Colibacilles, et surtout de *Proteus vulgaris* qui envahissent rapidement toute la plaque, et le Vibrion cholérique n'est plus isolable. Aussi est-il infiniment plus pratique de recourir au procédé suivant :

b. On ensemence la parcelle de voile sur *gélose de Dieudonné* : voici quelle en est la préparation :

On mélange parties égales de sang de bœuf défibriné et de solution normale de potasse (56 p. 1000) ; chauffer à 100° pendant une demi-heure ; d'autre part, on prépare de la gélose ordinaire à 3 p. 100, neutre au tournesol ; mélanger 7 parties de gélose pour 3 parties de sang-potasse ; couler en boîtes de Petri.

Sous l'influence du chauffage du mélange sang-potasse, il se forme de l'ammoniaque qui confère au milieu une forte alcalinité et des qualités spéciales.

En raison de la proportion assez grande d'ammoniaque qui s'est formée, le milieu ne peut être utilisé immédiatement ; d'après Dieudonné, les boîtes ou le milieu a été coulé doivent séjourner plusieurs jours à 37°, découvertes et la face en bas, ou bien être chauffées cinq minutes à 65°. Un séjour de quarante-huit heures à la température du laboratoire donne les mêmes résultats. Pendant ce temps, la surface de la gélose se dessèche, et l'ammoniaque s'évapore en partie. Le milieu de Dieudonné peut donc être utilisé quarante-huit heures après sa répartition en plaques ; par contre,

il ne peut plus l'être cinq à six jours après, car l'ammoniaque et l'alcalinité qui résulte de sa présence sont fortement diminuées.

Le milieu de Dieudonné présente l'immense avantage de laisser cultiver abondamment les formes vibrioniennes, et au contraire d'empêcher ou de retarder le développement de la plupart des germes qui peuvent leur être associés dans les cultures d'enrichissement. Déjà, vers la huitième ou dixième heure, la culture vibrionienne est nettement caractérisée, alors que le Colibacille, le Bacille typhique, les paratyphiques, le Bacille dysentérique, voire même le *Proteus vulgaris* n'apparaissent que beaucoup plus tardivement, ou même ne se développent pas. Quelques bactéries cependant peuvent pousser en même temps que les Vibrions : ce sont le Pyocyanique, un Coccus et un Diplobacille ne prenant pas le Gram. Avec un peu d'habitude, il est aisé de reconnaître leurs colonies à l'examen à l'œil nu ou à la loupe : elles sont en général beaucoup plus petites, plus granuleuses que celles des Vibrions.

Il est néanmoins indispensable de prélever une parcelle de ces colonies pour l'examiner au microscope. S'il s'agit de formes vibrioniennes, il faut les identifier par les procédés biologiques; dans ce but, un repiquage en tubes de gélose ordinaire est nécessaire.

Identification. — Elle consiste dans les épreuves suivantes :

1° ***Examen microscopique des colonies isolées***, révélant les caractères morphologiques précédemment décrits. Recherche de la mobilité. Constatation des cils vibratiles.

2° ***Aspect des cultures sur gélatine.***

3° ***Recherche de la réaction indol-nitreuse*** en eau peptonée.

4° ***Recherche de l'agglutination.*** — On peut employer pour la recherche de l'agglutination un procédé extemporané, qui donne un résultat rapide, ou de préférence l'épreuve classique.

Procédé extemporané sur les déjections. — Dunbar a proposé la technique suivante :

Sur deux lames, on dispose II gouttes : l'une de sérum anticholérique à 1 p. 500, l'autre de sérum normal à 1 p. 50. Dans chacune d'elles, on émulsionne une parcelle de la matière suspecte. On retourne sur une lame creuse pour faire l'examen microscopique.

Quand les matières contiennent une grande quantité de Vibrions cholériques, on perçoit dans la gouttelette de sérum normal des vibrions très mobiles ; dans celle qui correspond à l'antisérum, ils sont immobilisés en quelques minutes. Si l'examen se prolonge, une véritable agglutination est perceptible.

Si la flore vibrionienne est peu abondante et mélangée à de nombreuses autres bactéries, ce procédé donne peu d'indications.

Épreuve classique : Détermination du taux agglutinatif. — Elle s'effectue suivant le procédé macroscopique (p. 551). Mais, en règle générale, pour que l'agglutination garde sa valeur diagnostique, elle doit être complétée par la *détermination du titre agglutinatif* vis-à-vis du vibrion étudié.

En effet, à quel taux un vibrion doit-il être agglutiné pour être reconnu Vibrion cholérique authentique ?

Les recherches de Kolle et Gotschlich et les innombrables travaux effectués depuis quelques années ont montré qu'avec un sérum agglutinant à 1 p. 4 000 les espèces vibrioniennes banales ne sont guère agglutinées qu'à 1 p. 50, rarement à 1 p. 200, exceptionnellement à 1 p. 500; les Vibrions cholériques sont agglutinés entre 1 et 4 p. 1 000. Par conséquent, tout vibrion agglutiné au moins à 1 p. 1 000 par un tel sérum pourra être étiqueté « cholérique »; entre 500 et 1 000, l'épreuve devra être considérée comme douteuse.

Pour ces derniers, comme pour les vibrions trouvés non agglutinables, l'épreuve devra être renouvelée après plusieurs passages dans les milieux artificiels.

Enfin, pour ces recherches, il faudra toujours opérer sur des cultures pures, les germes d'impureté pouvant troubler les résultats de l'agglutination et même l'empêcher.

5° ***Phénomène de Pfeiffer.*** — La recherche du phénomène de Pfeiffer s'effectue comme il a été dit précédemment (p. 552). Les résultats marchent de pair avec ceux de l'agglutination : un Vibrion cholérique agglutiné spécifiquement donne toujours un résultat positif au phénomène de Pfeiffer. La proposition inverse est vraie.

6° ***Réaction d'immunité.*** — D'après Pfeiffer, on peut utiliser les propriétés immunisantes du sérum des animaux vaccinés pour identifier le Vibrion cholérique, et le différencier des espèces analogues. Un sérum anticholérique protège le cobaye contre l'infection cholérique ; il reste inefficace contre l'action pathogène des autres vibrions. Sanarelli, Metchnikoff ont montré que cette affirmation n'est pas toujours exacte, car cette réaction d'immunité peut s'observer avec des vibrions étrangers au choléra.

Telles sont les réactions qui permettent, dans un temps relativement court, d'identifier le Vibrion cholérique. En dehors des caractères morphologiques, culturaux, c'est, semble-t-il, l'épreuve de l'agglutination qui paraît la plus importante des réactions biologiques à effectuer. Le phénomène de Pfeiffer donne des résultats concordants avec ceux de l'agglutination ; dans la pratique, cette dernière est donc suffisante. Nous avons vu qu'on ne peut compter, pour les

raisons indiquées, sur les résultats de l'hémolyse; la réaction d'immunité ne paraît pas assez constante dans ses résultats pour pouvoir entrer dans la pratique courante.

Sérodiagnostic du choléra. — Des essais de sérodiagnostic du choléra ont été tentés en utilisant les propriétés agglutinantes et bactéricides du sérum des cholériques.

Achard et Bensaude ont montré que ce dernier pouvait agglutiner le Vibrion de Koch à 1 p. 20 en cinq à soixante minutes. Cette réaction est donc minime, surtout quand on sait, d'après Pfeiffer, que le sérum de sujets sains peut agglutiner ce germe à 1 p. 10. Cette épreuve ne paraît donc pas utilisable pour le diagnostic du choléra. De plus, la propriété agglutinante n'apparaissant que tardivement, la recherche et l'isolement du vibrion donnent une réponse plus rapide. Tout au plus pourrait-elle être mise à profit pour révéler les cas anciens.

Le phénomène de Pfeiffer, dans ces derniers, fournit des indications plus précises : le sérum du malade est dilué dans 20, 100, 500 parties d'eau physiologique. Un centimètre cube de cette dilution est mélangé à une anse de culture de dix-huit heures et introduit dans le péritoine d'un cobaye de 200 grammes. Si, au bout de quinze à vingt minutes, la réaction est positive, on doit admettre que le sujet qui a fourni le sérum a présenté antérieurement une atteinte de choléra. Ce diagnostic rétrospectif peut être intéressant au point de vue prophylactique, notamment en ce qui concerne la recherche d'un cas resté ignoré ou méconnu.

RECHERCHE ET IDENTIFICATION DES VIBRIONS CHOLÉRIQUES DANS LES EAUX.

La recherche du Vibrion cholérique dans les eaux est plus délicate que la recherche dans les matières fécales, en raison de l'abondance et de la multiplicité des vibrions non cholériques qu'elles peuvent véhiculer.

Le Vibrion cholérique pouvant être peu abondant dans l'eau incriminée, il est indispensable de faire la recherche sur une assez grande quantité d'eau, sur 100 centimètres cubes au moins ; quelques-uns conseillent même de la faire sur 1 litre. Voici la technique habituelle :

Dans des fioles de Vivien jaugées à 200 centimètres cubes, on verse 20 centimètres cubes d'une solution de peptone dix fois plus concentrée que l'eau peptonisée habituelle (pour que, l'eau suspecte une fois ajoutée, le taux de concentration soit ramené à la normale), et on ajoute l'eau à

analyser jusqu'au trait jaugeant 200 centimètres cubes. Après un séjour de huit à dix heures à l'étuve à 37°, si l'eau contient des vibrions, un trouble se produit à la partie supérieure du milieu, et un voile léger à sa surface. Si l'examen microscopique de ce voile montre la présence de vibrions, on pratique un ou deux passages sur eau peptonée, à huit à dix heures d'intervalle, et on pratique l'isolement sur milieux solides.

Pour cet isolement, d'aucuns préfèrent la gélose ordinaire au milieu de Dieudonné, car, dans ce dernier, les vibrions non cholériques poussent avec une abondance telle que leur culture exubérante masque ou empêche celle du Vibrion cholérique. La méthode de Dieudonné nous a cependant donné, pour les analyses d'eaux, d'excellents résultats.

Si l'on se méfie de la faible teneur de l'eau en Vibrions cholériques, il ne faut pas hésiter à faire la recherche sur une quantité plus grande, 1 litre par exemple. Pour opérer sur des volumes plus considérables, on pourrait filtrer l'eau sur bougies collodionnées; on opérerait alors sur le résidu restant sur la bougie, émulsionné dans une petite quantité d'eau stérile.

On peut encore employer la méthode de Metchnikoff avec les solutions au pepto-gélo-sel.

L'identification s'opère sur les colonies isolées comme dans le cas des vibrions recueillis dans les matières fécales.

VACCINATION.

Après les premiers essais de vaccination anticholérique tentés par Ferran en 1885, de nombreux procédés furent étudiés et proposés pour leur application à la vaccination humaine.

Méthodes de vaccination. — ***Procédé de Ferran.*** — Le vaccin de Ferran n'est autre qu'une culture en bouillon du Vibrion cholérique, dont il entretient la virulence et les propriétés vaccinantes par des cultures en gélatine à la température de 20°. Les cultures en bouillon fraîchement préparé sont laissées à l'étuve à 37° pendant deux jours; puis il peut être utilisé pour la vaccination.

Procédé de Haffkine. — Haffkine cherche avant tout à obtenir un virus exalté et fixe, en pratiquant plusieurs passages dans la cavité péritonéale de cobaye. Il ensemence alors le Vibrion cholérique ainsi traité dans du bouillon à la température de 39°, et dans une atmosphère constamment aérée, avec le dispositif connu de Roux et Yersin pour la préparation de la toxine diphtérique.

Procédé de Kolle. — Le vaccin de Kolle consiste simplement en une émulsion provenant de cultures sur gélose, chauffées à 56° pendant une heure.

Procédé de Wassermann. — Wassermann précipite par l'alcool

absolu des cultures en bouillon âgées de trois jours, après les avoir évaporées au bain-marie à 80° jusqu'à consistance sirupeuse. Il obtient ainsi une substance toxique pour le cobaye, qui, à dose minime, possède des propriétés vaccinantes.

Procédé de Strong. — On racle une culture sur gélose : on l'émulsionne dans de l'eau stérile à raison de 1 centimètre cube d'eau pour 20 milligrammes de culture humide ; l'émulsion est chauffée à 60° pendant une heure, puis abandonnée à l'étuve à 37° pendant deux jours. On filtre au filtre Reichel, et le liquide obtenu, l'autolysat, constitue le vaccin anticholérique.

Procédé de Besredka. — Besredka a utilisé pour le choléra les *vaccins sensibilisés* qu'il a imaginés pour la peste et la fièvre typhoïde.

Action de ces vaccins sur les animaux. — Tous les vaccins préparés par les méthodes précédentes donnent chez l'animal des résultats sensiblement identiques : l'injection sous-cutanée du vaccin, à dose telle que la survie soit assurée, provoque une réaction locale et générale. Une fois que l'animal est revenu à la santé, il peut supporter impunément une ou plusieurs doses mortelles, alors que les témoins injectés dans les mêmes conditions succombent rapidement.

Le vaccin sensibilisé de Besredka ne provoque aucune action locale ou générale, et l'immunité qu'il confère est obtenue au bout de vingt-quatre heures ; elle dure au moins six mois.

Les injections sous-cutanées préservent de la septicémie vibrionienne. Pour prévenir la péritonite cholérique, il est préférable d'injecter le vaccin dans le péritoine. Par contre, ces divers vaccins ne semblent posséder aucune action préventive contre le choléra intestinal des jeunes lapins à la mamelle (Zabolotny, Metchnikoff).

Effets de la vaccination sur l'organisme humain. — 1° *Essais de vaccination par les voies digestives.* — Hasterlik fit sur lui-même les premières tentatives. Il ingéra tout d'abord des cultures sur gélatine, sans alcalinisation préalable de l'estomac. Aucun trouble ne s'ensuivit. Plus tard, il avala avec un de ses collaborateurs, pris comme témoin, une culture du même Vibrion, mais après avoir ingéré 1 gramme de bicarbonate de soude : Hasterlik resta indemne, tandis que son aide souffrit pendant plusieurs jours d'une diarrhée de moyenne intensité.

Ces essais furent repris par Klemperer, qui, après avoir avalé en douze jours un demi-litre de culture en bouillon stérilisé à 70° pendant deux heures, limita ses recherches à la constatation des propriétés préventives développées dans son sérum sur la péritonite vibrionienne du cobaye.

Sawtchenko et Zabolotny firent des expériences comparables, sans éprouver le moindre trouble intestinal, mais l'absence de témoins enlève à leur expérience une grande partie de sa valeur.

Metchnikoff les reprit avec ses collaborateurs sur des bases plus rigoureuses ; en certains cas, la vaccination paraissait efficace, en d'autres elle

semblait négative. Metchnikoff en concluait que l'ingestion de cultures de Vibrions cholériques ne protégeait pas sûrement contre le choléra.

2° *Essais de vaccination préventive par la voie sous-cutanée.* — La vaccination ne fut tentée sur un grand nombre de sujets que par Ferran, puis Haffkine.

Vaccin de Ferran. — Ferran injecte son vaccin au niveau de la partie moyenne de la région brachiale postérieure. Il injecte 1 centimètre cube à chaque bras, puis cinq à six jours après $1^{cc},5$. Il est avantageux, pour obtenir plus sûrement l'immunité, de pratiquer dans les mêmes conditions une troisième injection de 2 centimètres cubes.

Ces inoculations produisent une réaction intense au point d'inoculation : rougeur et chaleur ; on observe en même temps de la fièvre avec courbature, sensation de malaise et parfois une diarrhée légère. La durée de ces troubles n'excède habituellement pas trois jours.

Vaccin de Haffkine. — Haffkine pratique sous la peau du flanc une première injection de 1/10 à 1/20 de culture de virus atténué, puis, huit jours après, de virus fixe exalté. Les troubles locaux et généraux qui en résultent sont identiques à ceux qui précèdent.

Les statistiques comparées des atteintes de choléra, observées chez les vaccinés et les non-vaccinés, paraissent bien en faveur de l'activité immunisante du vaccin. Mais de nouvelles expériences sont nécessaires pour juger définitivement la valeur de ces méthodes.

SÉRUM ANTICHOLÉRIQUE.

La constatation du pouvoir préventif du sérum des animaux vaccinés contre le Vibrion cholérique (Klemperer) et des sujets guéris de choléra (Lazarus) était de nature à engager à préparer un sérum anticholérique destiné au traitement du choléra humain.

Mode de préparation. — Divers procédés ont été employés.

Pfeiffer, estimant que le Vibrion cholérique n'élaborait pas de toxine soluble et que la toxine n'était qu'une endotoxine, crut pouvoir obtenir un sérum suffisant en inoculant aux cobayes et aux chèvres les corps de microbes seuls. Le *sérum antimicrobien* qu'il obtenait ainsi était doué de propriétés préventives manifestes sur la péritonite vibrionienne du cobaye, mais il ne présentait aucun pouvoir antitoxique : Metchnikoff l'essaya à titre préventif et curatif sur le choléra intestinal des jeunes lapins ; ses résultats furent totalement négatifs.

Metchnikoff, Roux et Salimbeni, au contraire, préparèrent un sérum *antitoxique*, par inoculation de leur toxine cholérique. Ils injectèrent au cheval par voie veineuse, progressivement et graduellement, de petites

quantités de toxine ; le cheval peut ainsi supporter au bout de six mois d'immunisation 50 à 60 centimètres cubes du produit.

Propriétés du sérum anticholérique antitoxique. — Le sérum de Metchnikoff, Roux et Salimbeni est doué des propriétés suivantes :

Il agglutine les Vibrions cholériques et précipite la toxine. Il est préventif et curatif pour la septicémie vibrionienne du cobaye. Enfin, contrairement au sérum de Pfeiffer, il est antitoxique ; il neutralise en effet l'action de la toxine soluble et agit efficacement contre le choléra intestinal des jeunes lapins à la mamelle.

Sur 27 lapins traités préventivement par une injection de 4 à 8 centimètres cubes de sérum, 15 survécurent (soit 44 p. 100) ; sur 37 témoins, 31 succombèrent (soit 84 p. 100).

18 lapins reçurent en ingestion le Vibrion cholérique en même temps qu'une injection de sérum sous la peau : 8 survécurent (soit 55 p. 100) ; sur 21 témoins, 5 seulement survécurent (soit 76 p. 100 de mortalité).

Mais une fois que, chez ces animaux, le choléra expérimental est déclaré, l'efficacité du sérum est nulle.

Essais de sérothérapie humaine. — Le sérum anticholérique a été, jusqu'alors, expérimenté dans un petit nombre de cas de choléra humain. Signalons les résultats intéressants et encourageants de Salimbeni, obtenus à Saint-Pétersbourg, en 1908. Sur 42 malades, 10 ont succombé, soit 23,80 p. 100 de mortalité, alors qu'à la même époque les sujets traités par les moyens usuels donnaient une léthalité de 45,6 p. 100. La mortalité a donc été réduite de moitié.

De nouveaux essais sont nécessaires pour établir sur des bases plus solides encore l'efficacité de la méthode.

CHAPITRE XLII

BACILLE DE LA PESTE

Le Bacille de la peste a été découvert en 1894 par Yersin dans le produit de raclage de bubons pesteux, à l'occasion d'une épidémie sévissant à Hong-Kong. A la même époque, Kitasato crut le découvrir

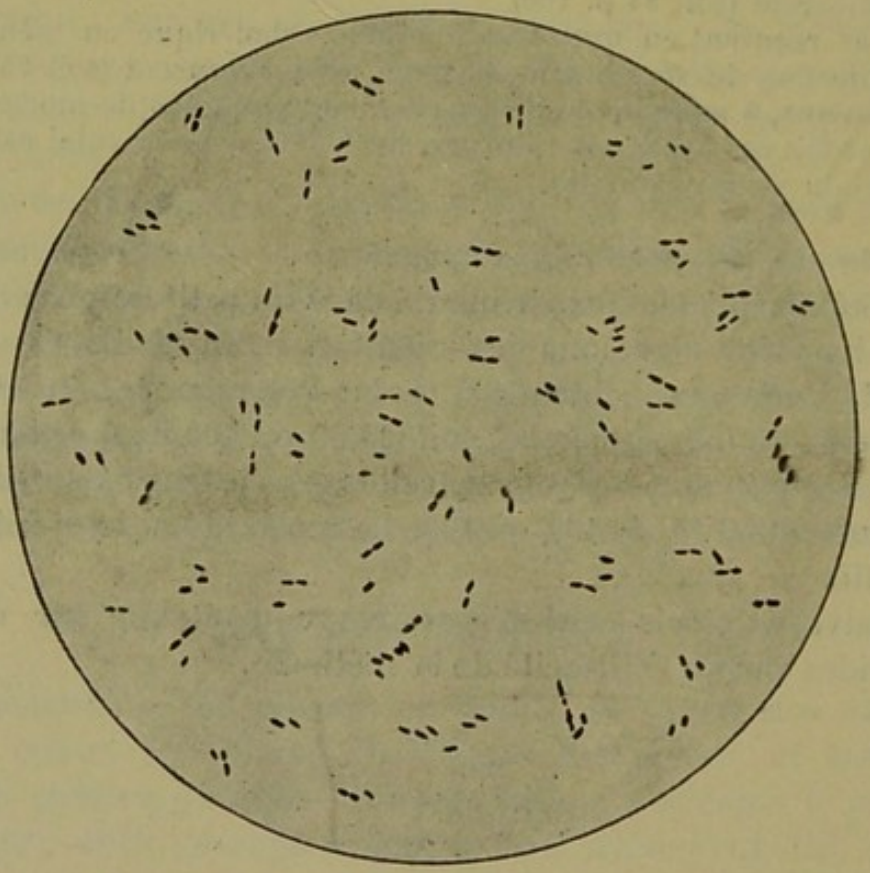


Fig. 235. — Culture sur gélose.

aussi, mais il s'agissait d'un germe différent, prenant le Gram. Le Bacille de Yersin a été retrouvé depuis lors dans toutes les épidémies humaines et animales. La reproduction de l'infection par les inoculations de cultures a démontré nettement sa spécificité.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Dans les cultures.* — Le Bacille pesteux se montre sous l'aspect d'un Coccobacille ovoïde à extrémités

arrondies, légèrement renflé en son milieu (fig.235), mesurant 2 μ de long sur 1 μ de large. Examiné à l'état frais, il est immobile, dépourvu de cils et de spores. Il est parfois entouré d'une auréole, spécialement dans les milieux albumineux.

Tel est l'aspect classique sous lequel on le décèle ; toutefois il présente une grande variabilité morphologique ; en effet, si dans les milieux où il pousse rapidement il conserve la forme coccobacillaire, sur les milieux solides, le bâtonnet devient plus long ; dans

Fig. 236. — Culture en bouillon.

les milieux liquides comme le bouillon, il se groupe en *chaînettes* (fig. 236). Enfin, dans les cultures âgées, à côté des formes ovoïdes ou un peu allongées, des *formes d'involution* se montrent (fig. 237), en massue, discoïdes, se colorant mal, ressemblant assez à des sortes de levures. Elles s'observent facilement sur gélose additionnée de 3 à 4 p. 100 de sel marin (Hankin).

Dans les tissus. — Le Bacille prend toujours l'aspect coccobacillaire décrit, mais il donne aussi parfois des formes d'involution. On le rencontre ainsi surtout sur le cadavre quand la recherche est faite plusieurs heures après la mort, de même encore dans les bubons immédiatement avant la période de suppuration. Ce détail a donc son importance pour éviter les erreurs de diagnostic.

Coloration. — Toutes les couleurs d'aniline conviennent à la coloration du Bacille pesteux, mais surtout la thionine phéniquée et le bleu de méthylène. *Il se décolore par la méthode de Gram.*

Le plus généralement, le colorant se fixe de préférence aux extrémités polaires, la partie centrale restant claire et donnant une apparence vacuolaire et l'aspect dit « en navette ».

Dans les coupes, la coloration est plus difficile. Le procédé suivant donne d'excellentes préparations :

Les coupes sont plongées pendant deux heures dans un mélange

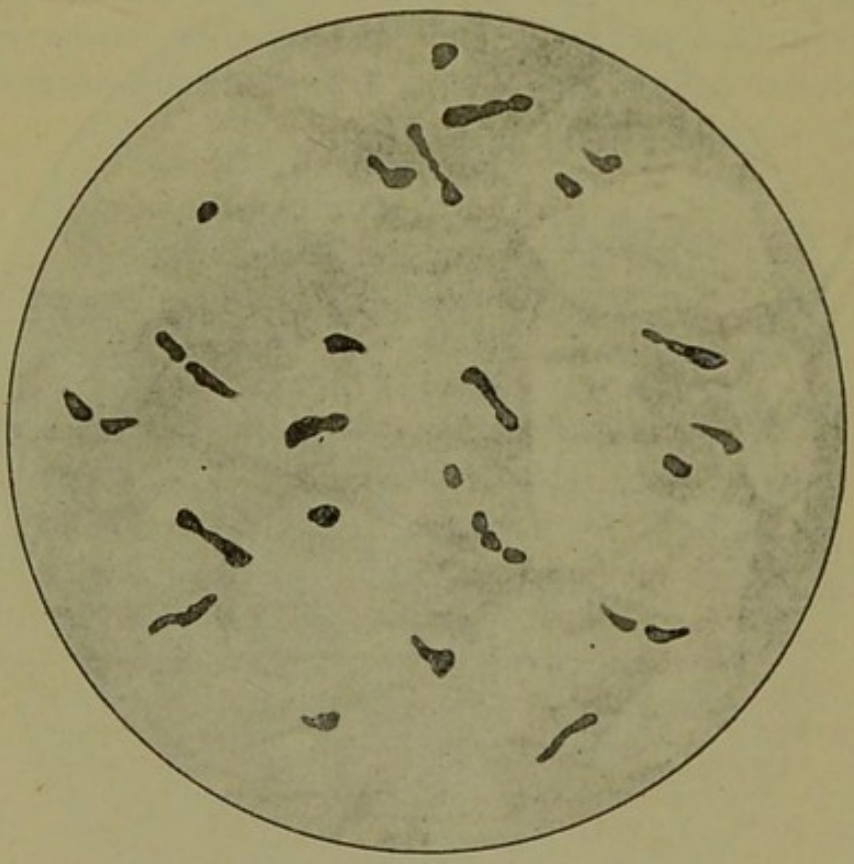


Fig. 237. — Formes d'involution.

d'éosine et de bleu de méthylène ; laver et différencier par une solution très diluée d'acide acétique ; laver, déshydrater, éclaircir au xylol, monter dans le baume. Les Bacilles colorés en bleu tranchent sur le fond rose de la préparation (Kolle et Hetsch).

CULTURES.

Le Bacille pesteux cultive bien dans les milieux ordinaires, légèrement alcalisés ; un léger degré d'acidité lui est nuisible. Les milieux solides doivent être légèrement humides. La température optima est comprise entre 35° et 38° ; il pousse bien à 20°. Enfin ce germe est *aérobie*.

Bouillon. — En Bouillon, la culture est assez lente ; elle s'effectue sous forme de grumeaux qui tombent au fond du tube, ressemblant à des *flocons de neige* (fig. 238) ; cet aspect est caractéristique ; au bout de quelques jours, un voile se développe à la surface.

Si l'on verse à la surface du milieu de l'huile stérile ou du beurre, les Bacilles pesteux très aérobies se développent exclusivement à la surface et s'y maintiennent ; ils forment des îlots qui adhèrent aux particules grasses et pendent dans le liquide en figurant des stalactites (Haffkine).

Gélose. — En quarante-huit heures, les colonies isolées sont petites, transparentes, à peine perceptibles à l'œil nu, assez analogues à celles du Pneumocoque, puis leur centre devient opaque et granuleux. Leur aspect est assez caractéristique (fig. 239).

Gélatine. — Les *colonies isolées* ne sont perceptibles que vers le troisième ou quatrième jour ; elles sont grisâtres, puis jaunâtres, et s'entourent, comme sur gélose, d'une zone transparente d'aspect hyalin. Le milieu n'est pas liquéfié.

En piqûres, la strie profonde est blanchâtre ; à la surface se développe une tache jaunâtre.

Sérum. — Développement abondant sans caractère bien particulier.

Pomme de terre. — Si la pomme de terre est alcaline, la culture est grêle, sèche, blanc jaunâtre ; si elle est acide, la culture est nulle.

Lait. — La culture est peu abondante, sans coagulation. En petit-lait tournesolé, léger virage au rouge.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Virulence. — Le Bacille pesteux provenant des cultures est doué d'une faible résistance. Il est très sensible au chauffage à haute température et succombe une heure à 60°, en une minute à 100°.

Il ne résiste pas plus de trois heures à la lumière solaire. Au froid il se conserve assez longtemps.

Les antiseptiques ont rapidement raison de sa vitalité : l'acide phénique à 1 p. 100, le sublimé à 1 p. 1 000, le lait de chaux le tuent en quelques minutes.

Il en est de même des acides, notamment de l'acide chlorhydrique à 1 p. 1 000, de l'acide sulfurique à 0,5 p. 1 000.

La dessiccation le tue en quelques heures.

Toutefois, dans le pus et les crachats, la résistance est plus grande,

surtout quand ces produits ne sont pas soumis à la dessiccation. On a pu trouver du Bacille pesteux vivant dans le sol humide après plusieurs mois, de même sur des vêtements.

Sur le cadavre, il dispa-

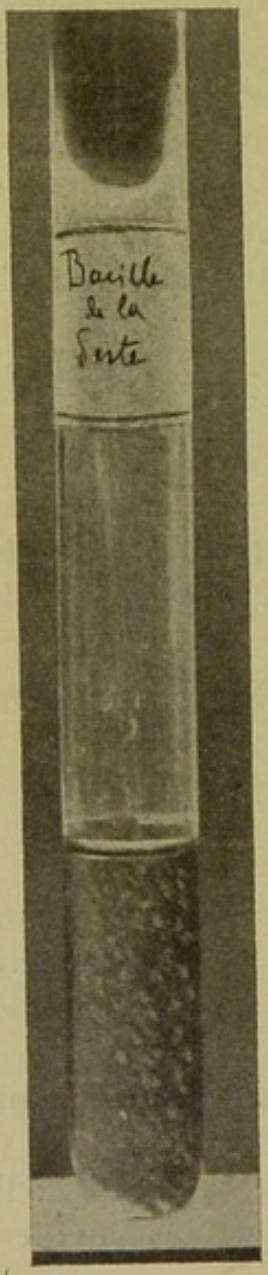


Fig. 238. — Culture en bouillon. Flocons de neige.

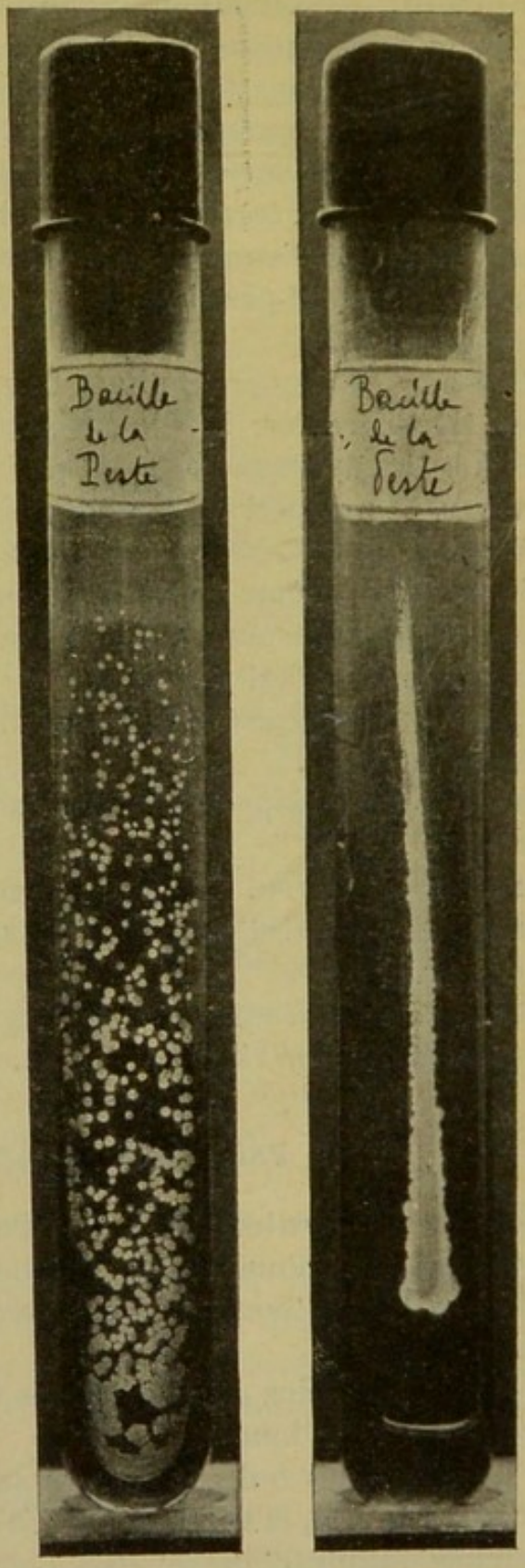


Fig. 239. — Culture sur gélose.

raîtrait en général en vingt à trente jours (Vokoto, Klein, etc.). Maassen a isolé le Bacille de Yersin de cadavres de rats

ayant séjourné dans les grains de blé pendant vingt jours à 16°. Sur les cadavres de rats conservés à 3° ou 5°, Zlatogoroff a pu le déceler au cent neuvième jour.

La virulence du Bacille de Yersin tombé dans le milieu extérieur s'atténue; mais, après plusieurs passages sur l'animal, il peut récupérer son activité première. Cette virulence est d'ailleurs assez variable dans les milieux de culture, car, à côté de colonies très virulentes, d'autres le sont infiniment moins.

Agglutination. — Le Bacille pesteux est spécifiquement agglutiné par le sérum antipesteux. Cette agglutination s'observe encore quand on le met en contact avec du sérum de sujets atteints de peste, à condition toutefois que l'infection ait évolué assez longtemps pour permettre au sérum de se charger d'agglutinines. Aussi est-ce surtout avec le sérum des convalescents que le phénomène s'observe. On peut en tirer parti pour un diagnostic hésitant.

Cette agglutination s'effectue habituellement à un faible taux, mais elle garde toute sa valeur spécifique, même à 1 p. 10, car le sérum de sujets sains ne présente aucune action agglutinante sur ce germe.

Toxine pesteuse. — On peut extraire des cultures de Bacille pesteux une toxine, qui ne rappelle en rien la toxine soluble du Bacille diphtérique et du Bacille tétanique.

Il s'agit vraisemblablement d'un endotoxine retenue par les corps microbiens.

Procédé de Lustig et Galeotti. — On racle des cultures sur gélose en boîtes de Roux, âgées de quarante-huit heures, dans une solution de potasse caustique à 1 p. 100; on les laisse macérer pendant vingt-quatre heures. Le liquide obtenu, filant, visqueux, glaireux, est filtré sur papier; après filtration, il devient clair. On neutralise par l'acide acétique dilué; un précipité se forme. Laver et dessécher dans le vide; on obtient ainsi une poudre très toxique pour les animaux.

Procédé de Roux. — On cultive le Bacille pesteux en bouillon peptoné à 2 p. 100 à la température de 20°. Un voile se forme. Après quatre à cinq semaines, on filtre sur bougie Chamberland : 1/200 de centimètre cube du liquide filtré, inoculé sous la peau d'une souris, la tue en vingt-quatre heures. Le cobaye et le lapin y sont moins sensibles; s'ils résistent, ils présentent parfois des paralysies analogues à celles de la peste humaine.

Procédé de Besredka. — Besredka a préparé une toxine pesteuse très active; il triture à sec des microbes desséchés; il les sature de chlorure de sodium, puis il additionne la pâte obtenue d'eau distillée, jusqu'à ce que la solution arrive au taux de l'eau physio-

logique ; l'émulsion est abandonnée à la température du laboratoire pendant douze heures ; après centrifugation, on décante la partie liquide, qui contient l'endotoxine, tuant la souris à la dose infime de 0cc,006.

La toxine pesteuse est précipitable par le sulfate d'ammoniaque. Elle est peu stable ; l'air et la lumière l'atténuent. La température de 70° l'altère profondément.

DIVERS HABITATS DU BACILLE PESTEUX.

L'homme n'est pas le seul être capable de contracter spontanément la peste. En période épidémique, diverses espèces animales peuvent être atteintes, et l'on admet depuis de longues années que toute épidémie humaine est précédée d'une épizootie pesteuse portant sur les rongeurs habitant la localité contaminée. D'autres animaux, des insectes, peuvent, sans être infectés, véhiculer le Bacille spécifique et sont les intermédiaires infectants entre l'animal et l'homme : ce sont les insectes cuticoles. Enfin le Bacille pesteux peut se rencontrer dans les milieux extérieurs, où les malades l'ont projeté.

Le Bacille pesteux chez l'homme. — *Son siège.* — **Charbons.** — Il siège en culture pure dans les phlyctènes ou vésicules qui, en raison de leur teinte noirâtre, ont reçu la dénomination de « charbons ». Ces phlyctènes sont en effet la première localisation du Bacille au niveau de la peau, à la suite des piqûres des insectes cuticoles.

Bubons. — Le siège pour ainsi dire électif du Bacille pesteux est le bubon. Les frottis, les coupes de ces bubons inguinaux, cervicaux, axillaires, etc., le montrent en quantité parfois énorme par le seul examen direct (fig. 240). L'ensemencement de la pulpe ganglionnaire le met en évidence et en culture pure. Quand le bubon évolue vers la suppuration, les formes d'involution du Bacille sont fréquentes ; quand la suppuration s'établit, il devient rare et disparaît complètement pour faire place à des germes d'infection secondaire.

Sang et viscères. — Dans la forme septicémique, le Bacille est décelable dans le sang. A la faveur des lésions vasculaires et des hémorragies qui se produisent au niveau du rein, il passe dans l'urine. Les divers parenchymes viscéraux l'hébergent quand l'état septicémique est déclaré.

Crachats. — Dans la peste pneumonique, les crachats contiennent le Bacille de Yersin en abondance colossale (fig. 241). Le simple aspect d'une préparation explique, en raison du nombre des germes spécifiques, la puissance de contagion des sujets atteints de cette

localisation. Les coupes du parenchyme pulmonaire le montrent aussi en abondance énorme.

Matières fécales. — Les troubles digestifs ne sont pas rares dans la peste ; d'après Wilm, le Bacille s'y rencontre fréquemment. Il passe dans l'intestin à la faveur de l'état septicémique, ou bien il y pénètre à la faveur des crachats déglutis.

Persistance du Bacille pesteux dans l'organisme. — Le Bacille pesteux persiste dans ses localisations pendant toute la période d'état. Pendant la convalescence, il disparaît du bubon qui a suppuré et s'est ouvert.

Chez les convalescents de peste pulmonaire, Gotschild l'a vu persister quarante-huit jours après la convalescence.

Chez l'animal. — *Grands animaux.* — Un certain nombre d'observateurs ont signalé qu'en temps épidémique l'infection pesteuse pouvait atteindre des bœufs, des moutons, des porcs, des chiens, des chats. D'aucuns l'ont même vue survenir chez les oiseaux de basse-cour. Récemment Klodnitztky l'a vu survenir en Russie chez le chameau. Cet animal la contracterait en s'alimentant avec de l'herbe souillée par les déjections de sujets pestiférés. L'ingestion de la viande et d'organes de chameaux atteints de peste serait dangereuse pour l'homme (Cantlie et Hunter).

Rongeurs. — L'étude du Bacille pesteux chez les rongeurs est plus intéressante.

Rats et souris. — *Mus decumanus* (rat d'égout) et *Mus rattus* (rat domestique ou de grenier) sont les espèces les plus importantes à considérer à cause du contact qu'elles présentent avec la race humaine. Comme chez l'homme, le Bacille pesteux se rencontre en abondance dans les *bubons*, surtout sous-maxillaires, dans le *sang* quand la septicémie se déclare, et dans les *viscères*.

Les *souris* peuvent prendre spontanément la peste, mais moins fréquemment que le rat.

Spermophiles. — Le spermophile est très sensible à l'infection pesteuse ; la cohabitation entre spermophiles est l'origine de véritables épizooties pesteuses.

Tarabagan. — Le tarabagan ou marmotte d'Asie, très répandu dans la province transbaïkalienne, la Mongolie, la Mandchourie, le Thibet, a été accusé depuis de nombreuses années (1867) de propager la peste à l'homme, et particulièrement aux chasseurs qui se nourrissent de sa chair et le dépouillent pour en vendre la fourrure. La peste sévit en effet dans les terriers de tarabagan. Zabolotny l'a récemment démontré en isolant le Bacille de Yersin du cadavre d'un tarabagan. D'après Tchaouskov, les lésions observées chez ces mar-

mottes sont identiques à celles des autres animaux ; le Bacille présente les mêmes localisations ; les tarabagans peuvent s'infecter en dévorant des cadavres de pestiférés. Rappelons que l'épidémie de peste pneumonique humaine qui a sévi en 1911 en Mandchourie a trouvé son origine dans la peste des tarabagans.

Écureuil de Californie. — L'écureuil de Californie (*Citellus Beecheyi*) contracte spontanément la peste ; la répartition du Bacille spécifique et les lésions observées sont superposables à celles que l'on connaît chez les autres animaux.

Insectes cuticoles. — Les insectes cuticoles, en suçant le sang de l'homme ou d'un animal atteint de peste, absorbent en même temps le Bacille qui a envahi la circulation.

Puces. — Les puces du rat capables de transmettre la peste sont : *Pulex irritans*, *Pulex serraticeps*, qui peuvent piquer l'homme, puis *Pulex cheopis* et *Ceratophyllus fasciatus*. La puce pique le rat et y puise dans son sang le Bacille pesteux ; elle abandonne le rat quand il meurt et pique alors un autre rat ou l'homme (Simond).

Le Bacille pesteux pullule dans le tube digestif de la puce ; il y persiste environ deux semaines, d'après les travaux de la Commission anglaise de la peste aux Indes. La puce infectée n'inocule pas directement le germe spécifique par son aiguillon ; mais, pendant qu'elle suce le sang, elle dépose des déjections qui véhiculent le Bacille ; on suppose que ces déjections peuvent infecter la petite plaie produite par la piqûre.

Punaises. — La punaise est encore un réservoir de virus pesteux. D'après Klodnitzky et Jordansky, quatre à cinq jours après avoir sucé le sang d'un rat pesteux, on observe une multiplication extraordinaire des Bacilles dans l'organisme de l'insecte. Le sang digéré reste encore virulent au bout de quatre-vingt-huit jours. Les auteurs se demandent toutefois si ces insectes peuvent transmettre le virus.

Mouche domestique. — La mouche domestique s'infecte aussi par le Bacille pesteux et succombe peu après. Le Bacille se trouve dans son corps (Yersin) ; on conçoit dès lors le rôle de dissémination qu'elle peut remplir en déposant le germe sur les objets, les aliments, etc.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE. — VOIES D'INFECTION.

Les animaux les plus employés comme réactifs de la peste sont le rat, le cobaye, la souris, le lapin ; le singe est très sensible au virus pesteux ; le chien, la chèvre, le mouton sont moins sensibles. Les oiseaux, assez réfractaires, peuvent contracter la peste par infection des voies digestives.

Chez les animaux sensibles, on peut, en variant les voies d'inoculation, reproduire toutes les formes cliniques qu'on observe chez l'homme.

Inoculation sous-cutanée. — Chez le rat, la souris, le cobaye,

il suffit d'introduire sous la peau une aiguille (aiguille à dissocier ou aiguille de seringue), trempée dans une culture en bouillon de Bacille pesteux, pour voir se développer l'infection. *Chez le cobaye*, quelques heures après l'inoculation, de l'œdème apparaît au point inoculé; les ganglions voisins s'hypertrophient; puis l'animal présente des crises convulsives accompagnées, surtout chez le rat, d'hémorragies diverses, pétéchies, etc., et il succombe, la souris et le rat en un à trois jours, le cobaye en deux ou cinq jours.

L'autopsie montre, au point d'inoculation, un œdème rosé, riche en Bacilles; ceux-ci pullulent de même au niveau des ganglions tuméfiés, rouges, entourés d'une zone d'œdème. Les viscères sont congestionnés; la rate, hypertrophiée, est parsemée de nombreux petits nodules miliaires; la plèvre et le péritoine sont le siège d'un exsudat où le Bacille est décelable.

Chez le rat, les symptômes et les lésions sont identiques. Si l'évolution est rapide, le bubon initial est minime, et la généralisation s'effectue d'emblée. Si elle est plus longue, le bubon est volumineux, et, si l'animal guérit, le bubon suppure. Ces constatations sont analogues à celles qu'on observe chez l'homme.

Chez le singe, l'analogie est encore plus étroite. L'inoculation faite par piqûre dans le paume de la main détermine peu après une lymphangite qui se propage le long du bras jusqu'au ganglion axillaire, qui se tuméfie et ressemble à un véritable bubon (Wyssochovitz et Zabolotny). L'évolution ultérieure est calquée sur celle de la peste humaine. L'animal succombe en trois à sept jours.

Inoculation à la surface de la peau. — On rase la peau d'un rat ou d'un cobaye, puis on y dépose une goutte de culture, ou bien on frotte la région avec un produit pesteux, un ganglion par exemple, recueilli sur un cadavre d'animal infecté.

Il ne tarde pas à se produire une phlyctène, dont le liquide est riche en Bacilles pesteux; l'infection évolue ensuite, comme dans les cas précédents, avec lymphangite, bubon, etc.

Ce procédé, dû à Weichselbaum, Albrecht et Ghon, permet de faire des diagnostics rapides en partant de produits souillés (vomissements, matières fécales), ou recueillis sur les cadavres.

Inoculation dans les veines. — Il se produit alors une véritable septicémie, le plus souvent hémorragique, plus grave que la peste bubonique.

Inoculation à la surface des muqueuses. — Il suffit de déposer sur une muqueuse saine (conjonctive, vulve, etc.), même sans excoriation préalable, une goutte de culture en bouillon, pour voir se développer une peste typique.

Avec une baguette portant à l'extrémité un petit tampon d'ouate imprégné de cultures, Roux et Batzaroff touchent simplement la muqueuse nasale d'animaux sensibles ; l'opération détermine chez eux une véritable *peste pulmonaire*.

Vers la trentième heure, la température monte, l'animal devient triste et dyspnéique ; puis il suffoque, corne et tousse ; il succombe vers la fin du troisième jour. A l'autopsie les poumons sont congestionnés, parsemés d'infarctus et de foyers hépatisés. Un frottis de suc pulmonaire montre une multitude de Bacilles pesteux. L'ensemencement du sang et des viscères est positif.

On peut encore infecter le rat par la même voie, en lui faisant respirer des gouttelettes de cultures pulvérisées.

Ces expériences ont ainsi éclairé la pathogénie de la peste pneumonique primitive de l'homme, qui s'infecte assurément en inhalant des produits pestifères.

Inoculation par les voies digestives. — En faisant ingérer à des animaux des cultures vivantes, ou des débris d'organes contenant le Bacille pesteux, on peut leur conférer l'infection (Klein, Fornano) ; la durée de l'incubation est assez variable. La première manifestation est souvent un bubon sous-maxillaire. En ce cas, l'infection a pu se produire par une excoriation buccale. C'est la lésion que l'on rencontre chez le rat qui a rongé des cadavres de pestiférés.

En d'autres cas, la lésion primitive siège au niveau de l'intestin, où l'on perçoit des follicules hyperémiés. L'autopsie montre habituellement les altérations de la septicémie pesteuse.

Inoculation intrapéritonéale. — Elle provoque une péritonite suivie d'une septicémie mortelle en vingt-quatre à quarante-huit heures. Le Bacille fourmille dans l'exsudat péritonéal, le sang et les viscères.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

Le diagnostic bactériologique de la peste est indispensable non seulement pour les indications précises et précoces qu'il donne concernant la thérapeutique spécifique à exercer, mais aussi pour la prophylaxie à mettre en œuvre. A ce dernier point de vue, il peut rendre des services inappréciables pour dépister les premiers cas de peste et prendre les mesures nécessaires. Les recherches qu'il comporte peuvent s'effectuer sur le vivant et le cadavre.

Recherche sur le vivant. — Sur le vivant, on recherchera le Bacille de Yersin dans les bubons, le liquide des phlyctènes, le sang, les produits d'expectoration.

Prélèvement. — Chez un malade suspect de *peste bubonique* ponctionner le *bubon* à l'aide d'une aiguille adaptée à une seringue, tout cet appareil ayant subi préalablement la stérilisation à l'autoclave. Préparer des frottis sur lame avec le suc ganglionnaire ainsi recueilli.

Même technique pour les *phlyctènes*, dont on puisera le liquide à l'aide d'une seringue stérile ou d'une pipette flambée.

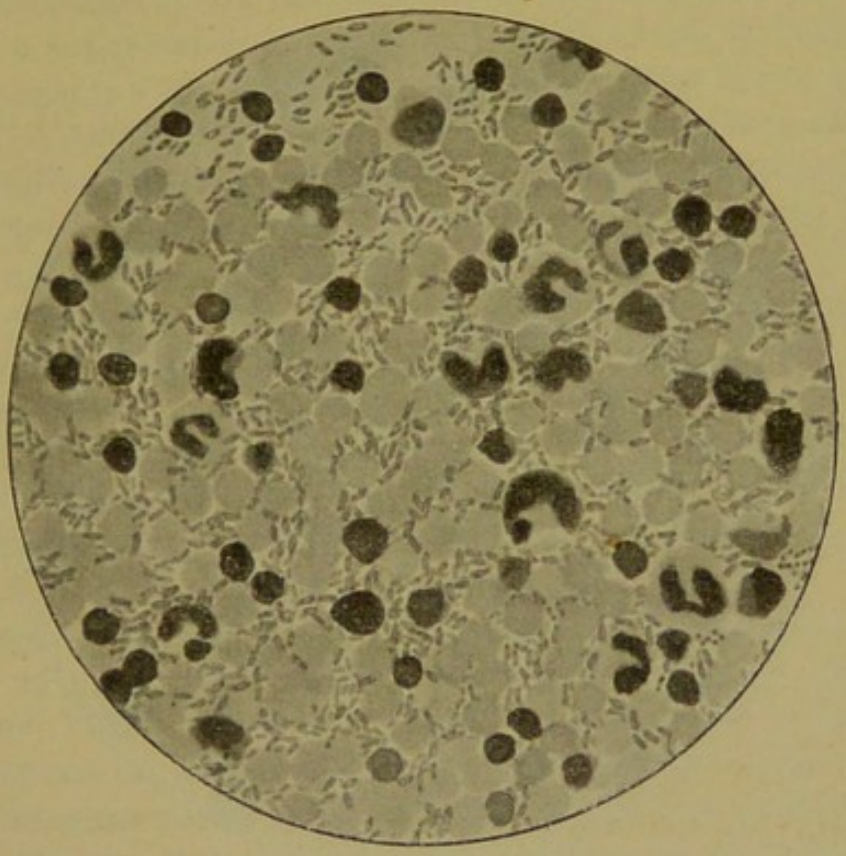


Fig. 240. — Frottis de bubon pesteux.

Si l'on soupçonne la *peste pneumonique*, examiner les *crachats*, faire quelques frottis sur lame.

L'examen du *sang* sera pratiqué, si l'on pense être en présence d'une *forme septicémique* d'emblée, sans bubon, ou secondaire à la peste bubonique ou pneumonique. Dans ce but, recueillir une goutte de sang par piqûre de l'extrémité d'un doigt ou du lobule de l'oreille. Étaler sur lames avec la technique habituelle. Quand le Bacille n'est pas abondant, on doit recourir à l'hémoculture, comme on le verra plus loin.

Examen direct. — Laisser sécher les frottis, fixer, colorer une lame à l'aide de la thionine ou du bleu de méthylène, puis une autre par la méthode de Gram composée. Cet examen, en cas de peste, révèle l'existence du Bacille pesteux avec son aspect particulier:

Coccobacilles en général très abondants, avec coloration bipolaire, ne prenant pas le Gram (fig. 240 et 241).

Isolement. — L'examen direct, à lui seul, permet souvent de formuler un diagnostic ferme. En d'autres cas cependant, les Bacilles pesteux peuvent être rares et passer inaperçus. C'est le cas des bubons qui évoluent vers la suppuration, ou sont déjà suppurés; il en est de même pour l'examen du sang où le microscope peut ne

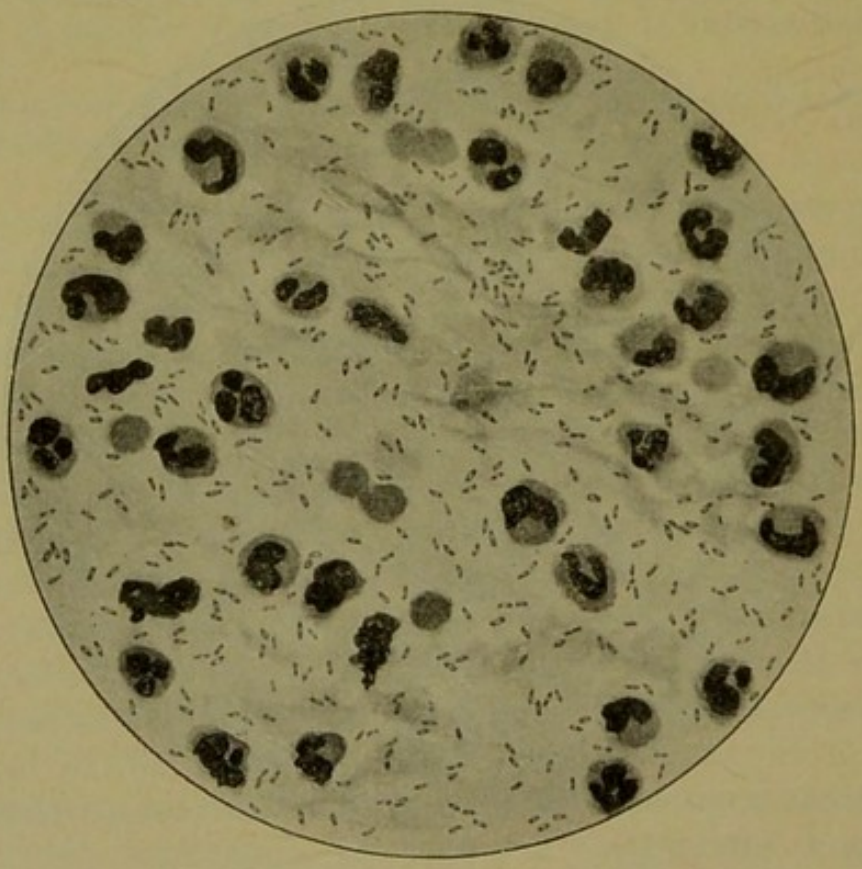


Fig. 241. — Frottis de crachats de pneumonie pesteuse.

révéler des germes qu'en très faible quantité ; il faut alors recourir aux cultures.

Ensemencer en tubes ou plaques de gélose encore un peu humides le suc ganglionnaire, le liquide des vésicules, une parcelle de crachats. Après un séjour de vingt-quatre heures à l'étuve, des colonies ont poussé ; il faudra les identifier.

Pour le sang, pratiquer l'*hémoculture* : prélever 4 à 5 centimètres cubes de sang dans une veine du bras ; les ensemencer dans 300 à 350 centimètres cubes le bouillon légèrement alcalinisé. Avec la culture obtenue, faire des isolements sur gélose, identifier.

Identification. — Prélever une parcelle des colonies suspectes : en faire l'examen direct sur lames, à l'état frais et après coloration. Si elles contiennent un germe rappelant par son aspect morhop-

logique les caractères du Bacille de Yersin, repiquer la partie restant sur le milieu en bouillon, gélose, gélatine, etc., qui donneront les caractères culturaux généraux.

Pour achever l'identification, *rechercher l'agglutination* à l'aide d'un sérum antipesteux. Cette méthode paraît être la plus rigoureuse et la plus précise pour permettre d'affirmer l'existence du Bacille spécifique.

En même temps qu'on effectue l'isolement du germe sur milieux artificiels, il est indispensable d'*inoculer directement* à l'animal les produits suspects. Ces inoculations seront faites chez le rat, la souris ou le cobaye, sous la peau ou par la voie cutanée. Si le produit contient du Bacille pesteux, ces animaux contractent une peste typique, que l'autopsie et les ensemencements des bubons et des viscères permettent d'affirmer.

On emploie utilement aussi l'inoculation intranasale, qui détermine une pneumonie pesteuse typique.

Enfin l'inoculation peut être effectuée avec les cultures provenant des colonies isolées. Mais il faut se rappeler ici que la virulence du germe n'est pas toujours égale à elle-même : au déclin des épidémies, en effet, la virulence s'atténue et peut même disparaître.

Sérodiagnostic. — Si l'on n'a pu isoler le Bacille pesteux, le diagnostic resté en suspens, surtout chez les convalescents, peut être affirmé par la recherche du pouvoir agglutinant du sérum du malade sur une culture de peste conservée au laboratoire. Rappelons que, dans ces conditions, le taux d'agglutination ne dépasse pas un cinquantième ; mais avec les sérums normaux, le résultat reste toujours négatif à ce taux.

Recherche sur le cadavre. — Sur le *cadavre humain*, les recherches doivent porter sur le suc des bubons, le sang, mais aussi sur les sucs splénique et pulmonaire. L'examen est soumis aux mêmes règles que sur le vivant.

Sur le *cadavre des animaux*, des rats en particulier, l'examen et l'identification sont plus délicats, surtout si les tissus sont dans un état de décomposition avancée.

On pratiquera les recherches comme précédemment, sur les ganglions, le sang, les viscères. On portera particulièrement l'attention sur les groupes ganglionnaires de la région pharyngée, les ganglions submaxillaires et auriculaires, car la peste de ces animaux, prise dans les conditions naturelles, est surtout contractée par ingestion.

En ce qui concerne les inoculations directes, on aura recours de préférence à l'*inoculation cutanée* (par scarification), qui, mieux

que toute autre, permet l'infection par le Bacille pesteux, même mélangé à une foule d'autres microbes. Ce procédé convient particulièrement à la recherche du Bacille dans le contenu intestinal.

Les ensemencements seront pratiqués de préférence sur plaques de gélatine ; les Bacille pesteux s'y développent normalement, alors que la croissance des germes de la putréfaction y est retardée.

On ne saurait être trop circonspect pour affirmer, dans ces conditions, le diagnostic de peste, car chez les rongeurs les épizooties ne sont pas rares qui peuvent être produites par des germes étrangers au Bacille de Yersin.

Ces derniers appartiennent au groupe des Colibacilles, des paratyphiques; ce peut être aussi du Pneumobacille, du virus de Danysz, ou bien encore du Bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs, qui, par sa morphologie et ses cultures, présente beaucoup d'analogie avec le Bacille pesteux.

De plus, on a décrit (Mac Coy), surtout chez l'écureuil, une septicémie pseudo-pesteuse dont les lésions sont analogues à celles de la peste ; elle est transmissible au cobaye, à la souris, au lapin par les voies cutanée, sous-cutanée, nasale et péritonéale. L'agent pathogène siège dans le sang et les tissus, mais est encore inconnu.

Un diagnostic bactériologique très serré doit donc être effectué pour éviter des erreurs.

SÉROTHÉRAPIE.

Le sérum des animaux qui ont reçu progressivement des doses croissantes de cultures pesteuses jouit de propriétés préventives et curatives contre l'infection pesteuse expérimentale (Yersin, Roux, Calmette et Borrel).

Mode de préparation du sérum. — Les injections vaccinantes sont effectuées chez le cheval par la voie veineuse, tout d'abord avec les cultures tuées par un chauffage à 65° pendant trente minutes, puis des cultures vivantes.

Les cultures utilisées doivent être « d'origine humaine, récente et virulente » (Dujardin-Beaumetz); on les obtient en gélose sur boîtes de Roux; on les émulsionne dans de l'eau physiologique après trois jours d'étuve à 37°.

On injecte tout d'abord dans la jugulaire un vingtième de boîte de *culture tuée* ; cette première injection détermine une fièvre élevée, durant quarante-huit heures environ; puis toutes les semaines la dose est augmentée jusqu'à ce qu'on arrive à une culture d'une boîte entière. Quand le sérum présente des propriétés préventives nettes, on pratique les vaccinations avec des cultures vivantes, en observant la même gradation dans les quantités à injecter.

Les chevaux sont souvent atteints des mêmes phénomènes décrits au cours de la vaccination contre le méningocoque.

Effets du sérum antipesteux sur la peste expérimentale. — *Propriétés primitives.* — Tout animal qui a reçu préventivement sous la peau une quantité suffisante de sérum, puis une culture de Bacille pesteux par voie hypodermique ou péritonéale, survit sans présenter le moindre phénomène morbide.

Propriétés curatives. — Quand le sérum est injecté à titre curatif après l'inoculation de culture, les animaux survivent aussi, à condition que l'intervention ne soit pas trop tardive. Une souris inoculée par piqûre, et recevant sous la peau un dixième de centimètre cube de sérum, seize heures après la culture, survit habituellement.

Application à la thérapeutique humaine. — La première application du sérum dû à Yersin fut faite à Canton et à Amoy en 1897. Sur 26 cas, il obtint 24 guérisons, soit une mortalité de 7,6 p. 100.

De nombreux auteurs utilisèrent ces propriétés curatives dans des épidémies diverses. Citons notamment les faits observés à Oporto en 1896, par Calmette et Salimbeni : sur 142 pestiférés, 21 seulement ont succombé, soit une mortalité de 14,78 p. 100, alors que des malades témoins fournirent une mortalité de 63,72 p. 100.

Mode d'emploi. – Pour obtenir de semblables résultats, il faut, comme en toute sérothérapie, savoir administrer le sérum. Son action thérapeutique, en effet, varie selon le moment de l'intervention, la quantité de sérum utilisée et la voie d'introduction. Les insuccès qui ont été publiés tiennent en grande partie aux faibles doses injectées et à ce que l'injection a été faite sous la peau uniquement.

Il faut tout d'abord intervenir *le plus tôt possible* après le début des symptômes ; la peste, en effet, présente une marche aiguë, et l'envahissement du système lymphatique et de la circulation par le Bacille peut être extrêmement rapide.

Il faut ensuite employer des *doses massives et répétées* et des doses d'autant plus fortes que les malades sont atteints depuis plus longtemps. Injecter d'emblée 200 à 300 centimètres cubes sous la peau, ou mieux dans *les veines*. Répéter cette technique les jours suivants si les symptômes persistent. Certains conseillent d'injecter tout d'abord 50 à 60 centimètres cubes dans la veine, puis, les jours suivants, d'injecter le sérum sous la peau. En réalité, les quantités et la voie d'introduction doivent être réglées d'après l'état du sujet.

Effets sur les symptômes. — Sous l'influence du sérum, la prostration, le délire disparaissent ; le cœur se régularise, le pouls

devient plus ample, la tension artérielle se relève. La température s'abaisse progressivement pour revenir à la normale; les bubons diminuent de volume, et les douleurs spontanées qu'ils engendrent disparaissent. Enfin le Bacille disparaît de la circulation générale.

VACCINATION PRÉVENTIVE HUMAINE.

Une première atteinte de peste confère l'immunité. Ce principe a servi de base à la prophylaxie par la vaccination antipesteuse. Haffkine, le premier, l'a appliquée aux Indes. Divers procédés ont été conseillés et utilisés.

Cultures chauffées. — Haffkine emploie des cultures en bouillon âgées de sept à huit semaines, chauffées à 60° pendant quinze minutes et additionnées d'acide phénique dans la proportion de 0,5 p. 100.

Le vaccin de la Commission allemande consiste en une émulsion provenant de cultures sur gélose, chauffées à 65° pendant trois quarts d'heure. On ajoute de l'eau physiologique en calculant que chaque centimètre cube renferme $2^{mg},5$ de microbes.

Extraits microbiens. — C'est en réalité le produit préparé par Lustig et Galeotti pour la mise en évidence de la toxine pesteuse.

Cultures vivantes atténuées. — Yersin et Carré se sont servis d'un Bacille pesteux atténué provenant d'une vieille culture sur gélose, et à peine virulent pour le rat.

On peut encore atténuer un Bacille par la mise en culture à 40° ou 41° (Kolle, Strong). Deux öses inoculées sous la peau du cobaye lui confèrent l'immunité.

Exsudats chauffés. — Le vaccin de Terni et Bandi est de l'exsudat péritonéal de cobaye, chauffé trois fois à 50° et additionné de 0,5 p. 100 d'acide phénique, de 0,25 p. 100 de carbonate de sodium et de 0,70 p. 100 de chlorure de sodium.

Les effets obtenus par ces divers vaccins seraient sensiblement les mêmes. Dans l'Inde, Haffkine a observé une grande diminution de la morbidité pesteuse chez les vaccinés.

On observe toutefois des troubles locaux et généraux : au point d'inoculation, la réaction est vive : tuméfaction, douleur, chaleur; la température s'élève et dure quelques jours. De plus, l'immunité qu'ils confèrent n'apparaît qu'après huit à douze jours; enfin, quand l'animal prépare son immunisation, il est plus sensible que les témoins à l'infection pesteuse (phase négative).

Pour éviter ces inconvénients, on a proposé la *vaccination par sérum-virus.*

Vaccination mixte par sérum-virus. — Calmette et Salimbeni conseillent d'injecter tout d'abord 5 centimètres cubes de

sérum, puis, deux jours après, 2 à 3 centimètres cubes de vaccin d'Haffkine.

Dans ces conditions, l'immunité immédiate est obtenue, et la réaction locale et générale est très minime. Mais, alors que l'immunité due aux vaccins bactériens seuls dure plusieurs mois, celles que ce procédé confère ne durerait guère plus que l'immunité obtenue par le sérum seul.

Besredka a pensé résoudre le problème en réduisant au minimum la quantité de sérum et en utilisant un *vaccin sensibilisé*. On met en contact pendant vingt-quatre heures une émulsion de Bacilles pesteux avec du sérum antipesteux ; décanter le sérum, laver les microbes que l'on libère ainsi du sérum. Les germes ainsi traités constituent le vaccin ; on peut injecter 5 milligrammes de corps microbiens sensibilisés.

Ce procédé confère chez l'animal une immunité immédiate et durant au moins cinq à six mois.

CHAPITRE XLIII

PASTEURELLOSES. — CHOLÉRA DES POULES

On désigne sous ce nom des affections microbiennes qui évoluent sur des espèces animales très variées et sont considérées comme provoquées par des germes très voisins les uns des autres, ou *Pasteurellæ*. Le prototype du groupe est le choléra des poules, étudié par Pasteur; nous l'étudierons plus particulièrement. Des germes analogues à celui du choléra des poules furent ensuite rencontrés chez les bovidés, le cheval, le lapin, le cobaye, divers animaux sauvages et bien d'autres encore. Hueppe réunit tout d'abord ces différentes affections sous le nom de *septicémies hémorragiques*; Toni et Trevisan proposèrent ensuite le nom de *pasteurelloses*, qui a fait fortune, surtout à la suite des travaux de Lignières.

Le domaine des pasteurelloses s'est énormément étendu depuis quelques années. Il est possible d'ailleurs que cette extension soit un peu abusive; l'un des types qui paraissaient le mieux caractérisés, la pasteurellose canine (maladie des jeunes chiens), paraît aujourd'hui infirmé, l'agent véritable de la maladie étant sans doute un virus filtrable invisible. Il en est peut-être de même de la pasteurellose équine et — sous toutes réserves — de la pasteurellose porcine. Peut-être un certain nombre de pasteurelloses ne représentent-elles que des infections *sorties*, suivant le mot employé par M. Nicolle en d'autres circonstances, à la suite d'une infection primitive de tout autre nature. Mais quelques-unes d'entre elles, comme le choléra des poules, paraissent bien constituer des infections spécifiques. Quand bien même, d'ailleurs, quelques-unes d'entre elles ne constitueraient que des agents d'infection surajoutée, elles n'en existent pas moins et doivent être connues, car leur rôle n'est pas négligeable.

Rapports des pasteurelloses entre elles. — Unité ou pluralité. — Lignières admet six pasteurelloses différentes : pasteurelloses aviaire, ovine, porcine, bovine, équine, canine. La pasteurellose du cobaye est identique à celle du chien (Phisalix) ; celle du lapin est empruntée : pasteurelloses porcine, ovine, ou plus rarement aviaire (Lignières).

Les agents des différentes pasteurelloses bovines (Voy. ci-dessous) présentent de l'un à l'autre de notables divergences. De même, certains caractères (réactions à l'égard des sérums) amènent Wasser-

mann et Ostertag à dissocier la pasteurellose porcine en plusieurs types. Nous verrons, d'autre part, qu'en dehors des six pasteurelloses de Lignières, il doit en exister d'autres (pasteurellose caprine en particulier).

Ces pasteurelloses sont-elles foncièrement différentes? Leurs caractères généraux (Voy. ci-dessous) étant identiques, on a cherché à les différencier par leur action pathogène, par leur manière de se comporter chez des animaux vaccinés, ou par leurs réactions à l'égard des sérums spécifiques.

I. Il est admis que, dans l'infection naturelle, chaque pasteurellose est généralement spécifique pour une ou des espèces animales déterminées; exceptionnellement, elle peut passer à d'autres. Lignières signale que la pasteurellose ovine peut se transmettre au bœuf, la pasteurellose porcine à l'oiseau; la pasteurellose aviaire peut inversement infecter le porc (George). Il n'y a donc pas de spécificité absolue à cet égard.

II. Le pouvoir pathogène expérimental est de même contingent. Ainsi une pasteurellose porcine, primitivement inoffensive — ou à peu près — pour la poule, tue cette animal après un grand nombre de passages par le cobaye ou le lapin (Chamberland et Jouan).

III. La spécificité de la vaccination est diversement interprétée. Lignières dit qu'un animal vacciné à l'aide d'une *Pasteurella* A se montre réfractaire à cette *Pasteurella*, mais demeure sensible à d'autres *Pasteurellæ* B ou C. Dans les expériences de Chamberland et Jouan, au contraire, des poules vaccinées contre la *Pasteurella* équine, ou des lapins vaccinés avec la *Pasteurella* porcine, sont en même temps vaccinées contre la pasteurellose aviaire; mais ces auteurs reconnaissent eux-mêmes que l'immunité n'est pas complète — à beaucoup près — vis-à-vis de toutes les salmonelloses.

IV. Les réactions sériques *in vitro* n'ont pas davantage donné d'éclaircissements définitifs. Les divers échantillons d'une même *Pasteurella*, et de même les autres *Pasteurellæ*, sont agglutinés à des taux extrêmement divers (de 0 à 60 000) par un même sérum (Chamberland et Jouan). Matsura avance pourtant que les sérums d'animaux *faiblement* vaccinés présentent une sensibilisatrice strictement spécifique pour la *Pasteurella* employée.

V. A l'égard des sérums préventifs (sérums thérapeutiques), les opinions divergent encore. Lignières, Wassermann et Ostertag considèrent que le sérum des animaux vaccinés est monovalent, c'est-à-dire actif sur la seule *Pasteurella* inoculée; au contraire, d'après Chamberland et Jouan, un sérum préparé contre la pasteurellose porcine prémunise contre la pasteurellose aviaire.

VI. Il est bien difficile de conclure nettement, après des expériences en partie contradictoires. Mais rien n'empêche d'admettre, avec Chamberland et Jouan, que *toutes les pasteurelloses proviennent d'un même microbe ayant acquis des propriétés pathogènes, des qualités virulentes variables, en partie fixées par une longue suite de passages chez les différentes espèces animales.* La thèse est uniciste au point de vue ontogénique et pluraliste au point de vue pratique.

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES « PASTEURELLÆ ».

Au point de vue morphologique, les *Pasteurellæ* sont représentées par des Coccobacilles, très polymorphes, toujours immobiles, non sporulés. Ils se colorent plus facilement aux pôles qu'au centre, d'où diverses désignations : bactérie ovoïde (Nocard), Bacille à espace clair central, Bacille en navette. *Ils ne prennent pas le Gram.*

Au point de vue cultural, les *Pasteurellæ* sont aéro-anaérobies, mais de préférence aérobies ; elles se développent sur bouillon, gélose, gélatine ; elles ne liquéfient pas la gélatine, ne coagulent pas le lait, ne rougissent pas la gélose de Würtz (c'est-à-dire ne fermentent pas la lactose), ne poussent pas sur pomme de terre naturelle acide ; leurs cultures dégagent une odeur *sui generis* (Lignières).

Le développement en culture peut se faire entre 15° et 43°. Les cultures sont stérilisées par un chauffage de cinq minutes à 55° (Chamberland et Jouan).

Les effets pathogènes sont variables suivant les types ; presque toutes sont virulentes pour plusieurs espèces animales. Toutes les pasteurelloses virulentes sont pathogènes pour le lapin. Toutes se multiplient avec facilité dans le péritoine du cobaye, à tel point que l'épreuve de l'inoculation intrapéritonéale constitue un procédé courant de recherche (Lignières).

Dans les conditions naturelles, presque toutes les pasteurelloses peuvent évoluer d'une manière foudroyante, d'une manière aiguë ou d'une manière chronique.

Au point de vue pathogénique, les pasteurelloses sont tout d'abord des septicémies ; mais, pour peu que la maladie se prolonge, il se produit des localisations variées, portant souvent sur l'appareil respiratoire, le tube digestif et les articulations. La septicémie initiale disparaît presque toujours assez vite, le microbe se localisant dans les lésions ; en outre, l'infection pasteurellique ouvre la porte à des infections secondaires variées. Pour ces deux raisons, la *Pasteurella* est souvent difficile à déceler dans les organes.

COCCOBACILLE DU CHOLÉRA DES POULES (PASTEURELLA AVIAIRE).

Le microbe du choléra des poules, vu tout d'abord par Sommer et Perroncito, fut décrit, cultivé et étudié par Pasteur (1880).

MORPHOLOGIE.

La forme type, celle du sang et des tissus, est un Coccobacille, mesurant en moyenne 1 μ sur 0 μ, 25 (fig. 242). Dans les cultures, les éléments sont souvent plus courts, en cocci isolés ou en diplocoques.

Après coloration ménagée (thionine de préférence), le Coccobacille présente nettement l'aspect en navette : coloration limitée aux pôles avec centre incolore.

Il se colore facilement par les couleurs d'aniline et ne prend pas le Gram.

Il est immobile et ne donne pas de spores.

CULTURES.

Le Coccobacille du choléra des poules se développe assez facilement sur les milieux ordinaires. Il est surtout aérobie : Lignières a obtenu une légère culture anaérobie en bouillon-sérum ensemencé largement ; mais, d'après Chamberland et Jouan, toutes les pasteurelloses sont exclusivement aérobies.

Bouillon. — Le bouillon se trouble en douze à vingt-quatre heures ; après quelques jours, la culture se concrète sur les parois, puis au fond, et le milieu redevient clair.

La culture est plus riche en *bouillon-sérum*.

Gélose. — Strie mince, blanchâtre, d'abord transparente, puis opaque.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Gélatine. — La gélatine n'est pas liquéfiée.

En strie. — Bande mince, blanc grisâtre, d'abord transparente, puis opaque.

En piqures. — Traînée blanche, d'autant plus large qu'on s'éloigne moins de la surface.

Autres milieux. — Le *lait* n'est pas coagulé ; il n'y a pas de culture apparente sur *pomme de terre*, conformément à la définition générale des pasteurelloses.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — En cultures, la *Pasteurella* aviaire demeure vivante pendant deux mois environ. Elle persiste plus longtemps à l'abri de l'air, de même que dans le sol humide (plusieurs mois).

Elle résiste peu à la dessiccation et à la chaleur ; un chauffage de quelques minutes à 58° suffit à la détruire.

Production d'indol. — Dans les cultures vieilles d'au moins quinze jours, on peut constater l'existence d'indol (Porcher et Panisset).

VIRULENCE. — ATTÉNUATION ET EXALTATION DU VIRUS.

Les cultures sont originellement virulentes, mais la virulence baisse peu à peu, surtout dans les cultures et au contact de l'air.

Exaltation du virus. — On peut exalter la virulence par passages : un virus faible, inactif sur la poule, tue encore le moineau ;

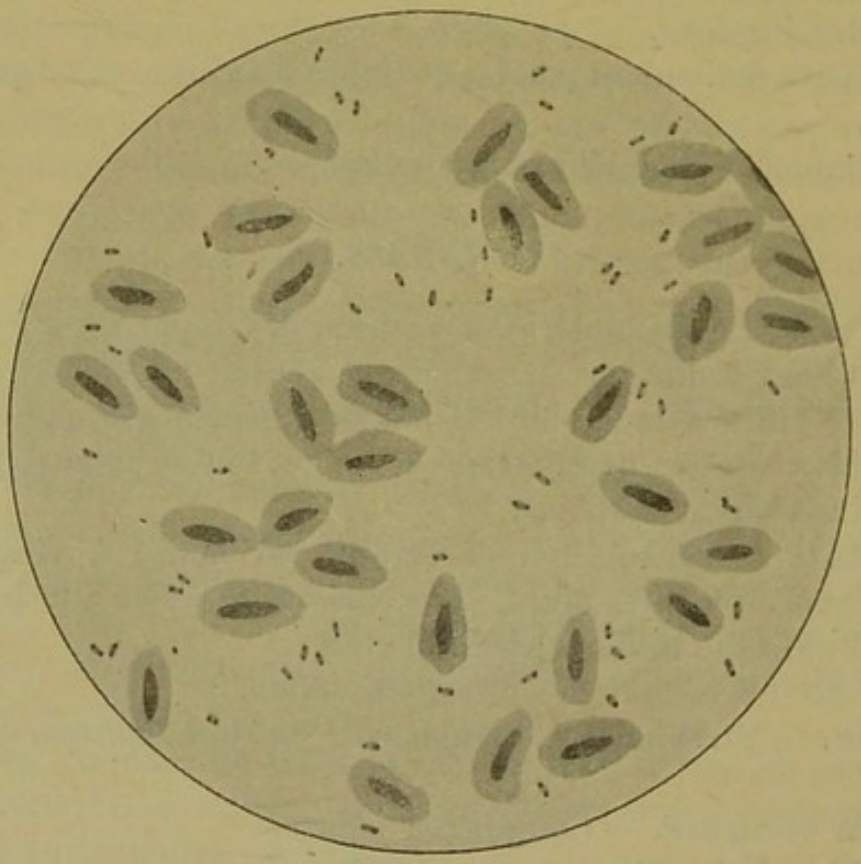


Fig. 242. — Coccobacille du choléra des poules (sang de pigeon infecté).

cinq ou six passages par le moineau l'exaltent suffisamment pour tuer la poule à tout coup.

Lignières signale comme particulièrement efficace l'inoculation dans le péritoine du cobaye (pour la plupart des pasteurelloses). Après quelques passages, la virulence est très renforcée, aussi bien dans l'exsudat péritonéal que dans les cultures qui en sont issues et dans le sang des animaux ; ces virus renforcés tuent des animaux peu sensibles (chien, bœuf, cheval). Chose intéressante, après cinquante passages par le cobaye, la pasteurellose continue à se montrer plus spécialement pathogène pour les oiseaux.

Atténuation du virus. — Dans les cultures faites en présence de l'air, à 37°, la virulence baisse peu à peu ; après deux mois, elle est absolument nulle. Dans l'intervalle, elle parcourt toute l'échelle de la virulence. Cette baisse progressive de la virulence est en réalité une atténuation, car elle se transmet par hérédité.

Si, en effet, on réensemence le microbe peu virulent, les cultures filles garderont à peu près exactement la même virulence atténuée. En réensemençant tous les jours, on obtient toute une gamme de cultures filles de virulence décroissante.

Le microbe atténué n'est cependant pas sans action. Choisi au degré voulu, il provoque une simple réaction locale, sans troubles généraux, après quoi l'animal est immunisé.

C'est le prototype des vaccinations microbiennes (ou pastoriennes), édifié par Pasteur; le choléra des poules a permis pour la première fois de créer à volonté un « virus vaccinal, qui tue, donne la maladie bénigne et protège de la maladie mortelle » (Pasteur).

L'atténuation est plus rapide en cultures sur milieux solides, à l'air et à la lumière.

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — L'affection frappe surtout les poules et tous les oiseaux domestiques : dindons, pintades, canards, oies, faisans, oiseaux de volière. Elle se transmet plus rarement au lapin.

Chez les oiseaux, la forme aiguë est la plus commune ; c'est son allure qui a suscité la dénomination de choléra : évolution rapide (douze à soixante heures), diarrhée, inappétence, extrême contagiosité. Il existe en outre une forme foudroyante (quelques heures) et une forme chronique, cette dernière souvent accompagnée d'arthrites purulentes.

Action pathogène expérimentale. — **Oiseaux.** — Tous les oiseaux sensibles à l'infection naturelle sont également réceptifs à l'inoculation expérimentale ; la poule et le pigeon se montrent les plus sensibles.

L'infection peut être réalisée par ingestion (Pasteur), par de simples érosions ou par badigeonnage de la conjonctive. Par inoculation intramusculaire, des doses minimes (quelques gouttes) de culture jeune ou de sang virulent provoquent les symptômes et l'évolution de la maladie naturelle (forme aiguë); à l'autopsie, on constate au point d'inoculation un peu d'œdème, et dans l'organisme des lésions de septicémie hémorragique : sang noir (sang dissous), poumons hyperémiés et parfois hépatisés, épanchement péricardique, foie congestionné et friable, rate grosse (pas toujours), muqueuse intestinale ulcérée et parfois saignante, hémorragies dans le tissu cellulaire sous-cutané et sur les séreuses ; on trouve le Bacille en abondance dans le sang et les organes.

Quand le virus est un peu atténué, l'affection se prolonge; on trouve alors au point d'inoculation de la nécrose musculaire. Outre les lésions de la forme aiguë, on constate une altération des muscles, devenus feuille morte.

Un virus très peu actif reproduit la forme chronique de l'infection naturelle.

Lapin. — Le lapin est aussi sensible que la poule (Pasteur), plus sensible même à l'ingestion, à tel point que le virus a été employé avec le plus grand succès pour la destruction des lapins (à Reims, en Australie).

Par inoculation sous-cutanée, des doses minimes sont mortelles en quelques heures; à l'autopsie, on retrouve les mêmes lésions que chez la poule, plus une pleurésie double.

L'inhalation détermine également une infection généralisée (Buchner).

Autres animaux. — La *souris* est très sensible.

Le *cobaye* l'est moins; le virus habituel ne tue qu'à forte dose par inoculation intrapéritonéale. L'injection sous-cutanée détermine un abcès.

Il en est de même chez le *rat blanc*.

Le *mouton*, les *bovidés*, le *porc*, le *chien*, le *chat* sont beaucoup moins sensibles; ils ne succombent qu'à l'inoculation intraveineuse de virus très actifs (Lignières).

TOXINES.

Les cultures filtrées demeurent toxiques pour la poule; l'inoculation du filtrat provoque de la somnolence pendant quelques heures, mais l'animal se rétablit (Pasteur). Cette toxine produit d'ailleurs le même effet chez les animaux immunisés.

Voyez page 599, *Vaccination et Sérothérapie*.

AUTRES PASTEURELLOSES.

Pasteurella porcine (pneumonie contagieuse du porc). — Cette *Pasteurella* présente les caractéristiques du groupe, mais elle pousserait moins difficilement à l'abri de l'air, et ses cultures sur gélose sont visqueuses, adhérentes.

Son *pouvoir pathogène* est très variable suivant les échantillons D'ordinaire elle tue le pigeon, le canard, la souris, la poule; moins sûrement le lapin et le cobaye; par contre, le chien, le cheval et le porc lui-même résistent plus. La virulence pour la poule est fort inconstante; souvent considérable à l'origine, elle diminue quand le microbe a passé par les mammifères (Lignières). Le porc ne succombe qu'avec des doses élevées et un virus très actif; l'affection dure vingt-cinq à trente jours, et on trouve à l'autopsie de la pneumonie, de la pleurésie et des tuméfactions ganglionnaires (comme dans la maladie naturelle). Cette *Pasteurella* semble particulièrement active après inoculation par les voies respiratoires, chez le lapin et le porc (Lignières, Schütz), pourtant assez résistants.

On peut se demander aujourd'hui si la *Pasteurella* est bien l'agent spécifique de la pneumonie contagieuse. L'histoire des septicémies contagieuses et épidémiques du porc est très confuse ; la clinique et l'étiologie étant insuffisantes, on a cherché à les élucider par la bactériologie. Dans ces dernières années, après bien des vicissitudes, l'accord paraissait s'être fait pour classer ces maladies en deux groupes : les unes (*swine-plaque* des Américains, *Schweineseuche* des Allemands, peste porcine ou pasteurellose) causées par la *Pasteurella* de Lignières ; les autres (*hog-choléra*, ou *Schweinepest*, ou pneumonie contagieuse) dues au bacille du *hog-choléra* (p. 487) de Salmon. Mais on reconnaissait en même temps que les deux microbes sont très souvent associés, et cette constatation amenait certains auteurs à maintenir l'unité des septicémies du porc. Il est établi aujourd'hui que la peste porcine est due à un virus filtrable. Quant à la pneumonie contagieuse, elle a été moins étudiée à ce point de vue ; les unicistes (Hutyra, Frosch et Brost) considèrent la pneumonie contagieuse comme provoquée par le même virus filtrable que la peste porcine ; d'autres auteurs (Ostertag, etc.) maintiennent au contraire la spécificité de la bactérie ovoïde. La question n'est pas résolue.

Pasteurella bovine. — La *Pasteurella* bovine comporte plusieurs variétés. Elle provoque au moins quatre maladies classées : la septicémie hémorragique ou pneumo-entérite du bœuf, la pleuro-pneumonie septique des veaux, « l'entéqué » (entérite avec cachexie) d'Argentine (Lignières), la diarrhée des veaux d'Irlande (Nocard). Les microbes de ces diverses affections présentent les attributs généraux des pasteurelloses ; ils sont tous pathogènes pour le lapin, le cobaye, la souris, le mouton et les bovidés. La poule, sensible aux virus de la pneumo-entérite et de la pleuro-pneumonie, est réfractaire à celui de l'entéqué. Il est généralement assez facile de trouver et cultiver le microbe à l'autopsie des animaux infectés naturellement ; ici encore, on a souvent avantage à inoculer au préalable dans le péritoine du cobaye.

Pasteurella du buffle (*barbone*). — Maladie épizootique foudroyante (dix heures en moyenne) avec tuméfactions œdémateuses, manifestations trachéo-pulmonaires, le barbone reconnaît pour agent une *Pasteurella*, pathogène pour presque tous les animaux, sauf la poule, qui résiste.

Pasteurella des animaux sauvages (*Wildseuche*, maladie de Bollinger). — L'affection, caractérisée surtout par une septicémie avec hémorragies, à marche rapide, frappe les sangliers, daims, chevreuils, cerfs. La *Pasteurella* pathogène est virulente pour tous les animaux habituellement expérimentés (y compris les oiseaux), de même que pour les animaux sauvages.

Pasteurella ovine (pneumo-entérite du mouton). — Ce microbe, décrit par Lignières, est l'agent de la pneumo-entérite du mouton.

Les caractères morphologiques et culturaux sont ceux de la *Pas-*

teurella aviaire ; elle n'en diffère que par la présence dans les cultures de formes strepto-bacillaires.

Les premières cultures sont difficiles à obtenir ; il faut inoculer les tissus ou organes dans le péritoine du cobaye, puis ensemencer l'exsudat péritonéal.

Le microbe est pathogène pour le mouton, le bœuf, le cobaye, le lapin, la souris. Le mouton est sensible à l'ingestion. La poule et le pigeon sont réfractaires.

Pasteurella caprine. — Nicolle et Refik-Bey étudient une *Pasteurella* qui provoque la pneumonie des chèvres. Les caractères sont analogues à ceux de la *Pasteurella* aviaire. Elle est pathogène pour la chèvre (production de paralysies dans les formes traînantes, comme dans la maladie naturelle), pour le lapin, le cobaye, la souris, le pigeon, etc.

Pasteurella équine (influenza ou fièvre typhoïde du cheval). — La pasteurellose équine est décrite par Lignières comme étant l'agent spécifique de la fièvre typhoïde du cheval ; mais, dans la même affection, Basset décrit un virus filtrable qu'il considère comme l'agent de la maladie. De même que la *Pasteurella* du chien, la *Pasteurella* du cheval constituerait alors une infection surajoutée.

Les caractères généraux sont ceux de la *Pasteurella* aviaire. Cette *Pasteurella* est pathogène pour presque tous les animaux (cheval, âne, lapin, cobaye, souris, etc), mais les oiseaux sont moins sensibles, sans être réfractaires.

Chose remarquable, le microbe disparaît du sang et des organes avec une très grande rapidité, même dans les formes aiguës ; il a préparé le terrain à d'autres microbes qui envahissent secondairement l'organisme, en particulier au streptocoque de la gourme, qu'on retrouve souvent seul à l'autopsie et qui se trouve ainsi avoir probablement usurpé une part du domaine des pasteurelloses.

Diagnostic : comme pour la Pasteurellose ovine (péritoine du cobaye).

Pasteurella canine (maladie du jeune âge et typhus des chiens). — On rencontre la pasteurella dans la maladie du jeune âge des chiens et des chats (Lignières), de même que dans le typhus des chiens. Nous avons vu ci-dessus que son action pathogène spécifique est actuellement incertaine, l'agent spécifique étant sans doute un virus filtrable ; la pasteurellose serait une infection secondaire, d'ailleurs très importante.

La *Pasteurella* canine se présente à l'origine sous forme de Bacilles assez longs, mais elle reprend la forme typique des pasteurelloses après un seul passage par le cobaye (Lignières). Les premières cultures en bouillon sont particulières : le milieu reste limpide, il se forme des grumeaux qui se déposent ; mais des cultures en série ramènent le mode de développement habituel des pasteurelloses. Par ses autres caractères culturaux, le microbe est identique à toute *Pasteurella*.

Peu virulente au début, sauf pour le chien, le chat et les animaux de laboratoire (lapin, cobaye), cette *Pasteurella* acquiert une virulence considérable par passages successifs chez le cobaye ; elle tue alors les oiseaux.

L'inoculation intraveineuse reproduit les formes de la maladie naturelle : un virus très actif détermine la diarrhée sanguinolente, la fièvre et l'évolution rapide du typhus des chiens. Un virus moins actif provoque la pleuro-péricardite, la chorée, les pustules cutanées des formes sévères de la maladie du jeune âge. A l'inoculation d'un virus faible succèdent des accidents rencontrés dans les formes traînantes : anémie, paralysies.

De même que la pasteurellose équine, la pasteurellose canine appelle volontiers d'autres infections : les chiens malades ou inoculés succombent souvent à une pneumonie due au Bacille de Perez, voisin du pneumobacille.

L'inoculation de cultures stérilisées par filtration ou par l'éther provoque des troubles nerveux, des troubles de nutrition et la plupart des symptômes de la maladie (Phisalix).

Pasteurellæ des animaux de laboratoire. — Nous avons décrit ci-dessus le choléra des poules.

Il existe également des pasteurelloses naturelles chez le cobaye et le lapin (p. 590), de même que chez la souris.

VACCINATION ET SÉROTHÉRAPIE DANS LES PASTEURELLOSES.

Vaccination. — I. Pasteur a vacciné les poules contre le choléra aviaire par deux inoculations successives. On inocule d'abord un virus faible, sûrement incapable de tuer l'animal; douze jours plus tard, on injecte un virus plus énergique (mais cependant atténué lui aussi). En raison des accidents locaux (œdème et nécrose), on inocule d'abord un aileron, puis l'autre. La vaccination est incontestablement très efficace, mais ne s'est pas répandue.

Bisanti a pu vacciner le lapin en cultivant le Bacille en sac de collodion dans le péritoine.

II. Phisalix vaccine le chien contre la pasteurellose canine par le procédé de Pasteur : inoculation de cultures (bouillon glycériné) d'abord très atténuées, puis de cultures de virulence croissante. On fait trois ou quatre inoculations. Les effets expérimentaux sont certains, mais les résultats pratiques sont discutés.

III. A l'aide d'un procédé analogue, on a pu immuniser la chèvre (M. Nicolle) et le buffle (Oreste et Marcone) contre leurs pasteurelloses respectives.

IV. Lignières préfère vacciner les animaux à l'aide de vaccins polyvalents, contenant les virus des six pasteurelloses édifiées par lui (p. 590).

Sérothérapie. — I. Les sérums monovalents ont peu d'action thérapeutique (Lignières, Leclainche).

II. Lignières et Spitz préparent un sérum polyvalent par inoculation au cheval des six *Pasteurellæ* de Lignières. Les résultats thérapeutiques seraient encourageants à l'égard de la pasteurellose canine et de la pasteurellose équine.

CHAPITRE XLIV

BACILLE DU TÉTANOS

Le tétanos est produit par le développement, au niveau de la plaie qui a précédé son apparition, d'un Bacille spécial, découvert en 1883 par Nicolaïer dans le pus des animaux qu'il avait rendus

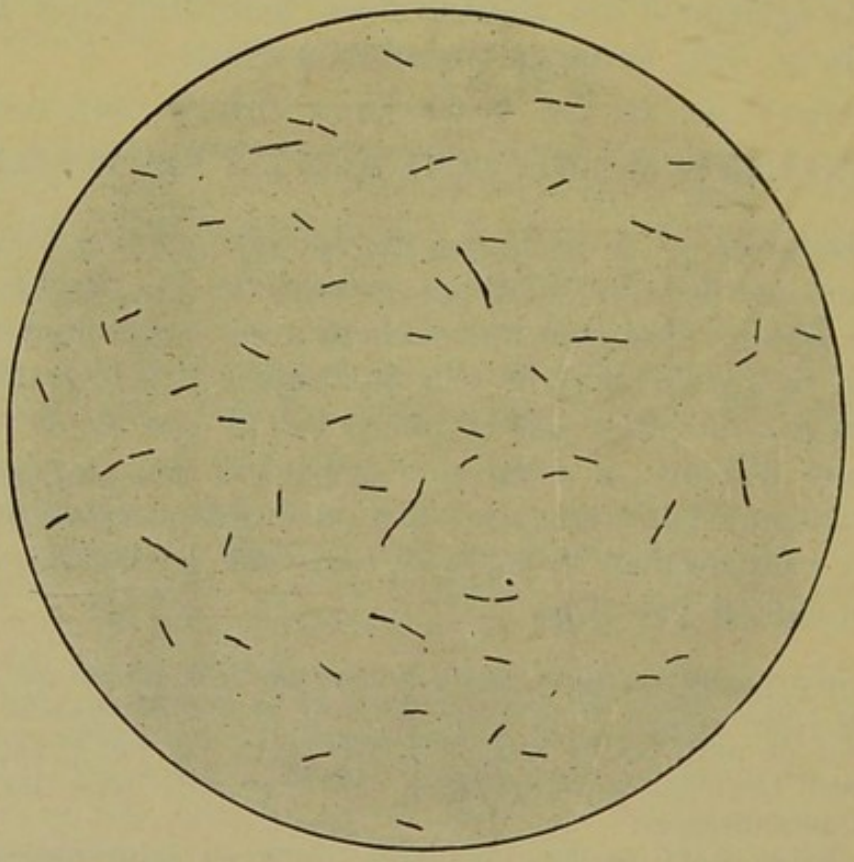


Fig. 243. — Culture de Bacilles du Tétanos en bouillon.

tétaniques par inoculation de parcelles de terre. Kitasato l'isola et le cultiva le premier, et, en montrant que l'inoculation de cultures pures provoquait le tétanos, il prouva la spécificité du germe. Les travaux importants de Vaillard avec Vincent et Rouget déterminèrent les conditions dans lesquelles le tétanos pouvait éclore. Enfin l'étude de la toxine sécrétée par le Bacille tétanique devait aboutir, entre les mains de Roux et Vaillard, à l'obtention d'un sérum antitétanique, dont les effets préventifs ne sont plus à démontrer.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Dans le pus de la plaie tétanique.* — A côté des globules pyoïdes et de bactéries diverses, le Bacille tétanique se présente sous la forme d'un bâtonnet assez grêle, allongé, dont les bouts ne sont pas arrondis. Il mesure en

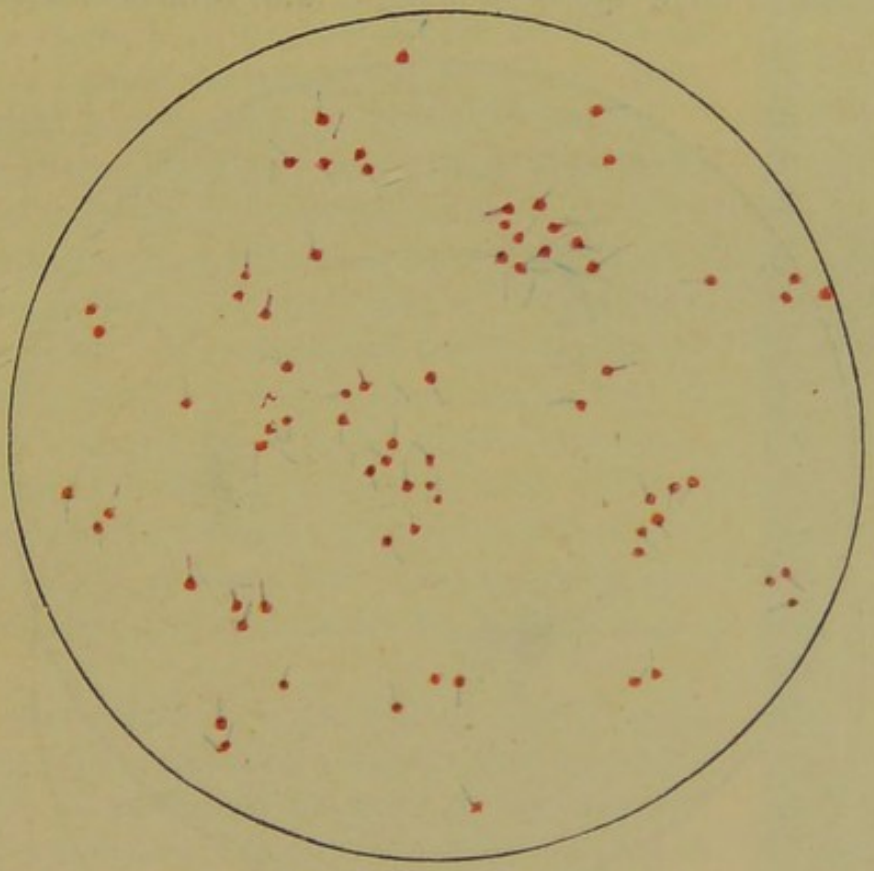


Fig. 244. — Bacilles tétaniques sporulés. Coloration des spores.

général 4 μ de long sur 0 μ, 3 à 0 μ, 4 de large. Le plus souvent, il est dépourvu de spores.

Dans les cultures. — L'aspect diffère suivant l'âge des cultures. Durant les premières heures de son développement en bouillon, il présente la même forme bacillaire (fig. 243) que dans le pus ; au bout de huit heures, il commence à sporuler. Le Bacille tétanique est alors un bâtonnet grêle, portant à l'une de ses extrémités une *spore*, sphérique, réfringente, donnant au germe la forme d'une épingle : d'où la dénomination de *Bacille en épingle* (fig. 244).

Au bout de plusieurs jours, tous les Bacilles sont sporulés. Vers le dixième jour, le Bacille proprement dit s'atrophie, puis plus tard, disparaît, et la culture ne contient plus que des spores.

Mobilité. — Examiné à l'état frais, à l'abri de l'oxygène, le

Bacille tétanique non encore sporulé est légèrement mobile. Ce sont des mouvements lents, flexueux : dès que la spore est formée, la mobilité disparaît.

Coloration. — Les couleurs basiques d'aniline colorent bien le Bacille de Nicolaïer ; les Bacilles sporulés sont colorés uniformément dans leur partie bacillaire : au niveau de la spore, seuls les contours restent colorés, le centre reste incolore. Pour teinter la partie centrale de la spore (fig. 244), il faut utiliser les méthodes

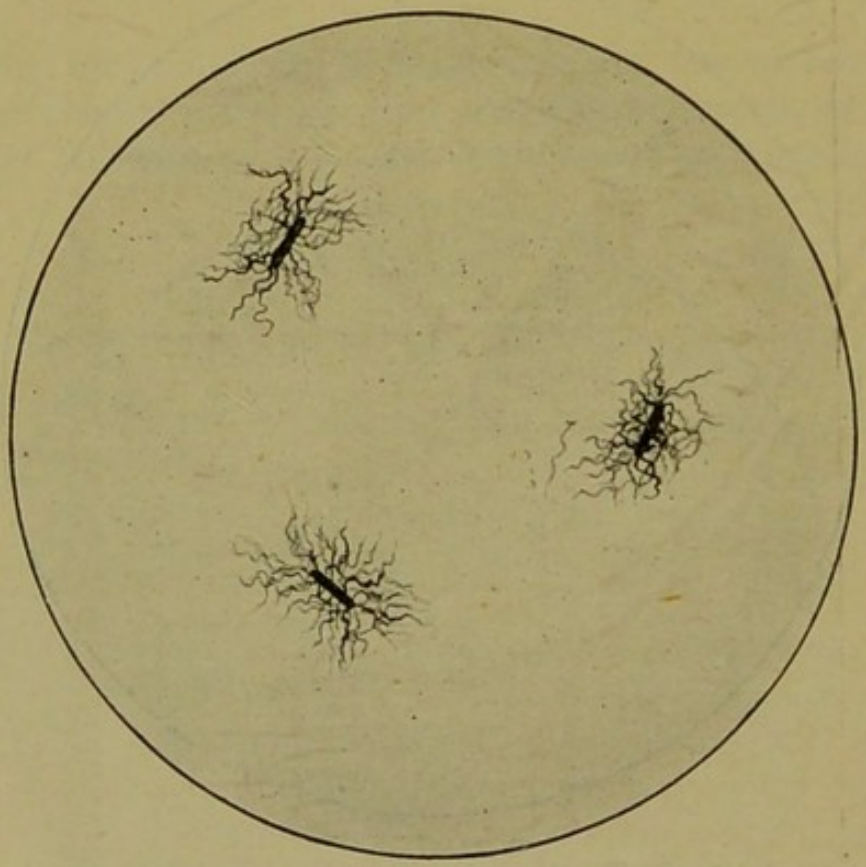


Fig. 245. — Cils des Bacilles tétaniques.

spéciales à la coloration des spores (p. 243). Le Bacille tétanique *prend le Gram.*

Enfin, quand la spore n'est pas encore formée, le Bacille du tétanos est muni de nombreux cils vibratiles (fig. 245) fixés aux parties latérales du bâtonnet : on les décèle par les procédés usités.

CULTURES.

Le Bacille de Nicolaïer cultive bien en milieux anaérobies, mais supporte la présence de faibles quantités d'oxygène.

Sa température optima est de 38°. Il commence à se développer à + 14°. A 44°, il succombe.

Les milieux usuels lui conviennent, mais à condition, d'après Kitasato, qu'ils soient préparés avec du bouillon frais. Il pousse assez mal dans les milieux à base d'albumine ; cependant en sérum de lapin les cultures sont très virulentes (Vaillard et Vincent).

Bouillon. — En bouillon, après vingt-quatre heures, se forme un trouble homogène, qui s'accuse les jours suivants ; vers le quatorzième ou quinzième jour, la culture se dépose au fond du tube, et le liquide s'éclaircit. Dès le premier jour, on constate, à la surface, des bulles de gaz.

Ces cultures exhalent une *odeur désagréable* rappelant celle de la corne brûlée.

Gélatine. — Les cultures obtenues par piqûres profondes (pour éviter l'action nocive de l'oxygène) et conservées à 20° apparaissent vers le cinquième jour. Au niveau de la piqûre, se forment comme des points nuageux, sur lesquels s'insèrent perpendiculairement des aiguilles fines (fig. 246). Ces cultures s'étendent de plus en plus, et la gélatine se liquéfie, vers le dixième jour, dans la partie profonde du tube, laissant intactes les régions supérieures.

Les *colonies isolées* se présentent sous l'aspect de petites sphères d'aspect nuageux, sur lesquelles s'insèrent de véritables houppes de fins rayons ; autour des colonies, on constate de petites bulles gazeuses ; quand, au dixième jour, la liquéfaction de la gélatine s'effectue, les colonies se réduisent à des flocons nageant dans une cupule ronde de gélatine liquéfiée.

Gélose. — Dans la profondeur, culture nuageuse, sans caractères bien distinctifs ; le milieu est disloqué par de nombreuses bulles gazeuses.

Pomme de terre. — Développement maigre.

Lait. — Développement facile. Le milieu n'est pas coagulé.

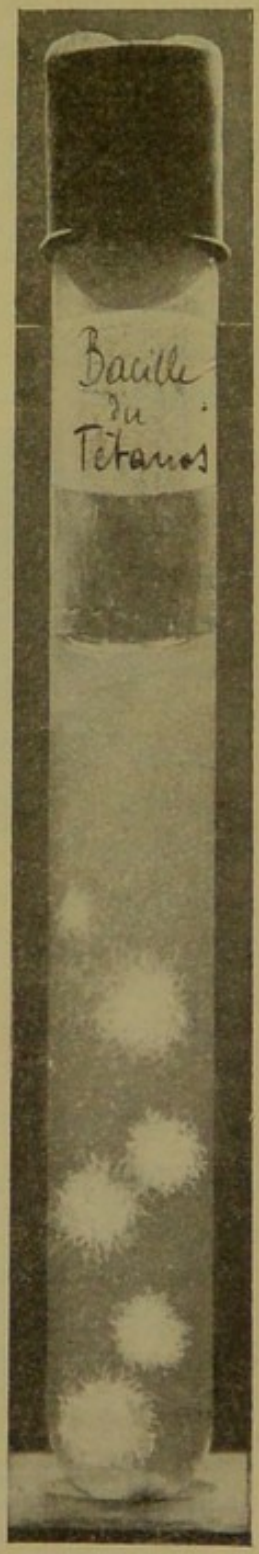


Fig. 246. — Culture des Bacilles tétaniques en gélatine.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — A l'état de spores, le Bacille tétanique est très résistant. Chauffées en vase clos, en milieu humide, elles supportent

sans périr quatre à cinq minutes d'ébullition ; elles résistent à une température de 80° prolongée durant six heures.

Desséchées dans un milieu albumineux (sérum, sang), Maljean les a vues souvent survivre à un chauffage de 40° dans la vapeur d'eau sous pression, durant quinze minutes.

A l'abri de l'air et de la lumière, leur vitalité dure plusieurs années. Incluses dans du sang ou du pus et seulement à l'abri de la lumière, elles conservent longtemps leur virulence. Nocard les a retrouvées vivantes après dix-huit mois sur des casseaux ayant servi à des poulains morts de tétanos à la suite de castration. Eiselsberg a pu donner le tétanos à un animal, en lui inoculant une écharde retirée de la main d'un tétanique deux ans et demi auparavant, et conservée dans une armoire.

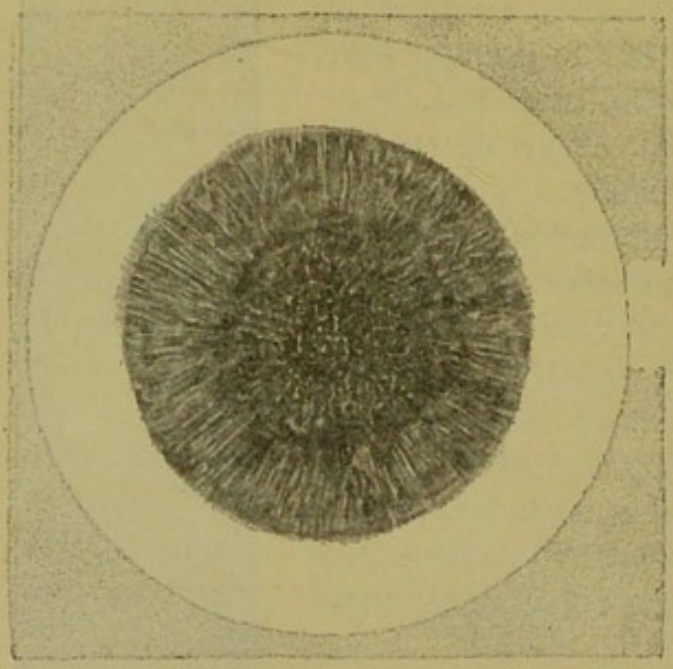


Fig. 247. — Colonie du Bacille tétanique en gélatine (Macé).

Formation d'indol. — Les cultures en bouillon sont riches en indol.

Formation de gaz. — Les gaz qui se dégagent dans les cultures ont été analysés : on y décèle de l'azote, de l'hydrogène et des carbures d'hydrogène.

Hémolysine. — D'après Ehrlich et Madsen, les cultures filtrées de Bacille tétanique contiennent une substance, différente de la toxine, qui dissout les hématies de la plupart des animaux domestiques. Cette *tétanolysine* est très instable : elle est détruite rapidement par un chauffage à 50° pendant vingt minutes ; exposée pendant cinq heures à 20°, elle perd la moitié de son pouvoir ; seule, la température de la glacière à 0° lui permet de conserver son activité pendant vingt-quatre heures.

Le tétanolysine précipite par le sulfate d'ammoniaque ; la poudre qui en résulte, après dessiccation, se conserve longtemps.

Agglutinabilité. — Le Bacille de Nicolaïer n'est pas agglutinable par le sérum de l'homme ou des animaux atteints de tétanos. Avec le sérum de cheval vacciné contre la toxine tétanique

l'agglutination peut se produire à des taux élevés : 1/2 000 et même 1/50 000 (Courmont).

HABITAT DU BACILLE TÉTANIQUE.

Dans l'organisme malade. — Le Bacille tétanique est décelable au niveau de la plaie d'inoculation; chez l'homme, on le retrouve dans le pus qu'elle sécrète. Par contre, sauf de très rares exceptions, *il n'envahit ni le sang, ni les viscères.* Cette seule constatation a permis de supposer que le Bacille élabore, au foyer où il s'est localisé, un poison diffusant dans l'organisme et responsable des accidents nerveux qui caractérisent le tétanos.

Dans les milieux ambiants. — Le Bacille tétanique siège, en dehors de l'organisme malade, dans tous les milieux extérieurs :

Dans la terre, terre des rues, des jardins, des champs soumis à la fumure, il s'y rencontre communément, surtout dans les couches superficielles. L'inoculation de ces produits à l'animal lui confère fréquemment le tétanos.

Les *poussières des habitations*, introduites avec la terre qui le contient, sont parfois tétanigènes (Chantemesse et Widal, Belfanti et Pescarolo, etc.). Dans les coins obscurs, les fentes des parquets, la spore tétanique, à l'abri de la lumière, peut se conserver pendant des années.

Les *végétaux* souillés par la poussière et la terre le récèlent facilement (expériences de Rietsch avec l'herbe sèche, de Peyraud avec la poussière de foin).

Il en est de même des *excréments des herbivores*, fait qui découle des constatations précédentes. Sanchez-Toledo et Veillon ont donné le tétanos à des lapins en leur inoculant des excréments de cheval et de vache non tétaniques. Ces animaux peuvent donc être des porteurs sains de spores tétaniques qui, introduites dans le tube digestif, résistent à l'action des sucs gastro-intestinaux.

Ce fait, important au point de vue étiologique, fait envisager l'animal comme un agent disséminateur du tétanos et « explique la nocuité des fumiers, le pouvoir tétanique des terres cultivées et *fumées*, de la terre des routes et surtout des rues, la quasi-constance du Bacille dans le sol des fermes, des écuries » (Vaillard).

POUVOIR PATHOGÈNE.

Le tétanos dit spontané survient chez l'homme ou l'animal à la suite d'une plaie, souvent légère, habituellement souillée par de la terre, du terreau de jardin, du fumier, ou bien des échardes de

bois, des débris de verre, etc., souillés eux-mêmes par un produit tétanifère. Chez l'homme, ce sont les jardiniers, les maraîchers, les palefreniers qui y sont les plus exposés.

Les blessures anfractueuses sont celles qui prédisposent le plus au tétanos.

Chez le cheval, le clou de rue, l'enclouure, les plaies des extrémités, les traumatismes du sabot sont les plus redoutés à cet égard.

Le tétanos opératoire était connu avant l'ère antiseptique. On en a décrit des épidémies; il était dû le plus souvent à la souillure spécifique d'instruments mal désinfectés. Il n'est pas rare chez les animaux, le taureau, le cheval, surtout après la castration ou l'amputation de la queue, opérations effectuées en des régions facilement souillées par des excréments pouvant être tétanifères. La vache devient parfois tétanique après le part ou l'avortement.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

En général, les animaux sont sensibles à l'infection tétanique. Dans les laboratoires, on utilise de préférence la *souris*, le *rat* et le *cobaye*; le *chien* est très résistant; la *poule* et le *pigeon* peuvent supporter impunément de très fortes doses de virus; ils sont réfractaires.

Pour obtenir le tétanos expérimental, il suffit d'injecter, sous la peau ou dans les muscles de la cuisse d'un animal sensible, une petite quantité de produit renfermant des bacilles ou des spores tétaniques.

Inoculation de pus ou de terre tétanifères. — On inocule sous la peau d'un animal du *pus recueilli sur une plaie* ayant provoqué le tétanos. Il se produit au point d'inoculation une tuméfaction plus ou moins étendue. Trois à quatre jours après, des contractures apparaissent tout d'abord au niveau de la région injectée, puis se généralisent; des attaques convulsives se produisent à la faveur de la moindre excitation. Bref, le tableau clinique du tétanos humain finit par se réaliser; l'animal succombe trente-six à quarante-huit heures après le début des symptômes.

A l'autopsie, on trouve au point d'inoculation un foyer purulent contenant, à côté des germes de la suppuration, de rares échantillons de Bacille tétanique. Ce pus peut servir à réinoculer avec succès d'autres animaux, mais, après trois passages ainsi effectués, les résultats restent négatifs (Vaillard).

Les viscères paraissent normaux, sauf une congestion pulmonaire passive due à la dyspnée prémortelle.

En injectant de la *terre tétanifère* dans les mêmes conditions, on

obtient les mêmes effets ; mais, au point d'inoculation, se produit souvent une escarre sèche ou un exsudat pseudo-membraneux dus à l'existence de germes associés.

Souvent l'animal succombe avant qu'il ait manifesté des symptômes tétaniques. La terre contenant fréquemment du Vibrion septique, ce dernier provoque une septicémie rapidement mortelle.

Inoculation de cultures pures. — L'inoculation de cultures pures de Bacille tétanique par les voies sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, intrapéritonéale, sous-dure-mérienne, réalise un tétanos typique. L'introduction par les voies digestives reste sans résultat.

Les cultures jeunes sont en général peu tétanigènes, car elles contiennent encore peu de toxine. Les vieilles cultures, riches en toxine, doivent être employées de préférence.

Inoculation sous-cutanée. — Il suffit de très faibles doses de cultures en bouillon (1/80 de centimètre cube) pour déterminer le tétanos chez la souris et le cobaye ; chez le lapin, il faut employer au moins 0^{cc},5 à 1 centimètre cube).

Après douze à vingt heures d'inoculation pour la souris, de deux à huit jours pour le lapin, le tétanos éclate. Les contractures débutent par le membre inoculé, puis s'étendent au membre opposé et se généralisent. La mort survient chez la souris en vingt-quatre à quarante-huit heures, chez le lapin en deux à cinq jours environ après l'apparition des premiers symptômes.

Avec des doses minimes, non mortelles, l'animal présente un tétanos localisé au membre inoculé. D'ailleurs, suivant la quantité injectée, l'activité des cultures, la résistance de l'animal, le tétanos peut prendre une forme aiguë ou chronique et aboutir en vingt ou trente jours à la mort, mais aussi à la guérison spontanée.

L'autopsie des animaux inoculés sous la peau ou dans les muscles ne montre qu'un œdème très léger au point d'inoculation, ou même aucune altération dans la région inoculée ; le bacille spécifique est rarement décelable au microscope. Cependant l'ensemencement d'un lambeau de tissu conjonctif prélevé au même point donne toujours une culture du germe. Le sang et les viscères restent stériles.

Inoculation intraveineuse, intrapéritonéale. — L'*inoculation intraveineuse* ou *intrapéritonéale* est suivie d'un tétanos généralisé d'emblée. Quand les doses ont été fortes, l'ensemencement copieux du foie, de la rate, du cerveau, de la moelle osseuse donne des cultures de Bacille tétanique, alors que, dans ces mêmes cas, le sang est stérile.

Inoculation sous-dure-mérienne. — L'*inoculation sous la dure-mère* provoque un tétanos de type céphalique avec trismus initial, qui se généralise dans la suite.

TOXINE TÉTANIQUE.

Le Bacille tétanique se localise strictement au niveau de la plaie initiale; il ne se généralise pas. Par conséquent les symptômes généraux, contractures, etc., doivent relever de l'action d'un poison élaboré par le germe et diffusant dans l'organisme. L'existence de cette toxine a été démontrée pour la première fois, en 1890, par Knud Faber; elle a été bien étudiée par Vaillard et Vincent.

Mode de préparation. — On ensemence le Bacille tétanique dans un ballon contenant du bouillon peptoné *frais*. On porte à l'étuve à 37° pendant dix-huit à vingt jours. A ce moment, on filtre sur bougie Chamberland ; le filtrat obtenu présente une réaction alcaline et dégage l'odeur caractéristique ; il est très toxique, car il tue la souris à la dose de 1/1 000 de centimètre cube.

Un artifice permet d'en augmenter encore la toxicité ; Vaillard et Vincent ont montré qu'il suffit d'utiliser ce fait que le bacille se développe facilement dans un milieu où une première génération a déjà élaboré son poison : dans un filtrat provenant d'une culture en bouillon datant de vingt jours, et tuant le cobaye à la dose minima de 1/150 centimètre cube, on fait un nouvel ensemencement; dix-huit jours après, nouvelle filtration : le liquide tue le cobaye à 1/500 de centimètre cube. On ajoute 20 centimètres cubes de bouillon pour 350 centimètres cubes de la culture ancienne; filtration après seize jours. Dans ces conditions, 1/1 000 de centimètre cube de filtrat tue le cobaye et 1/100 000 la souris.

Propriétés et nature de la toxine. — Les premières recherches avaient fait supposer que la toxine tétanique était une ptomaïne (Brieger). D'autres lui attribuèrent les propriétés des alcaloïdes. Ehrlich a pensé qu'elle était composée de plusieurs substances, l'une la *tétanospasmine*, agent convulsivant énergique, l'autre la *tétanolysine*, différente de la précédente, ne possédant aucune propriété tétanisante. En réalité, la toxine tétanique se rapproche assez étroitement des diastases, comme Roux et Yersin l'ont démontré pour la toxine diphtérique, avec laquelle elle présente de grandes analogies.

Comme les diastases, elle est très altérée par une température de 65° pendant une demi-heure ; elle est tuée à 80° pendant trois heures.

En vase clos, à l'abri de l'air et de la lumière, elle peut conserver pendant quatre mois son pouvoir toxique. Exposée à l'air durant un mois, elle perd une grande partie de son activité ; l'effet est plus rapide sous l'influence de la lumière solaire.

Par évaporation dans le vide sur l'acide sulfurique et à la température ordinaire, la toxine se réduit à un résidu brun, amorphe, très toxique. Additionné d'alcool à 90°, celui-ci en dissout une partie qui reste atoxique après évaporation. La partie insoluble dans l'alcool et très soluble dans l'eau donne aisément le tétanos à l'animal. La dialyse de cette substance tétanique s'effectue assez lentement.

Enfin, comme les diastases, la toxine tétanique adhère aux précipités de phosphate de chaux et d'alumine, que l'on détermine dans sa masse par addition de chlorure de calcium ; on les lave soigneusement à l'eau stérile ; on les inocule sous la peau du cobaye : ce dernier contracte le tétanos.

Pour Courmont et Doyon, le poison tétanique ne serait qu'un ferment soluble dénué de toxicité par lui-même, mais pouvant déterminer une fermentation de certaines substances de l'organisme : la véritable toxine en résulterait. Cette interprétation n'a pu être admise par les divers auteurs.

Enfin la toxine est contenue dans le sang des tétaniques. Niesen, Vaillard, etc., ont pu provoquer le tétanos chez l'animal en lui inoculant du sang recueilli sur des cadavres de tétaniques.

Effets expérimentaux de la toxine. — L'injection de toxine à l'animal sensible par n'importe quelle voie (*sous-cutanée*, *intramusculaire*, *intraveineuse*, etc.) reproduit trait pour trait le tétanos, tel qu'on l'obtient par inoculation de cultures.

A l'autopsie, on ne note aucune lésion particulière des viscères.

Par *injection intracérébrale* de toxine, Roux et Borrel ont provoqué un tétanos à caractères particuliers ; une très faible dose détermine une grande excitation, des crises convulsives intermittentes, des troubles moteurs et de la polyurie ; l'animal succombe rapidement. Le lapin, peu sensible à la toxine tétanique reçue sous la peau, est au contraire très sensible à l'injection intracérébrale ; le cobaye l'est moins, alors qu'il suffit au contraire d'une très faible dose sous la peau pour lui conférer un tétanos mortel.

En injectant la toxine dans *le péritoine* et *différents viscères* (testicule, foie, rein, utérus, etc.), J. Binot a déterminé une autre variété de tétanos : *tétanos splanchnique*, différent des précédents par l'évolution et les symptômes.

Après une incubation assez lente, le début se manifeste par une

sorte de frémissement vibratoire généralisé, puis des spasmes apparaissent à distance du point inoculé; les contractures mettent les pattes en extension perpendiculaire; ces contractures présentent des rémissions; jamais elles ne sont permanentes; la démarche est impulsive; l'attitude rappelle celle d'un cheval de bois; la dyspnée est assez analogue à la respiration de Cheyne-Stokes. Enfin la mort survient dans l'hypothermie, plus rapidement, à dose égale, que par injection sous-cutanée.

Ce tétanos rappelle certaines atteintes à évolution rapidement mortelle, observées chez l'homme quand l'infection s'est faite par le péritoine, l'utérus, etc.

Mode d'action de la toxine. — La toxine tétanique est un poison du système nerveux. Son affinité spéciale pour ce dernier est démontrée par l'expérience classique de Wassermann et Takaki :

On mélange de la toxine et de la matière cérébrale broyée; on centrifuge; le liquide qui en résulte est dénué de toxicité. Cependant la toxine n'est pas détruite; Roux et Borrel ont en effet montré qu'elle était seulement fixée et immobilisée par le système nerveux, puis, d'après Metchnikoff, absorbée et digérée par les leucocytes.

Les recherches d'A. Marie prouvent que la toxine arrive au système nerveux par deux voies : une partie passe dans la circulation, d'où elle est extraite par la fixation aux cellules nerveuses; l'autre est absorbée par les filets nerveux périphériques qui la portent de proche en proche, par le cylindraxe, au niveau des centres. Il en est certainement ainsi pour le tétanos dit moteur; dans le tétanos splanchnique, l'absorption se ferait par les filets sympathiques.

MÉCANISME DE L'INFECTION TÉTANIQUE DANS LES CONDITIONS NATURELLES.

« La pénétration du Bacille tétanique dans une plaie ne résume pas toute l'étiologie de la maladie. A cet incident, certaines conditions doivent s'ajouter, dont l'intervention est nécessaire pour que l'infection se produise; et c'est parce que celle-ci exige le concours simultané de plusieurs facteurs que le tétanos reste rare » (Vaillard).

Vaillard et Vincent ont en effet démontré que *les spores tétaniques provenant des cultures, débarrassées de la toxine qu'elles y ont élaborée, et injectées dans un tissu sain, ne provoquent pas le tétanos.*

Voici d'ailleurs leur expérience fondamentale :

On injecte à des cobayes ou des souris 0cc,5 de culture sporulée en bouillon, mais chauffée à 80°, température qui détruit la toxine sans altérer les spores. Cette dose énorme reste inoffensive pour l'animal. C'est que, aussitôt après l'inoculation, les spores sont englobées et détruites par les phagocytes (fig. 248).

Le tétanos survient au contraire quand on éloigne les phagocytes par addition d'acide lactique, doué de propriétés chimiotactiques négatives, ou si l'on protège les spores contre les leucocytes, en les enfermant avec du sable fin dans de petits sacs de papier Berzélius, qui établit une barrière entre elles et les leucocytes.

L'innocuité des spores pures, sans toxine, contraste avec le fait des inoculations positives effectuées chez l'animal à l'aide de parcelles de terre tétanigène ne contenant cependant que quelques spores. Il en est de même pour le tétanos humain. Pour que le tétanos éclate, il faut donc des conditions particulières permettant aux spores de germer, ce sont les suivantes :

Traumatisme. — La nature du traumatisme joue un rôle important : des spores sans toxine ne provoquent pas le tétanos si la porte d'entrée est une plaie simple, superficielle, régulière. Le tétanos survient au contraire quand elles sont injectées dans un tissu mortifié par une brûlure, l'écrasement, dans un foyer hémorragique, etc., conditions qui annihilent la défense de l'organisme et la phagocytose et permettent aux spores de germer.

Associations secondaires. — Le rôle des associations microbiennes dans la production du tétanos est considérable.

L'expérience suivante (Vaillard et Vincent) en est une preuve :

On injecte sous la peau du cobaye des spores sans toxine incapables de produire le tétanos, mais en même temps 0cc,5 d'une culture de *Microbacillus prodigiosus* : trente-deux heures après, débute un tétanos mortel. Les phagocytes se sont emparés de ce dernier germe et ont respecté les spores tétaniques qui ont pu germer à loisir et sécréter la toxine.

Ce fait explique comment la terre, si pauvre en spores tétaniques, peut tétaniser l'homme ou l'animal à la faveur des microbes banaux qu'elle renferme, et qui jouent ainsi un rôle favorisant très marqué. Ce rôle favorisant, toutefois, n'est pas dévolu à tous les germes ; Vaillard et Vincent n'ont pu provoquer le tétanos quand le microbe associé était du staphylocoque, du streptocoque, du *subtilis*, du pneumobacille. Pour qu'un produit tétanique puisse donner le tétanos, il faut donc la présence :

1° Du Bacille ou des spores tétaniques ;

2° D'un germe capable de favoriser sa germination.

Rôle de la chaleur. — La chaleur est encore un élément favorisant (H. Vincent). Des cobayes inoculés avec des spores tétaniques sans toxine, placés à l'étuve à 40° durant deux à trois jours, contractent un tétanos suraigu évoluant comme le tétanos splanchnique : le bacille s'est généralisé dans tous les tissus. Chez des cobayes injectés depuis trente et soixante jours, puis mis à l'étuve dans les mêmes conditions, le tétanos survient encore. Ces faits s'expliquent par la destruction des phagocytes sous l'influence de ces

Fig. 248. — Spores sans toxine phagocytées (expérience de Vaillard).

températures élevées, permettant ainsi la germination des spores restées immobilisées dans les leucocytes.

Rôle des substances chimiques. — D'après H. Vincent, les sels de quinine agissent à la façon de l'acide lactique et favorisent l'infection tétanique quand ils sont injectés en même temps que les spores sans toxine. Bien plus, chez des cobayes inoculés avec ces dernières depuis quelques jours et restés sains, on injecte sous la peau un sel de quinine : le tétanos éclate, et le Bacille tétanique, resté à l'état latent et pour ainsi dire appelé au niveau du point d'inoculation de la quinine, y pullule abondamment et se généralise même au niveau de tous les viscères.

DIAGNOSTIC DE L'INFECTION TÉTANIQUE.

Recherche chez l'homme ou l'animal. — Sur le vivant et le cadavre, le Bacille tétanique doit être recherché uniquement au niveau de la plaie tétanique. On sait en effet que, dans la grande majorité des cas, il n'existe pas de généralisation dans le sang circulant.

Examen direct. — Prélever du pus ou de l'exsudat au niveau de la plaie. On en fait des frottis sur lame. Colorer par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée à 1/20. Dans les conditions naturelles, on décèle ainsi, entre des germes associés, le Bacille tétanique prenant le Gram. Il s'y trouve habituellement en minime abondance. De ce qu'on ne l'y décèle pas, on ne saurait conclure à son absence. En ce cas, il faut toujours recourir aux cultures.

Chez les animaux qui ont reçu sous la peau des cultures pures, cet examen reste le plus souvent négatif, mais le Bacille se révèle quand on ensemence des fragments de tissu conjonctif prélevé au niveau du point inoculé.

Mise en culture. — On ensemence tout d'abord le produit tétanifère en bouillon peptoné frais et en anaérobiose. Mise à l'étuve à 38°. Vers le cinquième jour, le bouillon est trouble et contient des bacilles en épingle mélangés à une foule d'autres germes.

Pour purifier la culture, on chauffe à 100° pendant une ou deux minutes; les microbes étrangers sont tués, la spore tétanique résiste. On réensemence en bouillon et dans le vide, et, après plusieurs passages semblables, la culture ne renferme plus que le Bacille tétanique à l'état de pureté.

Parfois il est mélangé à du Vibrion septique et à un Bacille pseudo-tétanique, à spore terminale; ils résistent tous deux au chauffage. Pour les isoler, il convient de recourir aux milieux solides et plus particulièrement à l'isolement sur gélatine en tubes de Vignal, où l'on cueille les colonies séparées.

Inoculations. — On soumet alors à l'inoculation les cultures ainsi isolées. S'il s'agit de Bacille tétanique, elles reproduisent le tétanos comme il a été indiqué plus haut.

Recherche dans la terre, les poussières, etc.—La recherche directe est malaisée; il convient de recourir tout d'abord à l'inoculation, à l'animal, des fragments supposés tétanifères. On recherche ensuite, suivant le procédé précédent, le Bacille tétanique sur le cadavre de l'animal.

Rappelons qu'un certain nombre d'animaux infectés dans ces conditions succombent par le Vibrion septique avant que le tétanos n'ait eu le temps de se déclarer.

SÉRUM ANTITÉTANIQUE.

Le sérum des animaux immunisés par injection de doses progressivement croissantes de toxine tétanique présente des propriétés qui ont été utilisées dans la pratique journalière pour prévenir et essayer de guérir le tétanos. Behring et Kitasato, en 1890, ont montré le pouvoir antitoxique que possède un tel sérum. Roux et Vaillard poursuivirent son étude; leurs expériences aboutirent à des déductions importantes sur la valeur de la sérothérapie antitétanique.

Préparation du sérum. — On immunise les chevaux contre la toxine tétanique en injectant tout d'abord des doses de cette dernière, affaiblie par le mélange avec une solution iodo-iodurée. Ces injections sont répétées tous les trois à quatre jours. Vers le vingt-cinquième jour, le sérum présente déjà un certain pouvoir antitoxique que l'on renforce alors puissamment par les injections sous-cutanées de toxine pure (10, 15, 20 centimètres cubes, etc., tous les deux ou trois jours). Au bout de six semaines environ, on injecte alors dans les veines 50, 100, 150... jusqu'à 350 centimètres cubes. Le cheval supporte sans dommage ces doses énormes de toxine, dont deux gouttes suffisent à tuer un cheval non immunisé.

Dix jours après la dernière injection, on recueille le sérum par une saignée. Pour entretenir ensuite l'immunisation, on injecte à nouveau de fortes doses, à quelques jours d'intervalle.

Propriétés du sérum. — *Pouvoir antitoxique.* — On mélange *in vitro* du sérum antitétanique et une dose sûrement mortelle de toxine. Le tout est injecté à l'animal ; il survit et ne présente aucun symptôme.

Roux et Vaillard ont ainsi pu obtenir un sérum qui, à la dose de 1/100 000 de centimètre cube, neutralise cent doses mortelles de toxine.

Ce pouvoir antitoxique une fois connu, E. Roux et Vaillard établirent dans quelle mesure et dans quelles conditions il pouvait être utilisé pour prévenir et même guérir le tétanos.

Pouvoir préventif : contre la toxine tétanique. — Un animal reçoit sous la peau du sérum antitétanique, puis, quarante à soixante minutes après, une dose mortelle de toxine tétanique; il ne présente aucun symptôme et survit.

Si le sérum et la toxine sont injectés *simultanément* en des points

différents, ces deux substances diffusent avec une rapidité inégale dans les tissus ; la toxine devance le sérum, et la minime quantité qui échappe alors à l'antitoxine suffit à provoquer un tétanos limité, léger et toujours curable.

Enfin, quand le sérum est injecté *après* la toxine, mais avant le début des symptômes tétaniques, il se produit toujours un tétanos local. Plus l'injection de sérum est tardive, plus sa dose doit être considérable pour empêcher la généralisation du tétanos et la mort.

Contre l'infection tétanique. — Contre l'infection tétanique expérimentale, le pouvoir préventif s'exerce sur une marge moins restreinte, car il existe toujours un certain intervalle entre le moment de l'inoculation et celui où la toxine est mise en circulation. Par contre, l'empoisonnement est continu, le bacille continuant à sécréter sa toxine tant qu'il est vivant. Ce sont en réalité les conditions de l'infection naturelle.

L'injection de sérum *avant* l'infection et *au moment* de l'infection protège sûrement et complètement les animaux.

Si le sérum intervient *après* l'infection, la préservation est certaine, à condition que le sérum soit injecté quarante heures après l'inoculation tétanigène, et que le sérum soit utilisé en quantité suffisante. Si l'injection bacillaire est pratiquée dans les muscles, la prévention devient aléatoire, en raison de la moindre activité phagocytaire qui s'y développe.

L'immunité conférée par le sérum n'est d'ailleurs pas durable. Après son élimination de l'organisme, vers le douzième ou quinzième jour, les spores tétaniques immobilisées par les phagocytes n'étant plus sous l'influence du sérum, peuvent germer et lancer dans la circulation la toxine, qui ne trouve plus d'antitoxine pour annihiler ses effets.

L'application de ces données essentielles a été faite par Nocard sur les grands animaux domestiques. Sur 2 500 animaux ayant reçu du sérum aussitôt après des opérations souvent suivies de tétanos (castration, amputation de la queue, hernie, etc.), aucun n'a pris le tétanos. Sur 600 autres traités un, deux, quatre jours et plus après des blessures souillées de terre, de fumier, des clous de rue, etc., un seul a contracté le tétanos. A la même époque, 314 animaux non traités étaient atteints.

Réunissant les statistiques de Nocard, Labat et Vallée, sur 16 917 animaux traités préventivement, Vaillard ne compte qu'un cas de tétanos.

Chez l'homme, le pouvoir préventif est indéniable. Une foule de

faits montrent que les chirurgiens n'observent plus le tétanos chez les blessés qu'ils ont injectés préventivement. Les quelques exceptions à la règle concernent des cas où le sérum a été injecté trop tardivement après la blessure inoculante et où, le bacille continuant à pulluler dans la peau, les injections n'ont pas été répétées après l'élimination du sérum.

Pouvoir curatif. — De leurs expériences sur l'animal, E. Roux et Vaillard avaient conclu que le sérum antitétanique ne possédait aucune action curative sur le tétanos déclaré. Quand, en effet, les premiers symptômes apparaissent, « la toxine élaborée au foyer d'infection est parvenue aux centres nerveux, et ceux-ci peuvent être assez atteints pour que la mort survienne fatalement. L'antitoxine, injectée sous la peau ou dans le péritoine, neutralise bien la toxine en circulation, mais ne remédie pas aux lésions produites et ne peut rien contre un empoisonnement réalisé » (Vaillard).

Dans l'application à la thérapeutique humaine, il en est de même ; le sérum ne peut rien contre les lésions déjà constituées, mais en neutralisant la toxine au fur et à mesure de son élaboration dans le foyer tétanique, il est capable d'enrayer les progrès de l'intoxication. Aussi la sérothérapie échoue-t-elle dans les cas aigus et dans le tétanos splanchnique d'origine viscérale. Par contre, il paraît modifier heureusement l'évolution des accidents dans les cas à début tardif et à marche lente ou chronique.

Employé dans un but thérapeutique, le sérum peut être injecté *sous la peau*, mais à doses fortes et répétées. Dans les cas plus graves, utiliser la *voie veineuse*. Quelques succès comptent à l'actif de la sérothérapie *intrarachidienne*. Enfin, à la suite de leurs expériences sur l'animal, Roux et Borrel se sont adressés à la *voie intracérébrale* :

Ayant constaté que, dans le tétanos, le sérum introduit sous la peau agit contre la toxine en circulation, mais non contre la toxine fixée par les éléments nerveux, ils eurent l'idée de porter directement le sérum au contact de la substance nerveuse. En effet, chez des cobayes rendus tétaniques, l'injection intracérébrale de sérum arrête l'évolution du tétanos, et ils guérissent. Malheureusement, en thérapeutique humaine, cette méthode n'a pas donné tous les succès auxquels on pouvait s'attendre : à côté de quelques cas de guérison, de nombreuses atteintes mortelles ont été observées, malgré l'emploi de cette nouvelle méthode. En la perfectionnant, il est possible qu'on enregistre un jour de meilleurs résultats.

CHAPITRE XLV

VIBRION SEPTIQUE

La découverte du Vibrion septique est due à Pasteur (1875). Il fut amené à l'étudier au cours de ses travaux sur le charbon, pour réfuter les objections faites par Gaillard et Leplat sur la théorie

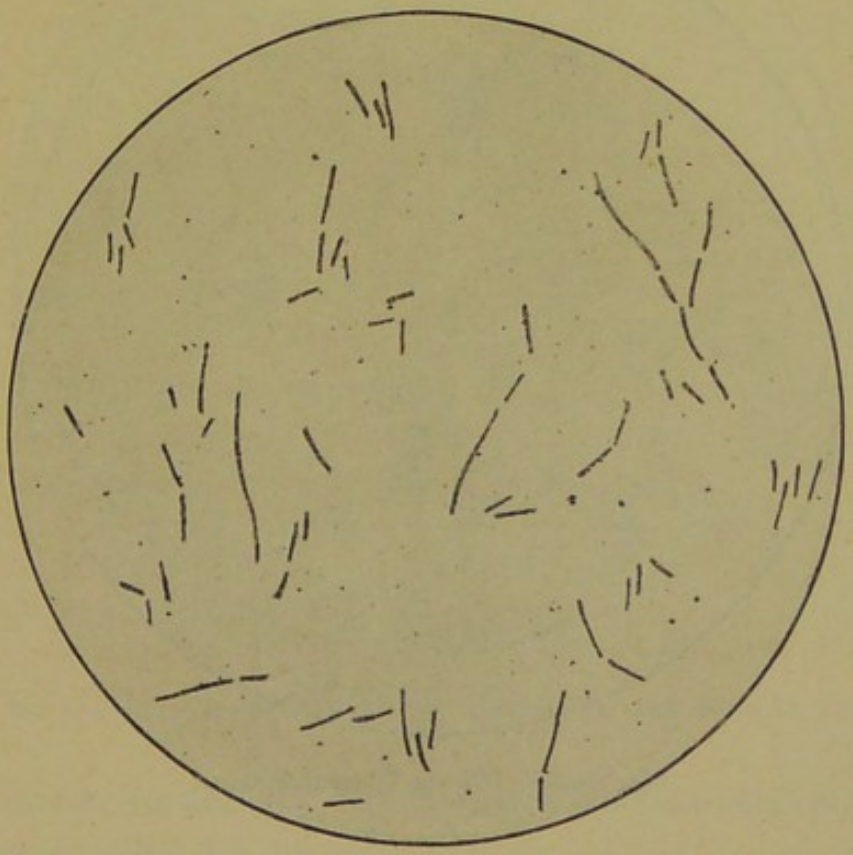


Fig. 249. — Vibrion septique. — Culture en bouillon.

parasitaire de l'infection charbonneuse. Il démontra que les résultats obtenus par ces auteurs étaient dus à la présence, dans les cadavres, des vibrions de la putréfaction.

Plus tard, les travaux de Koch, Chauveau et Arloing complètent l'étude biologique du germe en question. Ils définissent son pouvoir pathogène et le rendent responsable des lésions de *gangrène foudroyante*, *gangrène gazeuse*, *érysipèle bronzé*, *septicémie gangreneuse*, observées si fréquemment à cette époque après les traumatismes et

les opérations chirurgicales, mais presque disparues depuis lors grâce à l'asepsie.

En France, on le désigne sous le nom de Vibrion septique; en Allemagne, c'est le Bacille de l'œdème malin, suivant la dénomination que Koch lui a donnée.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le Vibrion septique est un long bâtonnet (3 à 15 μ de long), plus fin que la bactérie charbonneuse

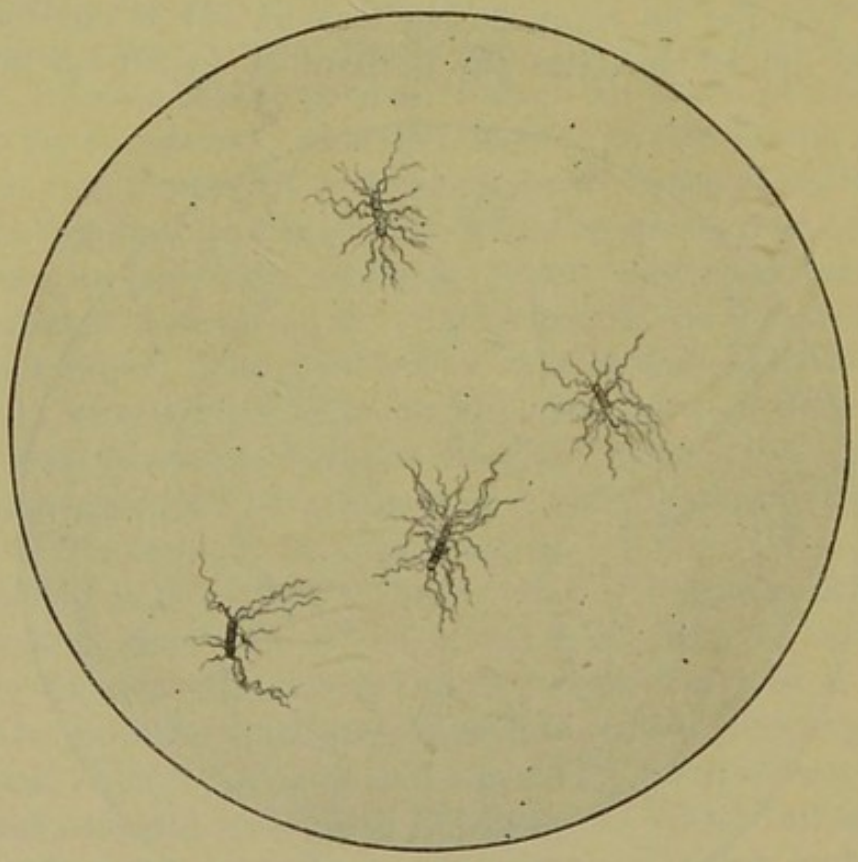


Fig. 250. — Cils de Vibrion septique.

(0 μ, 5 à 1 μ de large). Il est droit ou flexueux, à extrémités coupées net. Dans les cultures et dans l'organisme, il se montre isolé ou sous forme de longues chaînettes d'éléments placés bout à bout (fig. 249); mais, contrairement à la bactéridie charbonneuse, ces éléments sont de dimensions très inégales.

Examiné à l'état frais, il est mobile; il présente des mouvements de reptation. Vu dans le sang, « il écarte les globules rouges comme un serpent écarte l'herbe dans les buissons » (Pasteur). Cette mobilité ne se montre qu'à l'abri de l'air. On peut s'en rendre compte sur des préparations fraîches entre lame et lamelle; au centre, ils

sont mobiles; à la périphérie où ils subissent le contact de l'air, ils sont immobiles.

Coloration. — Il fixe bien toutes les couleurs d'aniline et *prend le Gram*. Toutefois, dans cette dernière technique, il est indispensable d'employer le violet de gentiane phéniqué et de laisser agir la solution de Gram pendant cinq minutes; sinon il arrive que la décoloration s'effectue.

Cils. — Le Vibrion septique est pourvu sur toute son étendue de

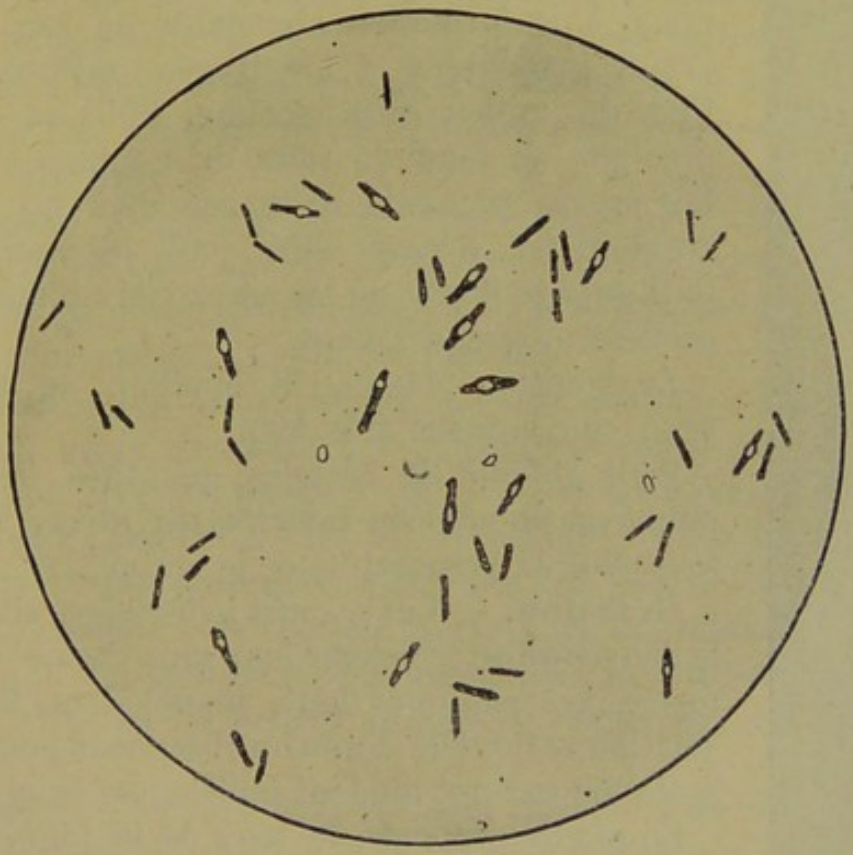


Fig. 251. — Vibrion septique. Culture sur gélose âgée de trois jours. Spores.

cils très nombreux (fig. 250), trois à quatre fois plus longs que le corps microbien, formant des torsades.

Spores. — Dans les cultures et dans les cadavres, peu de temps après la mort, ce qui ne se produit jamais pour le charbon, on observe des spores, se montrant à l'état frais sous l'aspect de points ovoïdes, réfringents, siégeant soit dans le corps du bâtonnet (fig. 251), soit à une extrémité. A leur niveau, le corps du bâtonnet se renfle légèrement. Elles se colorent par les procédés usités pour la coloration des spores.

CULTURES.

Le Vibrion septique est anaérobie. Toutefois il pousse dans les milieux où l'air est simplement raréfié ; Rosenthal a même pu l'acclimater à la vie en aérobiose.

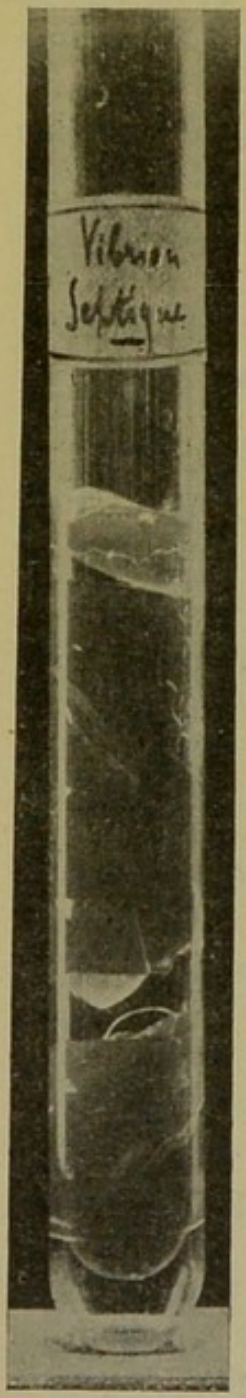


Fig. 252. — Culture en gélose. Dislocation du milieu par les gaz.

Bouillon. — Après quinze à vingt heures de séjour à l'étuve, le bouillon devient uniformément trouble. La culture dégage une odeur de putréfaction grâce à la formation abondante de gaz, tels que l'acide carbonique et l'hydrogène sulfuré. La réaction du milieu reste alcaline. Puis un dépôt se précipite au fond du tube, et le milieu s'éclaircit. Les spores prennent naissance déjà au bout de vingt-quatre heures ; elles sont perceptibles surtout dans le dépôt, où les corps vibrioniens se désagrègent progressivement.

Le bouillon Martin, le bouillon de poule, de veau conviennent très bien.

Pour obtenir de grandes quantités de culture, employer le procédé imaginé par Roux (Voy. plus loin pour la préparation de la toxine).

Gélatine. — Les *colonies isolées* apparaissent vers le deuxième ou troisième jour sous forme de points nuageux à contours flous, blanchâtres. Bientôt la gélatine se liquéfie ; enfin on observe au pourtour des bulles de gaz qui tendent à disloquer le milieu.

En *piqûre profonde*, le long de la piqûre, prend naissance, vers le deuxième jour, une ligne opalescente sur laquelle se greffent des renflements globuleux, de petites sphères d'aspect nuageux. En même temps des bulles de gaz apparaissent, formant des fissures où s'étend la culture. La liquéfaction débute autour des sphères pour envahir ensuite toute l'épaisseur du milieu.

Gélose. — Ensemencé en piqûre, le culot de gélose montre dès le premier jour une traînée blanchâtre à contours festonnés. Des gaz se dégagent en abondance et disloquent la gélose, qui présente des fissures où la culture continue à se développer (fig. 252).

Pomme de terre. — On ne constate pas de culture appréciable.

Milieux liquides organiques. — Dans les milieux liquides

organiques, sang, sérum, ascite, jus de viande, bouillon additionné de ces produits, la culture est très abondante.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — La résistance du Vibrion septique est variable suivant qu'on l'observe dans le virus frais ou desséché.

Une température de 100° détruit le virus frais en quelques minutes, les spores provenant de cultures sur gélose ou gélatine en cinq à quinze minutes. A 90°, elles sont tuées en trente minutes, à 80° en dix à douze heures. Quand il est desséché, il faut une température de 120° pendant quinze minutes pour avoir sûrement raison de sa résistance.

A elle seule, la dessiccation ne semble posséder aucune influence nocive sur la vitalité : dans le sol et les poussières, en effet, la spore résiste de longs mois, indéfiniment même si elle est à l'abri de la lumière, comme dans la profondeur du sol.

La résistance aux antiseptiques est très marquée; le sublimé à 1 p. 1000, l'acide phénique à 5 p. 100, les vapeurs d'iode n'ont aucune action après vingt-quatre et même quarante-huit heures de contact. D'après San Felice, les sels de potasse ont sur les spores une action antiseptique puissante, alors que les sels de soude restent inactifs. La chaleur aide l'action de certains antiseptiques ; l'acide phénique à 5, 2 et même 1 p. 100, maintenu à la température de 36°, détruit le virus en six heures de contact (Chauveau, Arloing, Cornevin).

Virulence. — La virulence est assez variable d'un échantillon de Vibrion septique à un autre ; certains même sont avirulents pour le cobaye.

Pour un Vibrion septique donné, la virulence peut être modifiée Cornevin l'aurait affaiblie par l'action prolongée d'antiseptiques tels que l'acide gallique et la coumarine, ou par passages successifs par le rat blanc. Arloing, Cornevin et Thomas l'ont atténuée par séjour. à l'étuve à 37° en ampoules scellées.

La virulence peut être exaltée par passages sur le cobaye, à ce point que 1 centième de goutte peut tuer le lapin en huit heures (Besson).

Actions chimiques. — Le Vibrion septique attaque diverses substances chimiques : les sucres, l'amidon, la dextrine, les matières azotées; à leurs dépens, il forme de l'alcool, de l'acide butyrique, acétique, du formol, puis des gaz; hydrogène sulfuré, hydrocarbures, anhydride carbonique, etc.

Agglutinabilité. — Le Vibrion septique est agglutinable par l'antisérum préparé par immunisation des animaux. En quelques minutes, une culture en bouillon Martin est agglutinée à 1 p. 30, après un délai plus long à 1 p. 25 000 et même 1 p. 30 000. Cette agglutinabilité est spécifique, car elle est absente chez des germes assez voisins (paraseptiques) décrits par Liborius, Novy, Kerry.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

A part le rat d'égout, qui est presque réfractaire, tous les animaux sont réceptifs à l'action pathogène du Vibrion septique; le cobaye et la souris sont les plus sensibles.

Mais, pour que l'infection soit obtenue, il faut que l'inoculation soit

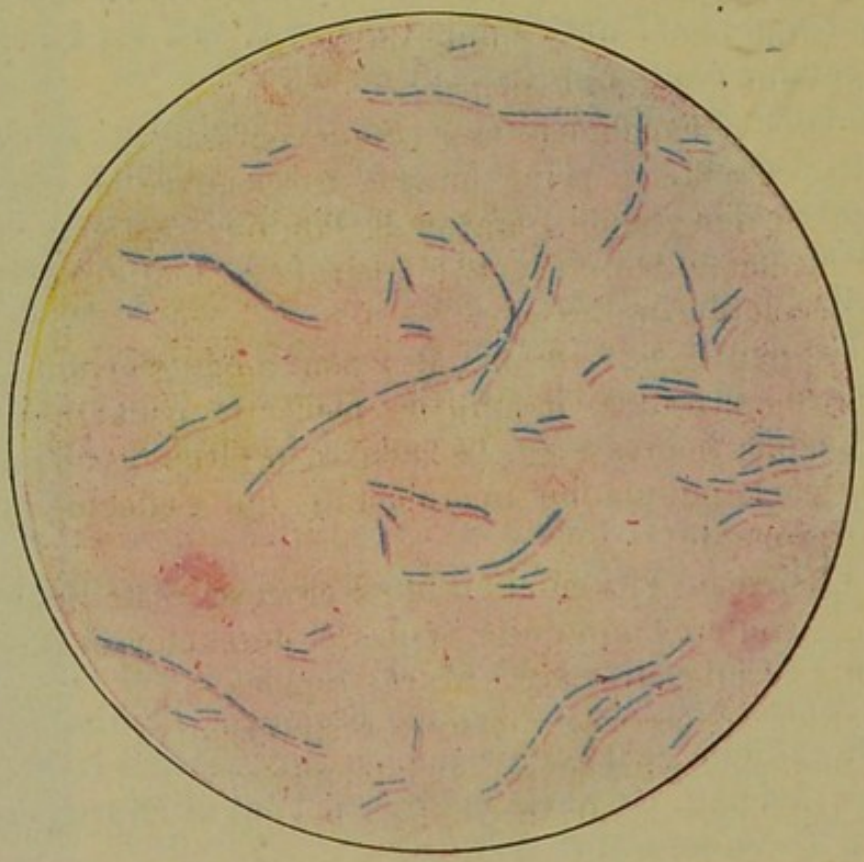


Fig. 253. — Vibrion septique dans la sérosité péritonéale de cobaye.

faite profondément sous la peau, dans les muscles, dans le péritoine, car le Vibrion septique est, avons-nous dit, anaérobie. Pour cette même raison, une inoculation sous-cutanée reste sans effet, si elle est faite superficiellement.

Les inoculations *sous la peau* peuvent être effectuées à l'aide de culture virulente, ou de sérosité d'animal atteint, ou encore à l'aide de parcelles de terre contenant le Vibrion septique. Les lésions

qu'on observe sont identiques dans tous les cas, et l'évolution de l'infection est la même chez la plupart des animaux. Chez le cobaye, voici ce qu'on observe :

Après inoculation sous-cutanée profonde d'une minime quantité de culture dans la région de la cuisse ou de l'abdomen, une boule d'œdème se forme rapidement au point de l'injection; le cobaye reste dans un coin de sa cage, immobile, le poil hérissé; il présente quelques convulsions et succombe parfois en moins de douze heures. Quand l'infection prend une allure foudroyante, avec un virus exalté par exemple, l'œdème local ne se produit pas, et la généralisation s'effectue immédiatement.

L'autopsie montre les lésions suivantes :

Au point d'inoculation, on constate un œdème plus ou moins étendu; les muscles sont rouges, infiltrés par une sérosité abondante; des bulles de gaz infiltrent le tissu conjonctif interstitiel et donnent de la crépitation au toucher ; elles sont plus particulièrement perceptibles dans les points où le tissu cellulaire est lâche, notamment dans la région axillaire.

A l'ouverture de l'abdomen, le péritoine contient un épanchement séreux; cette sérosité, à peine louche, très pauvre en leucocytes, est envahie par une grande quantité de Vibrions septiques, présentant la forme filamenteuse (fig. 253); la rate est molle et diffluente ; le foie est décoloré, comme lavé.

Le sang est pauvre en Vibrions; ils y sont même souvent absents. Pour les faire apparaître, il suffit de placer le cadavre à l'étuve pendant quelques heures à 35°. Le cadavre ne tarde pas d'ailleurs à être envahi par la pullulation microbienne, qui s'effectue avec une rapidité surprenante.

D'après Chauveau, l'inoculation intraveineuse reste inoffensive : bien plus, elle confère l'immunité. Seules les doses élevées produisent des accidents toxiques très aigus et très rapides.

L'inoculation par les *voies digestives* reste négative.

Il en est de même, en général, de l'inoculation par les *voies respiratoires*; le lapin cependant succombe à la suite de l'inoculation intratrachéale.

HABITAT NORMAL DU VIBRION SEPTIQUE.

Le Vibrion septique siège à l'état normal, à l'état de spores, dans le sol et dans l'eau. C'est dans le sol cultivé, la terre des jardins, qu'on le trouve en plus grande abondance. Dans la terre des forêts il est rare. Les spores que l'on rencontre dans l'eau proviennent du sol qui a été lavé.

Il est facile de les mettre en évidence en inoculant à l'animal des parcelles de terre, ou, comme l'a fait Pasteur, de l'eau de lavage de la terre en question.

On trouve encore les spores du Vibrion septique dans le contenu intestinal des animaux et même de l'homme. Leur présence est, à part quelques rares exceptions, sans influence fâcheuse pendant la vie, même quand l'intestin est atteint de lésions qui pourraient favoriser leur pénétration dans la circulation. Mais, après la mort, la pullulation est rapide et abondante; les spores germent, et la partie mycélienne du Vibrion envahit la paroi intestinale pour se répandre peu à peu dans toutes les régions ; le Vibrion septique envahit le sang après sa désoxygénation.

INFECTION DANS LES CONDITIONS NATURELLES.

Pénétration du virus. — Le plus souvent la pénétration du virus s'effectue par la *voie cutanée*, à la faveur de traumatismes ou d'interventions chirurgicales.

Les instruments du chirurgien ou du vétérinaire, souillés spécifiquement, peuvent effectuer une véritable inoculation ; elle survient à la suite de sétons creusés dans un tissu infecté par une aiguille ou une mèche de gaze souillées.

Facteurs favorisant l'infection. — Divers facteurs importants favorisent la pullulation microbienne :

Nature du traumatisme. — Nous avons vu que les plaies superficielles étaient peu aptes à favoriser l'infection septique à cause de leur exposition à l'air. En général, ce sont les plaies profondes, anfractueuses, accompagnées de contusion des tissus et renfermant des caillots sanguins, qui, souillées par un produit contenant des spores, comme la terre et le fumier, sont suivies de gangrène.

La mortification des tissus est un facteur très favorable : en effet, on cautérise la peau d'un lapin avec un agitateur chauffé au rouge ; sous l'escarre produite, on injecte des spores sans toxine ; alors que, comme on le verra, les témoins résistent, les animaux ainsi traités succombent rapidement.

Associations microbiennes. — Quand on injecte profondément sous la peau une culture de Vibrions septiques sporulés, les spores sont injectées en même temps que la toxine; cette dernière éloigne les phagocytes par ses propriétés chimiotactiques négatives; la spore peut germer et la pullulation microbienne s'effectue.

Si, au contraire, on débarrasse les spores de leur toxine par un chauffage à 60°, les spores sont englobées par les phagocytes, et

l'inoculation reste inoffensive. Cependant les spores ainsi dénuées de toxine peuvent germer si on injecte en même temps de l'acide lactique, qui éloigne les leucocytes, ou des parcelles de terre, dont les leucocytes s'emparent, laissant à la spore le temps d'opérer sa germination.

Besson a montré que certaines associations microbiennes jouaient ce même rôle favorisant : quand on injecte avec des spores sans toxine certains germes tels que le *Micrococcus prodigiosus*, le Staphylocoque doré, etc., ces derniers, doués de propriétés chimiotactiques positives, sont englobés par les phagocytes, qui négligent d'attaquer la spore septique et lui permettent de poursuivre son évolution.

Or, dans les conditions naturelles, la souillure accidentelle des plaies apporte, en même temps que la spore du Vibrion septique, des germes quelconques, saprophytes souvent, qui peuvent ainsi favoriser l'éclosion de la gangrène gazeuse.

On ne saurait trop souligner ici l'analogie qui existe entre ces conditions étiologiques et celles qui favorisent l'évolution du tétanos chez l'homme et les animaux.

TOXINE.

Des désordres produits dans l'organisme par le Vibrion septique, les uns semblent dus au microbe lui-même, d'autres aux poisons qu'il sécrète ou excrète. Plusieurs auteurs ont étudié ces derniers.

Roux et Chamberland ont filtré sur bougie de porcelaine de la sérosité musculaire d'animaux morts de l'infection septique expérimentale. Le liquide obtenu était doué d'une toxicité assez faible, puisqu'il en fallait 40 centimètres cubes introduits dans le péritoine du cobaye pour entraîner la mort de ce dernier.

Besson a tout d'abord confirmé les résultats acquis par Roux et Chamberland, mais il a réussi à préparer un poison incomparablement plus actif avec les cultures du Vibrion septique par un procédé dû à Roux :

On place 500 grammes de viande hachée et quelques centimètres cubes de solution de soude à 1 p. 100 dans un ballon de 1500 centimètres cubes environ. On porte à l'autoclave à 115° pendant vingt minutes. Puis on ensemence à l'aide de quelques gouttes de sérosité prélevée sur un cobaye rendu septicémique. On remplace le bouchon d'ouate du ballon par un bouchon de caoutchouc stérile muni de deux tubes : l'un plongeant dans le milieu de culture ensemencé, et courbé à l'extrémité à angle aigu, se termine par une extrémité effilée. L'autre s'arrête à la partie supérieure du ballon; il est coudé extérieurement à angle droit, porte une bourre d'ouate et un étranglement près de son extrémité, que l'on adapte à une

trompe à vide. On fait le vide, on ferme le tube par un trait de chalumeau au niveau de l'étranglement. On porte le tout à l'étuve de 37°.

Après un séjour de vingt heures, des bulles de gaz viennent crever à la surface du milieu, transformée en bouillie pâteuse; la viande présente une teinte rose. Au deuxième jour, on brise l'effilure du tube par où le vide a été fait, pour laisser échapper les gaz dégagés par la culture, qui gêneraient ultérieurement cette dernière. La culture continue à se faire ensuite à l'abri de l'air grâce à la production permanente de l'hydrogène et de l'acide carbonique.

Le ballon est retiré de l'étuve le sixième jour, moment où la toxicité a atteint son maximum. On décante la couche liquide. On lui ajoute le liquide provenant de la pression de la couche solide par une presse à viande. On filtre sur bougie Chamberland.

Le produit ainsi obtenu est assez toxique : inoculé dans le péritoine du cobaye de 300 à 400 grammes, à la dose de 5 à 10 centimètres cubes, il produit de la dyspnée, de l'arythmie, de la bradycardie, puis de l'hypothermie ; la mort survient rapidement : l'autopsie montre un intestin hyperémié, de teinte hortensia ; la cavité péritonéale contient quelques centimètres cubes de sérosité stérile.

Chez des cobayes de 400 à 500 grammes inoculés sous la peau, l'état général n'est pas modifié, mais il se produit de l'œdème ou une escarre au point d'inoculation.

L'activité de cette toxine diminue sous l'influence d'une température de 80° à 100°. Elle se conserve bien en vase clos, à l'abri de l'air et de la lumière. Besson a montré, en introduisant dans le péritoine de cobayes et de lapins de petits tubes capillaires remplis de toxine, les propriétés chimiotactiques négatives de cette dernière. Celles-ci disparaissent et deviennent même positives après un chauffage à 85° pendant deux heures.

Enfin Leclainche et Morel ont préparé une toxine pure avec les cultures en bouillon Martin, qu'ils ont soin, non pas de filtrer, mais seulement de décanter. 5 centimètres cubes en injection intraveineuse font succomber le lapin ; en injection intracérébrale, il suffit de V à VI gouttes pour le tuer infailliblement.

IMMUNISATION. — SÉROTHÉRAPIE.

L'immunisation active des animaux a pu être obtenue par divers procédés :

Injection intraveineuse de cultures. — Chauveau et Arloing ont montré que l'injection intraveineuse de cultures, chez certaines espèces animales, l'âne en particulier, conférait l'immunité. Un âne ainsi traité peut recevoir impunément 0^{cc},5 à 1 centimètre cube

sous la peau, sans présenter d'autre accident qu'un abcès au point injecté, où fourmillent les Vibrions septiques.

Virus affaiblis. — Cornevin a vacciné des chiens et des poules par injection sous-cutanée ou péritonéale de cultures atténuées par la coumarine et l'acide gallique. Les résultats sont peu probants, car ces animaux sont relativement peu sensibles.

Vaccination par la toxine. — Roux et Chamberland, en 1887, tentèrent de vacciner par injection de cultures stérilisées par chauffage à 105-110° pendant dix minutes; ils ont employé de même la sérosité musculaire filtrée. Ils en introduisaient 30 à 40 centimètres cubes dans le péritoine pendant trois jours consécutifs. Les cobayes ainsi vaccinés résistaient à l'inoculation virulente, tuant les témoins en dix-huit à vingt heures.

Sérothérapie. — Elle fut tentée en 1898 par Leclainche avec le sérum d'âne immunisé par injection intraveineuse de sérosité septique. Son étude fut poursuivie en 1901 par Leclainche et Morel.

Des chevaux ou des ânes reçoivent dans les veines, à doses progressives, des cultures au bouillon Martin âgées de cinq à dix jours. Leur sérum possède des propriétés préventives manifestes : inoculé au cobaye (1 à 4 centimètres cubes sous la peau ou dans le péritoine) vingt-quatre heures avant une dose de virus sûrement mortelle, il protège l'animal. Chez le cobaye, l'injection simultanée de sérum et de virus n'empêche nullement l'évolution de l'infection.

Chez le lapin qui est naturellement plus résistant, aux propriétés préventives s'ajoutent les propriétés curatives, car, injecté peu après le virus, le sérum arrête l'éclosion des accidents septiques.

Ce sérum est agglutinant, antimicrobien et antitoxique.

LIBRARY OF THE BRITISH MEDICAL ASSOCIATION
PRESENTED BY THE EDITOR OF B. M. J.

CHAPITRE XLVI

CHARBON SYMPTOMATIQUE. — BOTULISME BACILLUS BIFIDUS

BACILLUS CHAUVÆI (CHARBON SYMPTOMATIQUE).

Le *Bacillus Chauvæi* a été décrit par Arloing, Cornevin et Thomas (1879), comme l'agent spécifique du charbon symptomatique des bovidés. Il présente des analogies assez étroites avec le Vibrion

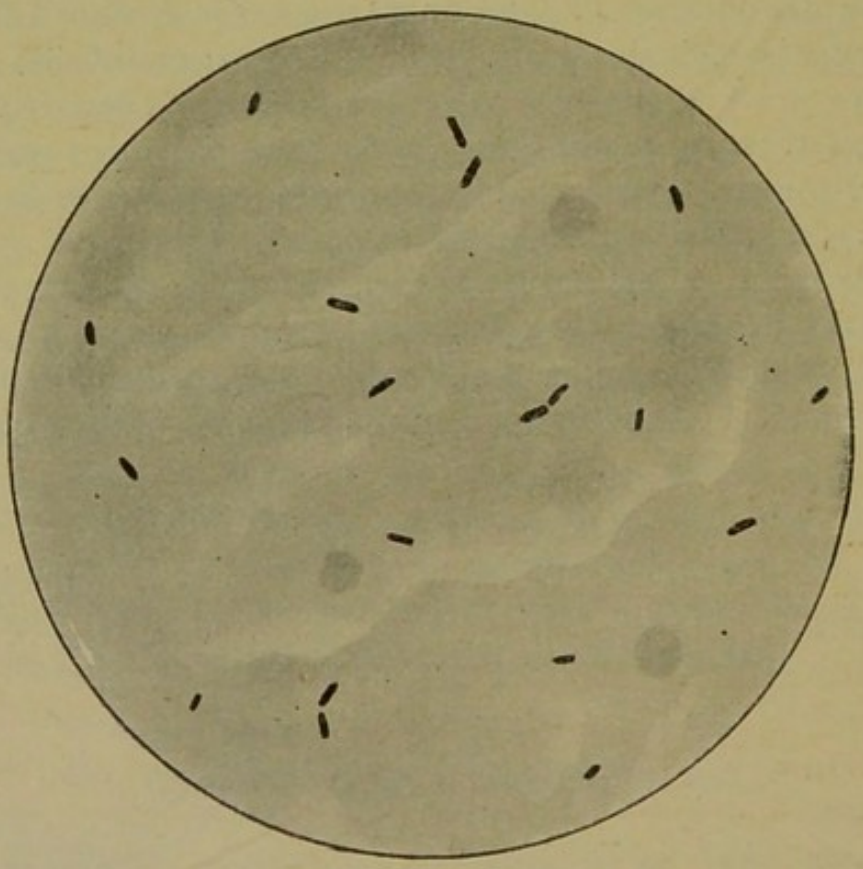


Fig. 254. — *Bacillus Chauvæi* (sérosité de tumeur charbonneuse).

septique, et c'est seulement dans ces dernières années (1900) que Leclainche et Vallée ont nettement démontré que le Vibrion septique et le *Bacillus Chauvæi* constituent bien deux espèces distinctes.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Le *Bacillus Chauvæi* se présente sous forme de Bacilles rectilignes, mesurant 5 à 8 μ de ong sur 1 μ de large (fig. 254).

A la surface des séreuses des animaux inoculés, les Bacilles sont parfois disposés bout à bout, mais les éléments de la chaînette sont peu nombreux et sont tous égaux entre eux, contrairement à ce qui se passe pour le Vibrion septique (Leclainche et Vallée).

Spores. — Le *Bacillus Chauvæi* forme des spores, aussi bien dans les cultures que dans l'organisme. Chez l'animal, les spores peuvent manquer lorsque l'infection évolue très vite. Elles sont disposées tantôt à une extrémité, tantôt dans la continuité (aspect en massue ou en fuseau).

Mobilité, cils. — Le Bacille est mobile, mais seulement en l'absence d'oxygène (au centre des préparations). La mobilité est due à des cils (en moyenne cinq à six).

Coloration. — Le *Bacillus Chauvæi* se colore facilement par les procédés habituels. *Il prend le Gram.*

Les spores et les cils se colorent par les procédés spéciaux.

CULTURES.

Caractères généraux. — Les cultures se font exclusivement à l'abri de l'air. La température optima de développement est 37°.

Bouillon Martin. — C'est le milieu de choix (Leclainche et Vallée). En bouillon Martin frais (moins de six jours) et stérilisé par filtration, la culture est abondante. En quinze heures, le liquide est déjà trouble, il se dégage des gaz ; après vingt-quatre heures, apparaissent des flocons ; après quarante-huit heures, le milieu est clair, tandis que le fond est tapissé d'un dépôt blanc, granuleux. La culture dégage une odeur de beurre rance.

Bouillon ordinaire, frais. — Les caractères sont les mêmes que ci-dessus, mais très atténués ; la culture reste pauvre.

Gélatine. — En piqures. — Il se forme en profondeur, le long de la strie, une culture granuleuse, blanchâtre, qui émet de courts prolongements latéraux (aspect de chenille). Le milieu est liquéfié ; il est souvent fragmenté par des gaz.

Colonies isolées. — Elles sont arrondies, blanchâtres.

Gélose. — Par piqûre, il apparaît le long de la strie une traînée blanchâtre. Le plus souvent la colonne de gélose est fragmentée par des gaz.

Lait. — Le lait est d'abord coagulé, puis la caséine est dissoute, et le milieu devient transparent.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — Comme tous les microbes sporulés, le *Bacillus Chauvæi* est très résistant à la chaleur. Dans les cultures âgées de quatre jours, les spores résistent à une demi-heure de chauffage à 90°-95° ; elles sont tuées par exposition à 100° pendant quelques minutes.

Beaucoup d'expériences concernant la virulence impliquent *a fortiori* la persistance de la vitalité. La dessiccation n'a guère d'influence : le suc des tumeurs charbonneuses, desséché, demeure très virulent pendant plus de deux ans (Arloing, Cornevin et Thomas) ; des fragments de tumeur, conservés dans du papier, sont encore virulents après dix ans (di Mattei). La virulence persiste au moins six mois dans les tumeurs putréfiées.

Réactions biochimiques. — Le *Bacillus Chauvæi* fermente la glucose et la lactose.

Il donne des traces d'indol.

Il attaque légèrement le blanc d'œuf cuit.

Réactions à l'égard des sérums. — Le *Bacillus Chauvæi* est agglutiné par le sérum des animaux infectés, de même que par le sérum des animaux inoculés (Leclainche et Vallée). Le taux d'agglutination oscille entre 1 p. 200 et 1 p. 1 000. Le sérum spécifique n'a pas d'action sur le Vibrion septique.

ACTION PATHOGÈNE.

Dans les conditions naturelles. — Le *Bacillus Chauvæi* est naturellement pathogène pour le bœuf, le buffle, le renne, plus rarement pour le mouton, la chèvre et le porc, exceptionnellement pour le cheval.

Le charbon symptomatique est avant tout une maladie des bovidés. Il est endémique dans certaines régions, surtout aux États-Unis, au Transvaal et, sous le nom de *mancha*, en Argentine. En France, il se rencontre surtout en Auvergne, dans le Limousin, le Berry et le Jura. La mortalité est parfois considérable, atteignant jusqu'à 14 p. 100 de l'effectif.

Dans les régions infectées, la maladie respecte les bêtes autochtones âgées de plus de quatre ans, mais elle ne respecte pas les bêtes importées, même âgées.

Bradsot du mouton. — On désigne sous le nom de *bradsot* une maladie épizootique du mouton, sévissant en Norvège et en Écosse. Les lésions rappellent le charbon symptomatique. Le microbe, étudié par Nielsen, paraît bien voisin du *B. Chauvæi*, dont il ne diffère que par sa virulence

expérimentale plus étendue ; il est en effet pathogène non seulement pour le veau, le mouton, le porc et le cobaye, mais encore pour le pigeon, la poule et la souris.

Action pathogène expérimentale. — *Virulence.* — La virulence des tissus ou sérosités pathologiques est très marquée et se conserve pendant longtemps, comme nous l'avons vu ci-dessus. Dans les cultures, au contraire, la virulence baisse rapidement.

On peut atténuer la virulence par le chauffage ; on crée ainsi des *virus atténués*, utilisés pour la vaccination (Voy. plus loin).

Inversement, on peut augmenter la virulence d'un germe atténué en injectant en même temps de l'acide lactique ou acétique, ou des microbes inoffensifs (*Bacillus prodigiosus*), ou en traumatisant le point d'inoculation.

L'injection des spores seules est inoffensive.

On peut inoculer soit des cultures jeunes en bouillon Martin, soit le suc des tumeurs charbonneuses, ou la poudre d'Arloing (Voy. ci-dessous) additionnée d'une trace d'acide lactique ; soit enfin le sang des animaux infectés, après l'avoir laissé deux jours à 37°.

Animaux réceptifs. — Le bœuf, le mouton, le cobaye sont très sensibles ; le lapin l'est beaucoup moins. Le chien, la souris, les oiseaux sont réfractaires.

Chose remarquable, le *bœuf* est infiniment moins sensible à l'inoculation intraveineuse qu'à l'inoculation sous-cutanée. Une dose de virus considérable (jusqu'à 6 centimètres cubes de suc musculaire) provoque seulement des accidents passagers, curables, lorsqu'elle est inoculée dans les veines; mais, si une parcelle du liquide inoculé passe dans le tissu cellulaire, il se produit en ce point une « tumeur » rapidement mortelle (Arloing, Cornevin et Thomas).

L'inoculation sous-cutanée, chez le bœuf, peut être cependant inoffensive quand elle est pratiquée dans un tissu très dense (extrémité de la queue). Lorsque le tissu est lâche, il se produit une tumeur charbonneuse, présentant les mêmes symptômes et la même évolution rapidement mortelle que dans la maladie naturelle.

Le *mouton* et le *cobaye* réagissent de même que le bœuf à l'inoculation sous-cutanée.

Inoculation sous-cutanée ou intramusculaire au cobaye. — On inocule d'ordinaire dans les muscles de la cuisse. En vingt-quatre heures, il se développe une véritable tumeur charbonneuse : tuméfaction chaude, douloureuse, crépitante, très étendue. L'animal meurt en un à trois jours.

A l'autopsie, on trouve au niveau de la tumeur un tissu musculaire noirâtre, surtout au centre, et comme semé d'alvéoles dus à la présence de

gaz. Autour, le tissu cellulaire est infiltré par un œdème rougeâtre, très étendu, avec bulles de gaz. Les tissus dégagent une odeur butyrique. Il existe de l'hypertrophie des ganglions ; le foie est souvent un peu gros. On retrouve les Bacilles dans la tumeur et sur le péritoine ; ils sont très rares dans le sang.

TOXINES.

D'après Leclainche et Vallée, les cultures en bouillon Martin donnent une toxine, qui est à son maximum au cinquième jour. Cette toxine est résistante à la chaleur ; elle est détruite en quarante-huit heures par une large aération ; elle est en grande partie retenue par les filtres. L'une de ses propriétés les plus remarquables est la rapidité de son action ; l'injection intraveineuse de cultures simplement décantées, non filtrées, tue le lapin en cinq minutes à cinq heures, à dose de 2 à 5 centimètres cubes ; elle peut tuer le cheval en dix minutes, à dose de 6 centimètres cubes.

Eisenberg, par un procédé analogue (cultures dans un mélange de bouillon Martin et de sérum de lapin ; décanter et centrifuger) obtient une toxine qui tue le lapin à dose de 1 à 9 centimètres cubes par inoculation intraveineuse.

Grassberger et Schattenfroh ont également préparé une toxine active sur le cobaye, le lapin, de même que sur des animaux réfractaires : souris, chien.

VACCINATION.

On peut vacciner les animaux par inoculation de toxines, ou de bacilles virulents, ou de virus atténués.

A. **Immunisation par les toxines.** — Roux a réussi à vacciner les cobayes en leur inoculant soit des cultures de quinze jours stérilisées par le chauffage (trois inoculations intrapéritonéales de 40 centimètres cubes à deux jours d'intervalle), soit la sérosité charbonneuse filtrée.

B. **Immunisation par les bacilles virulents.** — Arloing, Cornevin et Thomas ont vacciné le bœuf par injections intraveineuses. Mais le procédé est dangereux (Voy. ci-dessus) et ne peut être généralisé en pratique.

Procédé de Thomas. — La méthode de Thomas est mal connue. D'après Nocard et Leclainche, elle consiste à insérer dans un trajet borgne pratiqué au toupillon un fil imprégné de virus ; on laisse le fil à demeure. Le virus provient de grenouilles ; le passage par les grenouilles diminue la virulence. Cette technique aurait été utilisée largement dans la pratique, sans inconvénients sérieux.

C. **Immunisation par les virus atténués. — Procédé d'Arloing, Cornevin et Thomas.** — C'est le procédé le plus employé encore à l'heure actuelle.

Il comporte l'emploi de deux vaccins atténués par la chaleur. Les tumeurs charbonneuses sont triturées avec un peu d'eau, filtrées sur linge, séchées en couche mince à 37°. La poudre obtenue, additionnée de deux fois son poids d'eau, est chauffée à sec en

couche mince, pendant sept heures : à 100-104° pour le premier vaccin ; à 90-94° pour le deuxième vaccin.

Ces vaccins sont livrés par paquets de dix doses au moins. Au moment de l'emploi, on broie le vaccin dans un mortier stérile, en ajoutant peu à peu la quantité d'eau nécessaire pour 10 centimètres cubes ; on filtre sur linge stérile. On inocule chaque fois 1 centimètre cube au toupillon. Les deux inoculations sont faites à huit à dix jours d'intervalle. Il ne faut vacciner que les bovidés âgés de huit mois au moins.

Les vaccinations ont été pratiquées par ce procédé sur une large échelle. Les résultats d'ensemble sont satisfaisants ; l'inoculation elle-même est peu dangereuse (les pertes ne dépasseraient pas 0,25 p. 1 000 d'après Strebel), et les animaux traités ne prennent presque jamais le charbon. Il y a eu cependant quelques mécomptes à ce dernier point de vue ; aussi Arloing a-t-il ultérieurement recommandé de pratiquer les doubles inoculations trois fois pour chaque animal, à huit mois, vingt mois et trente-deux mois.

La poudre d'Arloing est très impure. Elle doit son efficacité à son état pulvérulent et aux impuretés qu'elle renferme ; ces deux conditions empêchent la phagocytose et permettent la germination de quelques spores, ce qui assure une infection bénigne vaccinante (Leclainche et Vallée).

Vaccin de laboratoire (Leclainche et Vallée). — Pour les essais de laboratoire, Leclainche et Vallée préparent des vaccins purs. Le sang d'animaux infectés est mis quarante-huit heures à l'étuve, puis séché en couche mince à 37° ; la poudre obtenue est additionnée de son poids d'eau, séchée, puis soumise pendant sept heures au chauffage à sec à 102° (premier vaccin) ou à 92° (deuxième vaccin).

Procédés de Kitt et de Nörgaard. — La poudre, préparée comme dans le procédé d'Arloing, est atténuée par chauffage dans la vapeur d'eau à 98-100° (Kitt) ou à 93-94° (Nörgaard) pendant six heures. Une seule inoculation suffit. Ce procédé paraît avoir donné satisfaction aux États-Unis.

D. **Immunisation par séro-vaccination. — Procédé de Leclainche et Vallée.** — Les auteurs ont tout d'abord essayé de vacciner avec des cultures pures : on inoculait une culture de quatre à cinq jours atténuée par chauffage à 70° pendant deux heures (premier vaccin), puis une petite dose de culture non chauffée (deuxième vaccin) ; le procédé ayant amené quelques accidents, Leclainche et Vallée ont proposé ensuite le procédé suivant.

On inocule d'abord le sérum (Voy. ci-dessous) à dose de 15 ou 20 centimètres cubes, suivant l'âge. Au bout de quatre à cinq jours, on injecte 1 centimètre cube de culture atténuée par chauffage à 65-70° pendant trois heures.

SÉROTHÉRAPIE.

Les premiers essais de Kitt (1893) ont été confirmés depuis. On peut employer pour l'obtention des sérums thérapeutiques le cheval, le mouton, le bœuf ou la chèvre. Les inoculations sont pratiquées à

l'aide de doses croissantes de cultures virulentes ou de virus naturel (Kitt, Arloing, Leclainche et Vallée) ou à l'aide de la toxine (Grassberger et Schattenfroh). Dans leurs grandes lignes, les résultats obtenus par les divers expérimentateurs sont concordants.

Le sérum est préventif pour le cobaye, à dose variable (1 à 5 centimètres cubes, Leclainche et Vallée), mais cette immunité passive ne dure que huit jours. Il est préventif également pour le mouton (Kitt, Arloing).

Mélangé au virus, le sérum protège l'animal (cobaye, mouton, bovidés) contre l'infection ; mais l'immunité ainsi conférée est très éphémère, et la méthode ne peut être utilisée pour la vaccination.

Les propriétés curatives, nulles à l'égard du cobaye qui succombe trop vite (Leclainche et Vallée), sont manifestes à l'égard du mouton, qu'on peut sauver en inoculant le sérum dans les veines jusqu'à neuf heures après l'injection virulente (Kitt, Arloing).

BACILLUS BOTULINUS.

Le *Bacillus botulinus* (Van Ermengem) est l'agent des empoisonnements alimentaires désignés sous le nom de *botulisme*.

Morphologie. — C'est un Bacille le plus souvent rectiligne, à bouts arrondis, long de 4 à 9 μ. Il présente des spores presque toujours terminales. Il est légèrement mobile, se colore facilement et *prend le Gram*.

Cultures. — L'optimum de développement est aux environs de 22°.

En *gélatine glucosée*, après quatre à six jours, les colonies sont assez caractéristiques : transparentes, arrondies, jaune brun ; elles sont formées de grains animés de mouvements visibles à un faible grossissement, surtout à la périphérie. La gélatine se liquéfie peu à peu ; il se dégage des gaz. Dans la suite, les colonies deviennent plus opaques, et les bords sont festonnés.

En *bouillon glucosé*, on obtient un trouble uniforme avec dégagement gazeux et odeur butyrique.

Le *lait* n'est pas coagulé.

Vitalité. — La vitalité est considérable, un an environ.

Action pathogène expérimentale. — Le *Bacillus botulinus* ne végète guère dans l'organisme animal ; inoculé, il provoque une phagocytose très énergique. Il est peu pathogène pour le lapin et le cobaye.

Toxines. — Les cultures filtrées sont nettement toxiques ; la toxine reproduit les principaux symptômes de la maladie naturelle. Chez le *chat*, animal de choix, l'inoculation de 0^{cc},5 de toxine provoque de l'aphonie, du ptosis, de la mydriase ; l'animal succombe en huit à dix jours. La toxine tue la *souris* à dose de 0^{cc},000 003, après avoir provoqué des paralysies (Landmann).

D'après Brieger et Boer, la toxine est très vite détruite par les alcalis, l'alcool, les agents d'oxydation. Elle est également détruite après trente minutes de chauffage à 80°.

Siège. — Le *Bacillus botulinus* a été rencontré dans les aliments altérés, causes de botulisme. Il provient certainement d'une infection accidentelle.

Van Ermengem, puis Römer ont noté la coexistence avec le *Bacillus botulinus* de microbes aérobies (sarcines, *B. subtilis*), qui absorbent l'oxygène et favorisent l'anaérobiose.

Sérothérapie. — On peut obtenir un sérum antitoxique en immunisant la chèvre par des injections de toxine (Kempseer).

BACILLUS BIFIDUS.

Le *Bacillus bifidus* (Tissier), bien que ne paraissant pas être pathogène, doit être connu, car il constitue la majeure partie de la flore intestinale des nourrissons élevés au sein (Tissier).

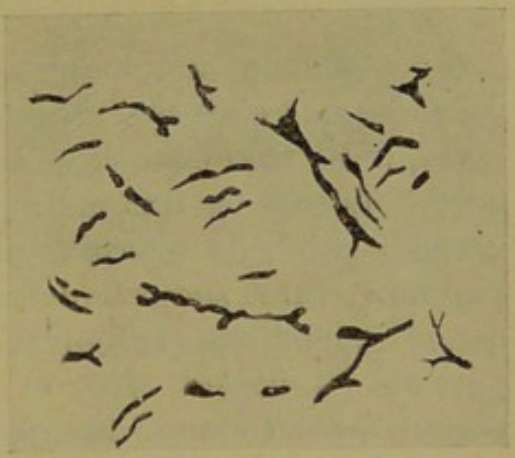


Fig. 255. — *Bacillus bifidus.*

C'est un microbe très polymorphe ; dans les cultures jeunes, il se présente d'ordinaire sous forme de Bacille assez mince, effilé aux extrémités ; dans les cultures vieilles, on trouve en outre des formes filamenteuses, ou vésiculeuses, ou bifurquées aux extrémités (fig. 255).

Le *B. bifidus* est immobile ; il prend le Gram.

Les colonies isolées en gélose de Veillon présentent deux aspects : les unes sont lenticulaires, blanchâtres, présentant un prolongement sur une face ; les autres, plus petites, sont ovoïdes.

Le lait est coagulé. Le *Bacillus bifidus* fermente énergiquement la glucose et la lactose.

CHAPITRE XLVII

MICROBES ANAÉROBIES DES PROCESSUS FÉTIDES ET GANGRENEUX

On a pendant longtemps considéré comme seuls pathogènes, parmi les microbes anaérobies, le Bacille du tétanos, le Vibrion septique, le *Bacillus Chauvæi*. Les recherches de ces dernières années, surtout depuis les travaux de Veillon et Zuber, ont montré qu'un grand nombre de microbes anaérobies sont susceptibles d'infecter l'homme. On a successivement mis en évidence leur intervention dans l'appendicite (Veillon et Zuber, Grigoroff), dans les pleurésies putrides (Guillemot, Rist et Hallé), la gangrène pulmonaire (Guillemot), les infections urinaires (Veillon, Albarran et Cottet, Jungano), les bartholinites (Hallé), les infections puerpérales (Jeannin), les phlegmons gazeux (Veillon, Frænkel), les suppurations des voies biliaires et du foie (Gilbert et Lippmann), etc.

Les processus pathologiques réalisés par les espèces anaérobies sont des plus variés. Ils présentent volontiers la forme clinique de suppurations gangreneuses (pleurésie putride, phlegmon gazeux, etc.), mais ils évoluent souvent aussi sous des aspects qui ne rappellent en rien la gangrène.

Les microbes anaérobies que nous étudions dans ce chapitre présentent cette particularité d'être couramment *plusieurs associés* dans une même lésion.

On n'oubliera pas que le *Vibrion septique* et le *Bacillus Chauvæi* sont également des agents anaérobies des processus gangreneux.

BACILLUS PERFRINGENS.

Le Bacille désigné par Veillon *Bacillus perfringens* doit être identifié avec le *Bacille du phlegmon gazeux* de Frænkel et le *Bacillus aerogenes capsulatus* de Welsch, tous trois décrits antérieurement. C'est un microbe très répandu dans les milieux extérieurs et souvent rencontré dans les maladies humaines.

Le Bacille décrit par Achalme dans le rhumatisme est sans doute

également identique au *Bacillus perfringens*. Nous l'étudierons après ce dernier.

Morphologie. — Le *Bacillus perfringens* se présente sous forme de bâtonnets (fig. 256) présentant approximativement l'aspect de la bactéridie charbonneuse : rectilignes, à bouts carrés, de même longueur en moyenne, mais un peu plus épais. Les bâtonnets sont plus courts dans les milieux albumineux ou dans l'organisme. Ils sont presque toujours isolés; il peut toutefois apparaître quelques chaînettes dans l'exsudat péritonéal. On constate des formes d'involution dans les vieilles cultures : Bacilles irréguliers ou renflés.

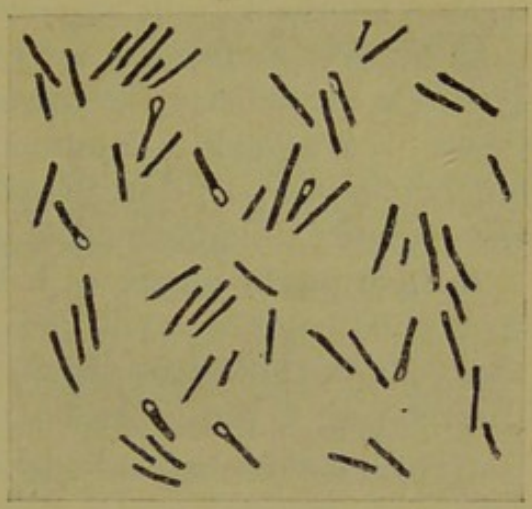


Fig. 256. — *Bacillus perfringens.*

Dans le pus, le *Bacillus perfringens* présente une *capsule* bien colorable, qui disparaît dans les cultures.

Il existe des *spores* terminales ou presque terminales; mais les spores ne se forment que sur les milieux non sucrés (milieux albumineux surtout).

Le *Bacillus perfringens* est *immobile.*

Il se colore facilement par les couleurs d'aniline. *Il prend le Gram.*

Cultures. — Les cultures se font facilement sur les divers milieux, à 22° et à 37°, dans des conditions exclusivement anaérobies.

Gélose (colonies isolées en profondeur). — Les colonies, apparues après vingt-quatre heures, sont blanches, grisâtres, rondes ou lenticulaires, quelquefois en forme de cœur, à bords nets. Il se développe des gaz en abondance.

Sur gélose en surface, les colonies rappellent celles du Streptocoque.

Gélatine (colonies isolées en profondeur). — Les colonies sont opaques, à bords irréguliers ; il se développe des gaz. Quand l'ensemencement est abondant, la gélatine est liquéfiée. La propriété de liquéfier la gélatine paraît très variable, parfois absente.

Bouillon. — Trouble uniforme; le liquide s'éclaircit en quelques jours en même temps que se forme un dépôt.

Lait. — Le milieu est rapidement coagulé; le caillot, percé de trous, prend l'aspect d'une éponge. Les gaz sont abondants. La culture exhale une odeur butyrique.

Blanc d'œuf cuit. — On abandonne un cube de blanc d'œuf cuit dans l'eau physiologique; le *Bacillus perfringens* se développe en digérant lentement le cube, et il se dépose au fond un pigment noir, voisin de la mélanine (Achalme).

Propriétés biologiques. — La *vitalité* est faible ; les cultures mises à l'étuve doivent être repiquées tous les trois ou quatre jours.

Le *Bacillus perfringens* est un *ferment* d'une très grande énergie. Il sécrète au moins trois ferments : une trypsine, une amylase, une lipase ; il attaque les albuminoïdes en donnant H^2S et des gaz, tyrosine, ammoniaque ; il saccharifie l'amidon ; il saponifie les graisses ; il fermente énergiquement la glucose et la lactose.

Action pathogène. — I. **Dans les conditions naturelles.** — Le *Bacillus perfringens* est souvent rencontré chez l'homme, spécialement dans les processus gangreneux, quelle que soit leur localisation. Il est l'agent le plus habituel des phlegmons gazeux ; il intervient souvent dans les appendicites, les suppurations péri-urétrales, les infections puerpérales, les otites, la gangrène pulmonaire.

II. **Expérimentalement.** — Le *Bacillus perfringens* est pathogène pour le *cobaye*. L'inoculation sous-cutanée détermine un véritable phlegmon gazeux analogue à celui que provoque le Vibrion septique ; l'animal succombe rapidement. A l'autopsie, on trouve le microbe en abondance dans le sang et les organes.

Le *lapin*, plus résistant, présente après inoculation sous-cutanée des accidents analogues ; il succombe d'ordinaire en huit à dix jours.

Siège. — Le *Bacillus perfringens* est très répandu dans la nature. C'est un microbe habituel des putréfactions, et on le rencontre en outre très souvent dans l'intestin de l'homme et des animaux.

BACILLE DU RHUMATISME ARTICULAIRE AIGU.

Achalme (1891) a signalé, dans certains cas mortels de rhumatisme articulaire aigu, l'existence dans le sang et les organes d'un Bacille anaérobie. Le même microbe a été parfois rencontré ensuite dans la même maladie, pendant la vie ou après la mort (Triboulet, Thiroloix et Rosenthal, Pic et Lesieur), mais les observations de cet ordre paraissent assez exceptionnelles, malgré le nombre considérable de recherches pratiquées depuis lors.

Le Bacille d'Achalme ressemble tellement au *B. perfringens* que la presque unanimité des auteurs identifient les deux microbes.

Cependant Thiroloix et Rosenthal signalent entre leur « variété banale » et leur « variété rhumatismale » du Bacille d'Achalme, c'est-à-dire entre le *Bacillus perfringens* et le Bacille décrit par Achalme, certaines différences de détail : la « variété rhumatismale » donne des cultures dénuées d'odeur fétide ; elle pousse mal à la température ambiante et ne liquéfie que len-

tement la gélatine ; elle n'attaque que peu et lentement le blanc d'œuf cuit. Les autres caractères essentiels (morphologie, cultures, action pathogène) sont communs avec le *Bacillus perfringens*.

Thiroloix et Saiget ont reproduit une fois une maladie d'allures rhumatismales par inoculation au porcelet.

Pour le moment, la signification exacte du Bacille d'Achalme au regard de l'infection rhumatismale est tout à fait imprécise.

BACILLUS RAMOSUS.

Le *Bacillus ramosus* (Veillon et Zuber), rencontré parfois dans diverses suppurations et dans les sinusites, est un des agents les plus ordinaires des gangrènes pulmonaires, des pleurésies putrides, des otites et des appendicites.

C'est un Bacille long, le plus souvent isolé, parfois disposé en V ou en petits amas (comme le Bacille de Löffler) ou en courtes chaînettes, parfois filamenteux. Il présente assez souvent en cultures des ramifications latérales ou terminales.

Immobile, non sporulé, il se colore surtout par le violet de gentiane ; il prend le Gram.

Les cultures, exclusivement anaérobies, se font bien sur les milieux ordinaires. Elles répandent une odeur fétide, aigrelette. Les colonies, isolées sur gélose en profondeur, sont petites, grisâtres ; d'abord rondes, au deuxième ou troisième jour, elles prennent ensuite la forme de cube, de trièdre ou de tétraèdre ; elles sont hérissées de filaments fins et courts. En bouillon, on constate un trouble uniforme. Le lait est coagulé. Il n'y a pas de culture sur gélatine.

En cultures, la vitalité persiste pendant un mois.

Inoculé sous la peau du cobaye, le *B. ramosus* provoque la formation d'un abcès. Il agit de même chez le lapin, qu'il tue en huit à dix jours.

BACILLUS FUNDULIFORMIS.

Le *Bacillus funduliformis* (Halle), parfois appelé *B. thetoides* (Rist, Guillemot), a été signalé dans le pus des otites, des abcès du foie, des abcès urineux, des bartholinites, dans la gangrène pulmonaire et les pleurésies putrides. Hallé l'a en outre isolé du vagin normal.

Très polymorphe (fig. 257), il se présente le plus souvent sous forme d'un bâtonnet effilé aux extrémités ; mais d'autres formes ne sont pas rares : formes filamenteuses, tantôt régulières, tantôt renflées en boule ou en poire en certains points ; formes bifurquées.

Le *B. funduliformis* est immobile et ne donne pas de spores. Il se colore assez mal, et souvent la coloration prédomine au centre, ce qui donne un aspect rappelant la lettre grecque θ.

Il ne prend pas le Gram.

Les cultures, exclusivement anaérobies, sont surtout abondantes sur gélose de Veillon. Les colonies isolées en profondeur, apparues en quarante-huit heures, sont punctiformes (environ 1 millimètre), transparentes, homogènes, de coloration jaunâtre. En bouillon sucré, trouble léger. Pas de développement sur gélatine.

Les cultures dégagent peu de gaz ; elles exhalent une odeur fétide.

Leur vitalité est faible, huit jours environ.

Le Bacille téthoïde, inoculé sous la peau du cobaye, provoque la formation soit d'un abcès localisé, soit d'un abcès gangreneux entraînant la mort.

Fig. 257. — *Bacillus funduliformis.*

BACILLUS FRAGILIS.

Le *B. fragilis* (Veillon et Zuber), signalé dans les abcès du foie, les sinusites, la carie dentaire, parfois dans les calculs biliaires, est souvent présent au cours des appendicites, des abcès urineux, des gangrènes pulmonaires et des pleurésies putrides.

C'est un Bacille fin dans le pus, plus épais en culture, difficile à colorer, souvent plus coloré aux extrémités, ce qui le fait ressembler à un diplocoque. Il ne prend pas le Gram. Il est immobile.

Les cultures, lentes, débutent après trois à quatre jours. En gélose de Veillon, les colonies sont petites, jaune brunâtre, parfois mûriformes. Pas ou peu de gaz, odeur fétide. En gélatine, les colonies sont arrondies; le milieu n'est pas liquéfié.

La vitalité, faible, s'éteint après une semaine.

Le *B. fragilis* est pathogène pour le cobaye et pour le lapin (abcès, souvent mortels).

BACILLUS SERPENS.

Le *Bacillus serpens* (Veillon) a été rencontré dans l'appendicite, les mastoïdites, dans la gangrène pulmonaire, les pleurésies putrides. Il a été étudié surtout par Rist.

Il se présente sous forme de bâtonnets, assez gros, à extrémités arrondies, souvent bout à bout, par deux ou davantage.

Il ne prend pas le Gram.

Légèrement mobile, il progresse surtout par ondulation.

Le *B. serpens* donne en gélose, en vingt-quatre heures, de petites colonies ; à un faible grossissement, elles apparaissent arrondies, grisâtres, transparentes, granuleuses, hérissées de hachures ; plus tard, les colonies deviennent opaques.

En gélatine, au bout de quatre à cinq jours, colonies arrondies, grisâtres ; le milieu est lentement liquéfié, les colonies restant suspendues dans le liquide.

Le bouillon est d'abord troublé, puis s'éclaircit.

Les cultures dégagent des gaz peu abondants, fétides.

En cultures, la vitalité est longue, trois à quatre semaines.

Le *B. serpens* est pathogène pour le cobaye et pour le lapin (abcès ; cachexie mortelle en une semaine).

BACILLUS PUTRIFICUS.

Le *B. putrificus* (Bienstock), parfois pathogène pour l'homme (phlegmon gazeux), est avant tout un microbe de la putréfaction. Il possède la pro-

priété de digérer le blanc d'œuf, la fibrine, la viande ; il saponifie la graisse.

C'est un bacille droit, morphologiquement très voisin du Bacille du tétanos (fig. 258) ; il présente en effet, comme ce dernier, des spores arrondies terminales, de telle sorte que le Bacille sporulé prend l'aspect de baguette de tambour (*B. pseudo tétanique* de Tavel).

Très mobile, le *B. putrificus* prend le Gram.

En gélose, en quarante-huit heures, les colonies sont formées d'un noyau central entouré de filaments très nombreux. En gélatine, les colonies ont un aspect chevelu ; le milieu est liquéfié. Toutes les cultures dégagent une odeur putride.

Fig. 258. — *Bacillus putrificus.*

BACILLE NEIGEUX.

Le *Bacille neigeux* (Jungano) est un des microbes le plus fréquemment rencontrés dans les diverses infections de l'appareil urinaire.

Sa morphologie est celle du *B. perfringens*, mais ses extrémités sont arrondies ; il est immobile, se colore facilement, prend le Gram et ne donne pas de spores.

Les cultures se développent facilement en gélose profonde, sous forme de colonies blanchâtres, irrégulières, semblables à des flocons de neige.

Il n'y a pas de développement en gélatine et en bouillon.

BACILLUS NEBULOSUS.

Le *B. nebulosus* (Hallé) a été rencontré dans les abcès urineux, les bartholinites, les abcès du foie, les pleurésies putrides.

C'est un petit bâtonnet, immobile, facile à colorer ; il ne prend pas le Gram.

En gélose, ses colonies sont floconneuses, avec centre brun. Il ne se forme pas de gaz.

Action pathogène inconstante.

BACILLUS RADIIFORMIS.

Le *Bacillus radiiformis* (Rist et Guillemot) est parfois en cause dans les abcès du foie, les otites, certaines infections puerpérales, les pleurésies putrides.

Il se présente sous forme de bâtonnet rectiligne, facile à colorer, souvent plus coloré aux extrémités ; il ne prend pas le Gram. Il est immobile.

Les cultures sur gélatine sont assez caractéristiques : en trois à quatre jours, les colonies ont la forme d'un petit grain nacré avec noyau plus opaque ; au microscope, le centre se montre entouré de prolongements radiés droits et courts, donnant l'aspect d'un oursin, bien visibles à un faible grossissement. Plus tard, le milieu se liquéfie.

En gélose, les colonies sont discoïdes, blanc jaunâtre, très petites. La vitalité, faible, s'éteint en huit à dix jours.

Le *B. radiiformis* est pathogène pour le cobaye (abcès, mort en huit à dix jours).

SPIRILLUM NIGRUM.

Le *Spirillum nigrum* (Rist) est un agent des otites et des gangrènes pulmonaires. Il est surtout caractérisé par sa morphologie et par son pouvoir chromogène.

Morphologiquement (fig. 259), il se présente sous forme d'éléments grêles, incurvés, en forme d'S ou de parenthèse ; non colorés, la plupart de ces éléments sont marqués d'un grain noir dans leur continuité. Ils se colorent au mieux par le Ziehl ; ils ne prennent pas le Gram.

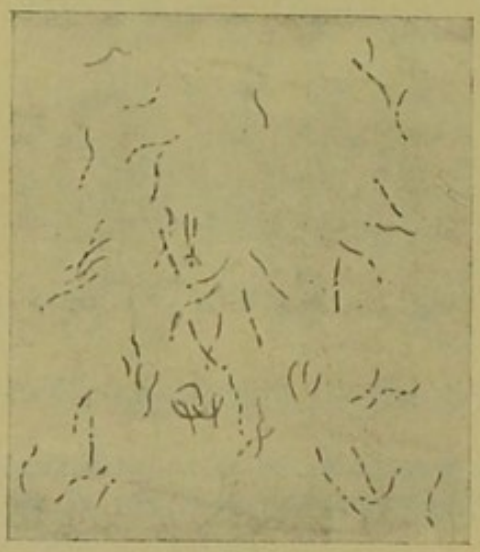


Fig. 259. — *Spirillum nigrum.*

Leur mobilité est extrême.

En gélose sucrée, après un ou deux jours, les colonies isolées ont un aspect variable ; elles sont souvent noires, arrondies ou biconvexes, 2 à 3 millimètres de diamètre ; d'autres sont brun grisâtre. Quand l'ensemencement est abondant, il se forme un nuage grisâtre, tacheté d'amas noirâtres. La culture est plus marquée vers la partie superficielle de la zone d'anaérobiose.

En gélatine glucosée, les colonies sont noires, non liquéfiantes.

Toutes les cultures exhalent une odeur très fétide ; elles dégagent peu de gaz.

La vitalité en cultures est assez grande, un mois environ.

DIPLOCOCCUS RENIFORMIS.

Le *Diplococcus reniformis* (Cottet) a été signalé dans les abcès urineux et les abcès du foie.

Sa morphologie rappelle celle du Gonocoque : c'est un diplocoque en grain de café, ne prenant pas le Gram. Il est immobile.

Il donne en deux jours, en gélose sucrée, des colonies lenticulaires, petites, transparentes.

Il est assez vivace ; trois mois environ en cultures.

Inoculé sous la peau du cobaye, il provoque un abcès.

STAPHYLOCOCCUS PARVULUS.

Le *Staphylococcus parvulus* (Veillon et Zuber) paraît assez répandu ; on l'a trouvé en effet dans l'appendicite, la gangrène pulmonaire, les pleurésies putrides, les otites, les abcès urineux, l'infection puerpérale.

C'est un coccus plus petit que le Staphylocoque doré, disposé en amas ou en diplocoques ; il ne prend pas le Gram.

Les colonies isolées en gélose sucrée sont cuboïdes, légèrement jaunâtres. La culture se fait également en bouillon (trouble avec dépôt) et en

gélatine (colonies brunâtres, sans liquéfaction). Les cultures sont fétides.

Inoculé au cobaye et au lapin, sous la peau, il produit un abcès.

STAPHYLOCOQUE DE JUNGANO.

Ce microbe est un agent des infections urinaires et des inflammations oculaires.

Il se présente sous forme de cocci très petits, prenant le Gram.

Les colonies en gélose sont, au début, petites et luisantes, après deux ou trois jours; puis elles se foncent au centre.

Il pousse en bouillon (trouble), de même qu'en gélatine, sans liquéfier. Il ne donne pas de gaz.

Sa vitalité est prononcée; elle persiste deux mois en cultures.

MICROCOCCUS FŒTIDUS.

Le *Micrococcus fœtidus* (Veillon) se rencontre dans les suppurations gangreneuses (angine de Ludwig, etc.), les otites, les cholécystites suppurées, les pleurésies putrides, les bartholinites, les infections puerpérales. On le trouve en outre à l'état normal dans l'urètre et dans le vagin.

Dans les exsudats, il se présente en cocci isolés ou diplocoques. En bouillon, il donne de courtes chaînettes.

Il est immobile, se colore facilement et prend le Gram.

En gélose sucrée, les colonies isolées apparaissent en vingt-quatre à trente-six heures; elles sont rondes, blanchâtres, assez grosses.

En bouillon sucré, on observe des grumeaux; le liquide demeure clair. L'odeur est fétide; peu ou pas de gaz.

Il n'y a pas de culture en gélatine.

Le pouvoir pathogène est variable. Inoculé sous la peau du cobaye, il produit un abcès ou de la gangrène à marche envahissante et mortelle.

STREPTOCOQUES ANAÉROBIES.

Certains microbes présentent la morphologie du Streptocoque, mais sont strictement anaérobies. Citons les Streptocoques isolés par Graf et Wittneben de divers abcès; le Streptocoque de Sternberg; le *Streptococcus anaerobius micros*, rencontré par Lippmann dans des infections biliaires. Ces divers microbes poussent bien sur bouillon et gélose, à l'abri de l'air. L'un de nous (Sacquépée) a également rencontré un Streptocoque strictement anaérobie dans les plaies dites cadavériques.

CHAPITRE XLVIII

BACILLE FUSIFORME

En 1896, H. Vincent, étudiant au point de vue bactériologique la « diphtérie des plaies » ou pourriture d'hôpital, découvrit dans le putrilage qui caractérise cette lésion un Bacille en forme de fu-

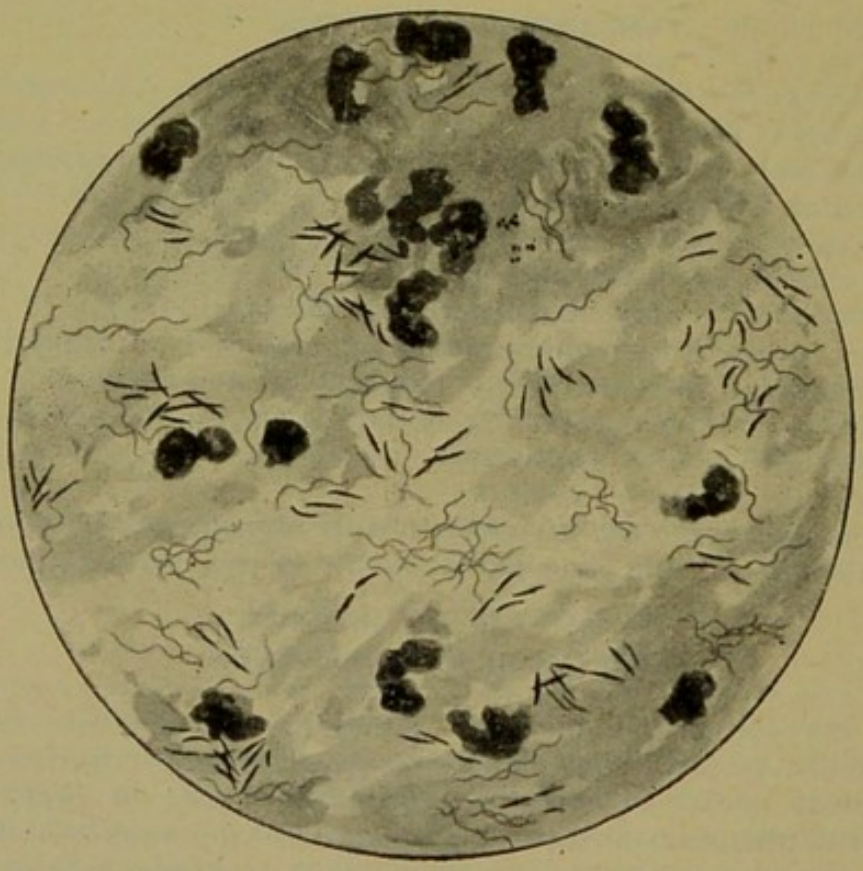


Fig. 260. — Frottis d'angine de Vincent.

seau, auquel il reconnut un rôle spécifique dans l'étiologie de cette dernière. Il le retrouva dans la suite dans les frottis de l'enduit analogue qui recouvre l'ulcère chancriforme d'une variété d'angine qui porte aujourd'hui son nom.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Dans les frottis de la pulpe putrilagineuse qu'il engendre, ce germe se présente sous la forme d'un Bacille long de 4 à 8 μ sur 1 μ environ d'épaisseur. Il est le plus

souvent rectiligne, parfois légèrement incurvé ; suivant les échantillons, la longueur est variable ; tantôt on observe des *formes courtes* qui sont parfois réunies par deux pour former un diplobacille ; tantôt on observe des *formes longues*, *filamenteuses*, pouvant atteindre 15 μ, et figurant parfois un S, rappelant volontiers les Spirochètes et Spirilles. Les extrémités sont effilées, le corps est renflé vers sa partie médiane, ce qui lui donne l'aspect d'un *fuseau*, d'où son nom de Bacille fusiforme.

Dans les préparations, ces Bacilles peuvent être extrêmement nombreux et former des amas touffus (fig. 260), dont l'ensemble figure comme un buisson d'épines. Leur abondance est en rapport avec le degré des lésions.

Examiné à l'état frais, dans la salive et à chaud, d'après certains auteurs (Letulle, Plaut, Comandon), il présenterait une grande mobilité ; d'autres (Vincent, Mühlens, Ellermann, etc.) n'ont jamais pu l'observer. Plaut aurait noté la présence de cils vibratiles. On s'accorde toutefois à reconnaître leur absence.

Coloration. — Le Bacille fusiforme se colore bien par toutes les couleurs d'aniline. On obtient de très belles préparations avec le violet de gentiane phéniqué, la fuchsine de Ziehl diluée au dixième, etc. *Il ne prend pas le Gram.* Toutefois certaines formes d'involution se décolorent assez difficilement par le Gram.

Les préparations colorées permettent de percevoir certains détails particuliers : en effet, surtout quand l'affection a déjà subi un traitement antiseptique, les formes d'involution sont assez nombreuses ; la coloration du Bacille n'est pas homogène : au milieu du protoplasma, on constate des *vacuoles incolores* qui ne sont pas des spores et ne prennent pas la coloration particulière à ces dernières.

Enfin, en utilisant le colorant de Romanowsky, on met en évidence un ou plusieurs grains chromatiques se détachant en rouge sur le fond bleu du protoplasma.

CULTURES.

Le Bacille fusiforme est difficilement cultivable ; les premiers essais de Vincent étaient restés négatifs. En multipliant les méthodes, on est arrivé à le cultiver sur milieux artificiels, tout d'abord en symbiose avec les éléments qui lui sont fréquemment associés, puis on a fini par obtenir des colonies isolées, en milieux solides anaérobies.

Milieux liquides. — *Bouillon ordinaire.* — En bouillon pep-

toné ordinaire (Abel, Seitz, de Stœcklin), l'ensemencement d'un produit riche en Bacilles fusiformes donne une culture, dans laquelle le dépôt qui se forme au fond du tube montre des Bacilles fusiformes plus ou moins abondants, mais associés aux bactéries étrangères qui lui sont associées et ont pullulé avec lui; la partie supérieure du milieu reste claire.

Liquides organiques. — Carnot et L. Fournier ont obtenu un développement assez abondant dans le *liquide d'ascite*; Niclot et Marotte, dans du bouillon-sérum humain. Vincent a utilisé avec succès le liquide céphalo-rachidien additionné de sang humain, le liquide de pleurésie séro-fibrineuse, le liquide d'hydrocèle, le sérum humain. Les cultures les plus luxuriantes ont été obtenues avec un liquide d'hydarthrose rhumatismale ancienne. Dans ces milieux, les Bacilles se multiplient abondamment; on les retrouve non seulement dans le dépôt, mais aussi dans le liquide surnageant, et se montrant sous l'aspect qu'ils prennent dans les fausses membranes; on observe même des formes vacuolaires. Mais, ici encore, le Bacille fusiforme est associé à des germes étrangers, spirilles, cocci divers, etc.

Toutes ces cultures dégagent une odeur nauséabonde, fétide, semblable à celle des lésions spécifiques du microbe.

Milieux solides. — L'ensemencement du produit bacillifère en milieux solides *anaérobies* donne naissance à des colonies isolées, distinctes de celles des microbes associés. Lewkowicz, Ellermann, etc., ont utilisé dans ce but des *tubes de Veillon*, où ils avaient réparti de la gélose sucrée additionnée de sérum; Repaci a obtenu une culture avec de la gélose sucrée de Veillon sans sérum.

Dans ce milieu, en vingt-quatre à quarante-huit heures, apparaissent des colonies petites, fines, opaques, gris ou blanc jaunâtre, dont le centre est foncé, les bords réguliers et tranchants. Au bout de cinq à six jours, on peut observer des filaments partant du centre et donnant aux colonies l'aspect d'une méduse (Repaci); en quinze à vingt jours, leur diamètre atteint environ 2 millimètres.

Dans les premiers jours, les colonies sont repiquables, mais leur vitalité diminue rapidement.

ACTION PATHOGÈNE.

Chez l'homme. — H. Vincent a établi que le Bacille fusiforme était l'agent spécifique de la *pourriture d'hôpital*, de certaines *angines ulcéro-membraneuses*, chancriformes (*angine de Vincent*), dont l'exsudat, identique à celui de la pourriture d'hôpital, renferme

de nombreux Bacilles fusiformes, enfin de certaines *stomatites ulcéro-membraneuses*, présentant le même aspect. On l'a rencontré dans les abcès d'origine dentaire; Ghon et Vaucher, dans le pus d'un abcès du cerveau.

Répartition du bacille dans les lésions. — Dans les lésions qu'il engendre, quelle que soit la région où il exerce son rôle pathogène, il produit des désordres identiques : une coupe de la lésion spécifique montre l'existence de trois zones essentielles : dans une zone superficielle, on observe un tissu amorphe pauvre en éléments cellulaires, contenant, à côté de nombreux cocci prenant le Gram, des Bacilles fusiformes peu abondants; dans une zone sous-jacente à la première, les Bacilles fusiformes pullulent et forment un feutrage microbien extrêmement dense (fig. 261); enfin, dans la zone profonde, constituée par du tissu mortifié, envahi par une barrière leucocytaire, les bacilles sont rares.

Pathogénie. — Le Bacille fusiforme est un hôte normal de la cavité buccale ; on le retrouve dans la salive, le tartre dentaire des sujets sains, dans certaines caries dentaires. Du saprophytisme il accède à la virulence quand la cavité buccale est le siège d'une érosion mécanique ou chimique (Athanasiu), ou d'une inflammation locale (Simonin) ; il se cantonne au niveau de cette lésion, y pullule et y provoque les désordres spécifiques. Enfin il peut se greffer sur des ulcérations existantes produites par la diphtérie, la syphilis, le cancer, auxquels il vient associer son action pathogène.

Ces constatations ont engagé certains auteurs à nier le rôle pathogène spécifique du Bacille fusiforme et à prétendre qu'il ne se rencontre dans les lésions décrites qu'à titre banal. Or le Pneumocoque, le Bacille de Löffler se trouvent normalement parfois dans la bouche des sujets sains ; doit-on, pour cette raison, les déposséder de leur rôle spécifique?

Associations secondaires : symbiose fuso-spirillaire. — Les examens bactériologiques montrent qu'au Bacille fusiforme s'associent très fréquemment des bactéries étrangères, et notamment un spirille très fin qui vit pour ainsi dire en symbiose presque constante avec le premier. C'est un long filament ondulé, flexueux, contourné souvent en spirale, en 8 de chiffre, en tire-bouchon (fig. 260). Sa ténuité est extrême. Les spirilles sont isolés ou groupés en une chevelure souvent inextricable.

A l'état frais, il est doué de mouvements très actifs, se meut brusquement, se tend et se détend comme un véritable ressort.

Il se colore beaucoup plus faiblement que le Bacille fusiforme ; comme lui, il ne prend pas le Gram.

L'abondance du spirille, comparativement à celle du Bacille fusiforme, est variable ; parfois en nombre nettement prédominant, il est d'autres fois en quantité minime. Enfin il peut être absent. Cette constatation, jointe à certains symptômes cliniques, a permis de déterminer le rôle pathogène respectif dévolu au Bacille fusiforme : quand on observe l'angine de Vincent au début, la lésion n'est constituée que par une fausse membrane, avec le Bacille fusiforme seul ; plus tard, quand l'ulcération commence à prendre

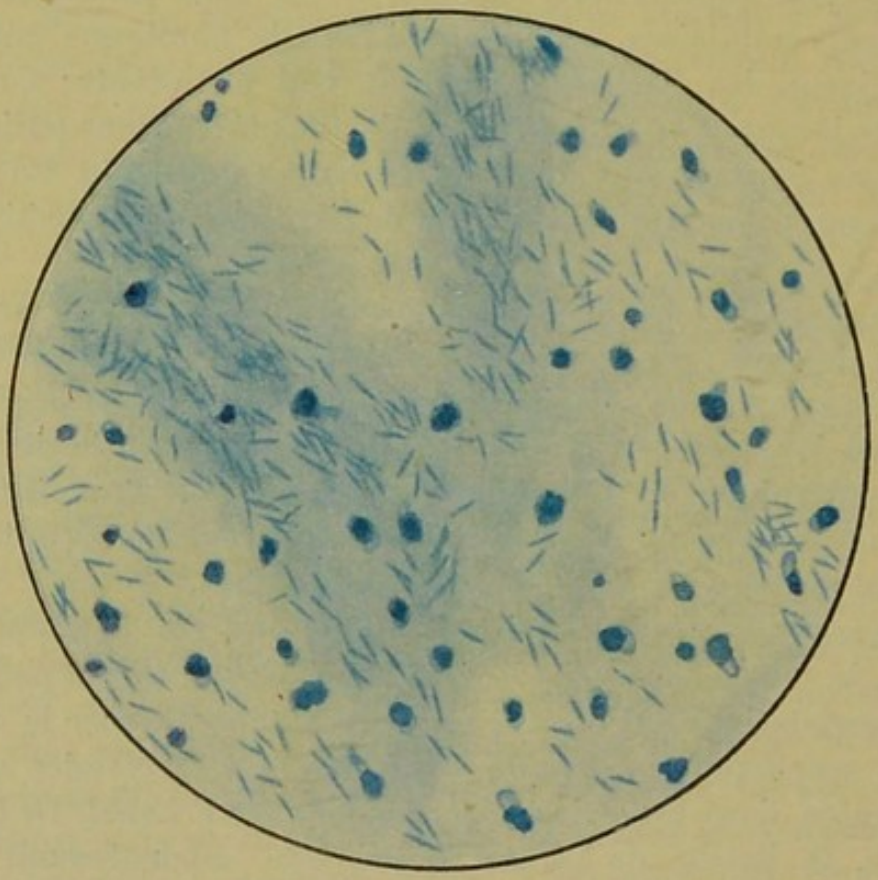


Fig. 261. — Coupe de fausse membrane d'angine de Vincent.

naissance, les spirilles apparaissent. Le Bacille fusiforme serait donc responsable de l'exsudat diphtéroïde, et le spirille de l'ulcération.

D'ailleurs, H. Vincent a pu observer une variété de cette angine (variété diphtéroïde) sans ulcération, où le Bacille fusiforme était seul en cause ; il l'a retrouvé en culture pure dans l'exsudat qui recouvre l'amygdale après l'amygdalotomie.

Chez l'animal. — Les premiers essais destinés à reproduire expérimentalement la *pourriture d'hôpital* sur l'animal restèrent sans résultat. H. Vincent recouvrit de putrilage, provenant des lésions humaines, des plaies artificielles provoquées chez le lapin, le cobaye, le rat blanc ; les blessures se cicatrisèrent sans présenter les altérations caractéristiques de l'affection.

Il en fut de même des injections sous-cutanées, qui produisirent bien parfois des abcès, mais dus aux germes habituels de la suppuration ; de même encore des injections intrapéritonéales, intraveineuses, intramusculaires, même après de fortes contusions au point d'inoculation.

Toutefois, en opérant sur un lapin arrivé à un degré accusé de cachexie tuberculeuse, l'injection sous-cutanée du produit bacillifère amena la production d'une plaie caractéristique. Il en fut de même quand H. Vincent associa au Bacille fusiforme des germes étrangers, tels que le Staphylocoque, le Streptocoque, le Colibacille, etc.

Les lésions présentèrent histologiquement et bactériologiquement les caractères des lésions humaines.

Plus tard, Coyon réalisa la pourriture d'hôpital chez le cobaye : il détermina tout d'abord dans la cuisse d'un cobaye une plaie anfractueuse avec dilacération musculaire ; il y introduisit ensuite des fragments de fausse membrane, puis sutura et collodionna la peau. Une vingtaine de jours après, une vaste plaie en entonnoir se développa, recouverte d'une fausse membrane sanieuse, riche en Bacilles fusiformes.

Avec les fausses membranes provenant d'*angines à Bacilles fusiformes*, l'injection sous-cutanée, intramusculaire, produit des abcès et des foyers nécrotiques caractéristiques avec pullulation du Bacille fusiforme et du spirille. L'injection dans le péritoine donne des abcès qui siègent à la face externe du foie.

L'inoculation des *cultures* où le Bacille fusiforme est en symbiose donne souvent des résultats positifs. A l'aide de *cultures pures* (2centimètres cubes sous la peau), Repaci détermina chez la souris un abcès et une nécrose étendue avec l'aspect typique de la lésion humaine.

RECHERCHE ET DIAGNOSTIC.

Il est simple de reconnaître les lésions dues au Bacille fusiforme : on prélève une parcelle du putrilage recouvrant la lésion; on en fait un frottis sur lames; après fixation, on colore une lame par le violet de gentiane phéniqué, une autre par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée. Au milieu de rares leucocytes dégénérés, l'examen ne tarde pas à révéler le Bacille fusiforme, avec son aspect classique et le spirille presque constant, tous deux décolorés par le Gram et ayant pris la teinte rouge de la fuchsine.

CHAPITRE XLIX

BACILLE TUBERCULEUX

Villemin découvrit d'abord que la tuberculose est une maladie infectieuse inoculable. L'agent pathogène fut décrit et étudié par Robert Koch (1882); aussi l'appelle-t-on communément *Bacille de Koch*.

On connaît actuellement *quatre types* de Bacilles tuberculeux, identiques les uns aux autres dans leurs caractères fondamentaux, mais différenciés par certaines particularités biologiques : ce sont les Bacilles *humain*, *bovin*, *aviaire* et *pisciaire*. Faut-il considérer ces quatre types comme autant d'espèces différentes, fixées dans leurs propriétés, spécialement dans leur électivité pathogène à l'égard de l'espèce animale indiquée par leur désignation; ou bien comme de simples variétés d'une espèce unique, variétés susceptibles de se transformer les unes dans les autres? Le problème, important au point de vue doctrinal, est capital au point de vue pratique, car il commande toute la prophylaxie humaine à l'égard de la tuberculose animale, extrêmement répandue. Aussi devons-nous le discuter brièvement.

I. Bacille humain et Bacille bovin. — Il est incontestable que ces deux bacilles diffèrent l'un de l'autre par plusieurs propriétés; le second est très pathogène pour le lapin et pour les bovidés; il n'acidifie pas le bouillon glycériné; il s'y développe péniblement, contrairement au Bacille humain. Il existe d'autres différences que nous signalerons plus loin.

Ces différences suffisent-elles à séparer les deux bacilles, malgré l'identité de leurs caractères fondamentaux? Jamais cette opinion n'avait été soutenue sérieusement, lorsque Koch (1901) vint déclarer que le Bacille bovin est foncièrement distinct du Bacille humain, et qu'il est incapable d'infecter l'homme.

A ce moment, les savants se partagent en deux groupes : les *dualistes*, Schutz, Th. Smith, acceptent la nouvelle formule de Koch; les *unicistes*, Nocard, Arloing, Vallée, et avec eux la grande majorité des observateurs, maintiennent l'unité de l'espèce et ne reconnaissent aux caractères différentiels qu'une valeur très contingente.

Depuis, l'expérimentation et l'observation ont fait justice du dualisme. Citons les faits essentiels:

a. Les caractères de culture n'ont rien d'absolu. Il existe des échantillons intermédiaires entre les deux types;

b. Il en est de même des différences de virulence. A la suite de passages par le bœuf (Eber) ou la chèvre (de Jong), le Bacille humain acquiert une virulence exaltée pour les bovidés;

c. L'inoculation de Bacilles humains peut vacciner les bœufs contre la tuberculose bovine (bovo-vaccin de Behring, p. 681);

d. Les tuberculines obtenues avec les deux bacilles sont identiques;

e. Certaines affections humaines, spécialement chez les enfants (ostéites, adénites, méningites, granulies), sont provoquées par un Bacille du type bovin, dans 25 à 30 p. 100 des cas (moyenne de diverses évaluations : Weber et Taute, Orth.; Commission anglaise, etc.);

f. Inversement, le Bacille humain peut infecter les bovidés.

De tout cela, on peut conclure que *les Bacilles humain et bovin constituent deux types appartenant à une même espèce.*

Il existe un *Bacille type humain* et un *Bacille type bovin*; l'infection humaine est provoquée généralement par le Bacille type humain, mais parfois aussi par le Bacille type bovin; il en est de même, *mutatis mutandis*, des infections tuberculeuses des bovidés.

II. Bacille des mammifères et Bacille aviaire. — Le Bacille aviaire se sépare des précédents par diverses particularités, bien mises en lumière par Straus et Würtz, Straus et Gamaleia. Ici encore, le dualisme a été soutenu. Principaux arguments : le Bacille aviaire donne des cultures plus abondantes, épaisses, molles; il pousse bien à 43°; il est pathogène pour la poule; il n'est pas virulent pour le chien; il tue le lapin et le cobaye sans provoquer de lésions apparentes, autant de propriétés qui feraient défaut au Bacille des mammifères.

Mais toutes ces propriétés sont contingentes. Nocard, à la suite de cultures successives en sacs de collodion dans le péritoine de la poule, et Fischer, par cultures successives dans l'œuf, ont transformé complètement le Bacille humain en Bacille aviaire. D'autre part, après plusieurs passages en milieux artificiels, le Bacille aviaire produit chez le lapin et le cobaye les mêmes lésions apparentes que le Bacille humain (Cadiot, Gilbert et Roger, Courmont et Dor). Il est parfois pathogène pour le chien (Richet et Héricourt), pour le veau (Bang).

On doit donc conclure que le *Bacille aviaire*, comme le Bacille

bovin, *appartient à la même espèce que le Bacille humain*; il constitue un type, *Bacille type aviaire*, adapté à l'organisme des oiseaux, mais susceptible de perdre, en dehors de cet organisme, tous ses attributs différentiels.

III. Bacille pisciaire. — Il est beaucoup moins étudié, et d'ailleurs beaucoup moins important en pratique. Ses relations avec les autres Bacilles tuberculeux sont encore imprécises.

IV. Nous étudierons ensemble les Bacilles type humain, type bovin

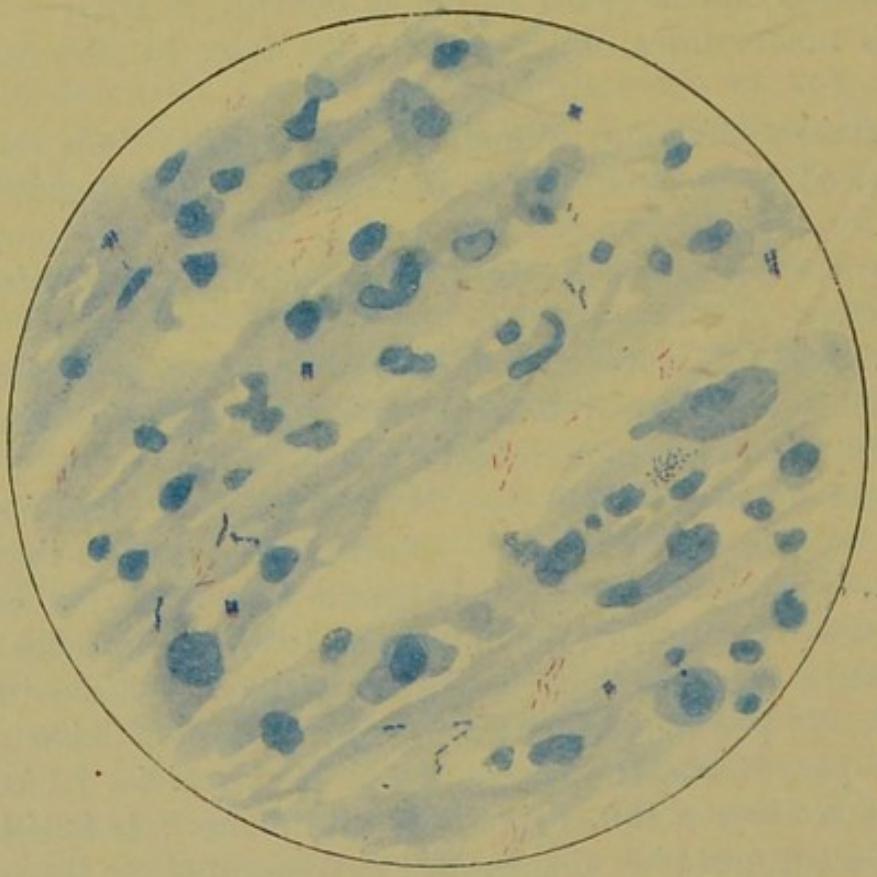


Fig. 262. — Crachats tuberculeux.

Bacilles tuberculeux, colorés en rouge, accompagnés d'autres microbes colorés en bleu. Coloration par le procédé de Ziehl-Neelsen.

et type aviaire, en indiquant au moment voulu leurs particularités respectives.

Le Bacille pisciaire sera décrit séparément.

MORPHOLOGIE.

Caractères microscopiques. — Le Bacille tuberculeux représente en général un bâtonnet, de largeur uniforme, mais de longueur plus variable (fig. 262 et 267). Dans les cultures jeunes ou dans les produits pathologiques, et après coloration, les bâtonnets mesurent en moyenne 1 μ, 5 à 3 ou 4 μ de long sur 0 μ, 3 de large; ils sont

droits ou un peu incurvés, plus rarement comme brisés (I. Straus).

Les Bacilles colorés présentent parfois des espaces clairs, ovoïdes, échelonnés régulièrement le long du bâtonnet; malgré l'opinion de Koch, il ne semble pas que ces espaces clairs représentent des spores.

Après coloration par le Gram modifié (Voy. p. 655, procédé de Much), les bacilles sont généralement formés de granulations séparées par des espaces clairs, de manière à simuler une chaînette de cocci. Cet aspect particulier, décrit depuis longtemps par Straus, a retenu l'attention depuis quelques années; Much a montré, en effet, que certaines lésions tuberculeuses renferment des bacilles colorables par son procédé, alors que les autres méthodes de coloration ne permettent pas de les déceler.

Dans certaines circonstances, spécialement dans les cultures âgées (Metchnikoff, Nocard et Roux) et dans les cultures amenées à végéter à 45° (Arloing), on rencontre des formes plus longues, et surtout des formes qui rappellent les champignons (fig. 263) : formes filamenteuses terminées en massue, avec prolongements latéraux également terminés en massue. La même disposition a été retrouvée dans les cavernes (Coppen Jones) ; dans les lésions provoquées chez le lapin par divers modes d'inoculation, Babès et Levaditi, Schutz signalent des formes rappelant l'actinomycose (fig. 264), masse filamenteuse centrale avec massues périphériques. On a pris texte de ces formes particulières pour rapprocher le Bacille de Koch des Streptothricés ; Metchnikoff a proposé de l'appeler *Sclerothrix Kochii*. Jusqu'à plus ample informé, ces conclusions ne peuvent être admises qu'avec réserves.

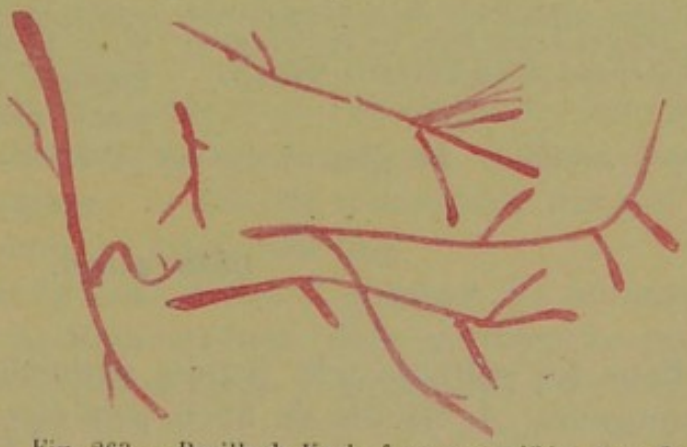


Fig. 263.— Bacille de Koch, formes ramifiées et renflées.

Le plus souvent isolés, parfois réunis bout à bout par deux ou groupés en petits amas dans les tissus, les Bacilles se disposent dans les milieux solides en véritables bancs, dans chacun desquels ils sont imbriqués les uns sur les autres, réalisant un aspect d'épi ou de « moustache tordue », suivant l'expression classique. Cette disposition est rendue visible en exécutant une préparation par impression (Koch) : on appuie légèrement une lamelle sur la surface du milieu; la lamelle enlevée est fixée et colorée (fig. 265).

Mobilité. — Le Bacille de Koch est généralement immobile. Cependant, dans les cultures homogènes (p. 660), il est légèrement mobile (Arloing).

Cils. — Inconnus (non colorés jusqu'ici).

Spores. — On ne sait encore si le Bacille de Koch est ou non sporulé.

On a successivement considéré comme spores les points clairs des bacilles colorés (Koch) ou au contraire des granulations un peu plus colorées que le reste (Babès), mais sans preuves à l'appui. Gavina dit avoir rencontré des spores terminales dans des cultures en présence de lusol ou de lusoforme ; ces bacilles sporulés seraient plus résistants à la chaleur.

Fig. 264. — Bacille de Koch, forme pseudo-actinomycosique dans les tissus ; inoculation expérimentale (d'après Schütz).

Constitution chimique. — Elle a été beaucoup étudiée, dans l'espoir de trouver la raison des réactions très particulières du Bacille tuberculeux à l'égard des colorants. Le Bacille tuberculeux renferme toute une série de substances qu'on peut extraire par des dissolvants appropriés, alcool, xylol, éther, pétrole, etc. : des acides gras, des graisses neutres, une cire, des corps analogues à la cholestérine et à la lécithine (Aronson, Auclair) ; Bulloch et Mac Leod ont extrait ainsi plus de 40 p. 100 de matières solubles. La plupart de ces substances sont acido-résistantes.

Coloration.

Dans les cultures très jeunes (spécialement dans les cultures homogènes), le Bacille de Koch peut être coloré par les procédés ordinaires. Mais, dans les cultures bien développées, de même que dans les produits pathologiques, il ne peut être coloré que par des méthodes spéciales.

Il prend le Gram à l'aide d'une technique modifiée (*méthode de Much*).

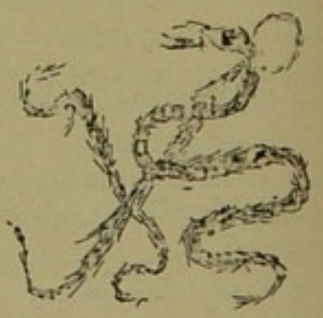


Fig. 265. — Disposition du Bacille tuberculeux en culture ; préparation par impression.

Procédés spéciaux de coloration. — Principe. — *Le Bacille de Koch est acido-résistant*. Le principe de la coloration des acido-résistants a été exposé plus haut (p. 241). Il est en outre *alcoolo-résistant*, c'est-à-dire qu'il résiste à la décoloration par l'alcool (Bezançon et Philibert). Il est assez souvent nécessaire de constater à la fois l'acido-résistance et l'alcoolo-résistance avant de conclure à la présence de Bacilles tuberculeux, en raison de la confusion possible avec certains bacilles seulement acido-résistants, mais non alcoolo-résistants (Voy. p. 691).

A. *Coloration dans les cultures et les frottis.* — **Procédé**

de Kühne. — *Procédé recommandé, lorsqu'il n'y a pas de confusion possible avec les acido-résistants.*

1° Colorer par la fuchsine phéniquée :

Soit à froid pendant dix à quinze minutes;

Soit à chaud, environ deux à trois minutes : chauffer légèrement au-dessus d'une veilleuse, jusqu'à production de vapeurs, puis cesser le chauffage; recommencer trois fois la même opération. Éviter de faire bouillir.

2° Faire agir pendant quelques secondes l'aniline chlorhydrique (ou chlorhydrate d'aniline) :

Huile d'aniline.....	100 cent. cubes.
Acide chlorhydrique.....	2 — —

3° Décolorer par l'alcool absolu; laver à l'eau.

4° Recolorer le fond par le bleu de méthylène phéniqué dilué au tiers, quelques secondes.

Ce procédé, vulgarisé par Borrel, est très bon. Le chlorhydrate d'aniline change à peine la teinte de la préparation; mais il a diversement impressionné les éléments qui la composent : l'action ultérieure de l'alcool décolore, en effet, tous ces éléments, sauf les Bacilles tuberculeux, qui restent colorés en rouge.

Procédé de Ziehl-Neelsen. — *Procédé recommandé lorsqu'il y a possibilité de confusion avec les acido-résistants.*

1° Colorer par le liquide de Ziehl, à chaud, pendant dix minutes.

2° Décolorer par l'acide azotique au tiers, deux minutes. La préparation devient incolore. Laver à l'eau. Il réapparaît une teinte rose plus ou moins marquée.

3° Achever la décoloration par l'alcool absolu, cinq minutes. Laver à l'eau.

4° Recolorer le fond comme ci-dessus, ou par le bleu de Unna. Le bacille tuberculeux reste coloré en rouge.

Observation. — On peut substituer à l'acide nitrique au tiers l'acide sulfurique au quart.

Procédé de Much. — 1° Colorer à 37° pendant vingt-quatre à quarante-huit heures avec la solution :

Violet de méthyle BN, sol. alc. sat.....	10 cent. cubes.
Acide phénique, sol. à 2 p. 100.....	100 —

2° Traiter par la solution iodo-iodurée (p. 239), une à cinq minutes.

3° Faire agir successivement : pendant une minute, l'acide nitrique à 5 p. 100; puis, dix secondes, l'acide chlorhydrique à 3 p. 100; enfin, jusqu'à décoloration, l'alcool-acétone (parties égales).

Procédé de Hauser. — Colorer comme pour le procédé de Kühne. Décolorer par l'acide lactique au dixième; laver. Recolorer le fond.

Procédé de Gablet. — Colorer comme ci-dessus ; opérer ensuite simultanément la décoloration et la recoloration de fond en traitant quelques secondes par une solution de bleu de méthylène à 2 p. 100 dans l'acide sulfurique au quart.

Procédé de Spengler. — Colorer comme ci-dessus (procédé de Kühne). Traiter ensuite par l'alcool picriqué, quelques secondes :

Alcool à 60°..	40 cent. cubes.
Solution saturée d'acide picrique.....	60 — —

Laver trois fois de suite à l'alcool à 60°. Décolorer par l'acide sulfurique à 15 p. 100; activer la décoloration par l'alcool absolu, laver à nouveau à l'alcool picriqué.

Procédé d'Ehrlich, modifié par Weigert. — Colorer par le mélange :

Solution aqueuse à 3 ou 4 p. 100 d'aniline.	100 cent. cubes.
Solution alcoolique saturée de violet de méthyle ou de fuchsine.....	11 — —

pendant quinze à trente minutes. Décolorer par l'acide nitrique au tiers ou l'acide sulfurique au quart. Laver, recolorer le fond avec une couleur de contraste.

Procédé de Herman. — Le colorant est obtenu en mélangeant au moment du besoin :

Solution alcoolique de Kristall-violet à 3 p. 100.	3 parties.
Solution aqueuse de carbonate d'ammoniaque à 1 p. 100.....	1 partie.

Colorer à chaud environ une minute; décolorer par l'acide nitrique au dixième ; achever la décoloration par l'alcool absolu. Recolorer le fond par l'éosine aqueuse au centième.

B. *Coloration du Bacille tuberculeux dans les coupes.* — On peut employer les mêmes procédés que pour les frottis. Il faut préférer ceux qui n'altèrent pas les tissus.

Le meilleur est le *procédé de Kühne* : colorer d'abord les noyaux par l'hématéine, environ deux minutes ; laver à l'eau. Colorer les Bacilles par la fuchsine de Ziehl, à froid, quinze à vingt minutes. Faire agir quelques secondes l'aniline chlorhydrique ; décolorer par l'alcool absolu. Traiter par le xylol et monter.

CULTURES.

Conditions générales. — Le Bacille tuberculeux est essentiellement aérobie. La température optima de développement est 38°. Les températures limites compatibles avec la culture sont 30° environ et 41° pour les Bacilles des mammifères, 43° à 44° pour le

Bacille aviaire (adapté à l'organisme des oiseaux, dont la température normale est 40°).

Les Bacilles habitués à la culture *in vitro* se développent bien sur des milieux spéciaux, *milieux albumineux* (Koch), et surtout *milieux glycérinés* (Nocard et Roux). Mais la première culture est assez difficile à obtenir; nous indiquerons d'abord comment on peut réussir cette culture initiale.

Culture initiale. — A part certains cas spéciaux, que nous retrouverons plus loin (Voy. *Analyses bactériologiques*), il est prudent de suivre une technique imitée de Koch. On inocule sous la peau d'un cobaye des produits sûrement tuberculeux ; après trois ou quatre semaines, l'animal est sacrifié. On recueille aseptiquement des portions largement tuberculeuses de foie ou de rate ; on les broie dans un verre stérile : ce broyage a pour but de libérer les Bacilles, emprisonnés dans les tissus.

A l'aide d'une forte spatule, le produit du broyage est ensemencé sur sérum glycériné ou sur sang gélosé, qui constituent les meilleurs milieux pour cultures initiales. On observera dans cet ensemencement deux règles particulières; il faut incorporer la semence au milieu de culture, en le dilacérant un peu avec la spatule ; il faut ensemencer plusieurs tubes, dix à quinze en moyenne ; beaucoup d'entre eux ne donnent aucune culture. Les tubes, capuchonnés, seront portés à l'étuve; les caractères de cultures sont indiqués plus loin. On aura soin de repiquer les premières cultures dès qu'elles sont bien formées, et de préférence sur le même milieu. Dans la suite, le Bacille semble s'acclimater aux milieux artificiels et se développe sur tous les milieux que nous allons étudier.

Observations préliminaires. — Pour le sérum, la gélose et le bouillon glycérinés, il est préférable d'ajouter 6 p. 100 de glycérine, 2 p. 100 de glucose et 1 p. 100 de peptone (Nocard et Roux).

Les cultures devant rester longtemps à l'étuve, on aura soin de toujours capuchonner les récipients.

Nous prendrons comme type d'étude le Bacille tuberculeux des mammifères (humain ou bovin); les particularités propres au Bacille aviaire seront indiquées en terminant.

Sérum glycériné (Nocard et Roux). — La culture initiale commence à être nettement visible du douzième au quinzième jour, sous forme de petits mamelons saillants, d'un blanc mat ; quelques jours plus tard, les colonies sont sèches, un peu jaunâtres. Après plusieurs générations, les cultures sont un peu plus précoces et surtout plus abondantes : membrane sèche,

hérissée de mamelons très irréguliers. Le liquide du fond peut présenter soit un voile à la surface, soit des grumeaux dans la profondeur.

Le sérum, indiqué pour les premières cultures, ne vaut pas les milieux suivants pour l'entretien du bacille.

Gélose glycérinée. — La culture est bien développée en deux à trois semaines. A ce moment, son aspect est un peu variable suivant les échantillons : c'est tantôt une membrane sèche avec saillies verruqueuses à la surface, tantôt un enduit gras, plissé, épais. La couleur, blanchâtre au début, devient souvent brunâtre ou rosée dans la suite. La culture dégage une odeur agréable.

Gélose au hareng glycérinée. — D'après Hip. Martin, la chair de hareng peut être substituée avec avantage à la viande dans la fabrication de la gélose glycérinée ; le milieu est plus favorable encore quand on emploie, au lieu d'eau ordinaire, certaines eaux minérales (eau du Mont-d'Or surtout) : on fait bouillir la chair de hareng dans une fois et demie son poids d'eau, pendant quarante-cinq minutes; on passe sur un linge, et on opère ensuite comme pour la gélose glycérinée.

Sang gélosé glycériné glucosé. — Sur ce milieu, préconisé par Bezançon et Griffon, la culture est luxuriante, mamelonnée, teintée en brun-chocolat par l'hémoglobine empruntée au milieu.

Milieux à base d'œuf. — *a.* Dorset emploie l'œuf solidifié : on mélange intimement le blanc et le jaune; après avoir ajouté 10 p. 100 d'eau, on répartit en tubes et on stérilise en position inclinée, par chauffages discontinus à 70°.

b. On peut ajouter le jaune d'œuf à d'autres milieux : mélanger 10 grammes de jaune d'œuf à 20 grammes de gélose glycérinée, maintenue liquide à 45°, mélanger; laisser refroidir (Bezançon et Griffon); ou bien mélanger 70 grammes de jaune d'œuf à 30 grammes de bouillon glycériné stérile, mélanger, coaguler à 90° en position inclinée (Lübenau).

c. Sur ces divers milieux à base d'œuf, le Bacille de Koch se développe bien. Suivant Park, le milieu de Dorset est favorable à la culture du Bacille bovin, alors que le Bacille humain y pousse à peine; et inversement, le Bacille humain donne de très belles cultures sur milieu de Lübenau, peu favorable au Bacille bovin. Dans tous les cas, les cultures obtenues sur milieux glycérinés au jaune d'œuf sont précoces, abondantes, souvent grasses.

Pomme de terre glycérinée (Nocard). — La culture est abondante et relativement précoce; elle est visible vers le dixième ou vingtième jour ; elle forme une membrane épaisse, plissée, humide, blanc jaunâtre (fig. 266); plus rarement elle demeure sèche.

La culture forme voile à la surface du liquide où baigne le tubercule.

Pomme de terre biliée et glycérinée (Calmette). — On laisse séjourner pendant trois semaines à la glacière de la bile glycérinée à 5 p. 100 ; on y fait ensuite baigner les pommes de de terre pendant trois heures. Les Bacilles tuberculeux poussent beaucoup mieux sur le milieu à bile homologue : Bacille humain sur bile humaine, Bacille bovin sur bile de bœuf, Bacille aviaire sur bile de poule.

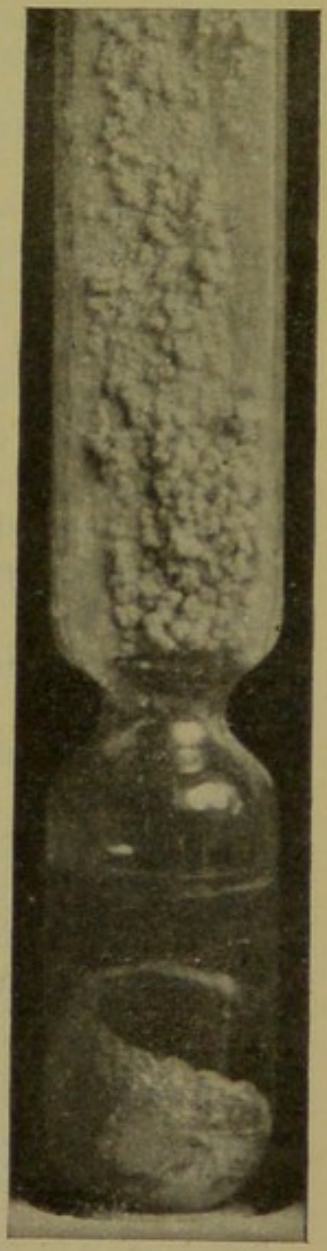


Fig. 266. — Bacille de Koch ; culture sur pomme de terre glycérinée.

Organes (A. et F. Lumière). — Le foie ou la rate de bœuf ou de veau, après lavage, est cuit à l'autoclave (quarante-cinq minutes), puis découpé en fragments qu'on plonge une heure dans l'eau glycérinée à 6 p. 100 ; les fragments sont répartis en tubes à pommes de terre et stérilisés. La culture est abondante et débuterait après trente-six heures.

Bouillon glycériné (Nocard et Roux). — Il faut ensemencer à la surface, en ballon ou en matras. Le mieux est de prélever un large fragment du voile qui recouvre le liquide du fond dans les cultures sur pomme de terre glycérinée ; on dépose ce voile à la surface du bouillon, en ayant bien soin de ne pas l'immerger ; le voile doit demeurer flottant.

La culture débute vers le quinzième jour, sous forme d'un voile mince qui entoure le fragment ensemencé. Le voile s'agrandit et s'épaissit peu à peu ; il recouvre bientôt toute la surface et grimpe sur les parois ; il se plisse, demeurant le plus souvent sec ; plus rarement, il est gras et humide. Le liquide reste toujours limpide.

Le Bacille bovin donne le plus souvent une culture moins abondante que le Bacille humain.

Lorsqu'une partie de la semence est immergée, il peut se développer au fond des grumeaux peu abondants.

Les cultures dégagent une odeur agréable.

Réaction du bouillon. — Les deux Bacilles neutralisent le milieu pendant les trois ou quatre premières semaines ; dans la suite, le Bacille humain acidifie, alors que le Bacille bovin alcalinise (Th. Smith).

Variantes. — Pour faciliter le flottage de la semence, on peut disposer à la surface du bouillon une petite plaque de liège (P. Courmont) ou une très mince pellicule d'huile de vaseline (Gioelli).

Bouillon glycériné à la pomme de terre (Jurewitch). — On commence la préparation du bouillon comme d'ordinaire (p. 115, jusqu'au temps *e*); d'autre part, on laisse macérer dans son poids d'eau, pendant vingt-quatre heures, de la pomme de terre écrasée et tamisée, qu'on passe ensuite sur linge. On mélange les deux liquides et on opère ensuite comme pour le bouillon. Après le temps *i*, on ajoute 3 p. 100 de glycérine.

Caractères particuliers du Bacille aviaire. — Le Bacille aviaire se développe plus facilement, même en premières cultures; il pousse en outre sur bouillon ordinaire. Ses cultures sont en général humides et grasses, abondantes, présentant par ailleurs les caractères décrits ci-dessus; en bouillon glycériné, les grumeaux du fond sont parfois assez abondants. L'odeur paraît un peu aigrelette (Straus). Tous ces caractères sont contingents et peuvent appartenir aux autres types de bacilles.

Cultures homogènes. — Arloing a pu habituer le Bacille tuberculeux à produire dans le bouillon un trouble *homogène* (comme le Bacille typhique). On part d'une culture habituée aux milieux artificiels et produisant une membrane grasse et humide sur pomme de terre glycérinée ; on ensemence en bouillon glycériné, en ayant soin ensuite d'agiter le milieu tous les jours. Après un certain nombre de passages en bouillon glycériné, le bacille cultive en troublant uniformément le milieu; la culture, relativement précoce, peut être bien développée dès le deuxième jour. Les cultures bien entraînées se développent sous le même aspect en bouillon ordinaire.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité. — En cultures, le Bacille de Koch demeure vivant quelques mois.

Résistance à la chaleur. — Sa résistance à la chaleur est variable suivant les conditions de milieu.

Il résiste plus à l'état sec qu'à l'état humide, plus dans les produits morbides, où il est protégé par une gangue albuminoïde, que dans les cultures.

Le bacille des cultures est tué en dix minutes à 70° (Yersin) ; desséché, il résiste mieux: un chauffage de trois heures à 100° affaiblit la virulence, sans l'anéantir (Grancher et Ledoux-Lebard). Le bacille sporulé de Gavina résisterait plus que le bacille non sporulé.

Dans les crachats humides, le bacille n'est aucunement influencé par un chauffage à 71° pendant dix minutes (Galtier). La résistance dans le lait a été particulièrement étudiée, dans le but de fixer les conditions néces-

saires pour rendre le lait sûrement inoffensif, mais les résultats sont un peu variables. La plupart des auteurs admettent avec Forster que le Bacille de Koch est détruit en cinq minutes à 80° ou en dix minutes à 70° ; mais, d'autre part, on l'a vu résister à 80° pendant trente minutes (Beck) et à 70° pendant une heure (Basenau) ; il faut remarquer que ces températures sont celles habituellement atteintes dans la pasteurisation. On comprend très bien, d'ailleurs, que le bacille résiste mieux quand le lait provient de bêtes atteintes de mammites tuberculeuses.

Résistance à la putréfaction. — Le Bacille de Koch résiste à la putréfaction : pendant vingt jours dans des tissus putréfiés (Galtier) ; pendant deux ans dans des cadavres enfouis (Schottelius).

Résistance à la dessiccation. — La résistance à la dessiccation est diversement appréciée. Les crachats desséchés seraient inoffensifs suivant certains auteurs ; d'après Küss, ils conservent leur virulence pendant quinze jours à la lumière, dix-huit jours à l'obscurité.

Résistance dans l'eau. — Dans l'eau de Seine, le Bacille humain demeure vivant soixante-dix jours (Chantemesse et Widal) ; le Bacille aviaire, cent quinze (Straus et Dubarry).

Résistance aux antiseptiques. — Elle est faible dans les cultures, beaucoup plus marquée dans les excreta ou tissus. Le Bacille de Koch des cultures est détruit par l'acide phénique à 1 p. 100 en une minute (Yersin). D'après Koch, le cyanure d'or à dose infime, 1 p. 2 000 000, suffit à empêcher toute culture.

Dans les crachats, les antiseptiques non coagulants manifestent seuls quelque activité ; H. Vincent obtient la stérilisation en six heures avec la soude à 10 p. 100 et l'hypochlorite de chaux à 20 p. 100.

Réactions à l'égard des sérums. — I. Expérimentalement, le sérum des animaux inoculés présente des anticorps spécifiques : *agglutinine*, *sensibilisatrice*, *précipitine*. Ces anticorps sont particulièrement abondants chez les animaux vaccinés.

II. Chez l'homme tuberculeux, le sérum sanguin renferme également des agglutinines et des sensibilisatrices (Voy. p. 679).

III. Les Bacilles tuberculeux ne sont pas tous agglutinables. Avant de procéder à la recherche du pouvoir agglutinant d'un sérum, il faut donc au préalable vérifier l'aptitude agglutinative du microbe.

ACTION PATHOGÈNE.

Le Bacille de Koch est pathogène dans les conditions naturelles pour l'homme et pour beaucoup d'animaux.

Chez l'homme. — Le rôle du Bacille tuberculeux en pathologie humaine est énorme.

On ne se tromperait pas beaucoup en disant que tout être humain adulte est tuberculeux ; aux autopsies d'adultes, on constate la présence de lésions tuberculeuses chez la plupart des sujets, 80 p. 100, suivant les estimations les plus modérées, 94 p. 100 (Strang) et même 100 p. 100 dans certains milieux.

Mais la majorité de ces lésions tuberculeuses sont latentes ; elles représentent, dans les trois quarts des cas, de simples reliquats d'une infection antérieure, localisée le plus souvent au sommet des poumons ou dans les ganglions trachéobronchiques ou mésentériques.

La tuberculose est de beaucoup la plus importante des causes de décès. En moyenne, et dans les villes, 20 à 25 p. 100 des décès lui sont directement attribuables.

La *forme clinique* de beaucoup la plus fréquente est la *phtisie*, ou tuberculose pulmonaire chronique, avec cavernes, abcès caséeux, tubercules, etc. La tuberculose aiguë, sous forme de granulie, de méningite tuberculeuse, de typho-bacillose (tuberculose sans lésions apparentes), est moins fréquente, sans être exceptionnelle. Il faut citer, en outre, les tuberculoses localisées les plus communes : tuberculose osseuse, articulaire, péritonéale, intestinale, génito-urinaire, cutanée (lupus), ganglionnaire, etc.

La tuberculose est presque toujours *acquise* : la transmission héréditaire est tout à fait exceptionnelle. Elle se propage à peu près exclusivement par contagion. C'est le plus souvent l'homme malade qui transmet la tuberculose à son entourage ; mais les documents accumulés dans ces dernières années démontrent que les tuberculoses animales, spécialement la tuberculose bovine, peuvent infecter l'homme.

Il existe plusieurs *portes d'entrée* de la tuberculose. Suivant les opinions, on accorde le plus d'importance à l'infection par inhalation ou à l'infection par ingestion : l'une et l'autre sont certainement fréquentes. On connaît, en outre, quelques exemples d'inoculation par voie cutanée et par voie génitale.

Chez les animaux. — Bovidés adultes. — La tuberculose des bovidés est en moyenne très répandue, mais son expansion varie beaucoup d'une région à l'autre.

En Europe, on peut évaluer de 10 à 20 p. 100 le nombre des bovidés adultes reconnus tuberculeux à l'abattoir ; mais les chiffres extrêmes sont très écartés, de 1 à 38 p. 100. L'emploi de la tuberculine (p. 678) révèle en outre un nombre énorme de tuberculoses latentes.

La tuberculose des bovidés évolue sous des formes diverses. Il faut signaler tout d'abord la plus fréquente, la tuberculose chronique à localisations multiples ; on trouve alors dans le poumon des masses saillantes à l'extérieur (*pommelière*), tantôt caséeuses, tantôt crétacées ; dans les plèvres et le péritoine, des sortes de tumeurs fibreuses ou fibro-crétacées, étalées à la surface des séreuses, en forme de polypes ou de choux-fleurs (*maladie perlée*, *Perlsucht*) ; il existe souvent des altérations tuberculeuses du foie, de l'intestin (ulcérations), des ganglions.

L'évolution des formes chroniques peut être traversée par des poussées aiguës.

Veau. — La tuberculose est rare chez le veau, d'autant plus rare qu'on s'adresse à des animaux plus jeunes.

Porc. — La tuberculose du porc paraît devenir de plus en plus fréquente, surtout depuis que l'élevage industriel les nourrit de résidus de laiterie.

En France, elle est encore rare ; mais elle sévit fortement en d'autres pays : à l'abattoir, on trouve tuberculeux 4 à 5 porcs p. 100 en Allemagne, jusqu'à 30 p. 100 en Hollande.

Les formes les plus communes sont la tuberculose digestive, avec entérite tuberculeuse et tubercules dans le foie et les viscères abdominaux, et la forme ganglionnaire (scrofulose) ; des examens plus minutieux pratiqués dans ces dernières années amènent à penser que la tuberculose aiguë, avec peu ou pas de lésions, est également fréquente. Il existe, en outre, une forme articulaire.

Singe. — Dans nos climats, les singes meurent souvent de tuberculose, surtout pulmonaire ; 25 p. 100 des décès environ.

Chien. — Le chien est rarement atteint, 1 cas sur 100 à 200 animaux environ ; tuberculose chronique surtout pulmonaire.

Autres mammifères. — Le *cheval,* la *chèvre*, le *mouton*, le *chat* ne sont pas réfractaires à la tuberculose, mais se trouvent atteints beaucoup moins souvent que les espèces précédentes.

Les animaux de laboratoire, *lapin*, *cobaye*, *rat*, *souris*, ne sont guère atteints par la tuberculose ; ils présentent, par contre, des pseudo-tuberculoses (chap. L).

Oiseaux. — Chez la plupart des oiseaux, poule, pigeon, faisan, pintade, oiseaux de proie, etc., la tuberculose est fréquente ; aux Halles de Paris, on a trouvé 35 à 75 p. 100 de volailles tuberculeuses pour certaines provenances. L'oie et le canard paraissent seuls à peu près réfractaires.

La tuberculose des oiseaux est due généralement au Bacille aviaire. C'est presque toujours dans l'abdomen que siègent les lésions : tubercules caséeux ou crétacés dans le foie, la rate, la paroi intestinale ; le poumon est plus rarement intéressé.

Chez le perroquet, on observe, par contre, souvent la tuberculose pulmonaire, de même que de la tuberculose cutanée du bec.

Animaux à sang froid. — Voyez *Bacille pisciaire* (p. 685).

Action pathogène expérimentale.

On peut reproduire expérimentalement toutes les lésions tuberculeuses.

I. Chez les animaux sensibles, les lésions sont le plus souvent apparentes, tubercules, abcès caséeux, etc. : c'est la *tuberculose type Villemin*, décrite tout d'abord par Villemin à la suite de l'inoculation au cobaye de produits tuberculeux humains. Parfois il n'y a pas de lésions apparentes, mais les organes sont infiltrés de Bacilles : c'est

la *tuberculose type Yersin*, signalée par Yersin chez les lapins soumis à l'inoculation intraveineuse de Bacilles aviaires. Presque toutes les inoculations aboutissent au type Villemin ; nous signalerons en temps utile les quelques exceptions ressortissant au type Yersin.

II. De même que tout autre microbe, le Bacille de Koch est inégalement virulent, mais les variations de virulence sont, au moins en partie, liées à des raisons saisissables.

Comme toujours, la dose intervient : 40 microbes d'une culture déterminée peuvent tuer le cobaye inoculé sous la peau ; une dose quatre fois plus forte tue toujours (Preyss). Il faut aussi tenir compte de l'âge des cultures ; anciennes, elles peuvent ne plus produire que de la sclérose, sans tubercules (Bezançon et Philibert).

Peut-être, comme le veulent Rodet et Delanoë, la virulence variable du bacille explique et, même, permettrait-elle de mesurer le degré de gravité clinique de la tuberculose pulmonaire humaine.

Mais c'est dans l'*adaptation du bacille aux diverses espèces animales* qu'on a trouvé l'explication la plus nette des variations dans la virulence. Ces bacilles, adaptés à l'homme, aux bœufs ou aux oiseaux, ne constituent pas, nous l'avons vu, des espèces distinctes, mais cela ne les empêche en aucune façon de se modifier un peu dans leurs qualités pathogènes.

Le Bacille bovin est le plus pathogène « pour tous les mammifères, y compris l'homme », a dit Behring, ce qui est au moins un peu exagéré. Il est manifestement le plus pathogène pour le lapin et pour les bovidés ; mais il est moins pathogène que le Bacille humain à l'égard du cobaye. La virulence du Bacille aviaire pour les mammifères et, inversement, la virulence des Bacilles des mammifères pour les oiseaux sont discutées.

III. La tuberculose a été très étudiée expérimentalement.

Beaucoup de recherches ont eu pour objectif d'élucider le mécanisme habituel de contagion de la tuberculose, dans les conditions naturelles.

On sait qu'il s'est constitué sur ce point deux opinions différentes. Les uns pensent que la tuberculose est d'*origine digestive* et se transmet *par ingestion* (Behring, Calmette) ; Behring soutient en ce sens une opinion excessive, d'après laquelle toutes les tuberculoses de l'adulte ne seraient que le réveil d'anciennes lésions, d'origine digestive, sommeillant depuis l'enfance. D'autres, par contre, attribuent la contagion *à l'inhalation* de poussières bacillifères, à l'état sec (Cornet) ou, le plus souvent, à l'état humide (Flügge). En fait, l'un et l'autre mode de contagion paraissent également très admissibles, comme nous le verrons en étudiant plus loin les effets de l'ingestion et de l'inhalation.

A côté de ces problèmes étiologiques, la tuberculose soulève incessamment d'autres problèmes dans une orientation différente : il s'agit de reconnaître la présence du Bacille tuberculeux, et éventuellement sa qualité, c'est-à-dire le type auquel il appartient. Dans ce but, on s'adresse à d'autres modes d'inoculation : sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale, etc.

Nous étudierons successivement :

Les modes habituels d'inoculation (injections sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale, etc.) ;

L'inoculation par ingestion ;

L'inoculation par inhalation.

A. **Modes habituels d'inoculation**. — *Cobaye*. — 1° **Bacille humain**. — Le cobaye est le *réactif par excellence* du Bacille tuberculeux humain. On peut poser en principe que tout cobaye inoculé avec le Bacille humain ou avec des produits renfermant ce bacille contracte la tuberculose et y succombe.

Inoculation sous-cutanée. — Après inoculation sous-cutanée, il se forme généralement, pas toujours, au point d'inoculation un foyer de nécrose qui s'ouvre à l'extérieur (chancre tuberculeux) vers le dixième ou quinzième jour ; il persiste ensuite. Vers le quinzième ou vingtième jour, les ganglions correspondants se tuméfient. Puis l'animal maigrit et finalement succombe en un temps variable, un à quatre mois et même plus.

A l'autopsie, on trouve des lésions tuberculeuses étendues : la rate, brun jaunâtre, très grosse, est criblée de granulations ou de foyers caséeux ; des lésions analogues, un peu moins confluentes, se retrouvent sur le foie. Des tubercules gris ou blancs parsèment les séreuses, les reins et les poumons. Les ganglions correspondant au point inoculé sont ramollis et caséeux. Dans toutes les lésions, on trouve en abondance le Bacille tuberculeux. C'est le type de la tuberculose type Villemin.

Suivant la durée d'évolution, ce tableau peut varier un peu : si l'évolution est courte, ou si l'animal est sacrifié après un mois, on trouve seulement des lésions ganglionnaires et des granulations dans la rate et le foie. Si l'évolution est très lente, il peut exister une véritable cirrhose du foie.

Inoculation transcutanée. — Il suffit de badigeonner la peau rasée avec des produits tuberculeux pour tuberculiser le cobaye : mêmes lésions que ci-dessus ; l'évolution est souvent un peu plus lente (Osman-Nouri, Courmont et Lesieur).

Inoculation intrapéritonéale. — La mort est plus rapide, en

quelques semaines; péritonite adhésive avec éruption miliaire des organes abdominaux.

Chez le mâle, l'inoculation intrapéritonéale détermine souvent une vaginalite (Panisset).

Inoculation intramammaire. — Après inoculation dans la mamelle d'une femelle en lactation, les Bacilles commencent à apparaître dans le lait du huitième au quinzième jour (Nattan-Larrier).

2° **Bacille bovin.** — *Inoculation sous-cutanée.* — Elle ne tue pas toujours, à beaucoup près. Quand l'animal succombe, on trouve les mêmes lésions que ci-dessus.

3° **Bacille aviaire.** — Résultats très variables. D'après Lydia Rabinowitch, qui a étudié un grand nombre d'échantillons, l'inoculation au cobaye de lésions aviaires tuberculeuses reproduit le plus souvent la tuberculose type Villemin, exceptionnellement la tuberculose type Yersin. Les cultures, après plusieurs générations, agissent presque toujours comme les cultures du Bacille humain (Courmont et Dor).

Lapin. — Le lapin, peu sensible au Bacille humain, est plus sensible au Bacille bovin (Villemin), plus sensible encore au Bacille aviaire (Yersin). La plupart des auteurs s'accordent actuellement pour admettre que le lapin constitue le meilleur réactif de laboratoire pour le diagnostic entre les Bacilles humain et bovin ; la virulence du Bacille bovin pour le lapin est parallèle à la virulence pour les bovidés.

1° **Bacille bovin.** — L'*inoculation sous-cutanée* provoque un abcès local, suivi d'adénite; l'animal succombe en un à plusieurs mois. A l'autopsie, on trouve des tubercules ou des masses caséeuses dans les poumons et les reins, plus rarement dans les autres organes.

Après *inoculation intraveineuse*, la mort survient un peu plus vite (presque toujours avant deux mois); les lésions sont les mêmes.

A la suite de l'inoculation dans la *chambre antérieure de l'œil* (Cohnheim), le produit inoculé se résorbe d'abord ; vers le quinzième jour, apparaissent des granulations sur l'iris, puis la cornée est atteinte, et on peut assister à la fonte purulente de l'œil. Ensuite la tuberculose se généralise.

2° **Bacille humain.** — L'*inoculation sous-cutanée* ne détermine qu'un abcès local ; l'animal ne succombe presque jamais. Sacrifie-t-on l'animal, on ne trouve pas de lésions, ou bien de très rares granulations dans les poumons et les reins.

Diagnostic entre les Bacilles humain et bovin par inoculation au lapin. — On inocule une dose déterminée de culture, $0^{gr},10$ sous la peau (Œhlecker), ou $0^{gr},01$ dans les veines (Park). Le lapin succombe, non le cobaye. Les lésions ont été décrites ci-dessus.

3° **Bacille aviaire.** — L'*inoculation intraveineuse* de Bacille aviaire détermine généralement la mort en deux à trois semaines; à l'autopsie, il n'existe pas de lésions apparentes, mais les organes fourmillent de Bacilles (type Yersin). Des Bacilles moins virulents tuent moins vite; on trouve alors les lésions apparentes habituelles.

L'évolution de la tuberculose sous le type Yersin n'est pas absolument spéciale au Bacille aviaire; on peut la reproduire en inoculant de fortes doses de Bacille des mammifères (Grancher et Ledoux-Lebard).

Après *inoculation sous-cutanée*, l'évolution est plus lente; les lésions se retrouvent sous les mêmes aspects. Il existe souvent en outre des localisations articulaires (Courmont et Dor).

Souris, surmulot. — *Même électivité que le lapin à l'égard du Bacille bovin :* l'inoculation sous-cutanée de ce dernier entraîne la mort en quatre ou cinq mois, avec lésions de la rate et du poumon ; l'inoculation sous-cutanée du Bacille humain produit un abcès local suivi d'adénite, mais sans généralisation. Cette différence d'action serait constante à l'égard de la souris, de telle sorte que l'inoculation à la souris constituerait une excellente épreuve de différenciation (Beck).

Chien. — Sensible aux inoculations sévères de virus *humain* ou *bovin* : l'inoculation de bacilles très virulents, ou de fortes doses par les diverses voies, amène la mort avec les lésions habituelles du type Villemin.

Le chien est très résistant au Bacille *aviaire*, mais il n'est pas absolument réfractaire (Richet et Héricourt).

Bovidés. — Les bovidés sont sensibles au Bacille type *bovin*, que ce bacille provienne des bovidés, du porc ou de l'homme. Suivant le degré de virulence et la dose, l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse produit une maladie aiguë ou une maladie chronique, avec lésions apparentes des viscères et des ganglions.

Les Bacilles du type *humain* ne sont que peu ou pas virulents.

Chèvre. — La chèvre paraît plus sensible au Bacille *bovin*, spécialement par ingestion (Voy. plus loin).

L'inoculation dans les trayons provoque de la mammite (Nocard).

Oiseaux. — Le *perroquet* est facilement infecté par voie sous-cutanée avec les *trois types* de bacilles.

La *poule* est très sensible au *Bacille aviaire* ; l'ingestion de produits tuberculeux reproduit la maladie naturelle. L'inoculation intraveineuse amène le plus souvent une tuberculose aiguë sans lésions visibles (type Yersin).

Les réactions de la poule à l'égard des *Bacilles des mammifères* sont plus discutées. La poule y est incontestablement moins sensible qu'au Bacille aviaire. Néanmoins il est acquis que certains Bacilles des mammifères (la

moitié des bacilles, d'après Bang) produisent par inoculation sous-cutanée une tuberculose type Villemin (Cadiot, Gilbert et Roger).

Animaux à sang froid. — Le Bacille humain tuberculise l'orvet (Mœller), parfois les serpents (*Varanus*, d'après Bertarelli); Morey aurait provoqué une tuberculose localisée au péritoine par inoculation intrapéritonéale à la carpe ou à la grenouille. Les autres espèces sont beaucoup moins sensibles (Voy. p. 685, *Bacille pisciaire*).

B. **Inoculation par ingestion.** — Quel que soit l'animal en expérience et quel que soit le virus, les bacilles ingérés ont toujours tendance à se localiser sur les ganglions trachéobronchiques ou sur les poumons (fait important, qui permet de comprendre que la tuberculose humaine sous sa forme commune, phtisie pulmonaire, peut être d'origine digestive).

Mais l'ingestion ne provoque de lésions que chez les espèces les plus sensibles : cobaye pour le Bacille humain ; lapin, bœuf et chèvre pour le Bacille bovin ; lapin et poule pour le Bacille aviaire. Les espèces animales gardent ainsi à l'endroit des divers types de bacilles la sensibilité élective que nous connaissons.

Le *Bacille humain*, ingéré au cobaye, détermine souvent des lésions qui, d'abord localisées aux voies respiratoires, se généralisent ensuite; il n'existe pas de lésions locales de l'intestin (Veleminsky).

Le *Bacille bovin*, ingéré au lapin, se fixe de même sur le poumon, sans léser l'intestin (Veleminsky). Chez le bœuf, le Bacille bovin virulent détermine habituellement l'infection (Chauveau) ; les premières lésions apparaissent dans les ganglions trachéobronchiques (Calmette, Vallée).

L'espèce caprine a fourni à Calmette et Guérin des résultats particuliers : le chevreau, soumis à l'ingestion de Bacille bovin, contracte une tuberculose pulmonaire avec lésions apparentes des ganglions mésentériques ; dans les mêmes conditions, le Bacille humain ou aviaire détermine des lésions des ganglions mésentériques, sans altération plus lointaine. Au contraire, chez la chèvre adulte, l'ingestion de Bacille bovin provoque des lésions d'emblée pulmonaires, sans lésions aux portes d'entrée.

La sensibilité du chien est discutée ; suivant F. Arloing, on provoque dans la moitié des cas des lésions intestinales, souvent suivies de lésions pulmonaires.

Le *Bacille aviaire*, chez le lapin, détermine une tuberculose d'abord intestinale, puis pulmonaire (Weber et Bofringer) ; il en est de même chez la poule.

C. **Inhalation.** — On peut transmettre la tuberculose par inhalation ; quelques auteurs ont réalisé l'infection à l'aide de pous-

sières sèches (Cornet), mais les résultats paraissent plus réguliers quand on s'adresse aux particules liquides finement pulvérisées.

Il semble établi, d'autre part, que la quantité de bacilles nécessaires pour infecter l'animal est moindre pour l'inhalation que pour l'ingestion.

Chez le cobaye, les expériences de Cornet, de Preyss, de Küss et Lobstein ont déterminé presque toujours une tuberculose localisée ou prédominante au poumon. Des essais de même ordre ont été tentés avec succès chez le chien (Tappeiner), chez le chat (Chaussé), chez les bovidés (Nocard et Rossignol, Chaussé).

SIÈGE.

Le Bacille tuberculeux, agent pathogène d'affections multiples et chez nombre d'espèces animales, est extrêmement répandu.

I. **Dans l'organisme humain ou animal.** — Le Bacille de Koch se trouve dans les lésions tuberculeuses, granulations, nodules ou infiltrations caséeuses; on sait que chacune de ces lésions est essentiellement formée par un nombre plus ou moins grand de *follicules tuberculeux* ; chaque follicule comprend au centre une *cellule géante* (80 μ en moyenne) avec noyaux multiples en bordure, entourée de cellules épithélioïdes et, plus loin, de globules blancs; les Bacilles existent dans les trois zones, spécialement dans les cellules géantes (fig. 267). On les trouve également dans les lésions caséeuses, qui ne sont d'ailleurs que l'aboutissant des lésions précédentes (fig. 268) ; de même dans le pus tuberculeux. — Dans les tuberculoses sans lésions apparentes, la structure histologique des tissus est également celle que nous venons d'indiquer (follicule avec bacilles).

La présence dans le sang est exceptionnelle, aussi bien chez l'homme que chez l'animal. Le Bacille de Koch peut y circuler (surtout dans les tuberculoses aiguës), mais il ne s'y multiplie pas.

Issu des lésions précédentes, le bacille passe dans les excreta : crachats et urines chez l'homme, jetage des bovidés, matières fécales dans les diverses espèces, etc.

II. **En dehors de l'organisme.** — Au point de vue pratique, il importe de connaître les possibilités d'infection.

Les bacilles existent dans l'*air* des salles d'hôpitaux, comme on peut s'en assurer en inoculant aux animaux l'air filtré (Cadéac et Malet), ou en laissant vivre des cobayes dans les salles de malades (Bartel) : dans les deux cas, les animaux se tuberculisent rapidement. Il semble vraisemblable d'admettre avec Flügge et son école (Lawtchenko, Heyman, etc.)

que l'infection est réalisable surtout par les *gouttelettes* infectantes de mucus laryngé ou pharyngé que chacun projette à toute expiration un peu vive, efforts de toux, simple parler même à voix basse ; ces gouttelettes restent en suspension une ou plusieurs heures ; elles sont, d'autre part, projetées jusqu'à 4 ou 6 mètres de distance et plus.

Parmi les *aliments*, on pouvait craindre tout d'abord que la *viande* d'animaux tuberculeux fût très dangereuse, mais il a été nettement établi que la viande est très rarement virulente, même en cas de tuberculose généralisée. Il n'en est pas de même du *lait* ; ce dernier est infecté le plus souvent par suite d'une lésion tuberculeuse des mamelles, ou par l'introduction des matières virulentes répandues sur les litières. La proportion des laits tuberculeux est considérable, parfois 30 p. 100.

TOXINE.

Toxicité des bacilles morts. — Koch a constaté que des bacilles, tués par la chaleur, produisent un abcès par inoculation sous-cutanée. Les mêmes bacilles tués, inoculés dans les veines du lapin, provoquent dans les organes la formation de tubercules caséeux ; l'inoculation entraîne la mort (Straus et Gamaleia). Il est ainsi établi que les bacilles morts demeurent toxiques.

Les bacilles privés de leurs substances grasses sont moins toxiques. Ils tuent à forte dose ; une dose moindre produit des lésions caséeuses avec réactions générales, mais l'animal se rétablit (Cantacuzène).

Poisons extraits par les dissolvants des graisses. — En traitant les bacilles par l'éther et le chloroforme, Auclair a obtenu deux poisons différents, qu'il appelle éthéro-bacilline et chloroformo-bacilline ; tous deux ont une action surtout locale ; le premier produit des lésions caséeuses (pneumonie caséeuse par inoculation trachéale), le second des lésions fibreuses (sclérose pulmonaire).

Poisons diffusibles. — Les diverses tuberculines renferment à la fois des poisons adhérents et des poisons diffusibles. On a cherché à mettre en évidence les poisons diffusibles seuls.

Le procédé communément employé consiste à filtrer sur bougie les cultures en bouillon glycériné, sans faire subir au produit de manipulation spéciale. Le filtrat ainsi obtenu est nettement toxique ; concentré au dixième, il est plus toxique que la tuberculine ancienne ; mais, contrairement à cette dernière, il provoque de l'hypothermie (à dose non mortelle) chez l'animal sain ou tuberculeux (Bezançon et Gouget). Ces poisons diffusibles sont moins thermostabiles que la tuberculine (détruits à 100°). La tuberculine de Denys (préparation B. F.) n'est que la préparation obtenue comme il vient d'être dit.

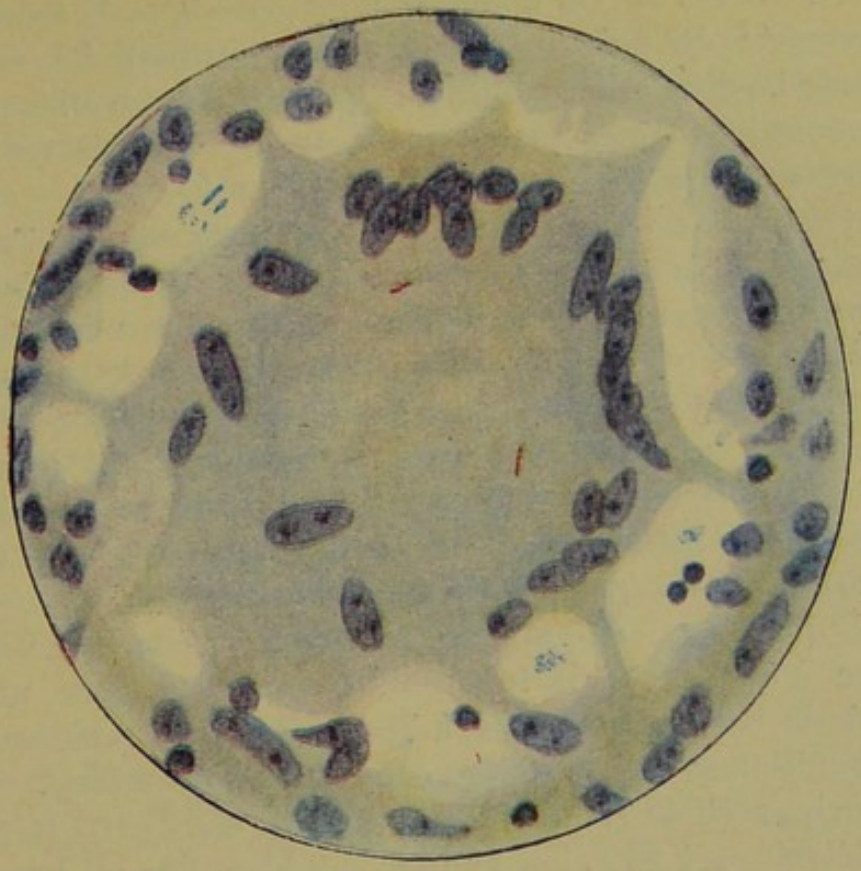


Fig. 267. — Cellule géante tuberculeuse avec Bacilles de Koch.

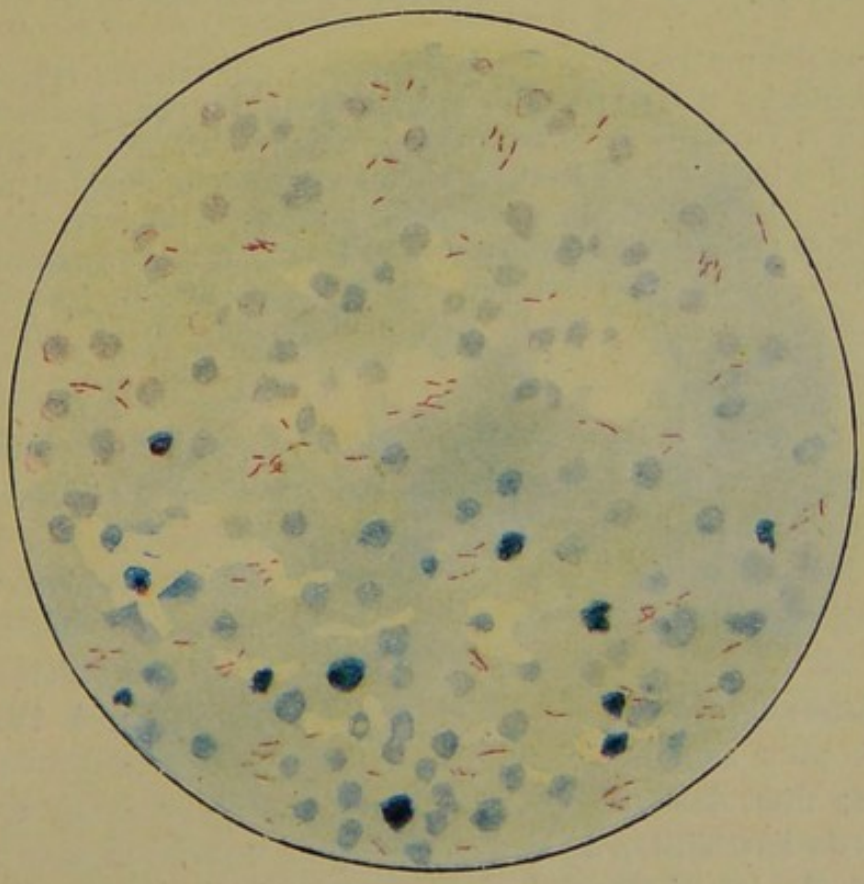


Fig. 268. — Bacilles de Koch dans un tissu caséifié.

Tuberculines. — On donne le nom générique de *tuberculines* à toute une série de préparations qui représentent des extraits de cultures de Bacille tuberculeux ; la plupart d'entre elles possèdent sensiblement les mêmes propriétés. La mieux étudiée est la tuberculine ancienne de Koch.

Tuberculine ancienne de Koch (ou *Alttuberculin*, *Tuberculine brute*, ou simplement *Tuberculine*). — Sous le nom de *lymphe*, Koch (1890) prépare ainsi son ancienne tuberculine : des cultures de cinq à six semaines, en voile, sur bouillon glycériné, sont stérilisées par chauffage à 110° pendant une demi-heure, puis concentrées au bain-marie au dixième de leur volume primitif ; on filtre ensuite grossièrement sur papier épais, pour séparer les corps microbiens. Le filtrat constitue la tuberculine brute. C'est un liquide brunâtre, sirupeux, limpide, d'odeur agréable.

On voit que, dans cette préparation, la glycérine (non volatile) se concentre à 50 p. 100 ; la tuberculine comprend donc un extrait glycériné de bacilles mélangé à des produits microbiens diffusés dans le bouillon et aux principes constituants du milieu.

Le principe actif de la tuberculine est très résistant à la chaleur ; il n'est détruit qu'à 250°. Par contre, la tuberculine est très sensible à l'oxygène de l'air, qui l'altère en quelques jours ; il faut la conserver en pipettes scellées, à l'abri de la lumière et de la chaleur.

On n'est pas nettement fixé sur les rapports qui existent entre l'activité des tuberculines et les propriétés des Bacilles qui les ont fournies. Suivant Krompecher, l'activité de la tuberculine serait parallèle à la virulence du microbe. D'autre part, les Bacilles bovins et humains donnent une tuberculine qui paraît identique ; certains auteurs (Irimescu) généralisent davantage et identifient les tuberculines humaine, bovine, aviaire et pisciaire ; mais il semble établi que les tuberculines aviaire (Borrel) et surtout pisciaire (Pinoy et Burnet) sont moins actives que les deux autres sur la tuberculose des mammifères.

Réactions provoquées par la tuberculine. — La tuberculine provoque des réactions particulières ; *ces réactions sont beaucoup plus marquées chez les tuberculeux que chez les sujets sains.*

Chez les animaux indemnes de tuberculose, on peut inoculer sans danger sous la peau des doses relativement élevées : 2 centimètres cubes chez le cobaye ; $0^{cc},5$ à 2 centimètres cubes chez les autres animaux, bœuf, cheval, chien, etc. L'homme, à l'état normal, est plus sensible : une dose de $0^{cc},01$ peut provoquer de la fièvre ; une dose de $0^{cc},25$ (Koch, sur lui-même) a fait apparaître de l'asthénie, de la dyspnée, puis un frisson, des vomissements et de la fièvre. Cette susceptibilité de l'homme est due

sans doute à l'extrême fréquence des foyers latents de tuberculose.

Chez les tuberculeux (homme ou animal), la tuberculine amène des réactions à doses bien plus faibles. Le cobaye tuberculeux succombe à l'inoculation de $0^{cc},5$. Des doses minimes, 0,0002 (2 dixièmes de milligramme) chez l'homme, $0^{gr},30$ à $0^{gr},40$ chez les bovidés, amènent une réaction spéciale. Cette réaction apparaît en général huit à douze heures après l'inoculation ; elle se traduit par des phénomènes généraux et locaux. Les phénomènes généraux sont surtout appréciables par l'élévation de température. Localement, au niveau des lésions tuberculeuses, il se produit une congestion très vive; les lésions cutanées (lupus) se nécrosent parfois.

La tuberculine, en raison même de son action élective chez les tuberculeux, a été proposée pour le diagnostic de la tuberculose (p. 677) et aussi pour le traitement (p. 683).

Inoculation intracérébrale. — Borrel, Lingelsheim ont montré que le cobaye, assez peu sensible à l'inoculation sous-cutanée, est infiniment plus sensible à l'inoculation intracérébrale ; mais on retrouve les mêmes différences numériques entre les doses mortelles chez l'animal sain et l'animal tuberculeux : 3 à 4 milligrammes sont nécessaires pour tuer le cobaye sain, alors que le cobaye tuberculisé depuis quarante jours environ succombe à l'injection de 1 millième de milligramme de tuberculine humaine ou bovine (la tuberculine aviaire n'a pas la même propriété). Chose curieuse, le cobaye tuberculeux devient très sensible à l'injection intracérébrale de maléine (mais non à l'inoculation sous-cutanée) ; il conserve sa sensibilité habituelle à l'égard des autres toxines, tétanique, diphtérique, etc.

Tuberculine précipitée. — Les principes actifs de la tuberculine sont précipitables par l'alcool.

L'Institut Pasteur de Paris prépare, pour usage médical, des solutions mères de tuberculine solide purifiée (mélange de tuberculines humaine, bovine, équine) ; le précipité alcoolique, desséché, se conserve très longtemps. Les solutions mères sont préparées en dissolvant le précipité sec dans l'eau glycérinée à 50 p. 100. A poids égal, la tuberculine de l'Institut Pasteur est environ 30 fois plus active que la tuberculine brute (Küss) ; il faut donc l'employer à doses environ trente fois moindres.

Calmette concentre dans le vide les cultures en bouillon glycériné et précipite par l'alcool-éther.

Autres tuberculines. — Koch a modifié à plusieurs reprises sa tuberculine primitive; le but de ces recherches était surtout de trouver un principe qui fût actif dans le traitement de la tuberculose, sans susciter les réactions de la tuberculine ancienne ; ce but

n'a pas été atteint. Nouvelles préparations de Koch : TA, TR, Émulsion bacillaire.

Tuberculine TA. — Tuberculine alcaline, obtenue par filtration d'émulsions bacillaires laissées trois jours en contact avec 10 p. 100 de soude. Agit comme l'ancienne tuberculine.

Tuberculines TR et TO. — On triture dans des appareils spéciaux des Bacilles desséchés par le vide, jusqu'à obtenir une poudre extrêmement fine ; on additionne d'eau, et on centrifuge : le liquide surnageant, opalescent, est la TO.

Le dépôt boueux restant après décantation est repris, séché, broyé, additionné d'eau et centrifugé ; le dépôt restant après cette deuxième opération est repris, séché, broyé, etc., comme ci-dessus : on continue le cycle jusqu'à ce que la masse à peu près entière des bacilles soit émulsionnée. — Tous les liquides de centrifugation (sauf le premier, qui est TO) sont mélangés ; le mélange constitue la T'R (tuberculine résiduelle). Il renferme des granulations très petites, qui ne sont plus acido-résistantes, bien que venant des bacilles.

TO est à peu près identique à la tuberculine ancienne. TR a été donné par Koch comme immunisant et curateur, mais en pratique TR a paru assez dangereux (abcès, hémoptysies, etc.) ; on ne l'emploie guère. Au point de vue du diagnostic, TR ne vaut pas l'ancienne tuberculine (Bonhiol).

Émulsion bacillaire (B. E., *Neutuberkulin*). — Ce nouveau produit de Koch est constitué par une émulsion de bacilles ; on dessèche et pulvérise les bacilles (comme pour TR), et la poudre obtenue est simplement émulsionnée dans l'eau glycérinée à 50 p. 100, à dose de 1 p. 200. L'émulsion bacillaire préparée par Borrel, plus forte, renferme 3 centimilligrammes de substance bacillaire par millimètre cube ; Küss recommande de l'employer à doses environ cinq fois moindres que la tuberculine précipitée.

Cette émulsion est assez employée en thérapeutique.

Tuberculine de Béraneck. — C'est un mélange de toxine-bouillon (TB) et d'acido-toxine (AT). On prépare TB en filtrant des cultures sur macération de viande glycérinée et réduisant ensuite le filtrat par évaporation dans le vide ; on obtient AT en laissant macérer les corps microbiens à 60° pendant deux heures dans l'acide orthophosphorique à 1 p. 100 ; on neutralise ensuite. Le mélange de AT et TB, dilué au 1/20, constitue la tuberculine de Béranek. Elle est assez utilisée, surtout en Suisse.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

On peut chercher à établir le diagnostic bactériologique de la tuberculose par des méthodes directes ou par des méthodes indirectes.

Les *méthodes directes* ont pour but de constater la présence du bacille, par examen direct, par les cultures ou par l'inoculation. Elles sont applicables toutes les fois qu'on se trouve en présence d'une lésion tuberculeuse ouverte, ou au moins accessible aux moyens d'investigation.

Les *méthodes indirectes* sont basées soit sur l'action spéciale de la tuberculine, soit sur la recherche des anticorps spécifiques (agglutinine, sensibilisatrice, précipitine) dans les humeurs des malades. Elles ont été préconisées surtout pour les circonstances où les méthodes directes ne sont pas applicables.

Seules les méthodes directes, bien appliquées, peuvent donner une certitude. La valeur des méthodes indirectes est plus discutée.

Méthodes directes.

Observations générales. — Coloration. — Dans le cas le plus habituel, examen de crachats riches en bacilles, on peut employer l'une ou l'autre des méthodes de colorations décrites plus haut.

Il n'en est pas de même dans la plupart des autres circonstances; il faut se méfier des bacilles paratuberculeux, qui sont acido-résistants comme le Bacille de Koch. Cette remarque s'applique particulièrement aux urines et aux produits examinés après homogénéisation (crachats, caillots); on utilisera alors la technique de Ziehl-Neelsen (p. 655) : la plupart des bacilles paratuberculeux se décolorent, alors que le Bacille de Koch reste coloré.

Cultures. — Pratiquement, le diagnostic par les cultures ne peut être porté qu'en présence de lésions assez riches en bacilles et ne renfermant que peu ou pas d'autres microbes (sérosités).

Inoculation. — C'est la méthode de choix; mais ses réponses sont tardives. On inoculera les produits suspects au cobaye : sous la peau, s'ils sont impurs (crachats, urines); dans le péritoine, s'il n'existe pas d'autres microbes associés pathogènes pour le cobaye (pus, sérosités, dans la plupart des cas). L'inoculation de produits impurs dans le péritoine tuerait rapidement, par péritonite banale.

On peut sacrifier l'animal après cinq à six semaines. Pour affirmer la tuberculose, il faut : 1° constater la présence de lésions tuberculeuses à distance, au moins dans la rate et le foie; 2° s'assurer (coloration) que les lésions trouvées à l'autopsie renferment le Bacille de Koch. Cette double épreuve permet d'éliminer les bacilles paratuberculeux, qui sont généralement peu pathogènes par le procédé indiqué, et les pseudo-tuberculoses spontanées du cobaye, qui ne renferment pas de bacilles acido-résistants.

Applications des méthodes directes au diagnostic de la tuberculose. — Ces applications seront traitées aux chapitres des « analyses bactériologiques ». Voir entre autres : *Analyse des crachats*, p. 850 ; *Analyse du pus*, p. 846 ; *Analyse du sang*, p. 866 ; *Analyse des sérosités*, p. 863 ; *Analyse du liquide céphalo-rachidien*, p. 859.

Méthodes indirectes.

A. **Diagnostic par la tuberculine.** — On a cherché à tirer parti des réactions provoquées par la tuberculine chez les tuberculeux pour établir le diagnostic de la tuberculose.

1. **Chez l'homme.** — Les observations accumulées sur ce sujet ont montré que la méthode est presque toujours fidèle, mais parfois trompeuse et toujours délicate. Elle est fidèle, en ce sens qu'une réaction positive indique à peu près sûrement l'existence d'une lésion tuberculeuse, mais cette lésion peut être tout à fait silencieuse et sans relation avec les incidents pathologiques qui ont motivé la recherche, de telle sorte que cette réaction positive peut alors induire en erreur. La méthode est délicate, car elle peut toujours susciter des accidents sérieux avec des doses insignifiantes, inférieures aux doses habituellement employées. Il semble d'ailleurs que les tuberculeux avancés soient moins sensibles à la tuberculine que les tuberculeux au début.

Chez les enfants, cette méthode donne des résultats plus sûrs, ce qui s'explique par le fait que les enfants présentent rarement des foyers tuberculeux torpides.

Injection sous-cutanée. — C'est la méthode la plus habituelle ; on considère comme positive toute réaction caractérisée par une ascension thermique de 1° au moins (Grasset et Vedel). Mais la sensibilité à la tuberculine est très variable suivant les sujets ; la dose nécessaire oscille, pour l'adulte, entre $0^{mg},1$ et 10 milligrammes de tuberculine ordinaire.

Les deux méthodes les plus employées sont les suivantes :

a. *Doses progressivement croissantes.* — A la suite de Koch, la plupart des auteurs injectent des doses progressivement croissantes, tous les trois ou quatre jours : on n'augmente la dose que si l'injection précédente est restée sans aucun effet. Koch donne la graduation suivante, en milligrammes de tuberculine ordinaire : 0,1 à 1 ; 0,2 à 2 ; 5 ; 10 ; 10. Grasset et Vedel injectent d'abord 2 à 3 dixièmes de milligramme ; puis, s'il n'y a pas eu réaction, 5 dixièmes.

b. *Petites doses réitérées.* — On a observé (Lœwenstein, Turban) que l'inoculation de très petites doses provoque de l'hypersensibilité à la tuberculine ; cette hypersensibilité apparaît rapidement chez les tuber-

culeux, dès la troisième ou quatrième inoculation, alors qu'elle se manifeste seulement à la septième chez les sujets sains. On portera donc le diagnostic de tuberculose si la réaction apparaît avant la cinquième inoculation. La dose d'inoculation est de 1 dixième de milligramme.

Dans le but d'éviter les accidents observés à la suite des inoculations précédentes, on a proposé d'autres modes de tuberculinisation.

Cuti-réaction (von Pirquet). — On pratique une scarification superficielle à la région deltoïdienne ; on dépose ensuite I goutte de tuberculine diluée au quart sur le trait de scarification. Chez les tuberculeux, il apparaît en quelques heures (dix heures en moyenne) une papule entourée d'une auréole érythémateuse, qui augmente pendant un ou deux jours, puis s'affaisse et se dessèche. Chez les non-tuberculeux, de même que dans les formes aiguës de tuberculose, la réaction fait défaut.

Ophtalmo-réaction (Calmette, Wolff-Eisner). — Instillée sur la conjonctive, la tuberculine détermine chez les tuberculeux une congestion plus ou moins intense, très apparente après quelques heures. Chez les non-tuberculeux, la réaction est absente.

On emploie la tuberculine purifiée, diluée à 1 p. 100 (Calmette) ou à 0,25 à 0,40 p. 100 (Küss). Il faut éviter la tuberculine ordinaire, dont la glycérine est irritante.

Cette méthode est particulièrement démonstrative, mais elle a provoqué parfois des accidents oculaires sérieux.

Autres modes d'inoculation. — On a proposé d'autres modes d'inoculation : dans le derme (intradermo-réaction, Mantoux) ; dans le nez (rhino-réaction, Laffite-Dupont et Molinier) ; dans le vagin (Richter) ; à la surface de la peau, sans scarification, par frottement (Lignières), ou en maintenant vingt-quatre heures un tampon imbibé de tuberculine à 1 p. 100 en contact avec la peau (Lautier).

II. **Chez le bœuf.** — Depuis les recherches de Nocard et de Bang, la tuberculine est largement utilisée pour le diagnostic de la tuberculose des bovidés. La méthode est quelquefois en défaut (Arloing, Rodet et Courmont), mais il est incontestable qu'elle a rendu et continue à rendre des services considérables à la prophylaxie.

L'intensité de la réaction n'est pas en rapport avec la gravité ou l'étendue des lésions ; au contraire, les réactions peuvent être nulles chez des sujets très tuberculeux, et elles se montrent souvent les plus nettes quand les lésions sont très limitées (Nocard).

Il faut inoculer chez les adultes 20 à 50 centigrammes (suivant la taille) de tuberculine brute ; chez les veaux, 10 à 20 centigrammes. L'animal est au préalable mis au repos pendant plusieurs jours ; on prend la température matin et soir. Après l'inoculation, la température est prise aux douzième, quinzième, dix-huitième et vingt et unième heures. Une ascension thermique de 1°,5 ou plus (parfois 3°) indique la tuberculose.

Si l'ascension est comprise entre 0°,8 et 1°,4, l'animal est simplement suspect ; il faut recommencer après un mois.

Les injections de tuberculine ne créent pas d'accoutumance aux inoculations ultérieures, comme on l'avait cru tout d'abord; mais, chez les animaux qui ont été ou qu'on suppose avoir été (dans un but de fraude) déjà inoculés antérieurement, il est bon d'injecter des doses doubles, et il est de plus nécessaire de prendre la température à partir de la deuxième heure, la réaction thermique étant plus précoce que chez les animaux neufs (Vallée).

La *cuti-réaction* et l'*ophtalmo-réaction* (Vallée), de même que l'*intradermo-réaction*, peuvent être appliquées aux bovidés; elles donnent les mêmes résultats que l'injection.

B. **Séro-diagnostic (agglutination).** — Les cultures habituelles ne se prêtent pas à l'obtention des émulsions homogènes nécessaires pour l'agglutination. Celle-ci n'est guère possible qu'à l'aide des cultures homogènes (p. 661). Nous résumerons la technique telle qu'elle est préconisée par S. Arloing et P. Courmont, auteurs de la méthode.

a. Les cultures homogènes sont obtenues comme il a été dit plus haut; on s'adresse à des Bacilles bien agglutinables (Bacille A d'Arloing). On ensemence en bouillon glycériné ou en peptone glycérinée (peptone Defresne, 2; glycérine, 5; NaCl, 1 p. 100 d'eau), dans des fioles cylindriques, à moitié remplies. On agite tous les jours.

Vers le trentième jour, les cultures, blanc laiteux, très riches, sont enlevées de l'étuve et conservées au froid et à l'obscurité. La culture ainsi conservée demeure utilisable pendant un mois environ. Au moment du besoin, on la dilue dans l'eau physiologique; le degré de dilution est variable, en moyenne 1 p. 50 : la dilution doit être telle que l'agglutination se produise au taux voulu par un sérum étalon (sérum d'animal inoculé ou sérosité tuberculeuse), conservé comme modèle au laboratoire.

b. L'épreuve est avant tout *macroscopique*. On dispose des petits tubes à essais; dans chacun d'eux on verse X gouttes de culture diluée. L'un demeure sans sérum (tube témoin); aux trois autres, on ajoute respectivement I, II et III gouttes de sérum sanguin ou de sérosité. On mélange par agitation, et on place ensuite les tubes dans un support, inclinés à 45° environ. On abandonne à la température ambiante.

Il est prudent de faire les mêmes dilutions avec le sérum étalon.

c. Après trois à cinq heures, on observe les tubes à l'œil nu. Est déclarée positive toute agglutination indiscutablement complète, avec clarification du liquide et formation de flocons bien apparents.

Résultats obtenus. — La plupart des auteurs confirment les résultats d'Arloing et de Courmont. Le sérum humain normal n'agglutine pas à 1 p. 5 chez l'adulte, à 1 p. 3 chez l'enfant. Le sérum des tuberculeux au début, ou des individus présentant des lésions bénignes ou discrètes, agglutine le plus souvent de 1 p. 5 à 1 p. 15; mais le sérum est souvent dépourvu de pouvoir agglutinant dans les tuberculoses avancées ou dans les tuberculoses à marche rapide.

Par contre, le sérum des typhiques agglutine le Bacille tuberculeux, et d'une manière plus intense que le sérum des tuberculeux eux-mêmes (Bezançon, Griffon et Philibert).

Les sérosités tuberculeuses (pleurésie, péritonite) sont également agglutinantes, sensiblement aux mêmes taux que les sérums (P. Courmont).

Chez les sujets traités par la tuberculine, surtout par l'émulsion bacillaire, le pouvoir agglutinant augmente notablement (Koch).

Valeur pratique de la réaction. — La valeur clinique du séro-diagnostic est très discutée; la méthode n'a d'ailleurs pas réussi à s'imposer jusqu'ici. Des observations publiées, il semble qu'on puisse conclure :

1° Que la recherche de la réaction agglutinante du sérum sanguin a surtout une valeur *négative*, en ce sens que l'absence de réaction agglutinante, chez un sujet non fébricitant, constitue un élément de forte probabilité contre le diagnostic de tuberculose; 2° que les sérosités agglutinantes (pleurésie, etc.) sont d'origine tuberculeuse.

Séro-pronostic. — D'après P. Courmont, le pronostic des pleurésies tuberculeuses est d'autant meilleur que le pouvoir agglutinant est plus élevé, et inversement.

C. **Diagnostic par l'épreuve de la déviation du complément.** — Le sérum des tuberculeux renferme souvent une sensibilisatrice spécifique (Widal et Lesourd, Camus et Pagniez), mais son apparition est irrégulière; la courbe est oscillante, sans doute en rapport avec l'évolution par poussées de la tuberculose (Bezançon et de Serbonnes). Au point de vue pratique, la méthode semble peu utilisable pour le diagnostic.

D. **Diagnostic par la précipito-réaction.** — Au cours des méningites tuberculeuses, le liquide céphalo-rachidien précipite en dix à douze heures quand on le met en présence de la tuberculine, 1 p. 100 de liquide (Vincent et Combes); on obtient d'ailleurs le même résultat chez les typhiques et les syphilitiques. La réaction a une valeur négative : son absence permet d'écarter le diagnostic de tuberculose.

Le sérum sanguin, à l'état normal, précipite souvent les filtrats de cultures ; il ne peut donc être utilisé pour le précipito-diagnostic.

VACCINATION.

Quelques expériences de Grancher et Martin, Richet et Héricourt avaient montré que l'inoculation de cultures atténuées par vieillissement ou chauffage pouvait conférer aux animaux de laboratoire un certain degré de résistance, mais c'est surtout depuis les recherches de Behring (1912) que la question de la vaccination antituberculeuse a suscité un grand nombre d'expériences et de discussions. Les travaux les plus importants visent la *tuberculose des bovidés*, ce qui s'explique tant par la fréquence et l'importance (économique et sanitaire) de cette maladie que par l'analogie étroite de la tuberculose des bovidés avec celle de l'homme : une

méthode de vaccination sûre et inoffensive pour les bovidés trouverait peut-être son application à l'homme. Dans l'état actuel des choses, nous devons étudier surtout la vaccination chez les bovidés.

Vaccination chez les bovidés. — On a tenté de vacciner les animaux par divers procédés : inoculation de bacilles morts, inoculation des produits solubles, inoculation de bacilles vivants.

Inoculation de bacilles morts. — L'inoculation de bacilles morts, quels que soient les procédés de destruction des bacilles (chaleur, iode, etc.) et la voie d'introduction du vaccin, a presque toujours donné chez les bovidés des résultats nuls ou insignifiants (Vallée). L'inoculation de bacilles tués par le chlore (Moussu et Goupil) ou le fluorure de sodium (Rappin) aurait cependant conféré un certain degré d'immunité.

Inoculation des produits solubles. — Le procédé a été employé largement en pratique par Heymans ; on insère sous la peau des bovidés des sacs de collodion renfermant des cultures ; les animaux seraient vaccinés. Moussu, par un procédé analogue, n'a pas obtenu de résultat appréciable.

Vaccination par les bacilles vivants. — Seule l'inoculation de bacilles vivants est capable de conférer aux animaux une certaine résistance. Mais cette résistance n'équivaut pas à une vaccination ; en raison, en effet, de leur constitution très spéciale, les Bacilles tuberculeux inoculés ne se résorbent qu'avec une très grande lenteur, même chez les animaux rendus très résistants par des inoculations préalables de virus atténués ou de virus à petites doses. Quelle que soit la méthode employée, on constate toujours :

1° Que les bacilles inoculés comme vaccins, bien qu'ils ne provoquent pas de lésions, persistent cependant pendant plusieurs mois dans les organes ou les ganglions (Lignières, Leclainche et Vallée), parfois trente mois ; en outre ces bacilles peuvent être éliminés par le lait. Quand le vaccin est constitué par le Bacille humain, on conçoit que les animaux vaccinés pourraient constituer un danger à l'égard de l'homme ;

2° Que les bacilles virulents inoculés ultérieurement chez des animaux en apparence vaccinés ne déterminent pas non plus de lésions apparentes, mais se maintiennent, eux aussi, vivants et virulents pendant de longs mois dans l'organisme des animaux, malgré la bonne santé apparente de ces derniers.

Les animaux ne sont donc pas à proprement parler vaccinés; mais ils sont devenus intolérants à l'égard des inoculations virulentes; les bacilles virulents inoculés demeurent en partie dans les tissus, tandis qu'une autre partie sont éliminés par la bile et par l'intestin (Calmette et Guérin).

On s'est adressé pour vacciner les bovidés soit au Bacille humain, soit au bacille bovin, soit à des bacilles modifiés ou atypiques.

Inoculation de Bacilles type humain. — *Bovo-vaccin de Behring.* — Nous avons vu que le Bacille type humain est peu virulent pour le bœuf ; Behring a montré qu'il confère une certaine immunité.

Le bovo-vaccin de Behring est constitué par une culture de Bacille humain, avirulente même pour le cobaye, et desséchée dans le vide. On pratique chez le veau deux inoculations, toutes deux dans les veines : $0^{gr},004$ et $0^{gr},020$. Les animaux seraient immunisés.

De très nombreuses expériences ont été instituées pour contrôler les assertions de Behring. Les conclusions de l'expérience de Melun (Vallée et Rossignol) sont acceptées par tout le monde : la méthode de Behring confère aux animaux une résistance certaine, mais passagère ; cette résistance s'épuise en moins de six mois à l'égard de l'infection naturelle (par cohabitation avec des animaux tuberculeux), en moins d'un an à l'égard de l'infection expérimentale par inoculation intraveineuse de Bacilles bovins.

Modifications du bovo-vaccin. — Il a été établi tout d'abord que tout Bacille de type humain se comporte, au point de vue de la vaccination, comme le « bovo-vaccin » de Behring.

Koch et Schütz, sons le nom de *Tauruman,* ont proposé d'inoculer un Bacille tuberculeux virulent pour le cobaye, et à l'état humide (non desséché) ; les résultats sont les mêmes qu'avec le bovo-vaccin, et la méthode est plus dangereuse pour l'homme.

Roux et Vallée ont essayé un bacille provenant du cheval (très voisin du Bacille type humain) ; il est résorbé plus vite que le Bacille humain habituel.

Vaccination par voie digestive. — Les animaux inoculés par la méthode de Behring sont moins résistants à l'ingestion qu'à l'injection intraveineuse ; aussi Vallée a-t-il essayé l'immunisation par ingestion de Bacilles humains. La méthode, applicable chez le veau, ne réussit pas chez les bovidés adultes ; les veaux vaccinés résistent à l'ingestion d'épreuve, et les bacilles de l'ingestion d'épreuve sont résorbés en sept à huit mois.

Inoculation de Bacilles bovins. — Le Bacille bovin étant très virulent pour le bœuf, il semble difficile de pratiquer les vaccinations à l'aide de ce bacille par voie intraveineuse ; Koch et Schütz, Th. Smith ont cependant proposé dans ce but des cultures peu virulentes ou atténuées, mais leurs procédés ne se sont guère répandus.

Par contre, il est démontré que l'*ingestion* de petites doses de Bacilles bovins procure aux animaux une résistance considérable à

l'égard des inoculations intraveineuses ou digestives (Roux et Vallée, Calmette et Guérin).

Vaccination par bacilles modifiés ou atypiques. — Bacilles biliés. — Calmette et Guérin vaccinent les bovidés par ingestion de Bacilles bovins atténués à la suite de passages sur pomme de terre biliée. Ce procédé semble l'un des plus actifs ; ici encore, le virus vaccinal est retenu pendant longtemps dans les ganglions.

Cultures homogènes. — Arloing a essayé des cultures homogènes ; les résultats obtenus paraissent inférieurs à ceux du bovo-vaccin.

Bacilles des animaux a sang froid. — On a proposé l'emploi de Bacilles modifiés par passage sur l'orvet (Moeller) ou sur la salamandre (Klimmer) ; d'autre part, Friedmann a annoncé des résultats remarquables à la suite de l'inoculation de son Bacille des tortues (p. 684) ; mais ces diverses assertions ont toutes été infirmées dans la suite.

Virus sensibilisés. — Fr. Meyer, Calmette et Guérin ont vacciné les animaux (cobayes, bovidés) avec des bacilles sensibilisés (p. 518 et 589). D'après Calmette et Guérin, les animaux vaccinés par ce procédé résorbent les bacilles du vaccin, et ultérieurement les bacilles des inoculations d'épreuve, un e u plus rapidement que les animaux vaccinés par d'autres procédés.

THÉRAPEUTIQUE BACTÉRIOLOGIQUE.

Tuberculinothérapie. — Après l'échec retentissant de la tuberculine brute de Koch, le traitement de la tuberculose par la tuberculine avait été à peu près universellement abandonné. Mais, depuis quelques années, des observations prolongées semblent avoir établi que la tuberculinothérapie constitue une méthode adjuvante nullement négligeable dans nombre de cas de tuberculose pulmonaire.

On a employé surtout les diverses tuberculines de Koch, la tuberculine précipitée et les tuberculines de Béraneck et de Denys.

Le traitement doit être appliqué seulement aux malades susceptibles de fournir une réaction efficace ; il doit être prolongé pendant longtemps, d'ordinaire plusieurs années ; il doit être conduit avec prudence, en commençant par des doses faibles et en augmentant ensuite progressivement. La dose initiale sera d'autant plus faible que la maladie semble plus grave ; elle oscille de 1/10 à 1/600 de milligramme de tuberculine ordinaire, suivant les cas.

Pour le détail de la technique, nous renvoyons le lecteur au travail récent de Küss (1).

Sérothérapie. — Un certain nombre de sérums ont été appliqués au traitement de la tuberculose. On peut dire que tous ont connu des fortunes diverses, mais aucun d'eux ne semble présenter

(1) *Bibliothèque de thérapeutique* de Gilbert et Carnot, t. XXI.

constamment l'efficacité, ni même l'innocuité nécessaires. D'ailleurs, les tuberculeux sont particulièrement sensibles à l'injection de tous les sérums, quels qu'ils soient, et la fréquence des accidents sérothérapiques limite beaucoup les applications de la sérothérapie antituberculeuse. Aussi nous contenterons-nous d'énumérer les tentatives les plus connues et les plus intéressantes.

Sérums de Maragliano. — Maragliano a préparé deux sérums. Le premier était obtenu par injections à divers animaux (cheval, âne, bœuf, chien) de filtrats de cultures et d'extrait aqueux de bacilles virulents. Le sérum actuel est préparé par injections de trois filtrats : filtrat de cultures, filtrat d'une émulsion de bacilles dans le carbonate de soude à 2 p. 100, filtrat d'une macération de bacilles dans l'eau salée.

Le sérum est injecté à l'homme par petites doses, tous les jours, pendant plusieurs mois.

Sérum de Marmorek. — Marmorek inocule au cheval des filtrats de cultures jeunes sur un milieu spécial, macération de foie et sérum leucotoxique (sérum provenant de veaux traités par des globules blancs de cobaye) ; le sérum des animaux ainsi préparés serait actif, particulièrement dans les tuberculoses chirurgicales.

Le sérum de Marmorek a été assez largement utilisé en thérapeutique humaine, avec des résultats variables, assez souvent favorables dans les tuberculoses chirurgicales.

Sérum de Lannelongue, Achard et Gaillard. — Ce sérum provient d'ânes immunisés à l'aide d'un extrait particulier : un extrait aqueux de bacilles chauffés à 120° est précipité par l'acide acétique ; on redissout le précipité par le carbonate de soude. Les résultats thérapeutiques sont discutés.

Sérum de Vallée. — Vallée injecte aux chevaux, dans les veines, d'abord son bacille d'origine équine ; après quelques mois, un bacille humain, puis des endotoxines, obtenues par broyage des microbes.

Le sérum des animaux ainsi traités est nettement agglutinant et présente une sensibilisatrice spécifique.

Il est actif sur les bovidés tuberculeux (Vallée), mais les résultats obtenus chez l'homme sont irréguliers.

Sérum de Ruppel et Rikmann. — Ces auteurs s'adressent à des animaux tuberculisés expérimentalement ; les animaux tuberculeux seuls (et non les animaux sains) seraient capables de fournir des antitoxines. On inocule à des mulets et à des bœufs des bacilles de type humain, et on attend que ces animaux présentent des lésions tuberculeuses ; à ce moment, on commence les injections sérothérapiques : injection de tuberculine, d'extraits microbiens et

de cultures vivantes. Le sérum ainsi obtenu, d'après Calmette, est nettement agglutinant et précipitant, et de plus riche en sensibilisatrices.

Sérum de Rappin. — Chez les animaux inoculés avec des bacilles dégraissés, traités par les dissolvants des graisses, puis tués par le fluorure de sodium, le sérum acquiert la propriété de neutraliser la tuberculine ; il est agglutinant.

BACILLE PISCIAIRE.

I. Bataillon, Dubard et Terre ont trouvé ce bacille chez la carpe. Depuis lors, on a rencontré des bacilles analogues ou identiques chez diverses espèces d'animaux à sang froid.

II. Le Bacille pisciaire présente la morphologie et les réactions colorantes du Bacille tuberculeux. Il diffère de ce dernier par des caractères importants.

a. Il se développe de préférence à 23°, alors qu'il ne se développe pas ou presque pas à 37°.

b. Les cultures se font facilement sur les milieux d'usage courant : couche crémeuse sur gélose ; grains de consistance savonneuse sur pomme de terre ; en bouillon, voile à la surface et grumeaux en profondeur.

c. Le Bacille pisciaire est pathogène pour beaucoup d'animaux à sang froid : carpe, grenouille, orvet, lézard, couleuvre, etc.

d. Au contraire, le Bacille pisciaire n'est pas pathogène pour les mammifères.

III. Quelles sont les relations exactes du Bacille pisciaire avec le Bacille tuberculeux ? La question est toujours discutée.

a. Le Bacille tuberculeux des mammifères, inoculé aux animaux à sang froid, provoque parfois des lésions tuberculeuses (p. 668), mais le fait paraît exceptionnel. Le plus souvent on ne constate pas de lésions, ou seulement les lésions locales qui suivent l'inoculation des banaux acido-résistants. Néanmoins l'inoculation au cobaye démontre que le bacille persiste plusieurs mois dans les organes (Bataillon, Dubard et Terre ; Nicolas et Lesieur). La virulence des bacilles transplantés sur les animaux à sang froid paraît évoluer différemment suivant des conditions mal connues : les bacilles s'atténuent (Auché et Hobbs) et peuvent même perdre toute virulence pour le cobaye (Herzog), après un long séjour chez la grenouille ; au contraire, d'après Bertarelli et Bocchia, ils conserveraient toute leur virulence originelle chez les cyprins d'eau douce.

b. Par acclimatement progressif à la température de 37°, on pourrait amener le Bacille pisciaire à prendre les attributs culturaux et pathogènes du Bacille des mammifères (Aujeszky).

c. On n'est pas fixé en ce qui concerne les tuberculines. Suivant Terre, Ramond et Ravaut, le Bacille pisciaire sécrète une tuberculine identique à celle du Bacille de Koch ; Pinoy et Burnet n'ont pu confirmer ces résultats.

Bacille de Friedmann. — Chez des tortues atteintes de lésions tuberculeuses, Friedmann a rencontré un bacille dont les propriétés sont nettement intermédiaires entre celles du Bacille tuberculeux et celles du Bacille pisciaire. Ce bacille, acido-résistant, présente les mêmes caractères culturaux que le Bacille de Koch, mais il se développe aussi bien à 23° qu'à 37°. Il est tuberculigène à l'égard des animaux à sang froid, de même que pour le cobaye ; il a peu d'action sur le lapin, pas du tout sur les oiseaux et le chien. On l'a utilisé comme vaccin (p. 682).

CHAPITRE L

BACILLE DE LA LÈPRE

L'agent spécifique de la lèpre a été découvert par Hansen. Il se rencontre en abondance dans tous les produits lépreux. Certains caractères le rapprochent du Bacille tuberculeux.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Dans les tissus ou les excrétions, le Bacille de Hansen se présente comme un bâtonnet, à bouts arrondis, droit ou incurvé, de 5 à 6 μ sur 0 μ, 5 (fig. 269). Après coloration, on voit souvent des vacuoles dans l'intérieur du protoplasma et des renflements (spores ?) aux extrémités.

Coloration. — Mêmes caractères que le Bacille de Koch (Voy. p. 655). Il y a toutefois quelques différences de détail.

Comparé au Bacille de Koch :

a. Le Bacille de la lèpre se colore plus facilement, même par les solutions colorantes aqueuses, contrairement au Bacille de Koch ;

b. Il résiste beaucoup plus longtemps aux décolorants énergiques (une heure à l'acide nitrique au tiers par exemple, Babès) ;

c. Il reste coloré par la méthode de Gram *habituelle*, alors que le Bacille de Koch ne se colore qu'au Gram prolongé (Voy. *Méthode de Much*, p. 655).

d. Il reste coloré par la méthode de Baumgarten, qui ne colore pas le Bacille de Koch.

Méthode de Baumgarten. — 1° Colorer pendant cinq minutes, à froid, avec le violet aniliné (p. 656) ;

2° Décolorer par la solution :

Alcool absolu.....	10 centimètres cubes.
Acide nitrique.....	1 centimètre cube.

Laver, sécher, monter.

Seul le Bacille de la lèpre est coloré en violet. Le Bacille de Koch n'est pas coloré.

Ces différences n'ont rien d'absolu. Le bacille vieilli résiste mal aux décolorants. D'après Jeanselme, ce n'est pas d'après leurs réactions de coloration qu'on peut distinguer le Bacille de Koch et le Bacille de la lèpre.

Bacilles vivants et bacilles morts. — Les bacilles morts retiennent moins les colorants (Unna). On peut mettre le fait en évidence :

Colorer au bleu-Victoria, décolorer à l'acide nitrique faible (1 p. 100),

Fig. 269. — Bacille de la lèpre dans le mucus nasal.

recolorer à la safranine. Les bacilles vivants sont teints en bleu sur le fond jaune des bacilles dégénérés.

CULTURES.

Il n'est pas certain qu'on ait réussi jusqu'à maintenant à obtenir des cultures du Bacille lépreux. Les essais ont toujours été pratiqués en partant de produits riches en bacilles.

a. Beaucoup d'auteurs ont tenté cette culture et annoncé des résultats : citons Neisser, Bordoni-Uffreduzzi, Ducrey, Babès, et bien d'autres. Il paraît établi que le microbe obtenu était en réalité ou le Bacille tuberculeux, fréquemment associé au Bacille de la lèpre, ou quelque Bacille acido-résistant. Le *Streptothrix leproïdes* de Neycke est sans doute aussi un acido-résistant.

Spronck aurait réussi une première culture sur pomme de terre glycérinée et neutralisée : petites colonies jaunatres. Cette première culture peut être ensemencée avec succès sur d'autres milieux (gélose, sérum

coagulé). Le seul caractère qui donne aux cultures de Spronck quelque intérêt est leur propriété d'être agglutinées (d'après l'auteur) de 1 p. 70 à 1 p. 1 000 par le sérum des lépreux, alors que le sérum normal n'agglutinerait pas au delà de 1 p. 30.

b. Bezançon, Griffon et Leredde ont obtenu sur sang gélosé une multiplication des bacilles ; une seule fois, une colonie qui n'a pu être repiquée.

c. Nicolle a constaté une légère prolifération en ensemençant l'eau de condensation d'un tube de gélose glucosée, avec ou sans sérum.

d. Weil a réussi des ensemencements sur jaune d'œuf. Dans l'œuf entier : souvent (pas toujours) formation d'un nodule comme un grain de chènevis, sec et ferme, formé de bacilles. Sur gélose au jaune d'œuf : début au cinquième jour, croissance pendant vingt jours.

Les cultures *a*, *b* et *c*, *ne sont pas repiquables.*

e. M. T. Clegg ensemence, en même temps que le léprome, un être vivant unicellulaire, l'amibe dysentérique (en culture avec son bacille symbiotique). Il aurait réussi des cultures en série.

f. Duval pense que le Bacille lépreux se développe seulement, en premières cultures, sur des produits protéiques dégradés à la suite d'une digestion par la trypsine ou par des microbes. Il place des cubes de léprome sur blanc d'œuf ou sérum coagulé, arrose le tout de trypsine et porte à 37° en chambre humide ; il se forme autour du tissu de petites colonies. Après quelques générations sur ce milieu, le Bacille pourrait se développer sur gélose additionnée de trypsine, ou bien en symbiose avec le Bacille typhique, le Bacille pyocyanique, etc. Les colonies sont jaune-orange sur sérum solidifié, jaune-citron sur gélose glycérinée.

RÉACTIONS A L'ÉGARD DES SÉRUMS.

Le sérum des lépreux fixe le complément en présence des extraits de léprome, ou des bacilles mis en liberté par l'antiformine, suivant le procédé employé pour le Bacille de Koch (Gaucher et Abrami, Biehler et Eliasberg). Cette réaction semble être spécifique.

Il paraît établi, d'autre part, que la réaction de Wassermann, faite à l'aide des antigènes habituels de cette réaction (p. 756), est fréquemment positive avec le sérum des lépreux.

POUVOIR PATHOGÈNE.

A. **Chez l'homme.** — Agent de la lèpre sous toutes ses formes.

B. **Expérimentalement.** — Il n'est pas encore démontré qu'on ait réussi à conférer la lèpre aux animaux ; toutefois certaines recherches récentes paraissent mériter quelque crédit.

a. On a tenté d'inoculer le Bacille à l'homme lui-même ; aucun succès incontestable.

b. Les essais d'inoculation au porc, au chien, au cobaye, aux vertébrés à sang froid ont échoué.

c. T. Sugai (1909), injectant une émulsion de Bacilles lépreux dans le péritoine ou le testicule de la souris dansante japonaise, aurait constaté la formation de granulations lépreuses du péritoine. Il peut y avoir confusion avec une pseudo-tuberculose.

d. Il n'est pas probable que les lésions trachomateuses réalisées par Stanziale, après inoculation de produits lépreux dans la chambre antérieure de l'œil du lapin, soient réellement de nature lépreuse.

Fig. 270. — Bacille de la lèpre, dans un tubercule sous-cutané.

e. Ch. Nicolle (1906), en injectant sous la peau du Bonnet chinois (*Macacus sinicus*) le suc de tubercules lépreux jeunes, a vu apparaître des nodules indurés, analogues comme structure aux lépromes humains et renfermant le Bacille de Hansen. Les nodules persistent un à trois mois, puis disparaissent. Il n'y a pas de généralisation. Plus récemment (1911), Nicolle et Blaizot ont expérimenté sur le chimpanzé : même résultat. A la suite des inoculations en série, la durée d'incubation est abrégée, et les nodules persistent plus longtemps.

f. Duval (1911), par injections sous-cutanées répétées d'émulsions riches en Bacilles, aurait reproduit une lèpre diffuse, à forme tuberculeuse, chez *Macacus rhesus*.

g. Duval et Couret (1912) signalent chez *Macacus rhesus* l'apparition de taches maculo-anesthésiques et de nodules sous la peau, dans le foie et la rate, avec bacilles dans les lésions à distance, plusieurs mois après inoculations répétées des cultures de Duval.

SIÈGE.

Le Bacille de la lèpre est localisé dans les lésions lépreuses. On l'y rencontre en *quantités colossales*, formant une masse importante du tissu ; tantôt isolé, tantôt aggloméré en amas indistincts (*globi*) ; tantôt formant des amas irréguliers, *en paquets de cigares*, dans de grandes cellules vacuolaires (*cellules lépreuses*) ou dans des cellules très analogues aux cellules géantes tuberculeuses.

Il existe en particulier dans la rhinite, les tubercules (fig. 270), la rate, la moelle osseuse, les ganglions, le foie ; en cas de lèpre anesthésique, dans les cellules nerveuses (non constamment).

Les tubercules ulcérés émettent une véritable émulsion de Bacilles (Babès).

La localisation fréquente et précoce du bacille dans les fosses nasales revêt une grande importance pour le diagnostic (Jeanselme). Sticker l'a rencontré chez 128 malades sur 153 ; Kolle le considère comme constamment présent dans la forme tuberculeuse. Ces assertions ont été confirmées depuis (Arning, Lebœuf, etc.).

On rencontre moins fréquemment le bacille sur les conjonctives, dans l'expectoration, dans la salive, dans l'intestin, dans le lait.

Kitasato a pu le déceler dans les fosses nasales de sujets sains, en contact avec des lépreux.

Le bacille passe parfois dans le sang ; on peut le déceler en soumettant à l'hémolyse (p. 867) 5 centimètres cubes de sang, centrifugeant et colorant le culot (Gougerot).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'INFECTION.

I. **Recherche du bacille.** — Pour le moment, la recherche du bacille par examen direct constitue le seul procédé certain de diagnostic bactériologique.

A. **Matériaux d'examen.** — S'il existe des tubercules externes ulcérés, on examinera les frottis de la sérosité et du produit de grattage de l'ulcération.

Sinon on s'adressera au mucus nasal : racler la muqueuse avec un écouvillon et étaler le produit sur lames. La recherche est positive dans un nombre élevé de cas, 60 à 90 p. 100 suivant les estimations.

En cas d'insuccès, Leredde et Pautrier conseillent de faire ingérer au malade 4 grammes d'iodure de potassium ; un ou deux jours avant l'examen on peut ainsi faire apparaître les bacilles.

Lorsqu'il existe des lésions pulmonaires, le bacille sera cherché dans les produits d'expectoration. Eventuellement, on examinerait également des ulcérations bucco-pharyngées, génitales, etc.

Ces diverses recherches peuvent être négatives; on pourra alors piquer un tubercule, laisser écouler le sang, comprimer ensuite pour faire exsuder le suc et y chercher le bacille (P. Manson).

En cas d'insuccès, on pratiquerait la biopsie d'un tubercule (l'opération est généralement indolore, en raison de l'analgésie de la région). Le tubercule enlevé peut être broyé et examiné comme les frottis ; il vaut mieux inclure et pratiquer des coupes.

B. **Technique de l'examen**. — 1° Les *frottis* obtenus comme il vient d'être dit seront soumis aux procédés de coloration indiqués en pareil cas :

Coloration prolongée par une solution colorante habituelle ;

Coloration par la méthode de Gram ;

Coloration par le Ziehl-Neelsen.

On reconnaîtra le Bacille de Hansen à ce qu'il se colore par les trois procédés précédents. Il faut surtout apporter la plus grande attention au nombre et à la disposition des bacilles: les Bacilles lépreux sont souvent *extraordinairement abondants* et se disposent *en gros amas*, contrairement à tous les germes avec lesquels on peut être exposé à les confondre en raison de leur acido-résistance.

Causes d'erreur ; épreuves complémentaires. — On pourrait confondre le bacille de Hansen dans les frottis :

Avec le Bacille tuberculeux, surtout dans les lésions pulmonaires ;

Avec les bacilles acido-résistants, spécialement dans le mucus nasal.

a. La confusion avec le Bacille tuberculeux est d'autant plus facile que les lésions tuberculeuses sont loin d'être rares chez les lépreux. On pourra reconnaître le Bacille de Hansen à l'aide des réactions colorantes spéciales signalées plus haut ; mais nous avons vu qu'il n'est pas certain qu'on puisse se baser sur les procédés de coloration pour distinguer les deux bacilles. Il sera toujours prudent d'inoculer au cobaye : seul, le Bacille de Koch se montrera pathogène.

b. On sait que le mucus nasal peut renfermer des bacilles acido-résistants, spécialement le Bacille de Karlinsky et le Bacille de Marchoux et Halphen. Le second n'est pas alcoolo-résistant et sera éliminé par une méthode d'examen correcte (p. 694) ; le premier donne facilement des cultures jaunâtres sur gélose glycérinée et provoque des granulations du péritoine par inoculation intrapéritonéale au cobaye.

2° Les *coupes* seront colorées par les procédés indiqués pour le Bacille de Koch. On attachera une grande importance au nombre

généralement colossal des bacilles et à leur disposition en volumineux paquets de cigares.

II. **Séro-diagnostic.** — S'il persistait quelque doute, on pratiquerait l'épreuve de la déviation du complément, en prenant comme antigène l'extrait de léprome. La spécificité de cette méthode n'est malheureusement pas encore rigoureusement établie ; mais elle peut être utilisée au moins comme moyen de contrôle.

THÉRAPEUTIQUE BACTÉRIOLOGIQUE.

I. Carasquilla injecte au cheval du sang ou du sérum de lépreux ; Lucca et Laverde ont de même inoculé au bouc du suc de léprome avec du sang de lépreux. Le sérum d'animaux ainsi traités paraît avoir donné quelques minimes résultats en thérapeutique. En réalité, on obtient à peu près les mêmes effets en inoculant le sérum d'animaux traités par le sang d'homme sain (Metchnikoff et Besredka) ; de tels sérums sont surtout leucotoxiques, et on comprend que leur action soit très irrégulière.

II. Sous le nom de *nastine*, Deycke désigne le produit obtenu en traitant par l'éther le *Streptothrix leproïdes*, microbe qui serait très voisin du Bacille lépreux. L'efficacité de la nastine est discutée.

MALADIE LÉPROÏDE DES RATS.

La lèpre est considérée comme strictement spéciale à l'espèce humaine.

Cependant Stefansky (1903) a décrit chez *Mus decumanus*, à Odessa, une affection présentant avec la lèpre les plus grandes analogies d'évolution, de lésions grossières (nodules et ulcérations cutanées) ou histologiques, et provoquée par un bacille qui rappelle d'une manière surprenante le Bacille de Hanson : même forme, mêmes réactions colorantes (acido-résistant), même surabondance dans les tissus, même défaut d'aptitude à se développer sur milieux artificiels.

Autres caractères importants : la maladie peut être inoculée au rat, mais non à d'autres espèces animales (Deau). Suivant Marchoux et Sorel, le rat peut être infecté par simple scarification ; la souris est sensible à l'infection, mais à un moindre degré que le rat.

Le sérum des lépreux donne nettement la réaction de fixation avec le Bacille de Stefansky, aussi bien qu'avec le Bacille de Hansen (Mezincescu).

On voit qu'il existe des analogies surprenantes entre la lèpre humaine et cette maladie léproïde des rats, rencontrée de divers côtés (Odessa, Paris, Berlin, Bucarest, Angleterre, San-Francisco).

La question demeure à l'étude.

CHAPITRE LI

BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS PSEUDO-TUBERCULOSES

BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS.

En dehors du Bacille tuberculeux et du Bacille de la lèpre, il existe un grand nombre d'autres bacilles, qui présentent des caractères de coloration analogues ou identiques; ils sont *acido-résistants*, comme le Bacille de Koch et le Bacille de Hansen. On les appelle encore *Bacilles paratuberculeux*.

Ces Bacilles, signalés exceptionnellement jusque-là, ont été étudiés surtout depuis les recherches de Koch et Petri sur le beurre (1896).

Au point de vue pratique, il convient d'accepter la séparation établie par Bezançon et Philibert : ces auteurs distinguent des *Bacilles tuberculoïdes* (que nous appellerons *Bacilles acido-résistants vrais*, pour ne pas préjuger de leurs relations avec le Bacille tuberculeux); et des *Bacilles accidentellement acido-résistants*. Nous verrons en effet que les premiers ne peuvent souvent être différenciés des Bacilles de Koch ou de Hansen que par des procédés longs ou délicats, mais se rencontrent rarement chez l'homme ou l'animal malades; à ces deux points de vue, pratiquement les plus importants, les Bacilles accidentellement acido-résistants se comportent d'une manière opposée.

Bacilles acido-résistants vrais. — 1° Ces Bacilles sont très répandus dans la nature ; on ne les trouve que très rarement chez l'homme ou chez l'animal.

a. Dans le beurre, ils ont été rencontrés par nombre d'observateurs : Bacille de Petri-Rabinowitsch, de Binot, de Korn (deux variétés), de Tobler (cinq variétés), d'Aujeszky, de Beck, etc.

b. Moeller les signale *dans le lait.*

c. Quelques-uns existent dans le *fumier* (*Mistbacillus* de Moeller), sur la *fléole* (*Timotheebacillus* de Moeller).

d. Chez les *animaux*, les mêmes bacilles sont signalés par Moeller dans certaines pommelières des bovidés.

e. Chez l'*homme*, on compte les observations : deux cas de Ginsberg (conjonctivite chronique), un cas de Rabinowitsch (gangrène pulmonaire) un cas de Beck (amygdale) et quelques autres sans importance.

2° Au point de vue de leurs *réactions colorantes*, ces bacilles se comportent exactement comme le Bacille tuberculeux ; en particulier, ils restent colorés en rouge par le procédé de Ziehl-Neelsen (p. 655) ; ils sont donc non seulement acido-résistants, mais encore *alcoolo-résistants*.

3° Mais les *conditions de culture* sont très différentes. Les acido-résistants se développent facilement en un ou deux jours sur les milieux habituels. Ils poussent sur gélatine, sans la liquéfier. En bouillon ordinaire ou glycériné, ils donnent rapidement un voile exubérant. Sur gélose, la culture est tantôt sèche et plissée, tantôt grasse et crémeuse.

Les cultures prennent fréquemment une teinte jaune d'or, jaunâtre ou rougeâtre.

4° *Ces bacilles sont doués de quelque virulence.* Inoculés sous la peau du cobaye, ils provoquent un abcès caséeux, sans généralisation ; inoculés dans le péritoine, soit à dose massive, soit à dose faible en mélange avec du beurre stérile, ils déterminent une péritonite fibrino-caséeuse, qui constitue au foie et à la rate une véritable carapace ; mais les lésions demeurent presque toujours superficielles : il est tout à fait exceptionnel que le foie soit lésé dans la profondeur ; il est encore plus exceptionnel de trouver des lésions à distance. Ces diverses lésions sont très riches en bacilles (beaucoup plus riches que les lésions tuberculeuses vraies). Elles ne présentent pas de cellules géantes. Elles ne sont pas indéfiniment réinoculables en série.

Les relations exactes des Bacilles acido-résistants avec le Bacille tuberculeux sont mal établies. Ils diffèrent surtout du Bacille de Koch par la facilité avec laquelle ils s'adaptent aux milieux artificiels et par les caractères particuliers des lésions qu'ils provoquent expérimentalement. Certains auteurs les considèrent comme représentant la forme saprophytique du Bacille de Koch ; mais ce n'est là pour le moment qu'une simple hypothèse.

Bacilles accidentellement acido-résistants. — 1° Contrairement aux précédents, ces bacilles ne sont pas rares chez l'homme, à l'état normal ou à l'état pathologique.

a. Ils sont fréquents *dans le smegma*, et ces bacilles passent souvent dans l'urine. Ce sont les *Bacilles dits du smegma* (Alvarez et Tavel, Czaplewski, Lubarsch). Rappelons que Lustgarten avait considéré un moment le Bacille du smegma comme étant l'agent de la syphilis.

b. On les trouve très souvent aussi *dans le sébum*, les comédons, les sécrétions interdigitales des orteils, de même que *dans le cérumen* (Laabs,

Gottstein), parfois dans le tartre dentaire (Rabinowitch), parfois dans le contenu intestinal.

c. Dans le *mucus nasal*, à l'état normal ou pathologique (surtout chez les ozéneux), on trouve des bacilles du même groupe (*Mycobacterium putricolens* de Marchoux et Halphen).

d. Ils ont été signalés parfois *dans certaines affections pulmonaires* : gangrène pulmonaire (Pappenheim) ou dilatation des bronches (Zahn).

e. Tout à fait exceptionnellement, on les a rencontrés dans certaines suppurations (otites surtout, Cima).

f. Dans les liquides pleurétiques ou le *sang*, prélevés par ponction et abandonnés à eux-mêmes, les Bacilles acido-résistants accidentels pullulent très souvent (Bezançon et Philibert).

g. On les a signalés sur le cadavre.

2° Ces bacilles, en raison de leurs localisations, prêtent à confusion avec le Bacille tuberculeux. Mais ils se distinguent de ce dernier par un caractère capital : *ils ne sont pas alcoolo-résistants* ; en outre, ils résistent beaucoup moins que le Bacille tuberculeux à la décoloration par les acides. Enfin ils se colorent par les solutions colorantes habituelles, ce que ne fait pas le Bacille tuberculeux.

Le diagnostic avec le Bacille tuberculeux sera donc fait sans difficulté, à la seule condition d'employer une technique appropriée. Par le procédé de Ziehl-Neelsen (p. 655), ces bacilles perdent la coloration rouge et se recolorent en bleu, alors que le Bacille de Koch reste coloré en rouge. Avec la plupart des méthodes, d'ailleurs, une simple décoloration complémentaire par l'alcool suffira à décolorer les pseudo acido-résistants.

3° *Au point de vue pratique*, il faut penser aux acido-résistants dans les diverses circonstances que nous avons signalées (urines, crachats fétides, etc.). Il suffit, d'ailleurs, d'y penser pour éviter une erreur grossière d'interprétation.

4° La plupart d'entre ces microbes n'ont pas été cultivés. Quelques-uns d'entre eux ont été ensemencés avec succès sur des milieux organiques. Leurs caractères d'inoculation sont peu connus ; il est seulement établi qu'ils ne provoquent jamais chez le cobaye de lésions prêtant à confusion avec la tuberculose.

5° Il est manifeste que les bacilles accidentellement acido-résistants *empruntent* leur acido-résistance aux conditions spéciales des milieux où ils vivent. Ceux qui peuvent être cultivés perdent généralement leur acido-résistance dans les cultures sur milieux artificiels. D'autre part, Bienstock, Bezançon et Philibert ont montré qu'on peut conférer les mêmes propriétés acido-résistantes à bien d'autres bactéries : Bacille diphtérique, Bactéridie charbonneuse, *B. subtilis*, en les cultivant sur milieux additionnés de beurre ou de lanoline. Cette expérience démontre élégamment la cause de l'acido-résistance accidentelle.

PSEUDO-TUBERCULOSES.

Le tubercule n'est pas pathognomonique de la tuberculose. On peut en effet rencontrer des tubercules dans nombre de circonstances où n'intervient pas le Bacille tuberculeux.

1° Certaines formes de tubercules *ne sont pas réinoculables en série*, caractère fondamental. Il faut citer dans ce groupe :

a. Les tubercules développés autour de corps étrangers introduits dans les tissus. Expérimentalement, ils apparaissent après injection de poudres diverses : poudre de lycopode, poudre de cantharide (Hipp. Martin), encre de Chine, etc. Cliniquement, on les observe parfois chez l'homme, en particulier dans l'iris ou la conjonctive, après inoculation accidentelle de plomb, de verre ;

b. Les tubercules des pseudo-tuberculoses vermineuses, développés en particulier dans le poumon du chien autour de *Strongylus filaria* (Laulanié).

2° *Les vraies pseudo-tuberculoses sont réinoculables en série*. Citons :

a. Les pseudo-tuberculoses dues à des *parasites* relativement élevés : aspergillose (p. 722), oïdiose (p. 719), sporotrichose (p. 709), lésions provoquées par les oosporoses ;

b. Les *pseudo-tuberculoses microbiennes*.

Ces dernières sont de beaucoup les plus importantes à connaître. Nous les étudierons exclusivement dans ce chapitre.

PSEUDO-TUBERCULOSES MICROBIENNES.

L'histoire des pseudo-tuberculoses microbiennes est encore bien confuse. Il paraît seulement établi, d'une part, que les pseudo-tuberculoses, rares chez l'homme, le sont moins chez l'animal ; d'autre part, que bon nombre d'entre elles sont provoquées soit par le Bacille de la tuberculose zoogléique de Malassez et Vignal (ou Bacille de la pseudo-tuberculose des rongeurs de Pfeiffer), soit par le Bacille de Preisz et Nocard.

Coccobacille de la pseudo-tuberculose zoogléique (Malassez et Vignal). — **Morphologie**. — Dans les tissus, le Bacille de Malassez et Vignal se présente souvent en amas, formés d'éléments isolés ou disposés en chaînettes, noyés dans une sorte de gangue amorphe.

En cultures, l'aspect est polymorphe : Coccobacilles en amas, en chaînettes ou isolés.

Ce Coccobacille se colore facilement ; il ne prend pas le Gram et n'est pas acido-résistant.

Il est plus ou moins mobile ; il ne donne pas de spores.

Cultures. — Les cultures s'obtiennent facilement, en partant soit des tubercules, soit du sang, au contact de l'air, à 20° ou 37°.

Bouillon. — Trouble rapide, souvent léger voile.

Gélose. — Culture abondante, blanc grisâtre.

Sérum coagulé. — Comme sur gélose.

Gélatine. — Enduit demi-transparent, blanchâtre, non liquéfiant.

Pomme de terre. — Enduit d'abord blanc, jaunâtre, puis brunâtre.

Lait. — Non coagulé.

Milieux lactosés. — Non fermentés.

Propriétés biologiques. — La vitalité est assez grande, un mois environ en culture à 37°, plusieurs mois à 20°.

Action pathogène, dans les conditions naturelles. — a. *Chez l'homme.* — C'est dans un tubercule sous-cutané que Malassez et Vignal ont tout d'abord isolé leur microbe. Depuis lors, le même germe, ou des espèces singulièrement voisines, ont été signalés exceptionnellement (P. Courmont et Tixier, J. Courmont et Nicolas).

b. *Chez l'animal.* — Avec Preisz, il faut également rapporter à la même espèce les microbes rencontrés au cours d'affections caractérisées anatomiquement par des tubercules, chez le cobaye (Eberth, Charrin et Roger), le lapin (Eberth ; Charrin et Gouget, dans des tubercules de l'appendice), chez la vache (J. Courmont et Nicolas), chez la poule (Nocard), chez le cheval (Pfeiffer).

En ce qui concerne en particulier le cobaye, la pseudo-tuberculose zoogléique n'est pas exceptionnelle et se comporte parfois *comme une épizootie.*

Action pathogène expérimentale. — *Cobaye.* — L'inoculation sous-cutanée provoque un abcès local qui s'ouvre à l'extérieur ; l'animal succombe en une à deux semaines. A l'autopsie : tuméfaction et parfois caséification des ganglions ; tubercules dans les divers organes.

L'inoculation intrapéritonéale tue en trois à quatre jours ; péritonite, tubercules surtout dans le foie et la rate.

Par ingestion : tubercules généralisés.

Lapin. — Par inoculation intraveineuse, une culture jeune détermine une septicémie mortelle, sans lésion ; une culture de quinze à vingt jours tue en trois semaines environ, en déterminant une éruption généralisée de tubercules.

Autres animaux. — Moins régulièrement sensibles que les précédents. La souris et le rat blanc sont sensibles à certains virus.

Siège. — Le bacille se retrouve dans les diverses lésions signalées. En plus, on l'a rencontré dans l'air (Chantemesse), sur la terre, etc.

Agglutination. — Le sérum des animaux inoculés est agglutinant Ledoux-Lebard, de Blasi).

Importance pratique de la pseudo-tuberculose zoogléique. — En dehors de l'intérêt qui s'attache à son étude, la pseudo-tuberculose zoogléique est surtout importante à connaître parce qu'*elle*

peut prêter à confusion avec la tuberculose vraie, à Bacilles de Koch, particulièrement chez le cobaye.

On comprend, en effet, que, si un cobaye inoculé avec un produit suspect de tuberculose succombe dans la suite et présente à l'autopsie des tubercules généralisés, il devient nécessaire de s'assurer de la nature de ces tubercules. Quand la mort survient peu après l'inoculation sous-cutanée, en huit à dix jours, il ne s'agit certainement pas de tuberculose. Quand la mort est tardive, après un mois ou plus, elle peut être due ou bien à une infection par le Bacille de Koch, ou bien à une pseudo-tuberculose spontanée. On établira facilement le diagnostic :

Dans la tuberculose vraie, les tubercules renferment des Bacilles tuberculeux, colorables par les procédés spéciaux, et les cultures sur milieux d'usage courant demeurent stériles ;

Dans la pseudo-tuberculose, les tubercules ne renferment pas de Bacilles tuberculeux ; on réussira souvent (pas toujours) à déceler les Coccobacilles par examen direct ; on en obtiendra toujours très facilement des cultures sur milieux habituels.

Bacille de Du Cazal et Vaillard. — Isolé à l'autopsie d'un homme présentant une éruption de nodules caséiformes, le Bacille de Du Cazal et Vaillard présente la plupart des caractères du Coccobacille de Malassez et Vignal, mais il diffère de ce dernier par deux propriétés importantes :

Il liquéfie la gélatine ;

Il est pathogène seulement pour le lapin, non pour le cobaye.

Bacille de Preisz-Nocard. — Ce bacille, très répandu en pathologie animale, a fait l'objet d'études expérimentales des plus intéressantes.

Morphologie. — Éléments polymorphes : tantôt isolés, tantôt réunis en amas irréguliers ; nettement bacillaires le plus souvent, parfois coccobacillaires et même franchement arrondis ; renflements fréquents aux extrémités (comme le Bacille diphtérique). Immobile.

Ils se colorent facilement et prennent le Gram.

Cultures. — Le développement est surtout aérobie.

Bouillon. — Le milieu reste clair ; dépôt au fond, avec voile sec. Culture plus abondante en bouillon-sérum.

Gélose. — Traînée blanchâtre, mince, sèche, chagrinée.

Sérum coagulé. — Colonies blanches ou jaunes, arrondies.

Pomme de terre. — Traînée pulvérulente, blanchâtre.

Gélatine. — Pas de développement à la température ambiante.

Action pathogène, dans les conditions naturelles. — Le Bacille de Preisz-Nocard est pathogène pour le cheval, le mouton, le porc, le bœuf, et probablement bien d'autres espèces.

Chez le *cheval* : agent de la dermite pustuleuse (ou acné contagieuse), d'une forme épizootique de lymphangite suppurée (Nocard).

Chez le *mouton* : agent de pseudo-tuberculoses, localisées surtout au foie, au rein, au poumon, aux ganglions thoraciques (Preisz) ; agent des eaux rousses, infection aiguë, et de la cachexie aqueuse, infection chronique (Carré).

Action pathogène expérimentale.— La virulence est variable, le plus souvent très marquée.

Cobaye. — Par inoculation *sous-cutanée*, il se produit un abcès caséeux ; l'animal succombe souvent avec des abcès multiples à distance.

L'inoculation *intrapéritonéale* au cobaye mâle donne une *orchite* suppurée (Nocard).

L'inoculation *dans les voies circulatoires* détermine rapidement : une éruption pustuleuse au point rasé ou épilé, puis aux aines, au scrotum, au nez ; des ostéo-arthrites des extrémités ; des abcès sous-cutanés. Mort en quelques jours avec granulations dans le foie, la rate, les poumons et le péritoine (Panisset).

Le *lapin* et la *souris* sont un peu plus résistants ; mêmes réactions que le cobaye, avec des doses plus fortes.

Le *mouton* est très réceptif.

Toxines. — Le bacille sécrète une toxine soluble très active (Carré). Le filtrat de cultures, inoculé au cobaye, sous la peau, à dose de 2 à 5 centimètres cubes, tue en dix à quinze heures après avoir provoqué de l'œdème très marqué ; à dose non mortelle, il se produit une escarre (M. Nicolle, Loiseau et Fargeot).

Vaccination. — On peut combattre l'épizootie des moutons par vaccination avec virus chauffés ; deux inoculations (Carré).

Sérothérapie. — Le sérum obtenu chez les animaux neutralise la toxine, mais n'a pas d'action sur la maladie naturelle (Carré).

Diagnostic. — D'après Forgeot et Césari, on peut déceler l'infection chez le cheval en étudiant les propriétés du sérum : l'injection préventive de 2 centimètres cubes de sérum d'animal infecté prémunise le cobaye contre l'inoculation, faite vingt-quatre heures après, d'une dose sûrement mortelle de bacilles.

CHAPITRE LII

ACTINOMYCES BOVIS

L'*Actinomyces bovis* est l'agent pathogène d'une affection qui sévit de préférence chez les bovidés, se traduisant par la production de tumeurs envahissant les téguments et les tissus sous-jacents et aboutissant à la fonte purulente; elles siègent chez ces animaux particulièrement au niveau des os maxillaires et de la langue.

Cette affection, dite *actinomycose*, sévit aussi chez l'homme (Israël et Wolff, Poncet et ses élèves, etc.).

Il semble que ce parasite ait été vu en 1868 par Rivolta, qui, dans le pus de ces lésions, observa des « corpuscules discoïdes composés de bâtons rameux ». En 1877, Bollinger les décrit sous l'aspect de champignons qui reçoivent de Harz la dénomination qu'ils portent aujourd'hui.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le microscope montre l'*Actinomyces bovis* sous des aspects différents, suivant qu'on l'observe dans les tissus ou les cultures.

Dans les tissus. — Dans les foyers suppurés, on trouve d'une façon constante des *grains jaunâtres*, de dimensions variables : ce sont les *grains actinomycosiques*.

Chaque grain est constitué par une agglomération de corps mûriformes; on peut y distinguer nettement deux zones (fig. 271) : l'une, *centrale*, est occupée par le mycélium; l'autre, *périphérique*, est représentée par les éléments, en forme de massues ou de crosses, disposés tout autour de la zone mycélienne centrale.

Le *mycélium* est composé d'un feutrage de filaments enchevêtrés les uns dans les autres; ces filaments sont des bâtonnets rectilignes, ou incurvés ou spiralés, longs de 3 à 12 μ sur 1 à 2 μ de large. De ce feutrage central, certains rayonnent dans les massues ou entre elles.

Les *massues* représentent en réalité une phase de transformation des filaments. On voit, en effet, l'extrémité du filament se renfler,

puis la membrane d'enveloppe de ce dernier se gonfle, alors qu'à l'intérieur de la massue de nouvelle formation le filament persiste, mais pour disparaître ultérieurement.

Ces massues correspondent sans doute à une forme de dégénérescence, à une forme d'involution du parasite, qui subit l'influence défensive de l'organisme. Quand l'affection évolue vers la guérison, il n'est pas rare de voir le grain actinomycosique constitué unique-

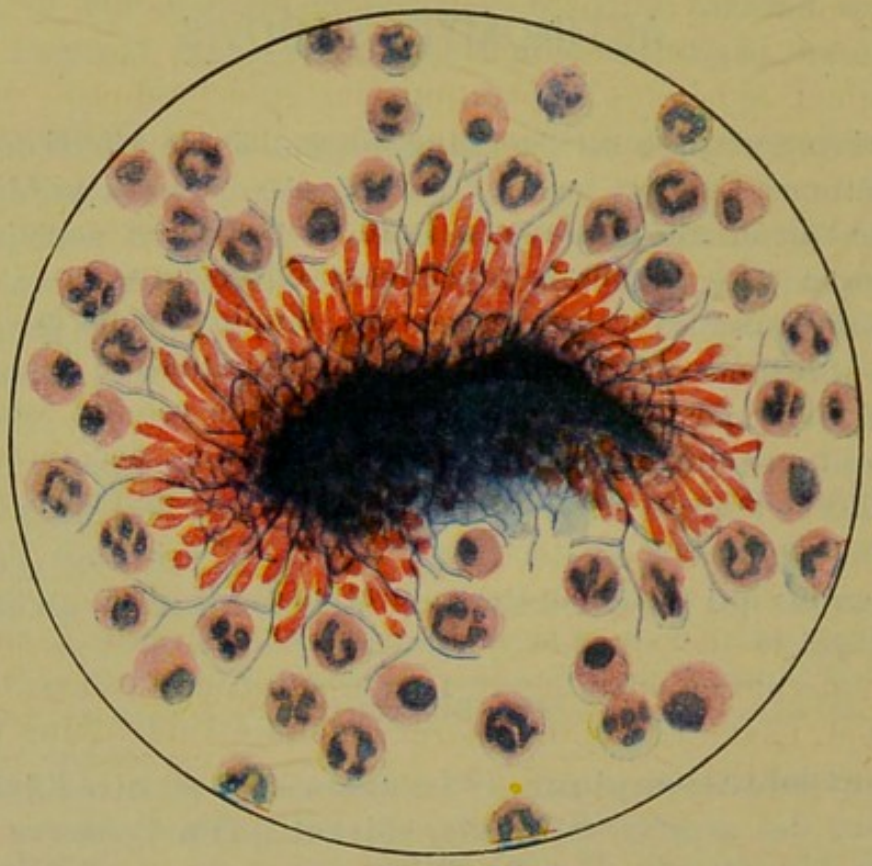


Fig. 271. — Grain d'actinomycose (coloration par le Gram et l'éosine). Mycélium (violet) Massues (roses), globules pyoïdes.

ment par des massues. Elles subissent parfois la dégénérescence calcaire ou bien une désintégration progressive.

Dans le tubercule actinomycosique qui précède le processus suppuratif, le parasite présente les mêmes caractères, mais il est entouré d'une zone de cellules épithélioïdes, provenant de leucocytes mononucléaires et de cellules fixes conjonctives, jouant un rôle phagocytaire accusé vis-à-vis des filaments mycéliens; ces cellules épithélioïdes peuvent se réunir pour former des cellules géantes.

Dans les cultures. — Mis en culture artificielle, l'*Actinomyces bovis* se montre seulement sous la forme filamenteuse. Les filaments, ramifiés irrégulièrement, sont longs de 60 à 100 μ. Les massues et les crosses sont absentes.

Quand les cultures sont âgées, ces filaments se segmentent pour

former comme des chaînettes de bacilles, voire même de cocci. Sur les filaments aériens, se développent des chapelets de fructifications conidiennes, se détachant avec une grande facilité : ce sont les filaments sporifères. Quand les cultures sont vieilles, les spores sont seules perceptibles.

Coloration. — La propriété de fixer les colorants est différente, suivant qu'on envisage le mycélium et les massues.

Les filaments mycéliens restent colorés par le Gram ; les massues se décolorent par cette méthode (fig. 271).

On obtient de bonnes préparations par la technique suivante :

Écraser un grain jaune sur une lame ; laisser sécher, fixer par l'alcool-éther. Colorer ensuite par le procédé de Gram ; après action de l'alcool absolu, laver à l'eau, puis recolorer par l'éosine, la safranine : les filaments mycéliens sont colorés en violet, les massues en rose. Avec le picrocarmin, employé pour la deuxième coloration, les massues prennent une teinte jaunâtre.

Le mycélium possède encore la propriété de retenir assez fortement la fuchsine de Ziehl, malgré l'action décolorante des acides ; toutefois, cette acido-résistance est moins marquée que pour le Bacille tuberculeux.

Ce procédé convient bien à la coloration des coupes :

Faire agir la fuchsine de Ziehl pendant quarante à cinquante minutes ; décolorer ensuite par l'acide sulfurique à 1 p. 100, puis par l'alcool. Laver à l'eau, et colorer le fond à l'aide d'une solution de bleu de méthylène.

CULTURES.

L'*Actinomyces bovis* se cultive indifféremment en milieu aérobie ou anaérobie. Il commence à se développer à 20° ; la température optima est 27° ; il pousse encore jusque vers 50°.

Tous les milieux artificiels lui conviennent, mais de préférence ceux auxquels on ajoute du sérum ou de la glycérine.

Bouillon glycériné. — La culture se montre vers le cinquième ou le sixième jour, sous l'aspect de grains arrondis, durs, blanchâtres, qui ne tardent pas à tomber au fond du tube, laissant le milieu clair et limpide.

Gélose glycérinée. — On observe, au bout de trois à quatre jours, des colonies (fig. 273) sèches, rugueuses, blanc jaunâtre, puis jaunes, qui adhèrent fortement au milieu sous-jacent. Quand elles sont abondantes, elles finissent par confluer.

Gélatine. — Les colonies isolées sont petites, grisâtres, à contours

irréguliers; le centre est jaune. La liquéfaction du milieu se produit assez tardivement; elle n'est d'ailleurs jamais très intense.

Sérum coagulé. — Grains de teinte blanc jaunâtre, d'aspect sec et rugueux.

Pomme de terre. — Les colonies n'apparaissent que vers la fin de la première semaine ; incolores tout d'abord, elles deviennent ensuite grisâtres, puis jaunâtres. Au fur et à mesure du développement, elles s'épaississent, deviennent confluentes; il se forme une culture mamelonnée, rugueuse, à contours irréguliers (fig. 272). Autour de la culture, le milieu prend une teinte brunâtre.

Fig. 272. — Culture sur pomme de terre glycérinée.

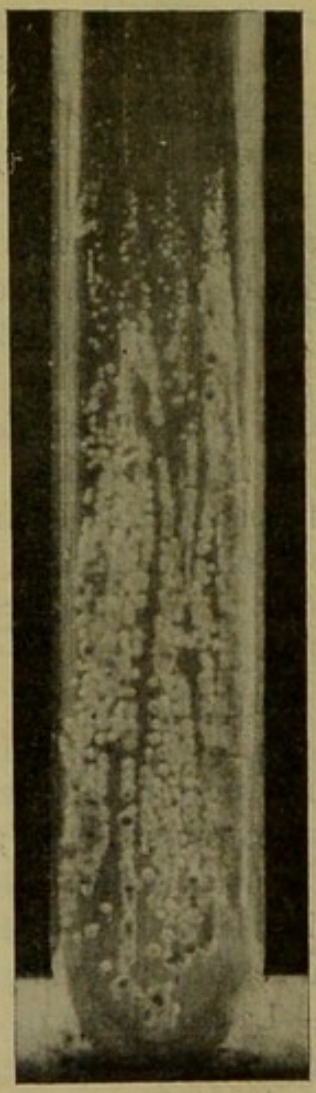


Fig. 273. — Culture sur gélose glycérinée.

Graines de céréales. — Sur les graines de blé, avoine, orge, etc., soit fraîches, soit sèches, mais alors ramollies préalablement dans l'eau, l'*Actinomyces* cultive; la culture apparaît vers le deuxième ou troisième jour, sous l'aspect d'un enduit pulvérulent, de teinte jaunâtre, qui pénètre dans l'intérieur de la graine.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité et virulence. — Le parasite résiste assez bien aux influences nocives. Si les cultures sont tuées en dix minutes par une température de 75°, le parasite issu de l'organisme paraît beaucoup plus résistant, car on l'a retrouvé vivant après plusieurs années (Poncet et Bérard); la spore pourrait vivre

quatre ans. L'action des antiseptiques usuels est peu marquée; celle de l'acide phénique à 5 p. 100 est nulle; le sublimé à 1 p. 1000 ne détruit le parasite qu'au bout de cinq minutes.

Liebmann a montré que la virulence du parasite s'atténuait rapidement par les divers passages sur l'homme et l'animal; mais il serait facile de lui faire récupérer sa végétabilité et sa virulence en le faisant cultiver sur une plante.

Production de toxine. — On peut mettre en évidence la production d'une toxine en utilisant le filtrat d'une culture en bouillon glycériné. Deléarde a ainsi obtenu une *streptothricine* assez semblable, dans ses effets, à la tuberculine. Injectée à des animaux actinomycosiques, elle détermine une réaction fébrile; l'injection reste sans effet chez les animaux sains.

Réaction vis-à-vis des sérums de sujets atteints de mycoses. — L'*agglutination* de l'*Actinomyces* ne peut être recherchée en raison de sa morphologie particulière; les milieux de culture ne peuvent, en effet, fournir des spores isolées; quand on filtre une émulsion, on n'obtient guère que des filaments mycéliens, réfractaires à l'agglutination.

Par contre, le sérum des actinomycosiques agglutine fortement les spores de *Sporotrichum Beurmanni* (Widal, Abrami, Joltrain et Brissaud).

La *fixation du complément* s'obtient d'une façon constante quand on met en contact le sérum d'actinomycosique avec les cultures d'*Actinomyces*. Il en est de même encore quand l'*Actinomyces* est mis en présence du sérum de sporotrichosique ou de sujets atteints de muguet.

De même encore, les cultures de sporotrichose et de muguet fixent le complément en présence du sérum d'actinomycosique.

Il s'agit là assurément de phénomènes de fixation et de cofixation réversibles, comme il s'agissait, dans les précédents, de phénomènes coagglutinants.

HABITAT. — ACTION PATHOGÈNE.

L'*Actinomyces bovis* se rencontre dans l'organisme malade, dans toutes les lésions caractéristiques de l'actinomycose : nodules, abcès et tumeurs suppurées.

Il exerce son action pathogène chez l'homme, mais surtout chez l'animal. On observe l'actinomycose principalement chez les bovidés, qui sont atteints parfois, en certaines régions, d'une manière enzootique. Chez le cheval et le mouton, elle est assez rare; chez le porc, elle sévit assez exceptionnellement.

L'*Actinomyces* est essentiellement un parasite des végétaux, sur lesquels il se trouve sans doute à l'état de spores, qui résistent à l'influence des agents physiques extérieurs. Les céréales en sont les véhicules fréquents.

Leur rôle inoculateur est indéniable. Piana, dans un cas d'actinomycose linguale du veau, a constaté la présence d'une barbule d'orge couverte de parasites, siégeant dans le trajet fistuleux de la lésion. De nombreuses observations recueillies chez l'homme plaident dans le même sens : cas de Soltmann, concernant un enfant ayant avalé un épi d'orge; un abcès actinomycosique du dos se déclara, où l'on retrouva l'épi chargé d'*Actinomyces*. Wolfler, Boström, Guermomprez et Augier, etc., firent des constatations analogues.

La pénétration de l'*Actinomyces* dans l'organisme s'effectue le plus souvent dans les premières voies digestives par les épis porteurs du parasiste, qui s'implantent dans la langue, au niveau des muqueuses gingivale, buccale, pharyngée, etc., ou bien ils se logent entre les dents, pénétrant ensuite dans les alvéoles.

Le parasite peut aussi, mais plus rarement, traverser la muqueuse gastrique ou intestinale (Chiari). L'infection peut se produire encore par le poumon, à la suite de l'inhalation de poussières provenant du battage du blé.

On suppose enfin qu'elle peut s'effectuer par des excoriations cutanées.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Les inoculations expérimentales ont donné, entre les mains des divers auteurs, des résultats assez variables.

On peut réussir cependant, en employant comme matériel d'inoculation les *produits pathologiques*. Israël, Rotter, Dor et Bérard introduisirent dans le péritoine de lapin des fongosités d'actinomycose humaine; ils conférèrent une infection, à évolution très lente; sacrifié six mois après, l'animal présentait dans la cavité abdominale (épiploon, mésentère) une série de tumeurs pouvant acquérir les dimensions d'une noisette. Les mêmes résultats ont été obtenus par Ponfick chez le veau.

L'inoculation de cultures est le plus souvent négative. Le lapin cependant a pu être infecté de cette manière par plusieurs auteurs (Mosselmann et Liénaux, Wolf et Israël) par la voie péritonéale.

Inoculées dans la chambre antérieure de l'œil (Dor), les cultures donnent naissance à des granulations qui disparaissent bientôt sans laisser de traces. Par inoculation dans le corps vitré, au contraire, Dor a vu la lésion progresser, l'œil être envahi par un noyau

caséeux; enfin l'autopsie montre des lésions pulmonaires et osseuses, avec les parasites caractéristiques.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE L'ACTINOMYCOSE.

Le diagnostic bactériologique de l'actinomycose peut être assuré par la recherche directe de l'*Actinomyces* dans les lésions, ou, si ces lésions sont inaccessibles à un prélèvement, par les épreuves du séro-diagnostic.

Recherche du parasite. — ***Examen microscopique.*** — Prélever un grain jaune dans le pus fraîchement recueilli, l'écraser entre lame et lamelle dans une goutte de glycérine. Le microscope montre l'aspect de la figure 271.

On peut verser sur la lame une goutte de picro-carmin dans laquelle on dissocie le grain jaune. Après environ dix minutes de contact, on l'écrase avec une lamelle. Au microscope, le parasite apparaît avec sa forme caractéristique; les massues sont teintées en jaune ; les cellules sont roses.

On peut encore observer le parasite après coloration : écraser le grain sur une lame, laisser sécher, fixer par l'alcool-éther et colorer par le Gram composé ou la méthode de Ziehl.

Habituellement, le seul examen microscopique, en montrant l'existence de l'*Actinomyces*, assure le diagnostic.

Culture. — Si l'on veut recourir à la culture, il faut employer un artifice qui permet d'éliminer les bactéries banales de la suppuration, associées à l'*Actinomyces* :

Ensemencer des grains jaunes sur un tube de gélose ou de gélatine inclinée. Après deux jours d'étuve, les colonies apparaissent autour de certains grains ensemencés; d'autres, au contraire, ne sont entourés d'aucune colonie satellite; à l'aide d'une öse forte, on recueille ces derniers et on les reporte sur un tube de sérum coagulé. Après cinq à six jours d'étuve à 37°, la culture se développe, habituellement pure.

Séro-diagnostic. — Quand on soupçonne une actinomycose viscérale profonde, inaccessible au prélèvement, le diagnostic peut être éclairé par l'agglutination et la réaction de fixation.

Agglutination. — L'agglutination, on l'a vu plus haut, peut être recherchée avec une culture d'*Actinomyces*; on utilise alors le pouvoir coagglutinant du sérum d'actinomycosique sur les spores de *Sporotrichum Beurmanni*; le taux d'agglutination peut s'élever à 1/100 et 1/250 (Voy. la technique p. 716).

Fixation du complément. — On peut encore, suivant la tech-

nique exposée plus haut, mettre en présence le sérum du malade et une culture broyée d'*Actinomyces* conservée au laboratoire. Pour Widal et ses élèves, cette réaction est constamment positive dans toutes les atteintes en pleine évolution.

On sait qu'elle s'obtient encore avec l'*Actinomyces* et le sérum de sporotrichosique.

ACTINOBACILLOSE.

L'*actinobacillose* sévit chez les bovidés de la République Argentine. Elle se manifeste sous la forme d'abcès froids siégeant au niveau de la gorge et de la langue, et donnant issue à un pus blanc laiteux, parfois verdâtre, véhiculant de petits grumeaux blanc grisâtre.

Cette affection reconnaît pour cause un germe voisin de l'actinomycose, découvert par Lignières et Spitz. Ce germe peut infecter l'homme (Ravaut et Pinoy).

Ce parasite, examiné dans le pus, se montre sous l'aspect d'amas cocco-bacillaires et de *formes en massue*. Il se colore de préférence par une couleur basique (thionine, bleu de méthylène, fuchsine).

Dans les cultures, il prend la forme d'un coccobacille ou d'un diplocoque ; en bouillon, il donne souvent des chaînettes.

L'Actinobacille se développe à 37° dans les milieux artificiels.

En *bouillon*, culture maigre ; trouble léger, puis dépôt léger au fond du tube. Quand la culture est ancienne, un voile se forme à la surface.

Sur *gélose*, au bout de vingt-quatre heures, colonies petites, bleuâtres, translucides, devenant opaques dans la suite.

L'inoculation reproduit l'infection chez le bœuf et le mouton, sous la forme d'abcès multiples où les formes massuées abondent.

CHAPITRE LIII

CHAMPIGNONS DU PIED DE MADURA

En 1894, H. Vincent signalait dans l'affection dite « pied de Madura », dénommée ultérieurement « mycétome » par Laveran, l'existence d'un *Streptothrix* qu'il décrivit complètement, et que l'on crut seul responsable de cette lésion. Mais les recherches ultérieures de Wright, Laveran, Bouffard, Ch. Nicolle, Brumpt, démontrèrent que le mycétome pouvait être dû à des champignons voisins du *Streptothrix Maduræ*, comme aussi à des Aspergillés. On décrivit d'ailleurs plusieurs types de mycétomes : à grains blancs, à grains noirs, à grains rouges.

« STREPTOTHRIX » OU « OOSPORA MADURÆ ».

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Dans les grains ou grumeaux que contient le pus issu des nodosités caractéristiques du pied de Madura, on constate l'existence de filaments mycéliens très grêles, sinueux ou droits, très souvent enchevêtrés, ne présentant jamais ni crosses ni massues; à la périphérie des bouquets qu'ils forment, ils prennent une disposition rayonnée.

Observés dans les cultures, ils présentent un aspect identique, mais, quand celles-là ont séjourné deux semaines à l'étuve, les rameaux fructifères se chargent de spores ovoïdes.

Coloration. — Le champignon prend toutes les couleurs d'aniline; *il prend le Gram.*

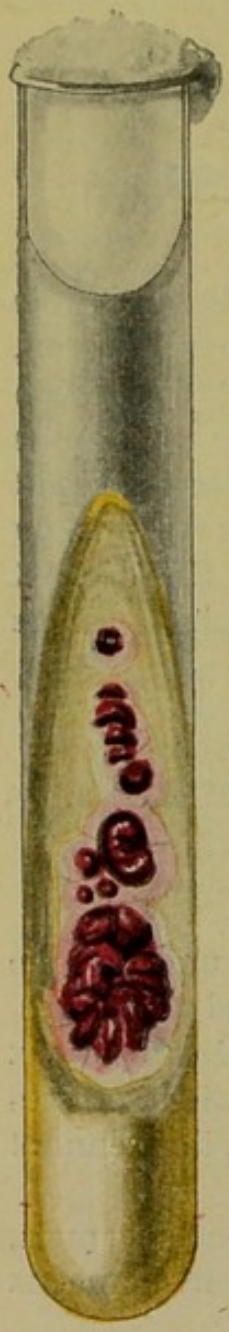
CULTURES.

Aérobie strict, *Streptothrix Maduræ* se développe entre 20° et 40°. La température optima égale 37°. Dans les milieux usuels, il pousse faiblement; il préfère les infusions végétales.

Bouillon. — Culture grêle, montrant au bout de douze à quinze jours des grumeaux grisâtres; le milieu ne se trouble pas.

Gélatine. — Culture blanche et grêle. Pas de liquéfaction.

Gélose glucosée glycérinée. — Culture abondante; colonies saillantes, d'aspect vernissé, blanc jaunâtre, puis rose et rouge (fig. 274). Les colonies isolées s'ombiliquent, le centre restant blanc, la périphérie devenant rougeâtre.



3

Fig. 274. — Culture de *Streptothrix Maduræ* (Macé) sur gélose glucosée glycérinée.

Pomme de terre. — Colonies d'aspect mûriforme prenant naissance vers le cinquième jour; vers le vingt-cinquième ou trentième jour, elles prennent une teinte rose qui plus tard devient rouge vif, surtout sur les pommes de terre acides. Sur certaines colonies, on remarque comme une poussière blanche formée de spores.

Infusion de paille et de foin. — Vers le quatrième jour apparaissent des flocons grisâtres qui augmentent de volume, au fur et à mesure du séjour à 37°, pour atteindre celui d'un pois ; ils adhèrent aux parois du vase, d'autres tombent au fond. Après quatre à huit semaines, ceux qui occupent la surface se teintent en rose, puis en rouge ; à la surface, on note une efflorescence blanchâtre constituée par des spores. Le milieu ne se trouble pas.

Lait. — Le champignon s'y développe sans déterminer de coagulation.

On connaît mal encore les propriétés biologiques de ce germe, sauf la longue durée de sa vitalité dans les cultures. Tous les animaux sont réfractaires à l'inoculation expérimentale.

AUTRES PARASITES.

« **Aspergillus nidulans** ».— Nicolle, à Tunis, a observé un cas de mycétome à grains blancs d'où il a isolé un champignon que Pinoy a identifié avec le *Sterigmatocystis nidulans*, constitué par de gros filaments cloisonnés.

« **Aspergillus Bouffardi** ». — Bouffard a observé ce parasite dans le mycétome à grains noirs qui sévit à Djibouti et dans l'Inde. Ce champignon est constitué par des filaments irréguliers cloisonnés d'aspect blanc d'argent, qui sécrètent un pigment noir. On n'a pu obtenir de cultures.

Les grains sont entourés de cellules géantes et de cellules épithélioïdes.

« **Madurella mycetomi** ». — Étudié par Laveran dans le mycétome noir. Les filaments sécrètent un pigment brun.

Enfin on connaît encore **Indiella Mansoni**, décrit par Brumpt, et **Indiella Reynieri**, provenant d'un cas observé à Paris par Reynier.

CHAPITRE LIV

SPOROTRICHUM BEURMANNI

Sporotrichum Beurmanni est l'agent pathogène d'une affection longtemps confondue avec la tuberculose ou la syphilis, et caractérisée par la production de gommes multiples, disséminées, se ramollissant, puis s'abcédant: c'est la *sporotrichose*.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Observé dans le *pus* ou les *tissus*, le parasite présente une forme courte, ovalaire ou fusiforme et ressemble à une levure (fig. 276). Il est long de 3 à 5 μ, large de 2 à 3 μ.

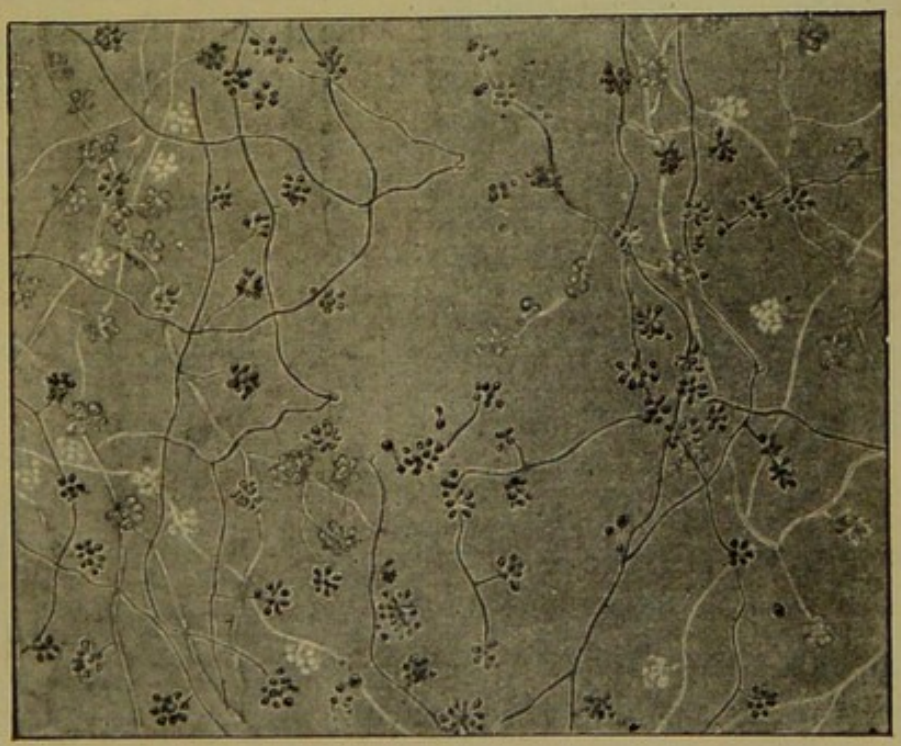


Fig. 275. — Aspect microscopique du *Sporotrichum Beurmanni* en culture sur lame sèche ou en goutte pendante (de Beurmann et Gougerot).

Dans les *cultures* (fig. 275), le germe est représenté par un *mycélium* et des *spores*.

Le mycélium est constitué par des filaments longs, fins, incolores, irrégulièrement ramifiés, larges de 2 μ.

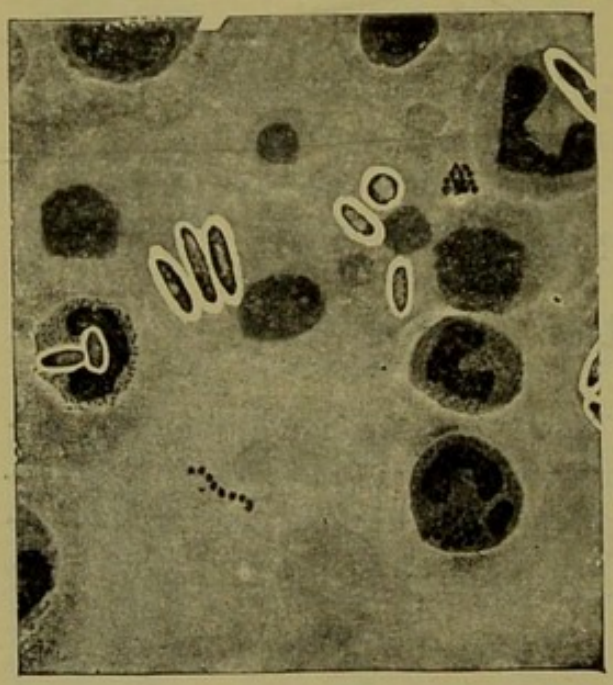


Fig. 276. — Aspect microscopique du *Sporotrichum Beurmanni* dans les lésions : formes courtes oblongues. Diagnostic de la sporotrichose par l'examen direct sur lame du pus ou des tissus (d'après de Beurmann et Gougerot).

Les spores sont ovoïdes, pigmentées, mesurant 5 à 6 μ de long sur 3 à 4 μ de large ; elles s'attachent isolément par un pédicule très court sur les filaments, s'implantant ainsi latéralement ou se groupant à leur extrémité sous forme de bouquets glomérulaires.

Coloration. — *Sporotrichum Beurmanni* se colore aisément par les couleurs d'aniline ; le bleu de Unna donne de bonnes préparations. Il *prend le Gram*. Pinoy et Magrou, avec la méthode de Claudius (fig. 277) ont observé une différenciation qui le met nettement en évidence, notamment dans les tissus, où les éléments sont parfois disséminés et risquent de passer inaperçus.

Fig. 277. — *Sporotrichum Beurmanni* dans un abcès hépatique. Différenciation par la méthode de Claudius.

CULTURES.

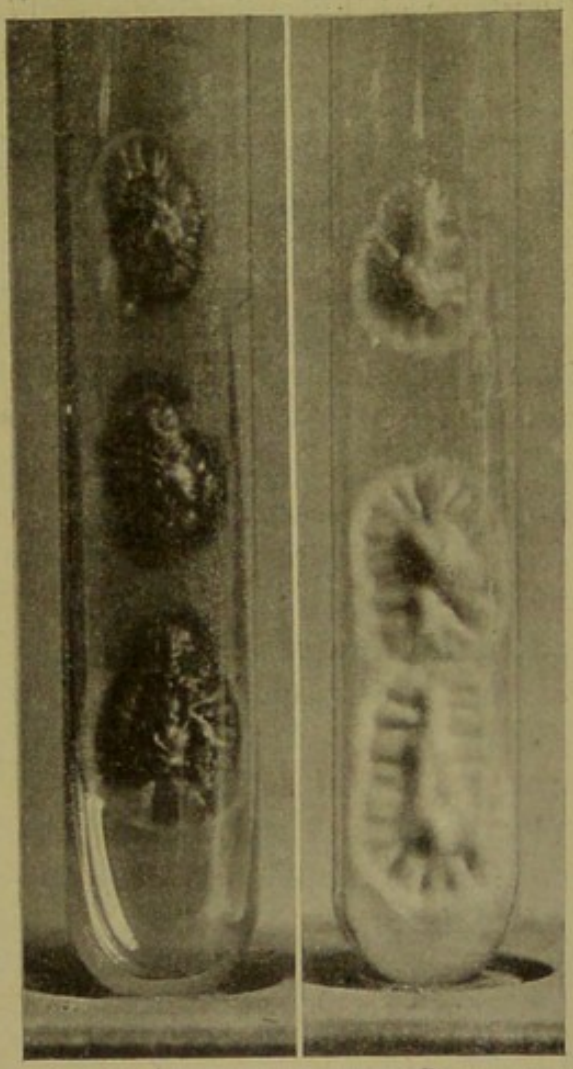
Le parasite de la sporotrichose est aérobie : il pousse à la température du laboratoire, mais mieux de 20° à 30°. Les cultures restent stériles si la culture est portée à l'étuve à 37°.

Les milieux ordinaires lui conviennent peu ; mais, sur milieux glucosés ou glycérinés, la culture est abondante.

Bouillon glucosé. — La culture en bouillon glucosé se manifeste par l'apparition d'un voile blanc à la surface ; il tombe, mais bientôt se renouvelle ; le bouillon reste clair. Dans les cultures anciennes, le voile prend une teinte brunâtre.

Gélose glucosée de Sabouraud. — C'est le milieu de choix ; il est constitué selon la formule suivante :

Gélose.....	10 grammes.
Peptone.....	10 —
Glucose.....	40 —
Eau.....	1 litre.



A B

Fig. 278. — Culture de *Sporotrichum Beurmanni* sur gélose Sabouraud.
A, variété noire ; B, variété blanche.

Le pus sporotrichosique, ensemencé en tubes inclinés, *non capuchonnés, et laissés à la température du laboratoire*, donne au bout de quelques jours des colonies d'aspect caractéristique : elles se montrent d'abord sous forme de petites taches saillantes, blanc bleuté, « finement circonvolvées », et entourées d'une auréole plate. Elles prennent, vers le sixième jour, une teinte brun-chocolat, l'auréole restant blanche et se recouvrant d'une poussière blanche (fig. 278).

Carotte glycérinée. — Au troisième jour, les colonies apparaissent, formant, par leur confluence, une couche uniforme blanche, puis brune, qui se plisse et se recouvre comme d'une poudre blanche.

Sur betterave glycérinée, les caractères sont identiques.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Production de toxine. — *Sporotrichum Beurmanni* élabore dans les cultures des produits toxiques qu'on a mis en évidence par les épreuves de la *cuti-réaction* (Bruno-Bloch), de la *sous-cuti-réaction* (Pautrier et Lutembacher), de l'*intra-dermo-réaction* (de Beurmann et Gougerot).

La sporotrichosine, obtenue par broyage de corps microbiens tués à 120°, provoque par ces diverses méthodes d'inoculation une réaction locale; cette dernière, toutefois, n'est pas douée d'une spécificité absolue, car elle se produit parfois chez des sujets atteints d'une *mycose étrangère à la sporotrichose.*

Réaction vis-à-vis du sérum des malades. — ***Agglutination.*** — Les spores du parasite sont agglutinées par le sérum des malades atteints de sporotrichose (Widal et Abrami). Mais il faut savoir aussi que ce sérum est pourvu de *coagglutinines* vis-à-vis des cultures de divers *oospora*, de l'*Endomyces albicans*, des *Oïdium*, des *Tricophyton*. Enfin les spores de *Sporotrichum* sont agglutinables encore par le sérum de sujets atteints d'actinomycose.

Fixation du complément. — Mis en présence du sérum de sporotrichosique, les spores de *Sporotrichum* fixent le complément (réaction de Bordet-Gengou). Cette réaction s'opère encore (cofixation) avec les parasites de l'actinomycose et du muguet. De plus, la cofixation s'effectue aussi en présence du sérum d'actinomycosique au même titre qu'avec l'*Actinomyces*, l'*Endomyces*, etc.

Précipitation. — Elle a été signalée par Widal, Sicard et Gougerot dans les produits de filtration des cultures.

Opsonisation. — Le sérum des sporotrichosiques exerce aussi une influence opsonisante sur les spores du parasite (Milhit).

POUVOIR PATHOGÈNE.

Chez l'homme. — Chez l'homme, *Sporotrichum Beurmanni* peut vivre en saprophyte dans les cavités naturelles, mais, sous l'influence de causes occasionnelles, il envahit l'organisme. En général, l'infection prend naissance à la suite de l'inoculation du parasite par l'intermédiaire de débris végétaux, véhicules du champignon, ou des objets souillés par ces débris (Gougerot a pu, en effet, déceler le parasite sur la coque d'avoine et de prêles).

L'inoculation peut s'effectuer soit par la *voie cutanée*, soit par la *voie digestive.*

La pullulation du germe dans l'organisme humain engendre la

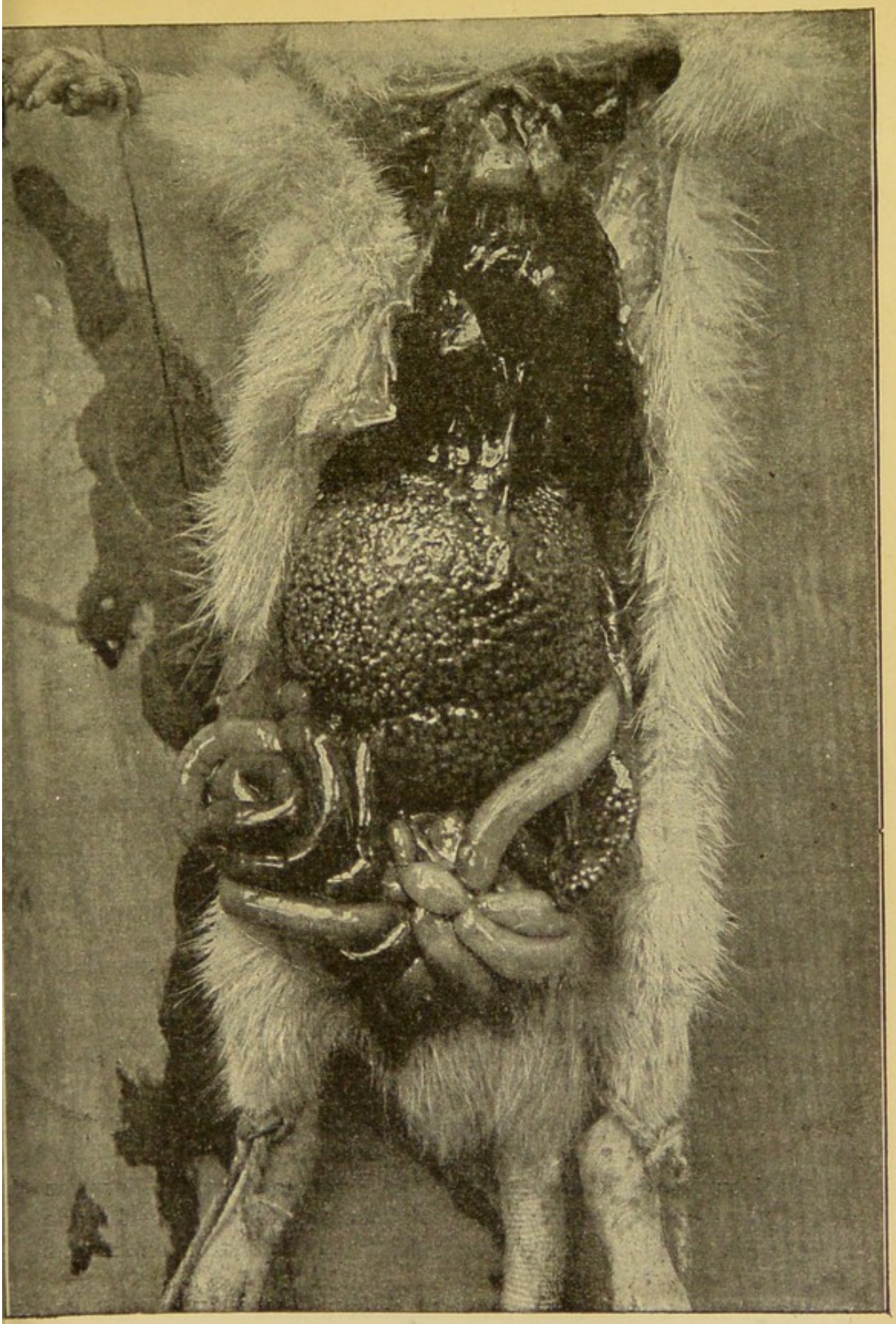


Fig. 279. — Granulie sporotrichosique généralisée du rat.

Le foie, la rate sont criblés de granulations fines et serrées ; les granulations sont généralisées dans tous les viscères et même dans l'hypoderme et le derme : on voit ici les granulations sur le foie, la rate, l'intestin, les poumons, le cœur, le médiastin (de Beurmann et Gougerot).

sporotrichose avec toutes ses formes cliniques : elle atteint les téguments sous forme de gommes cutanées disséminées, qui s'abcèdent et s'ulcèrent, de chancre localisé, de lymphangite. Elle peut aussi franchir les limites du tégument externe et atteindre les muqueuses, les muscles, les os, les synoviales tendineuses, les articulations.

Inoculations à l'animal. — Le rat et la souris sont les animaux les plus réceptifs à la sporotrichose expérimentale. On peut infecter aussi le singe, le cobaye, le lapin, le chat et le chien.

L'inoculation peut s'effectuer par les diverses voies habituelles, voire même la voie digestive.

Chez le rat, l'inoculation de pus sporotrichosique ou de cultures engendre des sporotrichoses septicémiques, granuliques, généralisées à tous les viscères (fig. 279), des sporotrichoses subaiguës avec abcès multiples.

De Beurmann et Gougerot ont observé des localisations sur tous les organes et tissus, avec *toutes les variétés de réactions histologiques possibles* : « granulations, tubercules, gommes, infiltrats lympho-conjonctifs et abcès polynucléaires, follicules, réactions parenchymateuses, dégénérescence et nécroses, scléroses ».

L'inoculation dans le péritoine réalisé parfois la production d'une *orchite*.

Chez le chien, on peut reproduire les mêmes lésions, mais plus particulièrement la septicémie aiguë avec néphrite et albuminurie, l'ostéite.

Chez le lapin, on observe surtout des lésions pulmonaires avec nodules, cavernes, bronchectasies, etc. ; on rencontre encore des lésions hypertrophiques du cæcum, des lésions rénales.

Le *singe* et le *cobaye nouveau-nés* présentent les mêmes variétés d'altérations. Il en est de même chez le *chat*, où l'on observe surtout de nombreuses localisations gommeuses sous-cutanées.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA SPOROTRICHOSE.

Recherche du « Sporotrichum Beurmanni ». — *Examen direct.* — Au niveau d'une gomme ramollie, ou d'un abcès, faire une ponction à l'aide d'une seringue stérile ; par aspiration on ramène du pus.

Examiner à l'état frais, entre lame et lamelle. — Entre les polynucléaires et les macrophages, on remarque la présence de *Sporotricha* courts, oblongs, entourés d'une auréole translucide. Mais, en général, ces éléments sont rares ; d'après de Beurmann et Gougerot,

cette méthode ne saurait convenir à tous les cas pour faire un diagnostic précis.

Examiner après coloration. — L'examen après coloration par le Gram n'est pas plus sûr, car les *Sporotricha* se distinguent difficilement des noyaux dégénérés des globules de pus. Nous avons vu que Pinoy et Magrou préféraient la méthode de Claudius, qui différencie nettement les parasites. Néanmoins l'épreuve est encore souvent difficile en raison de la rareté habituelle des *Sporotricha* dans le pus.

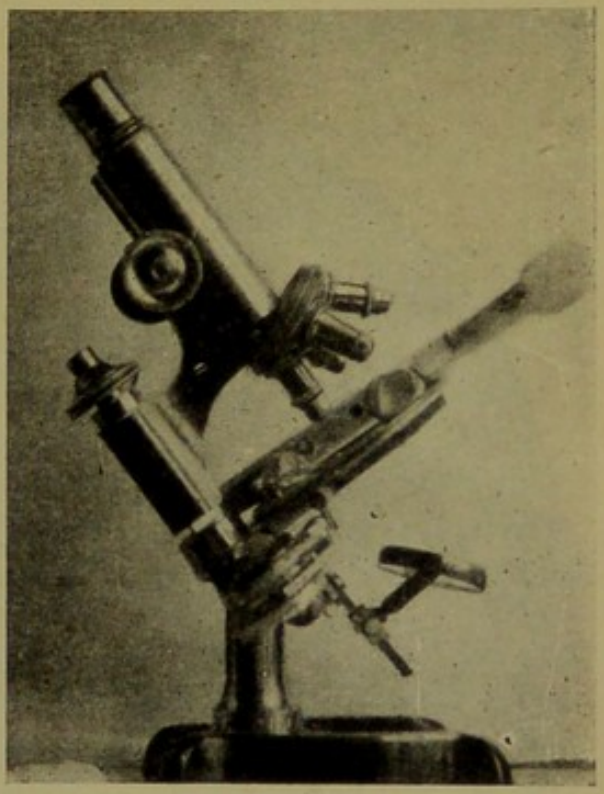


Fig. 280. — Disposition à prendre pour observer le *Sporotrichum Beurmanni* dans la couche de pus sur le verre (de Beurmann et Gougerot).

Cultures. — Ensemencer le pus sur gélose de Sabouraud. Mettre à l'étuve à 22°, en ayant soin de ne pas capuchonner les tubes. Examiner les colonies par la technique habituelle. Elles se montreront composées du mycélium et des spores suivant la description déjà faite.

Gougerot conseille l'*artifice de la couche de pus sur le verre sec.* Voici en quoi consiste cette méthode :

Au moment de l'ensemencement sur le milieu de Sabouraud, on a soin de laisser couler une traînée de pus sur le verre, en face de la gélose, et dans l'angle limité par la surface du milieu et la paroi concave du tube.

Laisser à l'étuve à 22° : les germes se développent dans la rigole inférieure et à la surface du verre grâce à la petite quantité de gélose qui imprégne le verre après la fusion du milieu ; il se forme ainsi des *étoiles parasitaires* visibles au microscope et même à l'œil nu.

L'examen au microscope s'effectue, comme le représente la figure 280, en ayant soin d'incliner la platine et le tube pour éviter que l'eau de condensation ne baigne la culture. Observer avec un objectif n° 4 et un oculaire 6 ou 8 les étoiles parasitaires. Au milieu des globules de pus, on perçoit des *Sporotricha* qui germent et poussent des filaments mycéliens (fig. 281), dont l'existence assure le diagnostic.

Inoculations. — Le diagnostic peut être complété par l'inoculation à l'animal (rat ou souris), mais cette épreuve est le plus souvent

inutile, l'examen des cultures donnant une réponse habituellement peu douteuse.

Sérodiagnostic. — *Sporo-agglutination.* — Le diagnostic peut être assuré par la sporo-agglutination. La technique est un peu

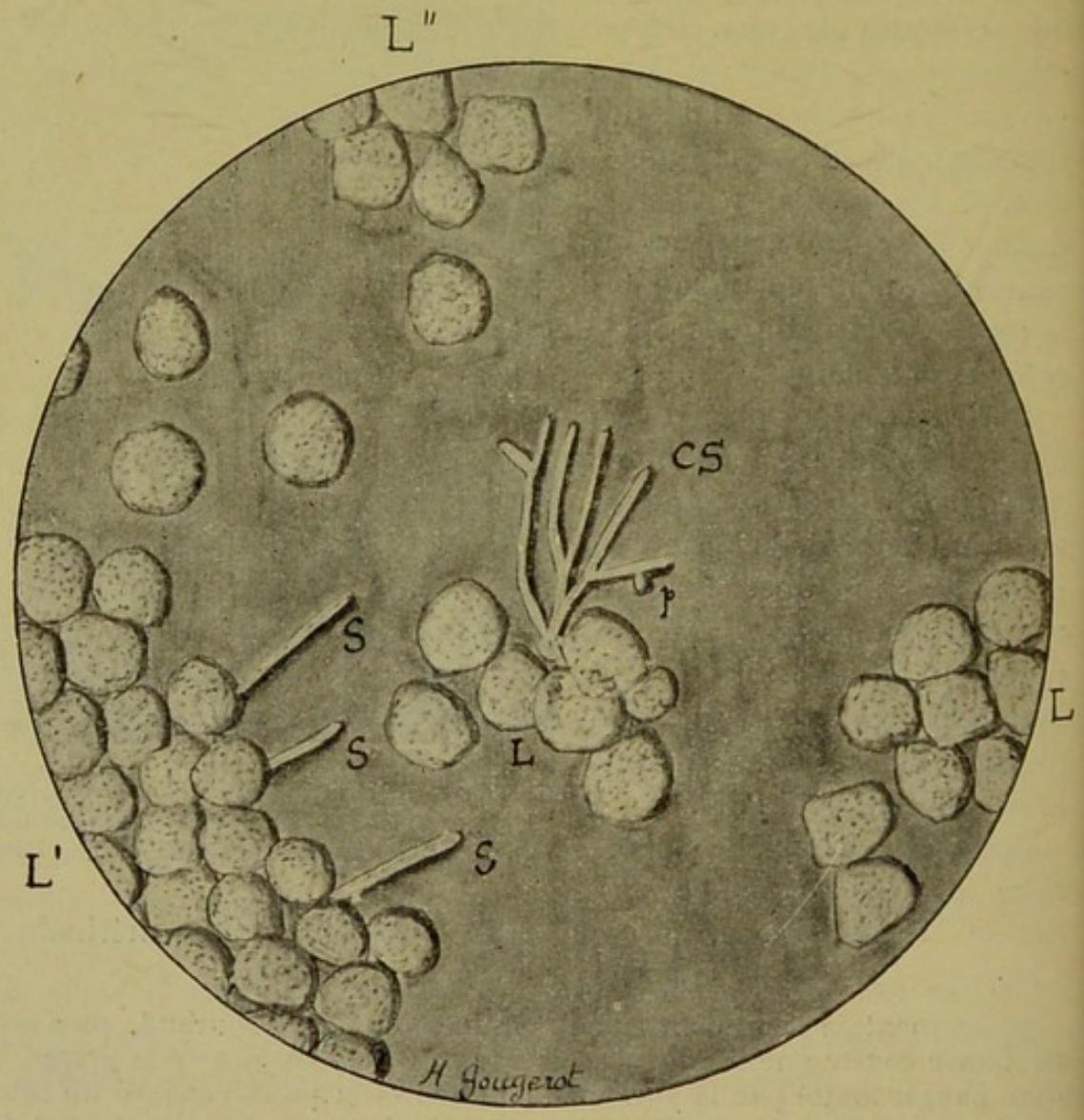


Fig. 281. — Aspect de *Sporotrichum Beurmanni* lors de l'examen du pus sur verre sec (de Beurmann et Gougerot).

spéciale en raison de ce fait que les spores seules représentent les éléments agglutinables du parasite.

Prélever un grumeau d'une culture de *Sporotrichum* sur milieu de Sabouraud âgée de quatre à six semaines; le broyer à sec dans un mortier, délayer la poudre obtenue dans une petite quantité d'eau physiologique ; filtrer sur papier, pour retenir le mycélium et laisser passer les spores. Dans un verre de montre, on mélange à des taux divers (1 p. 100, 200, 300, 400, 500) le filtrat et le sérum du malade. Prélever une goutte du mélange et examiner entre lame et

lamelle; on observe, s'il s'agit de sporotrichose, des amas de spores qui figurent une agglutination très nette (fig. 282).

Fixation du complément. — On emploie dans ce but la technique de Bordet-Gengou, appliquée au cas particulier par Widal et ses élèves.

Dans un tube on mélange 1 centimètre cube de sérum à éprouver, chauffé à 56° pendant une demi-heure, 0cc,5 de l'émulsion de *Sporotrichum* (sans

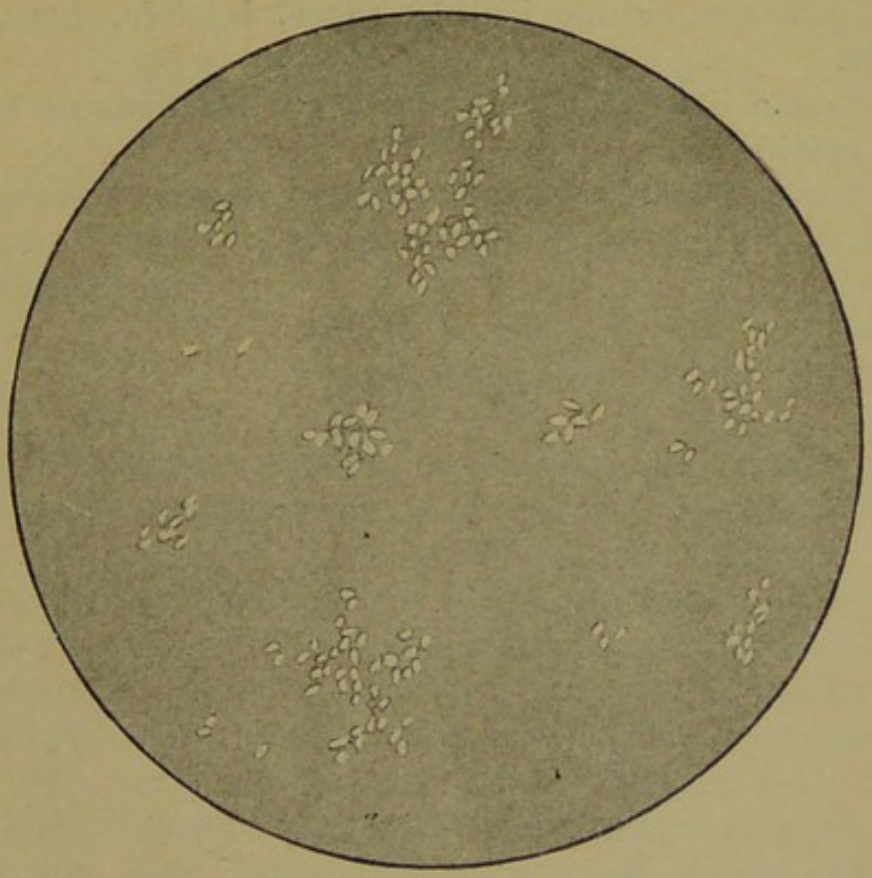


Fig. 282. — Sporo-agglutination.

filtration préalable), 0cc,2 de sérum alexique de cobaye dilué à moitié d'eau physiologique, enfin 0cc,5 d'eau physiologique.

Porter à l'étuve à 37° pendant quatre heures.

Ajouter ensuite le système hémolytique suivant : 0cc,3 de sérum de lapin anti-mouton chauffé à 56°, 0cc,1 d'hématies lavées de mouton, diluées dans 0cc,5 d'eau physiologique.

Si l'hémolyse se produit, le complément n'a pas été fixé et l'épreuve est négative ; si l'hémolyse est nulle, le complément a été fixé pour le *Sporotrichum*, et le malade est bien atteint de sporotrichose.

Cutiréaction, subcuti et intradermo-réaction. — Enfin, pour le diagnostic, on peut utiliser les réactions des sporotrichosiques à l'inoculation des toxines du parasite, comme elles ont été définies plus haut.

Ces opérations s'effectuent à l'aide d'une macération de cultures de sporotrichose, âgées de trois semaines environ, et tuées par chauffage à l'autoclave à 120° pendant deux heures. A la suite de la *sous-cuti-réaction*, on observe chez les sporotrichosiques la production d'une nodosité du volume d'une noisette; la peau qui la recouvre est rosée, peu douloureuse. Cette réaction dure six à huit jours. Vingt-quatre heures après l'*intradermo-réaction*, prend naissance une papule grosse comme une lentille, rouge, infiltrée, durant six à huit jours.

Mais, comme il a été dit plus haut, ces réactions ne sont pas toujours spécifiques.

CHAPITRE LV

SACCHAROMYCES ALBICANS

Saccharomyces albicans, appelé encore *Oïdium albicans*, *Endomyces albicans*, a été découvert par Ch. Robin. C'est une levure pathogène, qui provoque le *muguet*.

MORPHOLOGIE.

Le parasite du muguet se montre dans les plaques blanches crémeuses, qui constituent la maladie sous la forme de filaments de 50 à 60 μ sur 2 à 5 μ de large; ils sont tubuleux, ramifiés, divisés en articles de 30 à 50 μ. A côté de ces filaments, on remarque des cellules ovalaires, qui bourgeonnent comme des levures, témoin ces levures filles rattachées à la cellule mère par un pédicule.

Pour Linossier et G. Roux, la levure représenterait le mode végétatif normal du parasite; le filament ne surviendrait que quand il est soumis à des conditions défectueuses de vitalité, comme on l'observe, par exemple, dans l'organisme humain ou en des milieux très alcalins.

Dans les cultures, l'aspect varie suivant le milieu employé. Sur bouillon, la morphologie est semblable à celle qu'on observe dans la plaque du muguet.

En milieux solides, les seuls éléments sont les cellules ovalaires; elles sont irrégulières et groupées souvent en amas irréguliers.

Dans le vin, les filaments sont seuls perceptibles.

En milieu de Nægeli, l'aspect est particulier : on voit des chapelets de corpuscules ovalaires terminés à l'extrémité par des chlamydospores, qui peuvent, sur d'autres milieux, donner naissance à des filaments; ce sont en réalité des formes de résistance du parasite. Ces dernières se trouvent encore sous l'aspect de globules que l'on voit à la périphérie, ou même dans le corps même des filaments. Enfin signalons que l'organe reproducteur est constitué par des *asques* contenant des *ascospores*.

CULTURES.

Le parasite du muguet est un aérobie strict : il cultive aisément sur tous les milieux entre 28° et 39°. Il préfère les milieux acides ou neutres. Une alcalinité trop accusée est préjudiciable à sa vitalité.

Bouillon. — Le *Saccharomyces albicans* forme des grumeaux blancs sans troubler le milieu. L'aspect est identique dans le vin ou le milieu de Nægeli.

Gélatine. — Les colonies se montrent sous forme de taches blanches, perlées, restant habituellement petites. Pas de liquéfaction du milieu.

Gélose. — Sur *gélose acide*, les colonies sont volumineuses, blanches, lisses et étalées, et par confluence forment une nappe unie, non adhérente au milieu.

Sur *gélose alcaline*, elles prennent un aspect granuleux et chagriné. Ce sont les formes filamenteuses qui dominent.

Pomme de terre. — Les colonies sont saillantes, de teinte blanc sale; certaines d'entre elles sont tachées de noir.

Carotte. — Culture abondante, rapide, d'un blanc éclatant.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Les propriétés biologiques de ce champignon sont mal connues. Roger et Grasset ont montré cependant que sa virulence s'atténuait rapidement dans les milieux artificiels, et qu'elle s'accroissait par des passages successifs chez l'animal.

D'après Charrin et Ostrowsky, les cultures contiendraient des produits toxiques.

Des travaux récents ont mis en évidence les réactions que le parasite subit en présence du sérum d'animaux vaccinés ou des sujets atteints de muguet.

Roger a démontré que le sérum d'un lapin vacciné par des cultures vivantes était agglutinant.

Widal et ses élèves n'ont jamais observé d'agglutination supérieure à 1/40 ou 1/50 avec le sérum des malades ou les cultures de *Saccharomyces albicans*. Ce même sérum contient, par contre, des agglutinines abondantes pour les spores de *Sporotrichum Beurmanni* (coagglutinations positives à 1/100 et même 1/150).

De plus, le *Sporotrichum Beurmanni* fixe le complément en présence du même sérum. Inversement, une émulsion d'*Oïdium albicans* fixe

le complément en présence du sérum de sujets sporotrichosiques et actinomycosiques (co-fixation).

HABITAT ET POUVOIR PATHOGÈNE.

L'*Oïdium albicans* est répandu dans l'air et les poussières et arrive facilement en contact avec les voies respiratoires et la muqueuse buccale de l'homme. Il ne peut s'y développer cependant que si la salive est acide, ou si l'organisme est débilité.

Il détermine, au niveau de la muqueuse bucco-pharyngée, l'enduit crémeux, caractéristique du muguet. Il peut envahir aussi l'estomac, l'œsophage, l'anus, la vulve. Plusieurs auteurs l'ont vu provoquer des suppurations gingivales, parotidiennes, sous-maxillaires. Enfin il peut, d'après Virchow, Zenker, Wagner, Roger, etc., occasionner de véritables septicémies au cours desquelles il colonise dans les viscères et provoquer une véritable pseudo-tuberculose.

INOCULATION EXPÉRIMENTALE.

L'inoculation *sous-cutanée* produit chez le lapin un abcès local dont la durée est longue; il en est de même, chez cet animal, de l'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil.

Injecté *dans les veines*, il peut amener une mycose généralisée envahissant les viscères et amenant la mort.

Le cobaye paraît plus sensible que le lapin. L'inoculation dans le péritoine produit une péritonite avec fausses membranes; dans la plèvre, elle provoque un épanchement, et le champignon envahit la circulation.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

Recherche du parasite. — Prélever une parcelle d'enduit crémeux. La dissocier dans une goutte de liquide de Gram (solution iodo-iodurée). Recouvrir d'une lamelle : la levure se colore en brun; ou bien faire la dissociation dans l'acide acétique, qui rend le parasite assez visible en faisant pâlir les cellules épithéliales.

Enfin on peut colorer des frottis desséchés, en utilisant les couleurs d'aniline que fixent les éléments cellulaires des parasites.

Sérodiagnostic. — On peut, d'après Widal, Abrami, Joltrain, etc., utiliser pour le diagnostic les *propriétés agglutinantes* du sérum du malade sur les spores du *Sporotrichum Beurmanni*, qui sont agglutinées à un taux plus élevé que les cultures d'*Oïdium albicans*.

De même encore, on peut effectuer la *réaction de fixation* en mettant des cultures de muguet avec le sérum du malade. Une réaction positive impose le diagnostic.

CHAPITRE LVI

ASPERGILLUS FUMIGATUS

Ce champignon, qui se trouve à l'état saprophytique dans la nature est aussi l'agent pathogène de l'infection dénommée aspergillose. Cette maladie s'observe chez l'homme et aussi chez certains animaux, comme les pigeons. Elle provoque des lésions pseudo-tuberculeuses. C'est à Dieulafoy, Chantemesse et Widal, Potain, Rénon, Gaucher et Sergent, Lucet, que revient le mérite de l'avoir étudiée et bien fait connaître en pathologie humaine.

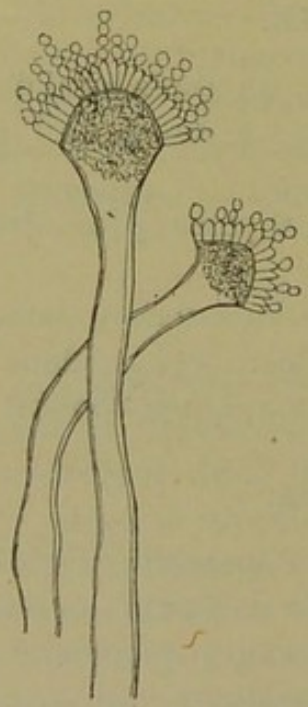


Fig. 283. — *Aspergillus fumigatus.*

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Aspergillus fumigatus* appartient à l'ordre des Ascomycètes. A l'état adulte, il est constitué par des filaments mycéliens, formés « d'hyphes alternes, courts, un peu dilatés à leurs extrémités. Ce mycélium donne des rameaux stériles, cloisonnés et incolores et des rameaux fructifères, incolores ou légèrement colorés » (Rénon). Les rameaux fructifères sont renflés à leur extrémité, en forme de massues (hyphes ou tête sporifère). Sur cette tête, s'insèrent des cellules ou basidies, ayant la forme de quilles ou de boudins.

Chaque basidie s'étrangle et donne ainsi naissance à des chaînettes de spores arrondies, lisses, déhiscentes, de teinte brunâtre ou verdâtre.

Coloration. — Ce champignon fixe bien les couleurs d'aniline; *il prend le Gram.* On peut effectuer la coloration sur des frottis de crachats, des cultures, ou sur les coupes d'organes.

CULTURES.

Aspergillus fumigatus cultive bien en certains milieux artificiels, surtout le liquide de Raulin et le moût de bière. La température optima pour son développement égale 37° à 38°. C'est un aérobie strict.

Liquide de Raulin. — Dès la quinzième ou seizième heure, la culture s'est déjà développée : on observe de nombreux flocons. A la surface, la végétation est abondante; la culture prend un aspect velouté et blanc; plus tard, elle devient vert bleuâtre, puis noirâtre; après cinq à six jours d'étuve, elle prend une teinte brune ou noire.

Le microscope montre des filaments mycéliens et de nombreuses spores.

Bouillon. — Développement minime et tardif; dans le liquide, on n'observe que de rares fructifications; les filaments mycéliens prédominent.

Gélose. — Au bout de quarante-huit heures, la culture apparaît sous la forme d'un enduit blanchâtre, qui bientôt verdit pour prendre une teinte vert foncé.

Gélatine. — Culture grêle et très lente, prenant l'aspect de petits flocons; une légère liquéfaction se produit tardivement.

Pomme de terre. — Culture abondante et rapide, colorée en vert noir.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Vitalité, résistance. — Les spores sont douées d'une résistance énorme. Rénon a pu fertiliser des milieux neufs avec des cultures vieilles de quatre ans. Cependant elles sont tuées par la chaleur.

Les passages en milieux artificiels atténuent la virulence.

Toxine. — On a extrait des cultures d'*Aspergillus fumigatus* des produits toxiques pour certains animaux.

Cecci et Besta ont extrait une « toxine » de nature mal définie, qui supporte sans dommage la température de l'ébullition.

Des cultures très sporifères sont traitées par l'alcool à 90° ou par l'éther. On évapore : on obtient alors un produit jaune verdâtre, qui, traité ensuite par l'eau, devient très toxique.

Cette toxine tue le lapin et le chien en quelques heures; les animaux présentent des tremblements, des contractures, des troubles respiratoires et circulatoires, qui rappellent ceux de la pellagre.

Bodin et L. Gautier cultivent le parasite à 30° dans une solution peptonée de glucose, saccharose, maltose ou dextrine; au bout de douze jours environ, la culture devient toxique. Inoculée à l'animal

(lapin, chien, cobaye, souris), elle provoque des convulsions, des paralysies, des troubles tétaniformes, pouvant se terminer par la mort. Le chien est très sensible, bien qu'il ne soit pas réceptif à l'action des spores; le pigeon, si réceptif au contraire à l'action des spores, est réfractaire à la toxine.

Widal, Abrami, Joltrain et Brissaud ont démontré l'absence d'agglutination et de coagglutination avec le sérum de malades atteints de sporotrichose, actinomycose et muguet. De même la réaction de fixation est négative.

HABITAT. — MODE D'INFECTION CHEZ L'HOMME.

Aspergillus fumigatus est très répandu dans la nature sous forme de spores. Ces dernières siègent « dans l'air, sur les arbres, dans les couches les plus superficielles du sol » (Rénon). Rénon les a trouvées encore au niveau de graines provenant de divers pays. D'autre part, il a pu les déceler dans la salive, le mucus nasal de sujets sains.

L'aspergillose sévit spontanément chez les *pigeons*; la lésion initiale est constituée par un véritable chancre buccal.

Ce fait aide à comprendre comment, dans la profession de *gaveur de pigeons*, l'homme peut s'infecter directement. Il peut se contaminer encore par inhalation de poussières véhiculant les spores du parasite : les *peigneurs de cheveux* utilisent en effet, pour dégraisser les cheveux, de la farine de seigle, qui peut contenir des spores pathogènes. L'aspergillose peut s'observer aussi chez des meuniers, des grainetiers, etc.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Aspergillus fumigatus, inoculé à l'animal, est très pathogène pour le pigeon, le lapin, le cobaye; il l'est moins pour le singe; le chat et le chien semblent réfractaires. L'animal de choix est le *pigeon*.

En injection intraveineuse, une culture de 2 à 3 centimètres cubes en liquide de Raulin tue les pigeons en deux à trois jours. Avec une dose plus faible, la marche de l'infection est plus lente, et l'animal ne succombe qu'en une quinzaine de jours.

L'autopsie montre l'existence de tubercules disséminés dans tous les viscères, dans le foie, principalement. Ces tubercules présentent le même aspect macroscopique et histologique que dans la tuberculose; on y décèle des granulations miliaires, des tubercules caséeux,

fibreux, etc., mais tous sont envahis par l'*Aspergillus*, sous forme d'un feutrage épais de filaments mycéliens et de spores.

Quand la mort a été rapide, on ne trouve de tubercules que dans le foie; les autres viscères sont seulement congestionnés.

Chez le *lapin*, l'inoculation intraveineuse provoque une pseudo-tuberculose généralisée de tous les viscères, mais surtout du rein. L'animal succombe en quatre à huit jours.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

Le diagnostic ne peut être assuré que par l'examen bactériologique. Chez l'homme, il doit porter sur les crachats.

Examen microscopique. — Prélever une parcelle de crachat dans ses parties verdâtres. En faire des frottis sur lame, laisser sécher, fixer. Colorer par la thionine phéniquée, ou, pendant dix à douze minutes, par la safranine, qui donne aux spores et aux filaments mycéliens une teinte orangée.

On peut encore employer la méthode de Gram.

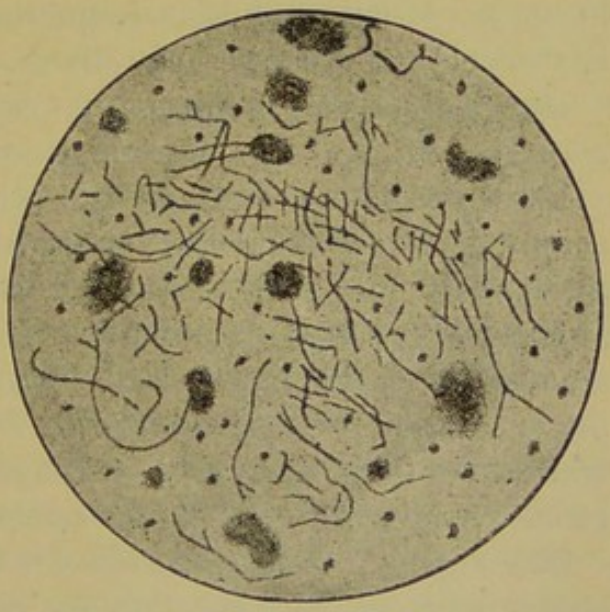


Fig. 284. — Mycélium aspergillaire dans les crachats d'un peigneur de cheveux (d'après Rénon).

Cultures. — Les cultures sont indispensables pour ne pas confondre le parasite avec les filaments mycéliens d'*Actinomyces bovis*.

Dans les tubes ou les flacons d'Erlenmeyer contenant le liquide de Raulin, on ensemence une parcelle du crachat, prélevée dans la profondeur pour éviter les souillures de l'air. Après un séjour de quarante-huit heures à l'étuve à 37°, la surface du milieu montre une culture abondante d'*Aspergillus fumigatus*, sous forme d'un tapis velouté blanchâtre qui, vingt heures après, se couvre de spores verdâtres, devenant noires ultérieurement.

Inoculation. — L'inoculation est utile pour se rendre compte du pouvoir pathogène du champignon. On inoculera dans la veine d'un lapin une émulsion de spores provenant de la culture. A l'autopsie, prélever un fragment de rein, l'ensemencer : il donnera une culture caractéristique.

CHAPITRE LVII

AUTRES OOSPOROSES

A côté des oosporoses précédentes, il est d'autres variétés encore mal définies que, à l'heure actuelle, il est impossible de classer. Des observations et des travaux ultérieurs le permettront peut-être.

Il existe, en effet, un certain nombre d'affections sévissant chez l'homme et l'animal dans lesquelles les examens bactériologiques ont décelé des champignons divers du genre *Oospora*.

Oosporoses humaines. — Ces affections, suivant leurs localisations, ont reçu des dénominations différentes.

Dans l'*oosporose oculaire*, qui provoque du larmoiement, de la conjonctivite, le canal lacrymal est obstrué par une petite masse résistante ; la pression fait sourdre une gouttelette purulente, où l'on décèle le *Streptothrix Fœrsteri* (Cohn). En d'autres cas (Nedden), on observe une dacryocystite suppurée, ou une kératite parenchymateuse, ou de la conjonctivite avec ulcération de la caroncule lacrymale. Dans le cas de du Bois Séverin, *Oospora aurea* était en cause. Dans un autre, c'était *Oospora luteola*.

Dans l'*oosporose buccale*, on observe des plaques blanches, crémeuses, analogues à celles du muguet, des suppurations et surtout des abcès amygdaliens. Dans l'affection nommée langue noire pileuse, Guéguen, Thaon ont décrit *Oospora lingualis*, à laquelle on est tenté d'attribuer le pouvoir pathogène.

Dans des abcès amygdaliens et les plaques crémeuses, Roger, Bory et Sartory ont isolé, à l'état de pureté, *Oospora buccalis*. De même dans le cas de Rénon et Monier-Vinard.

Langer a fait connaître une *oosporose œsophagienne*.

L'*oosporose pulmonaire* a été étudiée par de nombreux auteurs ; au point de vue clinique, elle simule la tuberculose pulmonaire, témoin l'observation de Roger, Bory et Sartory, produite par l'*Oospora pulmonalis*. D'autres ont isolé, en des atteintes semblables, *Oospora japonica* ou bien *Oospora asteroïdes*.

Sous le nom d'*oosporoses suppuratives*, on groupe des suppurations habituellement étendues, siégeant sous la peau ou se locali-

sant au cerveau et diffusant vers les méninges (Almquist, Eppinger). Les champignons étudiés se rapprochent d'*Oospora asteroïdes*, dont la description est due à Eppinger.

Oospores animales. — Diverses oosporoses sévissent chez les invertébrés, les reptiles, les mammifères, mais plus particulièrement chez les herbivores : *Oospora destructor* chez le hanneton du blé, *Oospora lacertæ* chez le lézard (Terni).

Chez le bœuf, Luginger a décrit une *Oospora* dans deux cas d'endocardite. Chez le cheval, Dean dans deux abcès de la mâchoire, Vallée dans un cas de pasteurellose en ont décrit d'autres variétés.

Les « Oospora » dans le milieu extérieur. — De nombreuses recherches ont établi que, dans la nature, les *Oospora* sont très répandues. L'eau, le sol et l'air les véhiculent en grand nombre, et, parmi elles, plusieurs sont pathogènes pour l'homme et l'animal.

Ces parasites siègent encore sur les feuilles mortes, dans les débris végétaux en général, les fruits en putréfaction. Sur certains végétaux (légumineuses, fraisiers, etc.) même, elles provoquent des lésions nodulaires.

On les trouve sur certaines avoines, même saines (Brocq-Rousseu), et sur les graminées en général : blé, chanvre (Bellisari).

On conçoit ainsi comment ces champignons, qui souillent les téguments et les muqueuses, peuvent infecter l'homme ou l'animal, et pénétrer même dans le tube digestif. La fréquence des oosporoses chez les herbivores s'explique donc naturellement.

Diagnostic bactériologique. — ***Examen microscopique.*** — Le diagnostic peut être effectué tout d'abord à l'aide du microscope. Celui-ci montre dans le produit examiné (des grains blancs en général) des filaments mycéliens ramifiés, dont la nature ne pourra être établie que grâce à la culture en gouttes pendantes (Roger). On voit ainsi naître des ramifications latérales; puis les filaments se terminent par des renflements en massue ; certains se segmentent pour prendre une forme bacillaire ; d'autres donnent naissance à des arthrospores. Enfin les coccidies apparaissent à l'extrémité d'un filament, sous formes de chaînettes plus ou moins longues.

Les caractères des cultures sont différents suivant la variété d'*Oospora*. Les unes poussent sur gélose, d'autres seulement en bouillon maltosé.

Réaction de fixation. — Dans les cas douteux, il semble qu'on pourrait utiliser la réaction de fixation (Garnier et Bory) en mettant en présence du sérum du malade de l'antigène constitué par une minime quantité (0cc,03) de culture d'*Oospora* en bouillon maltosé.

CHAPITRE LVIII

CHAMPIGNONS PARASITES DE LA PEAU ET DU SYSTÈME PILEUX

Les champignons parasites de la peau et du système pileux peuvent être classés en trois groupes :

1° Les parasites des teignes ;

2° Les parasites du *Pityriasis versicolor* et de l'érythrasma ;

3° Les parasites des dermatoses spéciales aux pays chauds.

Le premier groupe est de beaucoup le plus important.

I. — CHAMPIGNONS PARASITES DES TEIGNES.

L'étude bactériologique des teignes a été faite surtout par Sabouraud, Bodin, Matruchot et Dassonville, etc. Nous suivrons ici les indications données par Sabouraud.

Les champignons parasites des teignes provoquent diverses lésions, entre autres :

Les teignes tondantes trichophytiques (*Trichophytons*) ;

La teigne tondante à petites spores (*Microsporons*) ;

Le favus (*Achorions*).

Technique générale.

La technique d'examen est la même pour ces divers champignons.

Prélèvements. — On épile les cheveux ou poils suspects avec une pince fine ; on prélève les squames épidermiques par un léger grattage.

Examen direct. — Les poils ou squames sont portés sur une lame ; on dépose à côté une goutte de solution aqueuse de potasse à 30 p. 100 ; couvrir d'une lamelle. On chauffe enfin au-dessus d'une flamme douce, jusqu'à ce que se dégage la première bulle d'ébullition ; retirer immédiatement et laisser refroidir.

La potasse dissout les graisses cutanées et attaque plus ou moins les éléments anatomiques, tout en respectant les parasites. Avec la technique précédente, l'attaque est faible ; on se rend compte surtout de l'aspect

général du parasite et de ses rapports avec le poil ou les cellules. Il est souvent utile de préparer d'autres lames, en chauffant un peu plus, de manière à dissocier les tissus ; on se rend mieux compte alors de la structure du parasite. — On peut substituer à la potasse, l'acide formique.

En pratique courante, la coloration n'a aucun avantage. Les préparations faites comme il vient d'être dit seront examinées à sec, successivement avec un objectif faible et un objectif fort.

Les préparations peuvent être conservées ; après le traitement précédent, laver à l'eau, monter à la glycérine.

Coloration. — La coloration, presque toujours inutile, n'a qu'une indication : elle fait apparaître plus nettement la structure cellulaire des mycéliums. Dans tous les autres cas, l'examen sans coloration est préférable.

Pour colorer : traiter d'abord par le chloroforme (pour dégraisser) ; chauffer deux à trois minutes dans l'acide formique ; colorer une minute au bleu de Sahli :

Eau distillée	40
Bleu de méthylène, solution aqueuse saturée	24
Borax, solution à 5 p. 100	16

Laver, passer à l'alcool et au xylol, monter au baume (Sabouraud).

Ensemencements. — Pour l'herpès circiné : prélever le pus des pustules ou la sérosité des vésicules ; ensemencer comme d'ordinaire.

Pour les teignes : épiler un cheveu ; couper la racine, la fragmenter en quatre ou cinq morceaux ; ensemencer chacun d'eux, à l'aide du fil de platine mouillé au préalable (on mouille en touchant la surface du milieu de culture), sur un même tube de culture, à 1 centimètre l'un de l'autre (procédé de Sabouraud).

Pour le sycosis : ensemencer le pus ou le poil, suivant les cas.

Pour le favus : ensemencer une partie profonde du godet.

Cultures. — Outre les milieux de culture habituels, spécialement la pomme de terre, il est bon d'employer les suivants (Sabouraud) :

I. — Eau	1 000
Maltose brute de Chanut	40
Peptone granulée Chassaing	10
Gélose	18
II. — Comme I, en remplaçant la maltose par :	
Glucose massée de Chanut	40
III. — Eau distillée	100
Peptone granulée Chassaing	3
Gélose	1,8

a. *Milieux d'identification.* — Les milieux I et II sont destinés à l'identification des espèces. Il est en effet démontré que ces milieux sont généralement les plus aptes à faire apparaître leurs caractères différentiels.

b. *Pléomorphisme banal des cultures. Milieu de conservation.* — On a constaté que, cultivées longtemps sur milieux sucrés, la plupart des espèces finissent par donner un aspect cultural à peu près identique, sous forme d'un duvet blanc, très différent de la culture originelle ; repiqué sur mi-

lieu neuf, le duvet blanc donne naissance à un duvet blanc, et non à la culture type. Pour éviter cette transformation fâcheuse, qui donne à toutes les cultures un même aspect banal, Sabouraud recommande de conserver les semences sur milieu non sucré (milieu III).

Observations. —Les cultures des divers champignons parasites s'opèrent généralement au mieux à la température ambiante (vers 15° à 20°). Elles demandent d'ordinaire quelques jours ou quelques semaines avant d'atteindre leur plein développement. Elles se montrent souvent luxuriantes, très larges. On cultivera de préférence en flacons d'Erlenmeyer, non capuchonnés.

Signification du mot « spores ». — On sait que les champignons inférieurs, en cultures, sont formés essentiellement de deux parties : l'appareil végétatif, représenté par le mycélium ; l'appareil reproducteur, représenté par les spores. Dans leur vie parasitaire, ces mêmes champignons n'ont pas de spores vraies ; ils sont exclusivement constitués par leur mycélium. Le mycélium est un long filament formé de cellules, qui, allongées dans les cultures, se tassent dans la vie parasitaire et prennent alors une forme cuboïde ou sphérique ; c'est à de telles cellules ramassées sur elles-mêmes que l'usage a assigné le nom de spores, et c'est dans ce sens que le mot devra être compris au cours des descriptions suivantes.

A. — Trichophytons.

Les Trichophytons sont les parasites des teignes tondantes trichophytiques, de l'herpès circiné trichophytique, de certains sycosis et de quelques onychomycoses.

Évolution générale de l'infection trichophytique. — Les Trichophytons se développent d'abord dans le tégument cutané. Ils abordent ensuite le follicule pileux et s'y développent plus ou moins; ils pénètrent enfin le poil par sa face externe et se multiplient dans le poil.

De cette description générale, il résulte que tout Trichophyton est à un moment donné extérieur par rapport au poil.

Classification des Trichophytons. — Dans la suite de l'évolution, la plupart des Trichophytons se développent exclusivement à l'intérieur du poil ; la lésion extrapilaire du début passe presque toujours inaperçue, car elle est très fugace ; ce sont les *Trichophytons endothrix.*

D'autres se développent également presque exclusivement à l'intérieur du poil, mais la phase extrapilaire initiale est à la fois plus persistante et plus développée ; la plupart des poils ne présentent de parasites qu'à l'intérieur, mais quelques-uns en présentent à la fois à l'intérieur et à l'extérieur ; ce sont les *Trichophytons néo-endothrix.*

D'autres enfin se développent à la fois à l'intérieur et à l'extérieur du poil : ce sont les *Trichophytons ectothrix* (ou *endo-ectothrix*).

Les *Trichophytons ectothrix* comprennent deux groupements différenciés d'après la grosseur des spores : *Trichophytons ectothrix microïdes* (à petites spores), *Trichophytons ectothrix mégaspores* (à grosses spores).

Nous avons donc à étudier successivement :

Les *Trichophytons endothrix* ;
Les *Trichophytons néo-endothrix* ;
Les *Trichophytons ectothrix microïdes* ;
Les *Trichophytons ectothrix mégaspores*.

Caractères microscopiques généraux des Trichophytons. — Les caractères microscopiques des Trichophytons sont accusés au maximum dans le poil ; au contraire, dans la peau ou dans le pus, ces caractères sont beaucoup moins nets.

Étudiés *dans le poil*, tous les Trichophytons :

a. Sont représentés par des cellules mycéliennes (appelées spores ; voy. ci-dessus), sphéroïdes ou cuboïdes, avec double contour très apparent ;

b. Les spores se réunissent bout à bout, en files, constituant les filaments mycéliens. Ces filaments ont l'aspect de chaînes ;

c. Les chaînes de spores sont parallèles (ou presque) à l'axe du poil ;

d. Elles sont d'épaisseur égale sur toute leur longueur ;

e. Elles sont rectilignes, ou presque ;

f. Les filaments se divisent rarement, et exclusivement par dichotomie.

Étude des diverses espèces de Trichophytons. — Nous étudierons successivement les quatre groupes édifiés dans la classification ci-dessus.

1° **Trichophytons endothrix.** — Caractères microscopiques. — On peut examiner des cheveux ou des poils.

Les *cheveux* malades (fig. 285) présentent le parasite exclusivement dans leur intérieur (pas du tout à l'extérieur). Les spores mesurent 5 à 7 μ ; elles sont égales entre elles, presque toujours extrêmement nombreuses, et remplissent le cheveu complètement ou à peu près (Voy. en outre ci-dessus, *Caractères microscopiques généraux*).

Dans les *squames* épidermiques (fig. 286), on trouve presque toujours des filaments mycéliens à peu près rectilignes ; ces filaments présentent des divisions fréquentes, toujours par dichotomie, dessinant une sorte de réseau ; ils sont formés de cellules (spores) à peu près cubiques. Exceptionnellement (*Tr. violaceum*), les cellules sont très allongées, et les filaments sont plus ou moins incurvés.

Cultures. — Variables suivant les espèces. Les espèces les plus répandues (à Paris) sont le *Trichophyton cratériforme* et le *Trichophyton acuminé*.

Trichophyton cratériforme. — Sur milieu I (p. 729), d'abord duvet blanc, puis formation d'un gâteau jaunâtre, poudreux, fortement redressé sur les bords (forme de cratère), avec mamelon au centre.

Trichophyton acuminatum. — Sur milieu I, d'abord simple bouton, puis formation d'un cône aplati très saillant, présentant de profonds sillons radiés.

Trichophyton violaceum. — Les premières cultures sur milieu I sont violettes, rondes, discoïdes, avec des sillons radiés. Les cultures ultérieures sont moins chromogènes.

Trichophyton effractum. — Culture d'abord analogue à celle du Trichophyton cratériforme, puis le centre se fend ; aspect de bague irrégulière.

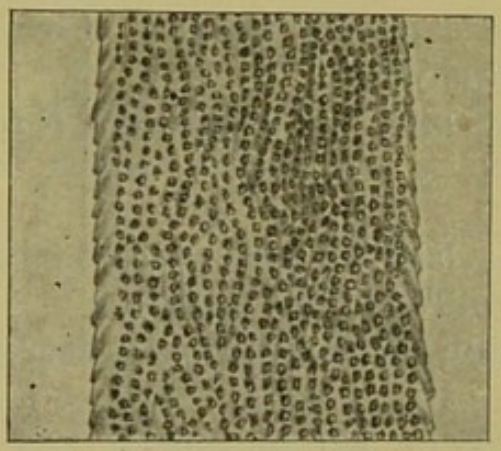


Fig. 285.— Poil parasité par un *Trichophyton endothrix*. Imité de Sabouraud.

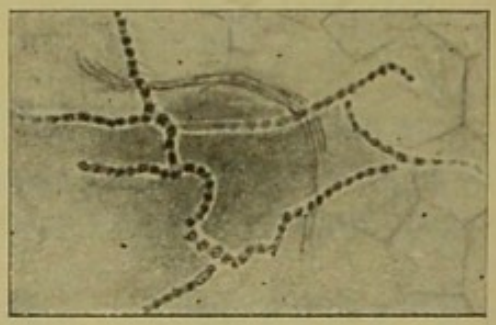


Fig. 286.— *Trichophyton* dans les squames épidermiques. Imité de Sabouraud.

Trichophyton polygonum. — Culture semblable à celle du Trichophyton cratériforme, mais le contour devient rapidement polygonal.

Trichophyton exsiccatum. — Culture analogue à celle du Trichophyton cratériforme; mais le bord du cratère est fendillé et sec.

2° **Trichophytons néo-endothrix.** — La plupart des cheveux malades présentent exactement l'aspect des cheveux infectés par les *Trichophytons endothrix*. Quelques cheveux montrent en outre un nombre variable de filaments mycéliens à leur surface externe.

L'espèce la plus importante est *Trichophyton cerebriforme* : sur milieu I, culture arrondie, blanc-crème, à surface chagrinée, cérébriforme.

3° **Trichophytons ectothrix microïdes.** — Examen microscopique. — Les deux caractéristiques du groupe sont : la présence du parasite dans le poil et en dehors du poil; le polymorphisme des éléments.

Le cheveu malade présente :

A l'extérieur, une véritable gaine de spores petites (3 à 4 μ), les unes égrenées, d'autres en chaînes ;

A l'intérieur, des éléments polymorphes : filaments longs, droits ou sinueux ; chaînes de spores, de dimensions variables.

Cet aspect rappelle un peu celui des Microsporons (p. 736) ; on basera le diagnostic sur le polymorphisme du parasite intrapilaire et sur la constatation de chaînes de spores, car les Microsporons ne figurent pas de chaînes.

Cultures. — Au point de vue cultural, il existe deux groupes : les *Gypséums*, à culture plâtreuse ou poudreuse ; les *Nivéums*, formant un duvet neigeux.

Gypséums. — L'espèce la plus importante est *Trichophyton astéroïdes*. Sur milieu II, saillie centrale, blanche, d'où partent des rayons longs et déliés. Surface poudreuse.

Nivéums. — L'espèce la plus importante est *Trichophyton radians*. Sur milieu I, large disque central, émettant de courts rayons ; aspect de duvet neigeux.

4° **Trichophytons ectothrix mégaspores.** — Examen microscopique. — Le poil malade présente des spores à l'extérieur et des

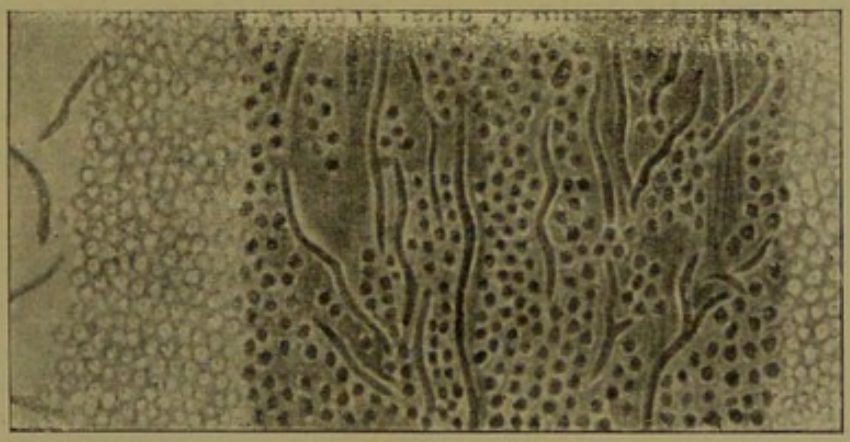


Fig. 287. — Poil parasité par un *Trichophyton ectothrix mégaspore*. Imité de Sabouraud.

filaments mycéliens à l'intérieur. Les spores mesurent 5 à 8 μ ; elles sont tantôt en chaînes, tantôt agglomérées en masses indistinctes (fig. 271).

Dans les squames, la disposition rappelle *Trichophyton endothrix*.

Cultures. — Au point de vue cultural, les *Trichophytons ectothrix* présentent des cultures duveteuses ou des cultures faviformes (analogues à celles de l'Achorion du favus).

Trichophytons à culture duveteuse. — Trichophyton rosaceum. — Sur milieu I, culture arrondie, saillante, duveteuse ; blanche, puis rose pâle à la surface ; violette à sa face profonde ; divisée par des sillons radiés.

Trichophyton equinum. — Culture duveteuse blanche sur milieu I ; traînée jaune d'ocre sur pomme de terre.

Trichophyton ectothrix faviforme. — *Trichophyton ochraceum.* — Culture sous forme de saillies acuminées, de couleur jaune d'ocre.

Inoculations. — Presque toutes les espèces citées ci-dessus sont facilement inoculables au cobaye (lésions des poils).

Siège ; fréquence ; répartition géographique. — Les divers Trichophytons peuvent provoquer des lésions du cuir chevelu (teigne tondante), de la barbe, de la peau (herpès circiné), des ongles.

Les *Trichophytons endothrix* attaquent presque exclusivement le *cuir chevelu* ; les *Trichophytons néo-endothrix*, la *barbe* et, moins, le *cuir chevelu* ; les *Trichophytons ectothrix microïdes*, la *peau* et, moins, le *cuir chevelu* ; les *Trichophytons ectothrix mégaspores*, la *barbe* et la *peau.*

D'après les statistiques de Sabouraud, en France, les Trichophytons les plus fréquents sont *Trichophyton crateriforme*, puis *Trichophyton acuminatum*, puis *Trichophyton violaceum* ; moins fréquemment rencontrés sont *Trichophyton asteroïdes*, *Trichophyton cérébriforme* ; moins encore, *Trichophyton effractum*, *Trichophyton ochraceum*, *Trichophyton rosaceum* ; les autres sont exceptionnels.

Mais la répartition est inégale suivant les pays. Les *Trichophytons exsiccatum* et *polygonum*, d'Argentine, sont inconnus en France ; le *Trichophyton violaceum* est prédominant en Italie et en Argentine, etc.

Trichophytons chez les animaux. — Nous avons eu surtout en vue les espèces rencontrées chez l'homme. Mais beaucoup d'entre elles s'attaquent également à l'animal : ainsi *Trichophyton equinum* et les *Trichophytons microïdes* au cheval ; le *Trichophyton ectothrix faviforme* au veau.

Épidermophytose inguinale. — C'est le parasite de l'*eczéma marginatum.* Il attaque exclusivement la peau, jamais les poils.

Dans les squames, on trouve des figures semblables à *T. endothrix.*

Sur milieu I, culture ronde avec protubérance excentrique, sillons radiés, poudreuse ; couleur jaune verdâtre.

B. — Microsporons.

Le type le plus important du groupe est *Microsporon Audouini*, parasite habituel de la teigne tondante microscopique de l'enfant, et tout à fait rare par contre en dehors du cuir chevelu. Il existe chez l'homme d'autres espèces moins répandues ; parmi les moins rares d'entre elles, le *Microsporon tardum* présente la même localisation que *Microsporon Audouini*. Ce premier groupe forme les *Microsporons du type humain* ; leur culture est peu abondante.

D'autres Microsporons sont *du type animal*, c'est-à-dire qu'ils infectent ordinairement l'animal, mais ils peuvent aussi provoquer des lésions chez l'homme : non seulement la teigne tondante, mais encore le sycosis et l'herpès circiné. Nous citerons *Microsporon equinum* (cheval), *Microsporon lanosum* (chien).

Tous les *Microsporons* présentent sensiblement les mêmes caractères microscopiques, dans les tissus malades ; ils diffèrent entre eux par leurs caractères de cultures.

Caractères microscopiques généraux des Microsporons. — 1° Les *poils malades* présentent une *gaine extérieure de*

spores mycéliennes, très visibles, et des *filaments intérieurs*, peu visibles.

a. Dans la partie intrafolliculaire du cheveu (fig. 288), la gaine de spores forme un manchon continu, recouvrant le cheveu sur toute sa surface. Les spores mycéliennes, petites, 2 à 3 μ, ovalaires ou arrondies, égales entre elles, sont disposées en mosaïque, sans ordre (pas de chaînes) ; à un fort grossissement, chaque spore présente une sorte de *noyau central* avec périphérie plus claire, mais sans double contour. Les spores ne pénètrent pas dans l'intérieur du poil. La gaine de spores s'arrête au-dessus du bulbe pileux.

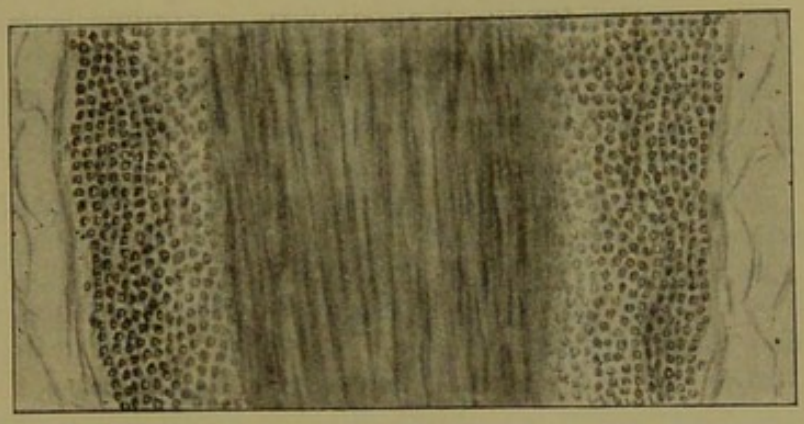


Fig. 288. — Cheveu parasité par *Microsporon Audouini*. Imité de Sabouraud.

Dans sa partie aérienne, le poil n'est plus protégé contre les traumatismes, et la gaine se dissocie ; elle est alors incomplète, et les lambeaux qui en restent ne couvrent que partiellement le cheveu, donnant l'aspect d'une écorce de chêne (Devergie).

Fig. 289. — *Microsporon* dans les squames épidermiques. Imité de Sabouraud.

b. A l'intérieur du cheveu, il existe un mycélium, visible surtout après action énergique de la potasse à 30 p. 100 et léger écrasement de la préparation ; on voit alors des filaments, dirigés suivant l'axe du poil, onduleux, petits, et ne présentant que de rares divisions transversales ; ces filaments sont d'autant plus nombreux qu'on se rapproche davantage du bulbe pilaire. Ils descendent plus bas que la gaine de spores, mais s'arrêtent au-dessus du bulbe ; le mycélium, visible au-dessous de la gaine de spores, constitue la frange d'Adamson.

2° *Dans les squames* (fig. 289), les Microsporons se présentent sous forme de filaments fins, 1 à 3 μ, sinueux, portant sur le côté des excroissances en bourgeons, et ne montrant que de très rares cloison-

nements transversaux sur préparations non colorées (ces cloisonnements sont beaucoup plus nombreux après coloration).

Cultures. — *Microsporon Audouini.* — Sur milieu I ou II, culture arrondie, en duvet d'abord blanc pur, puis blanc grisâtre; trois ou quatre sillons radiés. En un mois, 5 centimètres de diamètre.

Microsporon tardum (Sabouraud). — Comme le précédent, mais cultures de moitié plus petites.

Microsporon du chien (Bodin-Almy) ou *lanosum.* — Sur milieu I, culture arrondie; centre glabre, anneau de duvet laineux saillant, blanc. En un mois, 9 centimètres de diamètre.

Microsporon equinum (Bodin). — Sur milieu I, duvet très court; colonies rondes, avec sillons radiés; centre chagriné.

Microsporon fulvum (Uriburu, à Buenos-Ayres). — Sur milieu I, colonies à centre brunâtre, avec anneau de duvet blanc. Sur pomme de terre, duvet brun ocreux.

Inoculations. — Les Microsporons animaux sont facilement inoculables aux animaux. L'inoculation des Microsporons humains est plus aléatoire.

C. — Achorions.

Les *Achorions* sont les parasites du *favus*, dont la forme habituelle est la teigne faveuse du cuir chevelu.

On sait que le favus est esssentiellement caractérisé par la production du *godet favique*, développé autour d'un cheveu favique. Les Achorions peuvent produire, en outre, de l'onychomycose, ou des lésions herpétiformes de la peau.

L'espèce à peu près exclusivement rencontrée chez l'homme est *Achorion Schœnleini.* L'*Achorion quinckeamum* (Bodin), parasite habituel de la souris, est exceptionnel chez l'homme. L'*Achorion Gallinæ* est spécial aux poules.

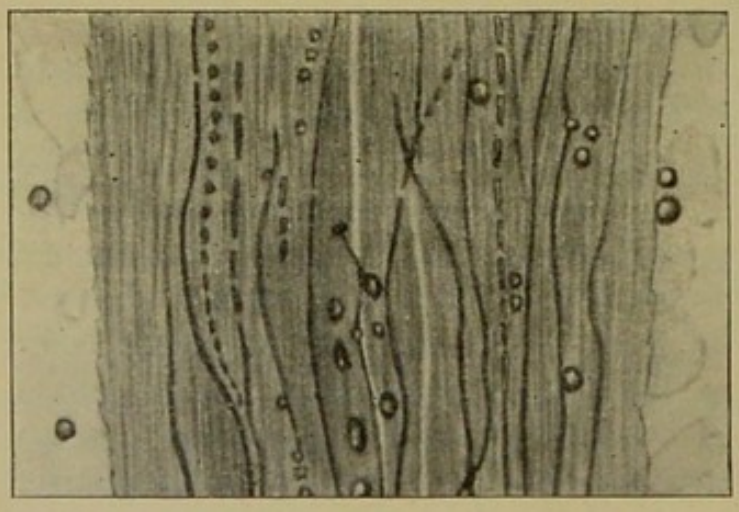


Fig. 290. — Poil parasité par *Achorion Schœnleini.* Imité de Sabouraud.

Les caractères microscopiques dans les tissus sont les mêmes pour toutes les espèces.

Caractères microscopiques généraux des Achorions. — 1° Dans le *godet favique*, l'examen montre une quantité considérable de parasites, de formes variées : filaments de cellules mycéliennes peu allongées, cellules

mycéliennes isolées ou tassées les unes contre les autres. Les filaments sont surtout abondants à la partie moyenne du godet.

2° Le *cheveu favique* (fig. 290) ne présente de parasites que dans son intérieur; il n'en existe pas à la face externe. Les parasites sont représentés par des filaments mycéliens. Ces filaments :

a. Sont toujours assez peu nombreux, on peut les compter;

b. Se dirigent parallèlement à l'axe du cheveu ;

c. Sont plus ou moins sinueux ;

d. Offrent une épaisseur variable, 3 à 8 μ et plus ;

e. Sont divisés par des cloisons généralement très distantes les unes des autres, parfois très rapprochées (aspect de chaîne de spores), un même cheveu présentant d'ordinaire ces divers aspects.

Dans les lésions jeunes, on voit parfois des cellules mycéliennes cuboï s'agglomérer en petits amas, d'où partent les filaments intrapilaires; cet aspect, désigné *tarse favique*, représente la phase initiale de pénétration du parasite dans le poil, et non une division des filaments en trois ou quatre branches, comme on l'avait cru tout d'abord.

Les cheveux faviques présentent en outre des bulles d'air (loges blanc d'argent).

Cultures. — *Achorion Schœnleini*. — Sur milieux I, II ou III, culture blanc jaunâtre, à surface bosselée, prenant l'aspect d'une éponge. Pas de duvet.

Achorion quinckeanum. — Sur milieu III, culture assez analogue à la précédente. Sur milieux I ou II, culture en disque saillant, blanche, duveteuse.

Achorion gallinæ (Mégnin-Sabrazès). — Culture analogue à celle de *Trichophyton rosaceum*, dont elle diffère surtout parce que le pigment rose colore le milieu et qu'il n'existe pas de pigment violet.

Inoculations. — On peut inoculer le favus au cobaye en partant de lésions faviques; plus difficilement en partant de cultures. L'*Achorion quinckeanum* et l'*Achorion gallinæ* sont facilement inoculables, l'un à la souris, l'autre à la poule.

II. — PARASITES DU « PITYRIASIS VERSICOLOR » ET DE L'ÉRYTHRASMA.

Microsporum furfur (parasite du **Pityriasis versicolor**). — Après le traitement habituel par la potasse, les squames du *Pityriasis versicolor* laissent voir un parasite extrêmement abondant (fig. 291). Ce parasite, *Microsporum furfur* ou *Malassezia furfur*, se présente sous deux formes toujours juxtaposées :

a. Des filaments mycéliens, d'épaisseur inégale, en moyenne *b* μ, formés de cellules tantôt allongées, tantôt presque sphériques;

b. Des paquets de spores. Les spores sont inégales, 2 à 5 μ, arrondies, disposées en paquets semés au hasard, sans relation apparente avec le mycélium.

Il n'est pas établi que les cultures annoncées par Kotliar soient bien celles du *Microsporum furfur*.

Microsporum munitissimum (parasite de l'**Érythrasma**). — Le *Microsporum minutissimum* (Burckhardt) a été décrit par Balzer et Besnier. Pour l'étudier, dégraisser les squames par l'éther, traiter par l'acide acétique, laisser sécher; laver à l'alcool, colorer au bleu de Unna, alcool, xylol ; monter au baume.

Ainsi préparé, le parasite se présente sous forme variée : filaments segmentés, parfois réunis en paquets; éléments isolés, ressemblant beaucoup à des bacilles; épaisseur variable, en moyenne 0 μ, 80. D'après ces quelques caractères, le parasite se rapproche des streptothricées.

Fig. 291. — *Malassezia furfur* dans les squames du *Pityriasis versicolor*. Imité de Sabouraud.

III. — PARASITES DES DERMATOSES DES PAYS CHAUDS.

Parasite du tokelau. — Le *tokelau*, ou *tinea imbricata*, est une dermatose des pays chauds (Indo-Chine, Océanie).

Dans les squames, on trouve des filaments mycéliens minces, 1 à 2 μ, ramifiés, incolores; certains d'entre eux se terminent par des renflements globuleux brunâtres, donnant naissance à des stérigmates qui portent des conidies (ou vraies spores mycéliennes), de 2 à 13 μ, rondes, couvertes d'épines.

Ce parasite, appelé *Lepidophyton* par Tribondeau, paraît être un *Aspergillus* : *Aspergillus lepidophyton* (Wehmer).

Parasites des caratès. — Les caratès, spéciales à la Colombie, sont des mycoses épidermiques, accompagnées de pigmentations variées : blanc, rouge, violet et noir violacé.

Montoya y Flores décrit dans les squames des filaments longs et ramifiés par dichotomie; certains se continuent par un renflement triangulaire d'où naissent des stérigmates terminés par une file de trois à quinze spores. Morphologiquement, les parasites des caratès rappellent l'*Aspergillus* et le *Penicillium*.

Parasite de la pinta. — Dermatomycose du Mexique, avec squames rouges, blanches ou noires.

Dans les squames, nombreuses spores noirâtres, et filaments mycéliens courts terminés par une spore.

Parasite de la piedra. — La piedra, spéciale à la Colombie, est caractérisée par l'existence de petites nodosités dures (*piedra*, caillou) au long du cheveu.

Au microscope, ces nodosités se montrent exclusivement formées de spores en mosaïque, polygonales, très grosses, 12 à 15 μ, formant manchon en un point du cheveu.

CHAPITRE LIX

SPIROCHÈTE DE LA SYPHILIS

Nombreuses ont été les recherches entreprises pour découvrir l'agent pathogène de la syphilis. On a décrit dans les lésions syphilitiques, dans le sang des sujets qui en étaient porteurs, de multiples germes à qui le pouvoir spécifique a été attribué ; depuis une dizaine d'années, c'est du côté des protozoaires que les travaux s'orientèrent ; on accusa certains flagellés (Stassano), un hémoprotiste (Horand). Cette orientation nouvelle était déterminée par l'analogie que l'on voulait reconnaître entre la dourine du cheval, produite par un trypanosome, et la syphilis humaine.

En 1903, Romo (de Budapest) décrit des spirilles dans 9 cas de chancres syphilitiques, mais sans leur attribuer un rôle dans l'étiologie de la syphilis. En 1905, Siegel voit dans le sang des syphilitiques un protozoaire qu'il nomme *Cytorrhyctes luis* et qu'il croit être l'agent spécifique. Ce protozoaire existait aussi dans le sang de lapins, cobayes, auxquels il pensait avoir inoculé la syphilis. Schaudinn, la même année, en voulant contrôler les constatations de Siegel, découvre avec Hoffmann un Spirochète qu'il nomme *Spirochæta pallida* ; plus tard il lui donna le nom de *Treponema pallidum*, adopté aujourd'hui par tous les auteurs. Ce germe spécial est bien doué de spécificité, car il se trouve presque constamment dans les lésions syphilitiques, et rien que chez elles ; enfin c'est encore lui que l'on découvre dans la syphilis expérimentale du singe, comme l'ont démontré Roux et Metchnikoff.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Examiné à l'état frais, à l'ultramicroscope*, le Tréponème de la syphilis est un fin filament spiralé, d'apparence brillante sur le fond noir de la préparation (fig. 292). Il est doué d'une grande mobilité, qui se manifeste suivant plusieurs modes : ou bien il tourne autour de son axe longitudinal, en avançant ou reculant par saccades, en ligne droite ; ou bien, restant en place, il présente des mouvements d'ondulation, de reptation ; ou bien encore il effectue des mouvements de flexion et de torsion, auxquels participe tout le corps du parasite.

Après coloration, les détails morphologiques apparaissent mieux. Le Tréponème est long de 6 à 15 μ sur 0 μ,25 de large. Les ondulations, au nombre de 6 à 12 en général, sont régulières, surtout dans

la partie médiane du corps. Les extrémités sont effilées, se continuent par un filament, sorte de cil long comme environ la moitié du parasite, s'enroulant parfois en boucle.

La section du Tréponème est circulaire; il n'est pas pourvu de membrane ondulante.

Plusieurs Tréponèmes sont parfois accolés bout à bout et figurent ainsi des formes longues qui sont, en réalité, constituées par plusieurs éléments. En certains cas, deux éléments placés bout à bout s'écartent suivant un angle plus ou moins aigu et figurent un V, un Y (fig. 293); s'ils se rejoignent par les deux extrémités, ils forment un O.

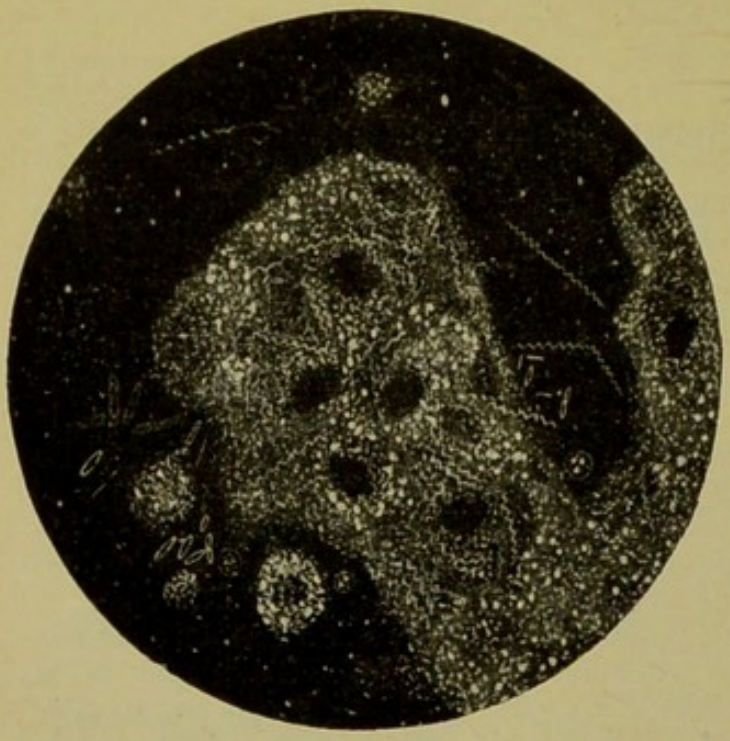


Fig. 292.— *Treponema pallidum* vu à l'ultra-microscope dans le produit de raclage d'un chancre induré (Gastou).

Coloration. — *Treponema pallidum* est très difficile à colorer; il exige des colorants spéciaux, et encore ces derniers lui donnent-ils une teinte pâle. La coloration par la méthode de Gram reste négative.

Nous étudierons plus loin les principaux procédés destinés à le mettre en évidence, lors de la recherche du parasite dans les frottis et les coupes.

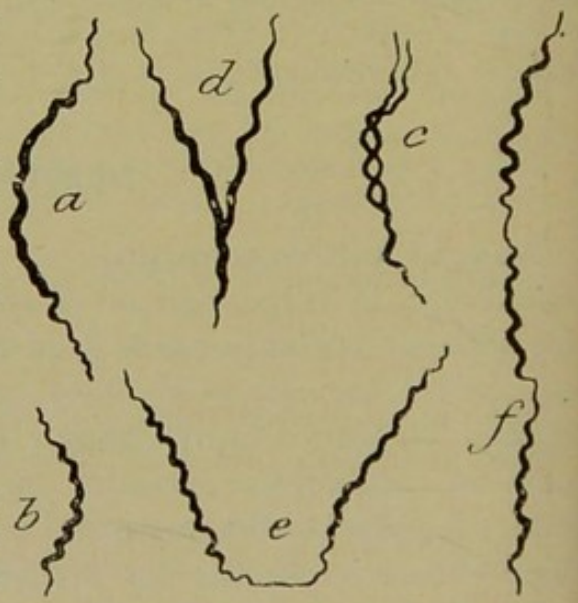


Fig. 293.— Divers aspects de *Treponema pallidum* (d'après Schaudinn).

CULTURES.

Pendant longtemps, les essais de culture du Tréponème syphilitique restèrent négatifs. Volpino et Fontana, immergeant dans du sang humain, pur ou citraté, du sérum, de l'ascite, des fragments de tissus syphilitiques, remarquèrent que le liquide des tubes de culture était riche en microbes de souillure, mais ne contenait pas de Tréponèmes; par contre

un développement important de ce dernier s'effectuait au sein même du tissu.

En 1907, Levaditi et Mac Intosh, qui avaient réussi à cultiver plusieurs Spirochètes (*Spirochetes refringens*, *Spirochetes gallinarum*) en sacs de collodion, tentèrent l'utilisation de ce procédé pour la culture du Tréponème. Ils introduisirent des sacs de collodion chargés de Spirochètes vivants dans la cavité péritonéale des singes. Ils obtinrent des cultures impures d'un Spirochète analogue à celui de la syphilis, mais non pathogène pour l'animal.

Depuis 1909, plusieurs auteurs réussirent la culture du *Treponema pallidum*, d'abord impure, puis pure.

Cultures impures de Schereschewky. — Schereschewky place au fond d'un tube contenant du sérum de cheval coagulé un fragment de tissu syphilitique. Après dix jours de séjour à l'étuve à 37°, le sérum commence à se troubler autour du fragment et le long de la piqûre, et se liquéfie. Les tubes dégagent une odeur d'hydrogène sulfuré. Le louche produit est formé en grande partie de *Treponema pallidum*. Cette culture, devenue liquide, réensemencée dans un nouveau tube de sérum, donne, au bout de dix jours, une nouvelle génération. Il fait ainsi plusieurs passages. Mais ces cultures restent *impures*, associées à des cocci et bâtonnets. Il est vrai que Sowade, puis Tomasczewski ont pu, par des artifices assez délicats, débarrasser les cultures de ces impuretés.

Cultures pures de Mühlens. — Mühlens prépare des tubes contenant 2 parties de gélose neutre et 1 partie de sérum de cheval inactivé. Une aiguille chargée de produits syphilitiques sert à l'ensemencement, en piqûres, de plusieurs tubes semblables : trois à sept jours après, on voit apparaître dans le tiers inférieur des tubes des colonies sous forme de petits points revêtant, quelques jours après, l'aspect de nuages floconneux arrondis, blanchâtres, dont le centre prend souvent une teinte brunâtre. Ces cultures doivent être effectuées en *anaérobiose*.

On a beaucoup discuté sur l'identité de ces Spirochètes cultivés, et on a admis difficilement leur nature syphilitique. En effet, ces cultures, mises en présence de sérum de syphilitique, n'étaient ni agglutinables, ni précipitables; enfin elles ne fixaient pas le complément. Néanmoins, les caractères morphologiques étaient bien ceux du Tréponème; de plus, fait important, Schereschewky constata que l'inoculation de ces cultures au singe et au lapin leur conférait l'immunité contre l'injection de produits syphilitiques. Enfin, entre les mains de Bruckner et Galasesko, puis de Sowade, l'inoculation de ces cultures au lapin reproduisit chez lui une orchite, riche en Spirochètes. Mais, pour certains, cependant, plusieurs Spiro-

chètes étrangers au Tréponème peuvent déterminer cette orchite.

Cultures pures de Noguchi. — Noguchi obtient des cultures pures à l'aide d'un milieu constitué par 1 partie de sérum et 3 parties d'eau, additionné d'un assez gros fragment de rein ou de testicule frais de cobaye normal. 15 centimètres cubes de ce liquide sont versés dans un tube ; la surface est recouverte d'une couche d'huile de paraffine haute de 3 centimètres.

On ensemence avec des produits syphilitiques en *anaérobiose*. On porte à l'étuve à 37°, pendant deux semaines. Le milieu s'est troublé et contient, outre le Tréponème, d'autres microbes ; on les élimine en filtrant la culture sur bougie Berkefeld ; le Tréponème traverse le filtre, qui retient les germes étrangers.

Ces cultures pures reproduisent chez le lapin l'orchite typique ; de plus, elles fixent le complément. Les résultats de ces recherches furent confirmés par Hoffmann, puis Sowade. Ce dernier a même pu obtenir, par inoculation de cultures aux lapins, une syphilis constitutionnelle analogue à celle de l'homme : injectés par voie sanguine, les lapins présentèrent des syphilis papuleuses et papulo-ulcéreuses avec adénites et, dans un cas, de l'iritis spécifique.

SIÈGE ET TOPOGRAPHIE DU TRÉPONÈME.

Les nombreuses recherches qui ont été poursuivies depuis la découverte de Schaudinn ont contribué à faire connaître l'habitat du Tréponème dans l'organisme du syphilitique aux différentes phases de l'infection.

Syphilis acquise. — Le Tréponème de Schaudinn existe tout d'abord dans le *chancre primitif*, ainsi qu'il résulte des travaux initiaux de Schaudinn et Hoffmann, de Metchnikoff et Roux, etc. Il y est abondant et siège, de préférence, dans les papilles voisines de l'ulcère, et dans les faisceaux conjonctifs sous-épidermiques. Il y provoque une réaction mononucléaire.

A la période du chancre, Schaudinn, Bertarelli et Volpino, Thibierge, etc., ont montré que le parasite siégeait encore dans les ganglions qui accompagnent son évolution.

Les *lésions de la période secondaire* sont encore envahies par le Tréponème ; les plaques muqueuses, les syphilides secondaires le recèlent d'une façon constante ; mais, dans ces altérations, surtout dans les coupes, il est plus difficile à mettre en évidence ; il s'y trouve en moins grande abondance. Dans les taches de roséole, Veillon et Girard l'ont décelé, de préférence, dans les capillaires dilatés terminaux des papilles et dans quelques vaisseaux sous-

papillaires. On en rencontre quelques échantillons dans les nodules périvasculaires. Il existe encore dans le *sang* de la circulation générale, mais en minime quantité, si bien que nombre d'auteurs ont nié sa présence et, par conséquent, la virulence du sang à cette période. Néanmoins les inoculations positives au chimpanzé et des procédés de technique plus perfectionnés qu'au début de ces recherches permettent d'affirmer la présence du Spirochète dans ce liquide.

Dans les organes, on l'a rarement décelé.

Dans les *lésions tertiaires*, le Tréponème est assez peu abondant pour qu'en certains cas on ne puisse pas le mettre en évidence. Néanmoins les constatations directes et l'expérimentation ont permis de le déceler dans les gommes, les lésions papuleuses, etc., quelquefois, mais rarement, dans le sang; on a pu le trouver dans des coupes d'aortite spécifique (Reuter).

Dans les gommes, il se rencontre uniquement dans les parois.

Tout récemment enfin, le Tréponème pâle a été mis en évidence dans les coupes de cerveau de paralytiques généraux par Noguchi et Moore, Marinesco et Minea, A. Marie, Levaditi et Bankowski. Les parasites siègent exclusivement dans la substance grise corticale sous forme de foyers plus ou moins circonscrits.

Hérédo-syphilis. — Le Tréponème existe en grand nombre dans les organes de nouveau-nés hérédo-syphilitiques ; l'examen des frottis, des coupes, le décèle en grande abondance dans les organes. On a reconnu qu'il envahissait le foie (fig. 294), la rate, le poumon, les capsules surrénales. Il fourmille dans le liquide des bulles de pemphigus syphilitique ; on l'a retrouvé dans les parois gastriques, dans les parois de la vessie, de la vésicule biliaire, dans les troncs nerveux (Schimpert), le cerveau, l'exsudat méningé (Ravaut et Ponselle), l'ovaire et même les ovocystes. Il envahit la circulation beaucoup plus fréquemment que chez l'adulte ; enfin Levaditi et Sauvage ont montré que le placenta de la mère s'infiltre de Spirochètes quand l'enfant présente des lésions d'hérédo-syphilis.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Klebs, Martineau et Hamonic, M. et Ch. Nicolle avaient déjà tenté l'inoculation de la syphilis au singe ; les résultats de leurs expériences s'étaient montrés si inconstants qu'ils n'entraînèrent pas la conviction. La question prit de l'importance le jour où, en 1903, Roux et Metchnikoff obtinrent régulièrement l'infection syphilitique expérimentale chez les singes anthropoïdes ; les recherches furent le point de départ de multiples travaux sur ce sujet.

Syphilis expérimentale du chimpanzé. — Roux et Metchnikoff montrèrent que le chimpanzé était très sensible, aussi sensible que l'homme, à l'infection syphilitique.

L'inoculation de produits syphilitiques (chancre, lésions secondaires, sang, parois de certaines gommes) s'effectue au niveau des téguments ou des muqueuses; on opère, de préférence, au niveau du sourcil ou sur le sillon balano-préputial.

A l'aide d'un petit scarificateur, on gratte la surface d'une lésion

Fig. 294. — *Treponema pallidum* dans une coupe de foie d'enfant hérédo-syphilitique.

syphilitique; à l'aide de cet instrument, on pratique une série de petites incisions, que l'on recouvre du virus recueilli.

Lésion initiale. — Au point d'inoculation, on voit apparaître dans les quatre à cinq premiers jours une légère rougeur, qui disparaît totalement au bout d'une semaine. Puis, quinze à vingt jours après l'inoculation, se développe une zone congestive qui s'indure et revêt l'aspect d'une papule exulcérée, qui se recouvre d'une croûtelle. Ce véritable *chancre induré* s'accompagne d'une adénopathie, dont le volume augmente dans la suite et présente le caractère d'indolence connu en syphilis humaine. Ce chancre guérit spontanément au bout de quelques semaines.

Lésions de la période secondaire. — Environ un à deux mois après l'apparition du chancre, on note, dans un certain nombre de

cas (66 p. 100 environ), le développement de plaques muqueuses, de papules, ressemblant aux syphilides humaines de la période secondaire.

A cette période, Roux et Metchnikoff ont même constaté des paraplégies transitoires.

Le chimpanzé vit trop peu sous nos climats pour qu'on ait pu observer d'accidents tertiaires.

Les lésions provoquées chez le chimpanzé sont virulentes et inoculables à d'autres chimpanzés. Ce fait, ajouté à cet autre que le *Treponema pallidum* y est décelable, constitue la preuve la plus évidente de la nature syphilitique de ces altérations.

Syphilis expérimentale de l'orang-outang. — L'inoculation de virus syphilitique chez l'orang-outang détermine la production d'un chancre initial; il est toutefois moins net que chez le chimpanzé; d'autre part, on n'assiste jamais à l'évolution de la période secondaire.

Singes inférieurs. — Les singes inférieurs (macaques et cynocéphales) sont beaucoup moins sensibles à la syphilis expérimentale que le chimpanzé (50 p. 100 de résultats positifs, d'après Roux et Metchnikoff).

La proportion des succès varie beaucoup suivant la région que l'on soumet à l'inoculation. On s'adresse, de préférence, à l'arcade sourciliaire ou aux muqueuses génitales.

Thibierge et Ravaut ont obtenu des résultats positifs constants en pratiquant les inoculations sur le bord libre de la paupière supérieure des macaques : après une incubation de vingt-trois jours en moyenne, le bord libre de la paupière devient œdémateux; l'infiltration augmente les jours suivants et peut s'étendre à tout le bord libre transformé en un véritable bourrelet. En d'autres cas, l'œdème est plus limité, et, au point inoculé, se forme un nodule inflammatoire au niveau duquel la surface cutanée prend une teinte rouge foncé cuivré. La consistance est augmentée, mais on n'observe pas l'induration spéciale si caractéristique du chancre induré. L'étude des coupes de cette lésion montre une infiltration périvasculaire, analogue à celle du chancre humain. Néanmoins, on ne note ni ulcération, ni adénopathie, et les lésions de la période secondaire sont absentes.

En réalité, cette lésion ne saurait être superposable à la lésion syphilitique initiale de l'homme ou du chimpanzé. Elle est néanmoins spécifique, et Thibierge et Ravaut en ont tiré profit pour établir un diagnostic expérimental d'une lésion, dont la nature syphilitique peut seulement être suspectée.

Syphilis expérimentale chez le lapin. — Le virus syphilitique est inoculable au lapin par plusieurs voies.

Voie oculaire (Bertarelli). — On prélève un fragment de tissu syphilitique : paroi de chancre, papule, ou produit de grattage de ces lésions. L'inoculation peut s'effectuer de trois façons :

1° Après cocaïnisation de l'œil du lapin, une lancette pratique une petite kératotomie ; par la plaie produite, on introduit, à l'aide d'une spatule, dans la chambre antérieure, un fragment du tissu ;

2° Les paupières étant écartées, on trace sur la cornée une série de scarifications parallèles ; à leur niveau, on frotte le fragment de tissu ;

3° On peut encore broyer dans l'eau physiologique stérile la pulpe ou le fragment prélevé, et l'injecter dans la chambre antérieure.

Quel que soit le mode d'inoculation, il se produit parfois, dans les premiers jours, une légère réaction oculaire banale, due aux germes associés ; elle ne dure que quelques jours. Ce n'est qu'après deux à sept semaines que se montre la réaction spécifique. Celle-ci consiste dans l'apparition de *petites granulations*, ayant le volume d'une tête d'épingle, occupant le bord de l'iris, puis dans une opalescence diffuse de la cornée, symptomatique d'une *kératite parenchymateuse*. Milian et Roussel ont décrit plusieurs variétés de ces kératites syphilitiques chez le lapin : *kératite ponctuée*, *kératite chancriforme* simulant un chancre érosif ; *kératite diffuse* pouvant devenir *ulcéreuse*.

L'examen des coupes de cette cornée ainsi atteinte montre l'existence de nombreux Tréponèmes, qui se trouvent en amas considérables à la limite des lésions d'infiltration.

Enfin, d'après Bertarelli, des fragments de cette cornée ainsi atteinte, inoculés de la même manière dans la chambre antérieure de lapin neufs, reproduisent les mêmes lésions ; de plus, le virus de lapin, ainsi traité, est inoculable au singe.

Les expériences de Bertarelli furent confirmées par Scherber, Greef et Clausen.

Voie génitale. — Uhlenhuth et Mulzer ont inoculé avec succès le virus syphilitique humain dans le testicule du lapin.

Après une incubation de trente à cinquante jours, le testicule et l'épididyme forment une masse unique, du volume d'un œuf de pigeon, à surface irrégulière, indolore, de consistance élastique. La ponction de cette masse ramène un liquide clair avec de nombreux Spirochètes, sans adjonction d'aucun autre microbe étranger. Les auteurs ont ainsi obtenu 10 résultats positifs sur 17 lapins inoculés. Chez cet animal, les lésions se résument dans cette orchite syphilitique, sans infection générale.

Hoffmann a reproduit les mêmes lésions chez le cobaye en injectant dans le testicule des fragments de testicule syphilitique de lapin.

Tomasczewski a obtenu chez le lapin une lésion primitive; après incision de la peau du scrotum, on pratique une poche sous-cutanée, où l'on insère un fragment de kératite spécifique ou de chancre humain. Il se produit tout d'abord une inflammation suppurée, puis, dix à treize jours après, au-dessous du fragment transplanté, se forme une infiltration bien localisée, dont le centre est occupé par une mince croûte, recouvrant une érosion où pullulent les Spirochètes. Sur 45 lapins, il obtint 39 résultats positifs.

Bruckner et Galasesko déterminèrent l'orchite spécifique en injectant des cultures de Tréponème dans le testicule du lapin : le testicule devint volumineux; deux mois après, on notait un œdème mou, gélatineux, enveloppant les deux testicules. La sérosité citrine de cet œdème renfermait de nombreux Tréponèmes.

Voie sanguine. — Uhlenhuth et Mulzer sont arrivés, par passages successifs du virus syphilitique chez le lapin, à en exalter la virulence. Ce virus exalté, introduit dans la circulation générale, provoque une infection générale.

Chez des lapins jeunes, l'inoculation intracardiaque de doses massives est suivie, au bout d'un certain temps, de tuméfaction du nez et de la queue, ressemblant à des gommes ; les animaux maigrissent, ont du coryza, présentent des syphilis papulo-ulcéreuses. Dans toutes ces lésions, on constate la présence du Tréponème ; ce dernier se trouve parfois dans le sang.

Sowade a reproduit l'infection syphilitique générale chez le lapin par des injections intracardiaques de cultures de Tréponèmes. Les lésions furent semblables aux précédentes.

CARACTÈRES DIFFÉRENTIELS DES SPIROCHÈTES VOISINS.

Treponema pallidum doit être, sous peine d'erreurs diagnostiques, différencié d'autres parasites (fig. 295) qui s'en rapprochent, d'autant que certains d'entre eux sont les hôtes de lésions ulcéreuses, qu'on peut confondre avec les lésions syphilitiques.

Spirochæta refringens. — C'est celui qui lui ressemble le plus ; il est d'ailleurs le plus souvent associé au Tréponème. Il est plus volumineux et plus trapu que ce dernier ; ses ondulations, ses spires sont moins serrées et moins régulières. Très mobile, il présente des oscillations et des déplacements brusques. Une fois coloré à l'encre de Löffler, il ne possède pas de cils, mais une membrane ondulante nette. Enfin il se colore par les moyens usuels, et le Giemsa le teinte en bleu.

Spirochæta dentium. — Il pullule dans les dents cariées : il ressemble beaucoup à *Tr. pallidum* ; il est cependant plus court, plus mince ; ses tours

de spire sont plus lâches et moins nombreux. Sa mobilité est moins grande ; il n'a pas d'ondes de contraction et d'étirement (Gastou).

Spirochæta buccalis. — Il se trouve surtout dans le tartre dentaire. Ses spires sont moins serrées et moins nombreuses. Il se présente sous l'aspect d'un double trait avec, de temps à autre, des parties claires et des espèces de nœuds. Il présente des mouvements sinueux de reptation ; deux cils terminaux ; coloration facile par les moyens usuels.

Spirochæta plicatilis. — Ce dernier est gros, trapu ; ses spires sont larges et rares ; il présente une membrane ondulante et pas de cils.

Spirochæta Vincenti. — Il se rapproche beaucoup du *Spirochæta buccalis*. Les spires sont en nombre très irrégulier, parfois même à peine

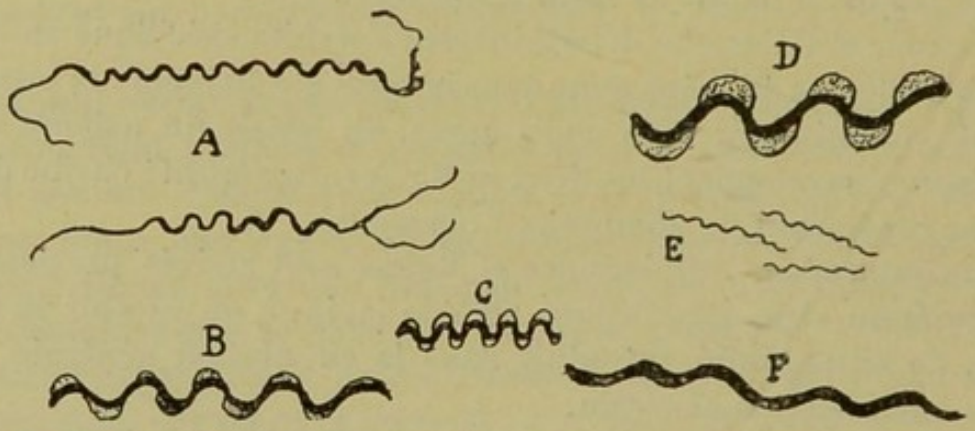


Fig. 295. — Différents Spirochètes.

A, Tréponème ; B, *refringens* ; C, Spirille du cancer ulcéré ; D, *Sp. plicatilis* ; E, *Sp. dentium* ; F, *Sp. Vincenti* (d'après Krzysztalowicz et Siedlecki).

indiquées. Se colore faiblement par les moyens ordinaires. Siège dans les ulcérations de l'angine fuso-spirillaire de Vincent et dans la pourriture d'hôpital (Voy. ces mots).

Spirille de la balanite érosive. — Plus volumineux que le Tréponème. Ondulations peu marquées. Il est moins mobile. Quelquefois pourvu de cils à ses extrémités.

Spirochètes des cancers ulcérés. — Les cancers ulcérés donnent asile à plusieurs variétés de spirilles, décrites par Lœwenthal : l'une d'elles est constituée par un Spirochète plus volumineux que le Tréponème, pourvu d'une membrane ondulante : ses ondulations sont irrégulières ; ses extrémités sont mousses et tronquées. L'autre est un Spirochète très fin à ondulations nombreuses, très rapprochées. Il se colore par le bleu de méthylène boraté.

Spirille d'Obermeier. — Gros filament à spires irrégulières. Agent pathogène de la fièvre récurrente. Se colore par les moyens usuels. Il ne peut être confondu avec le Tréponème.

Spirochæta pallidula ou pertenuis. — C'est l'agent pathogène du *pian*, donnant dans les pays chauds des lésions papillomateuses. Élément très fin, très long, de 18 à 20 μ, ondulations irrégulières, souvent spiralé sur une partie de son étendue, déroulé sur l'autre. Se recourbe parfois en V ou en S (Castellani, Levaditi et Nattan-Larrier) ; extrémités effilées, ou mousses, parfois terminées en boucle. Quelques auteurs ont décrit un flagelle.

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA SYPHILIS.

Le diagnostic bactériologique de la syphilis peut s'effectuer de plusieurs façons. On procède à la recherche directe du Tréponème au niveau de lésions accessibles à un prélèvement de matériel, ou dans le sang. Si les résultats de l'épreuve restent négatifs, ou bien si, au moment de l'examen, les altérations ne peuvent convenir à une recherche directe, on procède à une série de procédés indirects; ces derniers ont pour but de mettre en évidence les réactions causées par le virus qu'on n'a pas pu déceler; il s'agit dans ce cas d'un véritable sérodiagnostic.

Toutes ces épreuves doivent être effectuées avec une grande rigueur, car rien n'est plus variable que le nombre des Tréponèmes dans une lésion syphilitique. Celle-ci, quand elle est ulcérée, peut contenir des germes analogues au *Treponema pallidum*, et cependant complètement étrangers à ce dernier. C'est en pareil cas surtout qu'il ne faut affirmer sa présence qu'avec la plus grande circonspection.

Recherche du Tréponème.

Prélèvement des produits à examiner. — S'il s'agit d'un CHANCRE, nettoyer soigneusement la lésion à l'aide d'un tampon d'ouate imbibé d'eau physiologique stérile, pour enlever les souillures superficielles. Le derme est ainsi mis à nu. Faire sourdre un peu de sérosité, en comprimant le pourtour entre les doigts, ou mieux, comme le conseillent Thibierge, Ravaut et Le Sourd, gratter avec un vaccinostyle stérile, ce qui provoque l'exsudation d'une rosée séreuse, où les Tréponèmes se retrouveront; recueillir l'exsudat pour l'examen à l'état frais et après dessiccation; dans ce but, faire un frottis mince et uniforme sur une lame de verre.

En présence d'une PAPULE, d'une *tache de roséole*, scarifier légèrement les lésions, recueillir l'exsudat et en faire un frottis comme précédemment. Zabolotny conseille l'application d'une petite ventouse de Bier pour faciliter l'exsudation.

Le SUC GANGLIONNAIRE se recueille par ponction à l'aide d'une aiguille et d'une seringue de Pravaz.

Pour les GOMMES, le prélèvement doit s'effectuer au niveau de la paroi par grattage.

Le prélèvement du SANG demande une technique un peu spéciale; après ponction d'une veine du bras, on peut le traiter de diverses façons :

Nattan-Larrier et Bergeron en répartissent 10 centimètres cubes

dans deux ballons contenant chacun 100 centimètres cubes d'eau distillée. L'hémolyse une fois produite, on centrifuge. On étale ensuite sur lames le culot de centrifugation. Sécher, fixer par l'alcool-éther.

Ravaut et Ponselle font tomber le sang dans 30 centimètres cubes d'eau distillée. On recueille le caillot; le laver, le durcir, le colorer comme une pièce anatomique par le procédé d'imprégnation argentique de Levaditi (Voy. p. 754) et le débiter en coupes.

Recherche à l'état frais par l'ultramicroscope. —

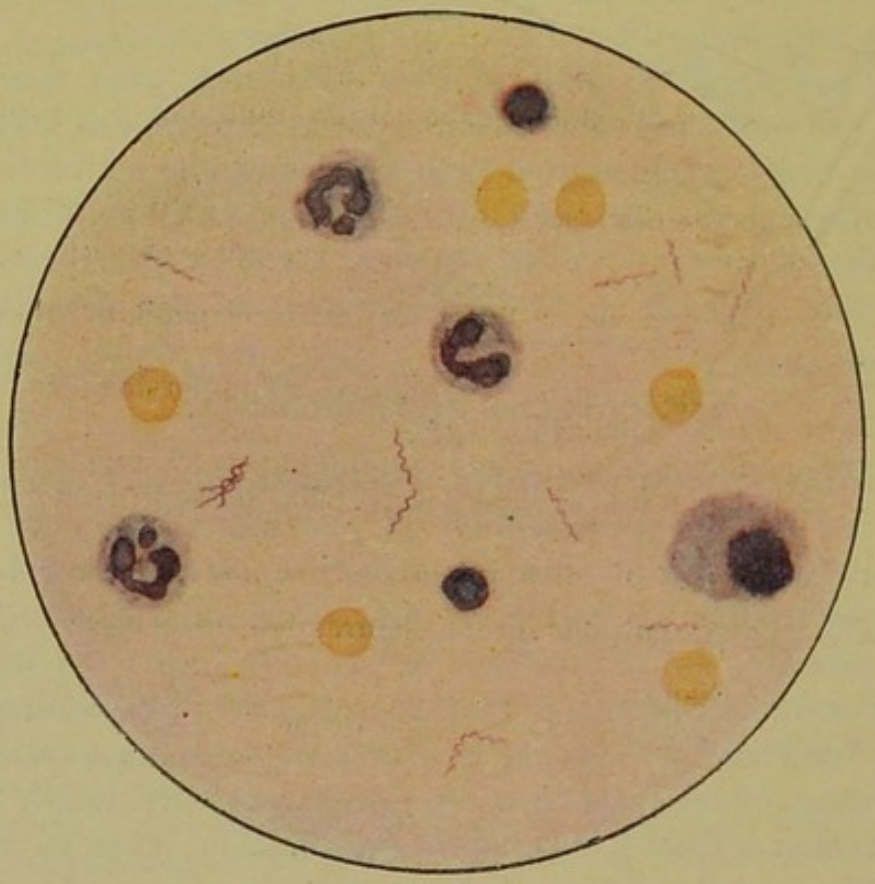


Fig. 296. — Frottis de chancre syphilitique. Coloration par le Giemsa.

L'examen à l'état frais dans les conditions ordinaires, sans le secours de l'ultramicroscope, est difficile et infidèle. Il faut recourir à l'examen ultramicroscopique (fig. 292), qui, d'après Gastou et d'autres, constitue le procédé le plus sûr pour la découverte et le diagnostic différentiel du Tréponème.

Quand l'appareil est bien réglé, on dépose entre lame et lamelle une gouttelette de la sérosité recueillie. L'examen effectué avec toutes les précautions requises (p. 229) met en évidence le Tréponème avec tous les caractères morphologiques et de mobilité qui lui ont été assignés. Il faut néanmoins le différencier rigoureusement des autres parasites analogues, qui se rencontrent dans les

lésions ulcéreuses de diverse nature, où ils vivent en saprophytes.

Recherche du Tréponème dans les frottis. — Bien des procédés de coloration ont été préconisés; nous indiquerons ici les plus usités et ceux qui donnent les meilleurs résultats.

Méthode de Giemsa. — 1° *Fixer* le frottis par immersion de dix à trente minutes dans l'alcool absolu.

2° Colorer par le colorant de Giemsa : préparer le mélange suivant :

Azur II. Éosine	3 grammes.
Azur II	0gr,8
Glycérine	250 grammes.
Alcool méthylique	250 —

Verser dans un tube de Borrel ce colorant dilué dans les proportions suivantes :

Liquide de Giemsa	XXXV gouttes.
Eau distillée	20 cent. cubes.

Y plonger la lame à colorer et la laisser séjourner pendant vingt-quatre heures.

3° Laver à l'eau propre. Sécher. Examiner à l'immersion. Les Tréponèmes sont colorés en violet clair.

Cette recherche demande une grande attention, car les Tréponèmes sont souvent peu abondants et, par leur teinte pâle, passent facilement inaperçus.

Tel est le *procédé lent*. Il existe un *procédé rapide*; c'est le suivant :

Même fixation. Coloration pendant deux heures dans le mélange ci-dessous :

Liquide de Giemsa	X gouttes.
Solution de carbonate de soude à 1 p. 100	X —
Eau distillée	10 cent. cubes.

Après lavage à l'eau et séchage, on peut observer.

Enfin, Preiss, Giemsa préconisent encore un autre procédé rendu rapide par l'*action de la chaleur*. Voici celui que conseille Giemsa :

1° Fixer par la chaleur (flamme d'un bec Bunsen).

2° Verser sur la lame la solution du procédé rapide.

3° Chauffer la lame jusqu'à émission de vapeurs (éviter l'ébullition).

4° Verser le liquide usagé ; le remplacer par du liquide neuf. Répéter cette opération trois fois ; à la dernière, prolonger la coloration pendant trente à soixante secondes.

5° Laver, sécher, examiner.

Méthode de Marino. — Ce procédé n'est qu'un dérivé de celui de Giemsa. Préparer deux solutions :

Solution A. —	Alcool méthylique	100 grammes.
	Poudre de Marino	0gr,25

Solution B. — Eau distillée..... 200 grammes.
Éosine de Höchst..... 0gr,01

1° Laisser sécher le frottis. *Ne pas fixer.*
2° Verser sur la préparation plusieurs gouttes de solution A. Laisser en contact cinq à dix minutes.
3° Rejeter le colorant; sans laver, déposer quelques gouttes de solution B ; laisser agir trois à cinq minutes.
4° Laver, sécher, observer.

Les Tréponèmes présentent une teinte violet pâle.

Cette méthode a l'inconvénient de déterminer des précipités qui masquent plus ou moins les détails de la préparation.

Méthodes au violet de gentiane. — Oppenheim et Sachs font agir sur des frottis séchés, mais non fixés, la solution de violet de gentiane. On chauffe jusqu'à émission de vapeurs.

Herscheimer emploie la fixation à l'alcool et la coloration avec une solution de violet de gentiane saturée à chaud et filtrée. La coloration dure quinze minutes. Laver à l'eau, sécher et observer.

Méthodes basées sur un mordançage préalable. — Avec ces méthodes, la coloration s'effectue après l'action d'un mordant.

Méthode de Proca et Vasilescu. — 1° Fixer par l'alcool.
2° Mordancer par la solution A pendant dix minutes à froid.

Solution A. — Acide phénique pur..... 50 grammes.
Tanin..... 40 —
Eau..... 100 —
Fuchsine basique..... 2gr,50 dissoute dans
Alcool absolu..... 100 grammes.

Laver, puis colorer avec :

Solution B. — Violet de gentiane en solution alcoolique saturée... 10 cent. cubes.
Acide phénique liquide.... 5 —
Eau distillée..... 100 —

Laver à l'eau, sécher, observer.

Procédé de Löffler. — Il consiste dans le mordançage à l'aide d'une solution arsenicale, avant la coloration par le Giemsa.

On prépare :
1° Une solution à 0,5 p. 100 de malakitgrunkrystallchlorzink ;
2° Une solution à 0,5 p. 100 d'arséniate de soude ;
3° Une solution à 0,5 p. 100 de glycérine pure.
Fixer par l'alcool-éther.
Mordancer avec le mélange formé de :
III gouttes de la solution arsenicale (B).
I goutte de la solution de vert-malachite (A).

En verser quelques gouttes sur la lame que l'on maintient sur la veilleuse jusqu'à production de légères vapeurs.

Laver avec un jet d'eau assez fort.

Colorer en versant sur la lame un mélange bouillant formé de :

Solution glycérinée (C)	5 centimètres cubes.
Solution de Giemsa.....	V à X gouttes.

Chauffer ce mélange à ébullition, le verser à chaud sur la préparation. Laisser agir cinq minutes, puis laver à l'eau.

Méthode de Borrel et Burnet. — Le procédé suivant donne une excellente coloration du spirochète et même de ses cils :

Exciser un petit fragment de tissu pathologique (chancre, papule, etc.). Le porter successivement sur plusieurs lames où l'on a déposé une goutte d'eau distillée. Gratter le tissu avec une pointe de bistouri : le produit de raclage se répand dans la goutte. Laisser sécher.

Mordancer en versant sur la lame quelques gouttes du mordant de Löffler.

Solution aqueuse de tanin à l'éther 1 p. 5.....	10 cent. cubes.
— — de sulfate ferreux saturée à froid.....	5 — —
— — saturée de fuchsine dans l'alcool absolu.....	1 cent. cube.

Chauffer doucement jusqu'à production de vapeurs. On répète ce mordançage trois à quatre fois de suite. Laver à l'eau.

Verser quelques gouttes de fuchsine de Ziehl et chauffer de nouveau jusqu'à émission de vapeurs.

Laver, sécher, observer.

Méthode de Ravaut. — Elle est basée sur l'emploi de l'*albuminate d'argent* ou *largine*.

1° Fixer par alcool méthylique, ou encore par les vapeurs d'acide osmique.

2° Immerger la lame dans un tube de Borrel fermé, contenant la solution suivante :

Largine de Lilienfeld.....	2 grammes.
Eau distillée.....	100 cent. cubes.

Mettre le tout à l'étuve à 55° pendant deux heures.

3° Retirer la lame, sans la laver ; la plonger dans une solution d'acide pyrogallique à 5 p. 100 pour obtenir une réduction qui s'effectue instantanément.

4° Laver à l'eau, immerger à nouveau dans la solution de largine portée pendant trente minutes à 55°, puis dans le bain d'acide pyrogallique.

5° Laver, sécher, observer.

Le Spirochète de la syphilis est teinté en brun foncé.

Recherche et coloration dans les coupes. — Dans les coupes, la différenciation du Tréponème s'obtient difficilement; elle ne s'opère que grâce aux méthodes d'*imprégnation argentique* que Van Ermenghen avait utilisées pour la mise en évidence des cils microbiens. Bertarelli, Volpino et Bovero ont montré que dans ces conditions les Spirochètes se colorent en brun ou en noir dans les tissus. Peu après, Levaditi obtint des résultats meilleurs par l'emploi de la méthode d'imprégnation indiquée par Ramon y Cajal pour la coloration des fibrilles nerveuses.

Technique de Levaditi. — 1° Des fragments d'organes ayant environ 1 millimètre d'épaisseur sont fixés dans du formol à 10 p. 100 pendant vingt-quatre heures.

2° Lavage et durcissement dans l'alcool à 96° pendant vingt-quatre heures.

3° Lavage à l'eau distillée pendant quelques minutes jusqu'à ce que les fragments tombent au fond du récipient.

4° Imprégnation à l'aide d'une solution de nitrate d'argent à 1,5 ou 3 p. 100 (cette dernière concentration est préférable pour les tissus prélevés sur le vivant). Placer les flacons à l'étuve à 38° pendant trois à cinq jours.

5° Lavage à l'eau distillée pendant quelques minutes, puis réduction à la température de la chambre, pendant vingt-quatre à quarante-huit heures, avec la solution réductrice suivante (développateur) :

Acide pyrogallique.....	2 à 4 p. 100
Formol (solution à 40 p. 100).....	5 cent. cubes.
Eau distillée.....	100 — —

6° Lavage à l'eau distillée, puis déshydratation à l'alcool, puis au xylol; inclusion dans la paraffine. Coupes.

On peut examiner les coupes directement. Les Spirochètes se détachent en noir ou en brun foncé sur le fond jaune des tissus (fig. 294). La coloration des cellules par un colorant d'aniline donne un contraste plus parfait; on aura recours à l'un des procédés suivants :

1° Colorer pendant quelques minutes avec le mélange de Giemsa.

Laver à l'eau. Différencier par l'alcool absolu additionné de quelques gouttes d'essence de girofle, essence de bergamote, xylol, baume de Canada.

2° Colorer pendant quelques minutes avec une solution concentrée de bleu de toluidine. Différencier à l'alcool additionné de quelques gouttes du mélange éther-glycérine (Unna), essence de bergamote, xylol, baume de Canada.

Par ces colorations complémentaires, les noyaux cellulaires se colorent en bleu, et le protoplasma prend une coloration brun verdâtre clair, sur laquelle les Spirochètes se détachent plus nettement.

Levaditi et Manouélian ont encore perfectionné la méthode d'imprégnation et préconisent actuellement la technique suivante :

1°, 2°, 3° Comme ci-dessus.
4° Imprégnation dans le bain suivant :

Solution de nitrate d'argent à 1 p. 100....	100 grammes.
Pyridine.....	10 —

La pyridine est ajoutée au moment de l'emploi. C'est un produit d'odeur pénétrante qui ne doit être manipulé que sous la hotte.

Le bain d'imprégnation est disposé avec la pièce dans un flacon bouché à l'émeri et pendant quatre à six heures à l'étuve à 40° à 50°.

Ces indications s'appliquent en particulier à la recherche des Spirochètes dans les parois du chancre.

On lave rapidement dans une solution de pyridine à 10 p. 100.

On réduit dans le bain suivant :

Solution d'acide pyrogallique à 4 p. 100...	100 grammes.
Acétone.....	10 —
Pyridine.....	15 —

La réduction s'opère au bout de quelques heures.

Monter dans la paraffine ou la celloïdine.

Couper et monter après coloration au bleu de Unna ou au bleu de toluidine.

La coloration des Spirochètes et des tissus est la même que dans la méthode précédente, mais le nombre des Spirochètes imprégnés est plus grand.

Inoculation à l'animal.

Dans les cas où le diagnostic reste en suspens, cas où l'observation microscopique ne donne pas de résultat définitif, on peut recourir à l'inoculation à l'animal.

Utiliser de préférence, en raison de leur prix peu élevé, les singes inférieurs, macaques notamment. On les inoculera suivant la méthode de Thibierge et Ravaut, au niveau du bord libre de la paupière supérieure. En cas de syphilis, on observera les lésions décrites plus haut (p. 745).

Ou bien on aura recours à l'inoculation intra-oculaire chez le lapin, suivant le procédé de Bertarelli (Voy. p. 746).

Ces méthodes ont toutefois l'inconvénient de donner des résultats tardifs, car il faut attendre la fin de la période d'incubation.

Les épreuves de sérodiagnostic semblent préférables à cet égard, car elles sont susceptibles de renseigner plus rapidement.

Sérodiagnostic.

Le sérodiagnostic de la syphilis est né du jour où Wassermann, Neisser et Brück, utilisant la méthode de Bordet-Gengou, ont montré que l'antigène syphilitique pouvait fixer le complément en présence de sérum de syphilitiques.

Réaction de Wassermann par fixation du complément. — ***Technique.*** — On prépare tout d'abord le matériel suivant :

Préparation de l'antigène. — L'antigène syphilitique peut être obtenu de plusieurs façons :

a. *Extrait de foie de nouveau-né hérédo-syphilitique.* — On sait qu'un tel foie est très riche en Tréponèmes. Pour le préparer, on coupe le tissu en petits fragments, que l'on broie dans un mortier ou dans le broyeur Latapie.

On en met à macérer 1 partie pour 4 parties d'eau physiologique phéniquée à 5 p. 1 000 ; puis on soumet la macération pendant vingt-quatre heures à l'action d'un agitateur mécanique.

Décanter, centrifuger.

Le liquide clair obtenu est l'extrait qui servira d'antigène.

Certains auteurs recueillent la bouillie obtenue après broyage, la dessèchent dans le vide ; on obtient ainsi une poudre brunâtre, que l'on peut conserver et qui garde longtemps ses propriétés d'antigène.

Pour s'en servir, on émulsionne 1 gramme de cette poudre dans 30 centimètres cubes d'eau physiologique.

Après vingt-quatre heures de contact, on centrifuge ; le liquide obtenu sert d'antigène.

b. *Extrait alcoolique.* — Landsteiner a préparé un extrait alcoolique : on émulsionne 1 partie de la poudre précédente dans 30 parties d'alcool absolu ; l'émulsion est abandonnée pendant quarante-huit heures dans un flacon bouché à l'émeri (on doit agiter fréquemment), puis filtrée sur papier.

Quand on veut s'en servir, on ajoute à cet extrait alcoolique dix fois son volume d'eau.

c. *Extrait d'organes non syphilitiques.* — L'expérience montre qu'on peut utiliser comme antigène l'extrait d'organes non syphilitiques.

On emploie de préférence l'extrait de foie, de cœur de cobaye, etc.

d. *Antigène de Desmoulières.* — Il est constitué par de la cholestérine pure dissoute dans une macération alcoolique de poudre de foie épuisée par l'éther :

Cholestérine pure.....	1 gramme.
Solution de lécithine (0gr,50) dans Q. S. d'alcool absolu pour faire 100 cent. cubes.	10 cent. cubes.
Solution de 37 gr. de savon de soude sec dans 1 000 cent. cubes d'alcool à 60°....	3 —
Alcool absolu..... Q. S. pour faire	100 —

Préparation de l'anticorps. — L'anticorps à préparer est le sérum du sujet suspect de syphilis.

Après prélèvement (ponction de veine ou ventouse) et coagulation, on le chauffe à 56° pendant trente minutes.

On peut se servir aussi, en certaines circonstances (paralysie générale), du liquide céphalo-rachidien, dont le chauffage est inutile, puisqu'il ne contient pas d'alexine.

Préparation du complément ou alexine. — L'alexine est du sérum de cobaye, recueilli la veille et dosé comme il a été dit (p. 74).

Préparation du système hémolytique. — On utilise du sérum mouton-lapin, chauffé à 56° pendant trente minutes et bien dosé, et de globules de moutons lavés à l'eau physiologique.

Dispositif de la réaction. — Dans un porte-tubes, on dispose plusieurs séries de tubes (fig. 297), où l'on verse successivement les divers produits précédents en quantité optima déterminée par un dosage préalable.

Pour effectuer la réaction dans toutes les conditions de rigueur possibles, on utilisera :

1° Une série de tubes pour le sérum à expertiser.

2° Une série de tubes pour du sérum normal.

3° Une série de tubes pour du sérum syphilitique déjà éprouvé par une réaction antérieure, cette série devant servir de témoins.

4° Une série de tubes témoins, tous sans sérum, l'un avec, l'autre sans alexine.

La réaction étant ainsi préparée, on mélange alors soigneusement le contenu de chaque tube, et l'on porte le tout à l'étuve à 37° pendant deux heures.

Après ce séjour, on ajoute dans chaque tube le système hémolytique (sérum mouton-lapin et hématies lavées de mouton).

Nouveau séjour à l'étuve pendant une heure, puis à la glacière jusqu'au lendemain, où l'on observe les résultats.

Le tableau suivant indique mieux que toute description la disposition de l'expérience, les doses à employer et les résultats qu'on doit obtenir en général :

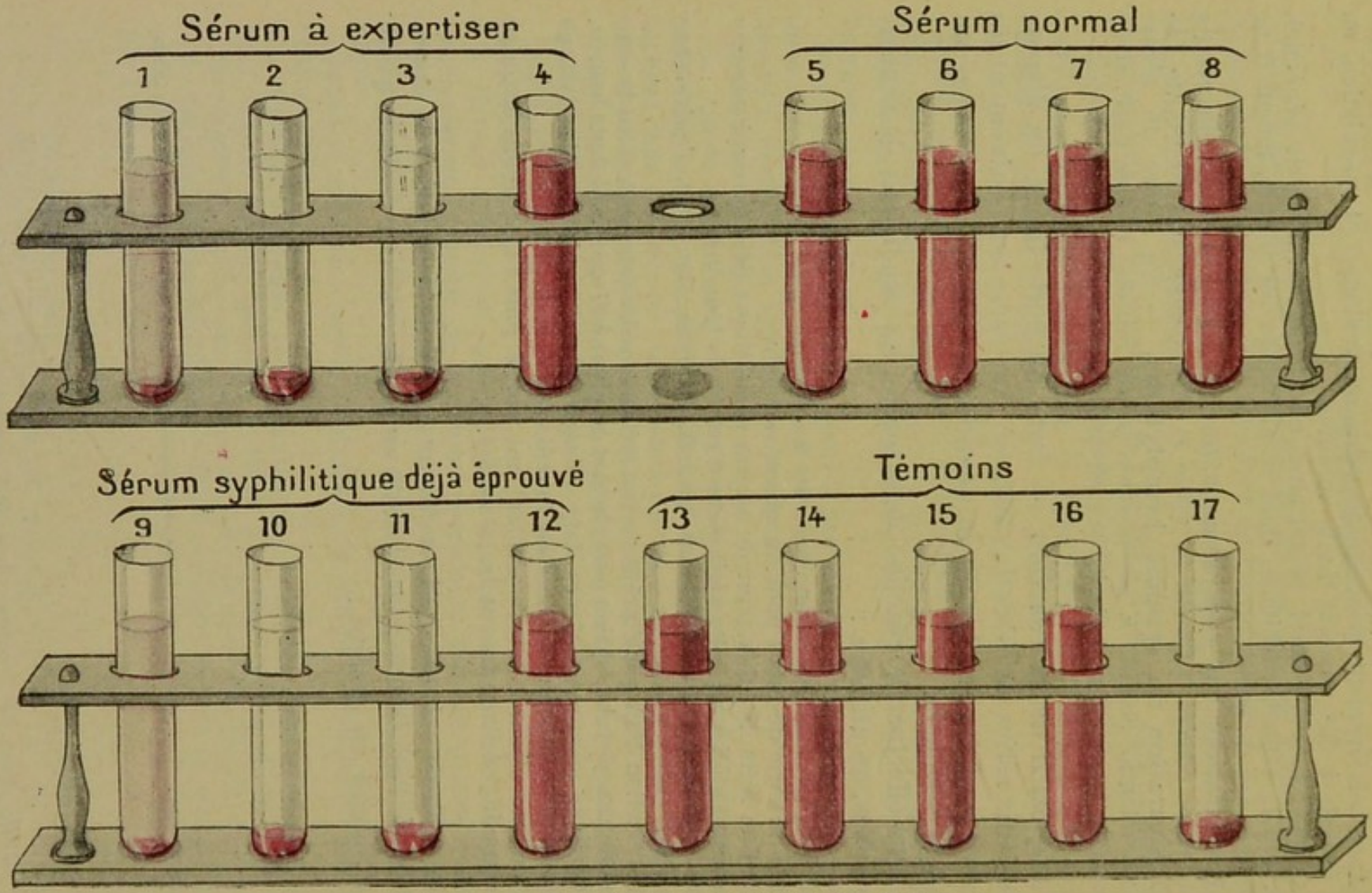


Fig. 297. — Dispositif de la réaction de Wassermann.

		Antigène.	Sérum à expertiser.	Sérum normal.	Sérum de syphilitique éprouvé.	Alexine.	Eau physiologique à 8 p. 1 000.	SYSTÈME hémolytique. Globules rouges de mouton.	SYSTÈME hémolytique. Amboceptеur.	RÉSULTATS.
Sérum à expertiser.	1	0,1	0,2	—	—	0,1	1,5	0,1	1	Hémol. partielle.
	2	0,2	0,2	—	—	0,1	1,4	0,1	1	Hémolyse = 0
	3	0,3	0,2	—	—	0,1	1,3	0,1	1	Hémolyse = 0
	4	—	0,2	—	—	0,1	1,6	0,1	1	Hémolyse = +
Sérum normal.	5	0,1	—	0,2	—	0,1	1,5	0,1	1	Hémolyse = +
	6	0,2	—	0,2	—	0,1	1,4	0,1	1	—
	7	0,3	—	0,2	—	0,1	1,3	0,1	1	—
	8	—	—	0,2	—	0,1	1,6	0,1	1	—
Sérum syphil. éprouvé.	9	0,1	—	—	0,2	0,1	1,5	0,1	1	Hémol. partielle.
	10	0,2	—	—	0,2	0,1	1,4	0,1	1	Hémolyse = 0
	11	0,3	—	—	0,2	0,1	1,3	0,1	1	Hémolyse = 0
	12	—	—	—	0,2	0,1	1,6	0,1	1	Hémolyse = +
Témoins.	13	0,1	—	—	—	0,1	1,7	0,1	1	Hémolyse = +
	14	0,2	—	—	—	0,1	1,6	0,1	1	—
	15	0,3	—	—	—	0,1	1,5	0,1	1	—
	16	—	—	—	—	0,1	1,8	0,1	1	—
	17	—	—	—	—	—	1,9	0,1	1	Hémolyse = 0

D'après les données générales établies plus haut (p. 75), la réaction est positive quand l'antigène a fixé le complément et que l'hémolyse, empêchée, est nulle. Mais pour pouvoir affirmer ce résultat, il faut que dans les autres séries de tubes les résultats soient corrects, montrant par les « témoins » que la réaction a été bien effectuée.

Valeur diagnostique. — Des innombrables recherches effec-

tuées avec cette réaction pour le diagnostic de la syphilis, on a déduit les données suivantes :

Dans les cas de syphilis avérée, la réaction est positive dans 70 à 90 p. 100 des cas ; chez les sujets non syphilitiques, la réaction est nulle (réserve doit être faite cependant pour la lèpre et la scarlatine, où l'on peut observer 6 à 8 p. 100 de résultats positifs).

Dans la **syphilis primaire, avant l'apparition de la roséole**, la proportion des cas positifs ne s'élève qu'à 40 à 45 p. 100.

Dans la **période secondaire, après l'apparition de la roséole**, le taux s'élève à 80 p. 100 en moyenne.

Dans la **syphilis tertiaire**, il atteint encore 80 à 85 p. 100. C'est dire tout l'intérêt et toute l'importance pratique qui s'attachent à cette réaction, pour éclairer la nature de lésions difficiles à diagnostiquer.

Dans la **syphilis latente**, son importance peut être plus grande encore, car la réaction permet de dépister l'infection, qui, au point de vue clinique pur, reste méconnue ; on note en moyenne 50 p. 100 de résultats primitifs.

Il est vrai d'ajouter, et ceci ressort de la lecture des pourcentages précédents, que, même en cas de syphilis avérée, la *réaction peut rester négative*. C'est une loi connue en biologie qu'une réaction négative ne permet par d'écarter d'une façon absolue le diagnostic de l'affection pour laquelle la réaction est cherchée. On peut donc conclure que :

1° Une réaction de Wassermann positive impose le diagnostic de syphilis ;

2° Une réaction négative ne le contre-indique pas.

Une application intéressante de la réaction de Wassermann a été faite par Levaditi, Ravaut et Yamanouchi au **diagnostic des syphilis nerveuses et des accidents parasyphilitiques** (tabes et paralysie générale) en recherchant les anticorps dans le *liquide céphalo-rachidien*.

Dans le *tabes*, la réaction donne en moyenne 50 à 70 p. 100 de résultats positifs ; dans la *paralysie générale*, 90 à 95 p. 100 ; dans la *syphilis cérébro-spinale*, 40 p. 100. La réaction s'effectue comme avec le sérum, mais il faut 1 centimètre cube de liquide céphalo-rachidien pour l'obtenir.

Influence du traitement sur la réaction. — Sous l'influence du traitement mercuriel, la réaction de Wassermann disparaît dans un certain nombre de cas, mais pour reparaître parfois dans un délai plus ou moins éloigné. En d'autres, elle reste immuable.

A la suite du traitement par l'arséno-benzol, dans la grande

majorité des cas, la réaction devient négative; celle-ci disparaît d'autant plus rapidement que la dose du médicament injecté a été plus élevée. Les récidives sont habituellement précédées par un retour de la réaction à l'état positif.

Par contre, il arrive en certains cas que, sous l'influence de ce traitement, une réaction négative devient positive quelques jours après l'injection de *606* ou d'*hectine*. C'est ce que Milian a nommé la *réactivation biologique de la réaction de Wassermann*.

Critique de la spécificité de la réaction. — On a vu plus haut que l'extrait de foie syphilitique peut être remplacé par l'extrait hépatique non syphilitique, voire même par l'extrait d'autres organes normaux, notamment le cœur de cobaye; les résultats de la réaction ne changent pas. Ces constatations de Levaditi et Yamanouchi, Armand Delille, etc., étaient de nature à faire dénier à la réaction tout caractère de spécificité.

Les recherches ultérieures de Levaditi, Eisler, Porges et Meier, Landsteiner, etc., montrèrent que les lécithines en solution alcoolique provenant de l'extrait hépatique, de même aussi des sels biliaires (taurocholate et glycocholate de soude à 1 p. 100), l'antigène de Desmoulières fixaient le complément en présence de sérums syphilitiques.

Dans ces conditions, on ne saurait invoquer, dans l'épreuve de Wassermann, l'action d'un antigène, ni d'anticorps syphilitiques dans le sens habituel de l'expression. Pour Levaditi et Yamanouchi, la réaction serait due à l'existence, dans le sérum des syphilitiques, de certaines substances colloïdales qui précipitent en présence des sels biliaires et des lipoïdes du foie et assurent la fixation du complément hémolytique.

De nombreuses hypothèses ont été soulevées par ces faits, sans qu'on ait pu arriver à résoudre le problème et à donner une interprétation exacte du phénomène. L'explication importe, d'ailleurs, fort peu; les résultats de l'observation montrent nettement que, quel que soit le mécanisme de la réaction de Wassermann, celle-ci conserve une valeur pratique de la plus grande importance.

Autres procédés. — Une série d'autres procédés ont été décrits pour obtenir plus rapidement un séro-diagnostic de la syphilis. Les uns sont dérivés directement de la réaction de Wassermann et ont pour but de la simplifier; les autres relèvent de propriétés biologiques diverses des sérums syphilitiques.

Procédés de simplification de la réaction de Wassermann. — Signalons les **procédés de Bauer et de Hecht**, qui utilisent le com-

plément et l'ambocepteur normalement contenus dans le sérum humain.

Le **procédé de Levaditi et Latapie** est basé sur ces méthodes. La réaction doit être effectuée au plus tard le lendemain de la récolte du sang. Le sérum non chauffé contient ainsi sûrement le complément, on verse dans les tubes l'eau salée (à 8 p. 1 000, stérilisée) à raison de 0cc,2 dans le premier tube, 0cc,1 dans le second et 0cc,3 dans le troisième. Puis on ajoute dans le premier tube 0,1 d'antigène titré et dans le second 0,2 du même antigène. Enfin on verse 0cc,1 de sérum du malade dans chacun des trois tubes ; *agiter* et placer les tubes à l'étuve (37°). Après *une heure et demie* de séjour, on les retire et on ajoute à chacun d'eux 0cc,1 d'une émulsion de sang de mouton (5 centimètres cubes de sang pour 100 centimètres cubes d'eau salée isotonique); replacer les tubes à l'étuve ; on lit les résultats *lorsque l'hémolyse est complète dans le troisième tube témoin.*

SÉRUM.	EAU SALÉE.	ANTIGÈNE.	SÉRUM frais du malade.	Une heure et demie à 37°.	SANG de mouton 5 : 100.	RÉSULTAT. Hémolyse.
Positif.	0,2	0,1	0,1		0,1	0
	0,1	0,3	0,1		0,1	0
	0,3	—	0,1		0,1	Hémolyse. *Tube témoin.*
Négatif.	0,2	0,1	0,1		0,1	Hémolyse.
	0,1	0.2	0,1		0,1	Hémolyse.
	0,3	—	0,1		0,1	Hémolyse. *Tube témoin.*

Avec cette technique, dans la grande majorité des cas, l'expérience est nette ; l'hémolyse est nulle dans les tubes 1 et 2 ; dans le tube 3, l'hémolyse est complète. Le résultat est alors positif.

Toutefois, il arrive que le sang ne se dissout pas dans le premier tube : c'est que le sérum ne renferme pas assez de complément ou d'ambocepteur hémolytique pour les hématies du mouton.

On remédie à ces inconvénients de la façon suivante :

1° On commence par supposer que le sérum est trop pauvre en ambocepteur (peut-être même complètement dépourvu). Dans ce cas, on se servira des *mêmes tubes*, et on ajoutera dans chacun d'eux 0cc,1 d'*ambocepteur lapin-mouton* préalablement titré. Les tubes seront placés de nouveau à 37°, et on lira le résultat après vingt à trente minutes. Si l'absence d'hémolyse est réellement due à l'absence ou à l'insuffisance de l'ambocepteur, le deuxième tube ne tardera pas à s'hémolyser. Le résultat sera *positif* ou *négatif*, suivant que dans les premiers tubes l'hémolyse sera *nulle* ou *complète*.

2° *Mais si le troisième tube témoin n'hémolyse pas, malgré l'adjonction de l'ambocepteur, c'est que, très probablement, le sérum du malade manque de complément.* Il faudra donc le *compléter* en ayant recours au complément de cobaye. On disposera l'expérience comme dans le tableau I, en ayant soin d'ajouter à chaque tube, en plus des ingrédients men-

tionnés dans ce tableau, *0cc,1 de complément de cobaye (sérum frais) dilué au cinquième* (une partie sérum + 4 parties eau salée). Avec cette modification, l'expérience doit fournir un résultat précis ; si elle ne réussit pas, c'est que le sérum contient des substances anti-hémolytiques, et que nul autre procédé, même le Wassermann type, ne pourra nous renseigner sur sa valeur, au point de vue du séro-diagnostic de la syphilis.

En général, la première modification fournit des indications précises dans plus de 90 p. 100 des cas, de sorte qu'on n'est obligé de recourir au complément de cobaye que 2 à 3 fois sur 100.

Procédé de Noguchi. — Noguchi emploie un système hémolytique antihumain (au lieu d'antimouton) ; le complément et l'ambocepteur hémolytique sont représentés par des papiers d'une surface déterminée, imbibés de chacune de ces substances, chaque carré de papier en contenant toujours une quantité fixe. Les globules sanguins sont ceux du malade.

Les résultats que donne cette méthode sont semblables à ceux de la méthode primitive de Wassermann.

Procédés chimiques. — **Procédé de Porgès.** — Porgès mélange dans des tubes 0cc,2 du sérum à examiner avec 1 centimètre cube d'une émulsion de lécithine à 1 p. 100. On porte ce mélange pendant cinq heures à l'étuve à 37°. Dans les cas positifs, il se forme, d'après l'auteur, un précipité débutant par la surface. La plupart des sérums syphilitiques donneraient un résultat positif ; cette opinion a été contredite par plusieurs auteurs.

Porgès a proposé encore de remplacer la lécithine par le glycocholate de soude.

Procédé de Klaussner. — A 0cc,2 de sérum, Klaussner ajoute 0cc,7 d'eau distillée. Après quelques heures de séjour à la température ordinaire, un précipité se formerait si le sérum est syphilitique. Mais les résultats sont très inconstants.

Ces procédés chimiques ne donnent pas de résultats aussi certains que la séro-réaction de Wassermann, qui garde donc toute sa valeur.

Agglutination du Tréponème. — D'après Jeanselme et Touraine, le diagnostic de la syphilis pourrait être assuré par la recherche de l'agglutination, en opérant de la façon suivante :

On racle des plaques muqueuses riches en Tréponèmes. Le produit de raclage est placé en lame et lamelle dans le sérum à examiner. Les Tréponèmes sortent du tissu pour se répandre dans le sérum. Si ce sérum est syphilitique, les Tréponèmes présentent une mobilité anormale ; les mouvements deviennent convulsifs et les germes prennent des formes variées. Peu après, certaines s'incurvent et réunissent leurs extrémités ; puis l'agglutination se produit, les amas revêtant une disposition stellaire.

Faible à la période du chancre, cette agglutination devient plus forte à la période secondaire pour faiblir à nouveau à la période tertiaire.

Cuti-réaction.

Noguchi a récemment fait connaître un procédé de diagnostic, calqué sur la cuti-réaction à la tuberculine de Von Pirquet (Voy. p. 677) ; c'est la *luétine-réaction*, ou cuti-réaction obtenue à l'aide

de cultures de Tréponèmes, tuées à 60° (luétine). On injecte par la voie dermique 7 centièmes de centimètre cube d'un mélange de Tréponèmes de diverses origines. Voici comment la réaction se présente :

Chez les sujets *non syphilitiques*, vingt-quatre heures après la piqûre, apparaît un léger érythème qui disparaît en quarante-huit heures. Telle est la réaction *négative*.

Chez les *syphilitiques*, quand la réaction est *positive*, elle revêt trois aspects :

Forme papuleuse : papule rouge, indurée, surélevée, de 7 à 10 millimètres de diamètre, disparaissant en général en sept à dix jours, parfois deux à trois semaines.

Forme pustuleuse : tout d'abord une papule indurée se développe, puis, après quatre à cinq jours, une véritable pustule, accompagnée de prurit. Cette pustule se rompt, se recouvre d'une croûte écailleuse qui tombe ultérieurement, laissant au-dessous d'elle une petite cicatrice avec pigmentation durant plusieurs mois.

Forme torpide : caractérisée par la lenteur de l'apparition de l'élément papuleux puis pustuleux, au bout de deux à trois semaines après l'injection.

D'après les faits recueillis jusqu'alors, la luétine-réaction est absente lors des accidents primitifs et secondaires ; elle est presque constante dans les « cas chroniques ou latents » et dans la syphilis héréditaire. Elle est inconstante dans la syphilis cérébro-spinale, le tabes et la paralysie générale ; dans cette dernière, elle semble être négative si le processus syphilitique est en évolution.

Les résultats de cette réaction sont indépendants de ceux que donne la réaction de Wassermann. Elle peut manquer, alors que cette dernière est positive, et inversement. D'autre part, sous l'influence du traitement spécifique, alors que la réaction de Wassermann diminue, la luétine-réaction persiste et même augmente.

Avec la *syphiline* (extrait de foie syphilitique), Nicolas et Favre auraient obtenu des réactions nettes dans les cas de syphilis avérée.

Lœper, Desbouis et Durieux ont employé, en intradermo-réaction, le *glycocholate de soude* (I à II gouttes d'une solution à un vingtième et à un cinquantième). A un cinquantième, des sujets non syphilitiques ne présentent aucune réaction. Chez les syphilitiques, on obtiendrait au point d'inoculation un érythème lenticulaire, ou un nodule saillant, gros comme un grain de millet ou une lentille.

ESSAIS DE VACCINATION.

Roux et Metchnikoff firent des essais de vaccination sur le chimpanzé et l'orang-outang à l'aide d'un virus ayant subi plusieurs passages sur le bonnet chinois, et dont ils pouvaient supposer l'atténuation. Ce virus, inoculé au chimpanzé, détermina de petits chancres très minimes qui ne furent suivis d'aucun accident secondaire. Un chimpanzé inoculé ultérieurement avec un virus humain resta réfractaire.

Les résultats de cette expérience étaient encourageants, mais des essais ultérieurs, répétés sur la même base, restèrent négatifs.

Les tentatives faites avec du virus chauffé à 48° pendant une demi-heure, avec des produits gommeux, restèrent inefficaces.

La question n'est donc pas encore résolue.

ESSAIS DE SÉROTHÉRAPIE.

Plusieurs auteurs ont tenté d'obtenir un sérum antisyphilitique en injectant au cheval du sang (Neisser), du sérum (Finger et Landsteiner) de syphilitique. Ces essais demeurèrent infructueux.

Roux et Metchnikoff, utilisant le fait connu que les singes inférieurs contractent facilement le chancre et en guérissent en peu de temps, pensaient obtenir avec ces animaux un sérum plus actif. Ils inoculèrent à des macaques du virus syphilitique donnant lieu à la lésion initiale, puis, plus tard, sous la peau, du sang entier de syphilitique en pleine roséole ; ils firent des essais thérapeutiques avec le sérum des singes ainsi traités. Voici les résultats obtenus :

1° Le mélange *in vitro* de virus et de sérum est quelquefois inoffensif ;

2° Le sérum, en injection sous-cutanée, n'a présenté aucune action sur le virus déjà introduit dans l'organisme.

Tous les essais de sérothérapie n'ont donc abouti qu'à des insuccès.

CHAPITRE LX

SPIRILLE DE LA FIÈVRE RÉCURRENTE

En 1868, Obermeier, à Berlin, examinant le sang de sujets atteints de typhus récurrent, y découvrait un spirille, auquel il attribua un rôle spécifique dans l'étiologie de cette affection.

Cette découverte fut confirmée par de nombreux auteurs, qui

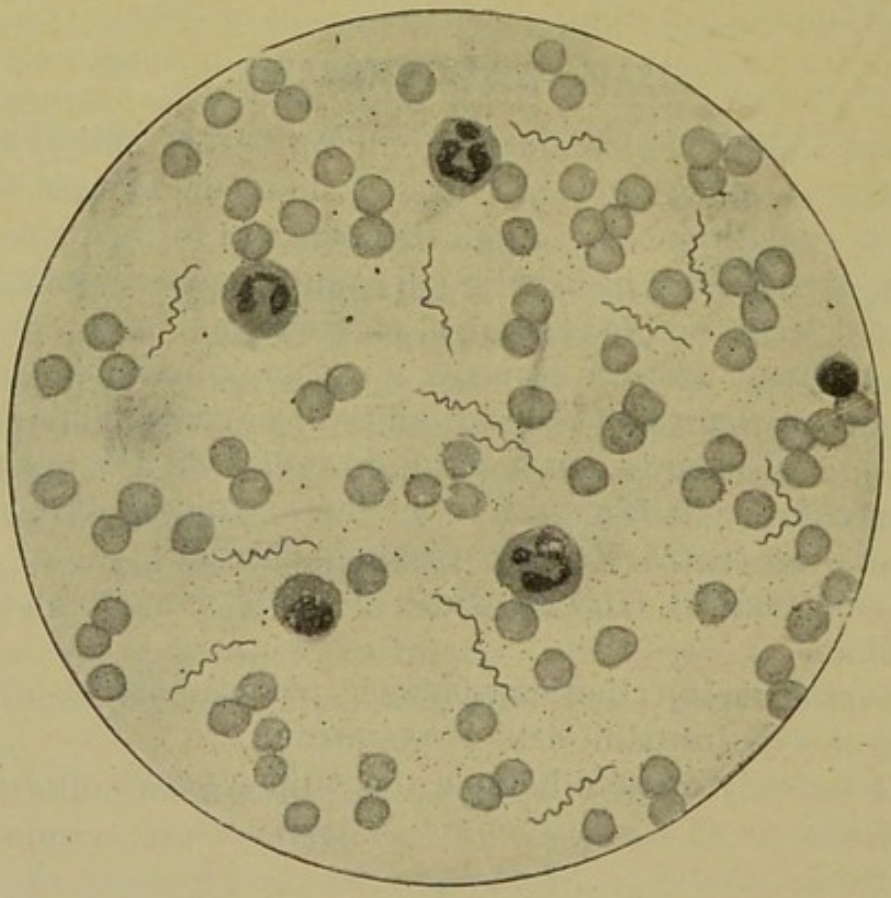


Fig. 298. — Spirilles d'Obermeier dans le sang.

observèrent des fièvres récurrentes en maintes régions du globe ; en Europe (Russie, Allemagne, Turquie, Irlande) ; en Asie (Perse, Inde, Chine, Indo-Chine) ; en Afrique orientale, où Dutton, Todd, Koch lui donnèrent le nom de *tick-fever*, car, au lieu d'être propagée par les insectes cuticoles comme dans les régions précédentes, elle l'était par l'intermédiaire des tiques ; en Afrique septentrionale (Lafforgue,

en Tunisie; Ed. Sergent et Foley, en Algérie); en Amérique (États-Unis, surtout).

Mais à la faveur des nombreuses recherches dont cette maladie fut l'objet, on décrivit des différences entre les parasites observés, différences minimes, il est vrai, qui n'arrivèrent pas à en faire des espèces distinctes, mais des races d'une seule et même espèce.

On a ainsi distingué : *Spirillum Obermeieri* (virus russe) ; *Spirillum Carteri* (virus de Bombay) ; *Spirillum de la tick-fever* (virus de Koch, de Dutton, etc.) ; *Spirillum Novyi* (virus de New-York) ; *Spirillum du Tonkin* (Mathis et Léger) ; *Spirillum berbera* (virus d'Algérie, Sergent et Foley).

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Les divers échantillons de spirilles observés sont des filaments délicats, à extrémités effilées, spirales présentant entre quatre et quinze spires. Ils sont longs de 8 à 10 μ, sur environ 0 μ,25 à 0 μ,30 de large. Les formes plus longues qui ont été décrites paraissent résulter de l'accolement bout à bout de plusieurs parasites. La longueur d'un tour de spire varie de 2 μ,5 à 3 μ.

Dans le sang examiné à l'*état frais*, ces spirilles sont très mobiles et repoussent les globules rouges ; ils présentent des mouvements divers : mouvements de translation, mouvements de vrille, quand les tours de spires sont resserrés, mouvements d'ondulation et de flexion quand ils sont relâchés, ce qui se produit, d'après Ed. Sergent et Foley, vers la fin des accès fébriles, alors que les parasites semblent subir un stade dégénératif. Ces divers mouvements peuvent s'observer, entre lame et lamelle, pendant plus de vingt-quatre heures, à une température moyenne de 14° à 15°.

La *coloration* permet d'étudier davantage leur morphologie (fig. 298) et les figures de division.

Quand ils ne sont pas altérés, leur substance est uniforme. Vers la fin des accès, ils présentent parfois un aspect granuleux ou vacuolaire.

D'après Metchnikoff et Koch, ils se divisent transversalement. Quand ils deviennent abondants dans le sang du malade, on les voit *s'agglutiner* (fig. 299). Ils s'enchevêtrent, s'entortillent par deux à trois individus ; parfois même il s'agit d'amas de véritables paquets.

Deux spirilles peuvent se présenter accolés, les spires de l'un s'enclavant dans les spires de l'autre, et faire croire ainsi à une division longitudinale qui n'existe pas.

Carlinski a décrit des cils vibratiles siégeant aux extrémités, sous

forme de bouquets de deux cils. Zettnow a vu, sur le *Spirillum Duttoni*, des cils insérés sur toute sa surface. D'après Novy et Knapp, on ne percevrait sur le *Spirillum Obermeieri* qu'un seul cil et à une seule extrémité. On n'est pas d'accord, actuellement, sur l'existence de ces cils.

Coloration. — Elle peut s'opérer sur les lames de sang étalé et sur les coupes.

Lames de sang étalé. — Les spirilles de la fièvre récurrente se colorent difficilement. On emploie avec avantage le violet aniliné d'Ehrlich, mais en ayant soin de dissoudre préalablement l'hémoglobine. Pour cela : 1° verser sur la préparation de l'eau acétisée à 5 p. 100; laisser en contact pendant trente secondes; 2° faire agir pendant quelques secondes des vapeurs d'ammoniaque et laver à l'eau distillée.

Les spirilles sont colorés en violet, nettement visibles, les globules blancs de même; les hématies sont incolores.

La coloration par le liquide de Giemsa (Voy. *Paludisme et syphilis*) donne de très bonnes préparations.

Coupes. — Nikirof a indiqué un bon procédé de coloration du spirille dans les coupes (de préférence les coupes de rate).

On trempe les coupes pendant vingt-quatre heures dans le colorant suivant :

Solution aqueuse de bleu de méthylène.....	10 cent. cubes.
— alcoolique de tropéoline à 1 p. 100.	1 cent. cube.
— de potasse à 1 p. 10.....	IV gouttes.
Eau distillée.....	10 cent. cubes.

Laver à l'eau, puis à l'alcool-éther; xylol, puis monter.

CULTURES

La culture des spirilles de la fièvre récurrente n'a pu être obtenue que dans certaines conditions.

Signalons les tentatives de Norris, Pappenheimer et Flourney : ils ensemencèrent du sang de rat infecté dans du sang citraté humain ou de rat; après vingt-quatre heures, les spirilles s'étaient multipliés ; mais, après la deuxième génération, les repiquages restèrent négatifs.

Les essais les plus nets sont ceux de Levaditi; dans des sacs de collodion remplis de sang de macaque chauffé à 70°, il ensemence le virus de la *tick-fever*; il insère le sac dans le péritoine d'un lapin ; les cultures sont abondantes. Ces faits furent confirmés par Novy,

qui, avec le virus indien, a pu obtenir vingt générations ; les cultures étaient virulentes pour le rat.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Les propriétés biologiques sont mal connues. On ne possède de renseignements que sur la façon dont se comportent les divers spirilles vis-à-vis du sérum d'animaux immunisés.

Séro-réaction. — Mis en présence du sérum d'un animal vacciné contre un spirille, ce spirille, examiné dans un mélange *in vitro*, subit l'agglutination (fig. 299). *In vivo*, dans le péritoine, il subit une fonte granuleuse ; on réalise ainsi un véritable phénomène de Pfeiffer.

D'après Uhlenhuth et Händel, ces réactions sont spécifiques ; en effet, elles ne sont positives que si le spirille employé pour l'expérience est le même que celui qui a servi d'antigène pour la vaccination de l'animal ; un spirille de race différente donne une réaction négative.

Ce sont ces constatations qui ont surtout contribué à opérer les différenciations entre les diverses races de spirilles.

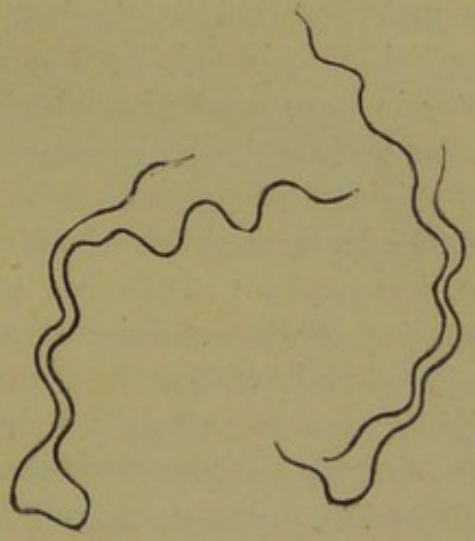


Fig. 299. — Spirilles agglutinés (d'après Ed. Sergent et Foley).

Immunité croisée. — Ces différences individuelles s'observent encore, mais moins nettement, dans les expériences d'immunité croisée.

Breinl a montré en effet que des rats immunisés contre le spirille d'Obermeier étaient néanmoins sensibles, dans la moitié des cas, au spirille africain de Dutton. D'après Strong, des rats vaccinés contre les spirilles d'Obermeier et le spirille de Novy sont réfractaires au spirille de Carter (Bombay), mais sont infectables par celui de Dutton.

Frænkel signale l'absence d'immunité croisée entre deux échantillons de spirilles de la *tick-fever*, l'un isolé par Koch, l'autre par Dutton.

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

Il est facile de conférer expérimentalement la fièvre récurrente au singe, au rat et à la souris ; mais il existe, à cet égard, quelques différences de réceptivité suivant l'origine du virus utilisé. Le lapin et le cobaye sont presque réfractaires.

Chez le singe, le cercopithèque notamment, qui est le plus réceptif, l'inoculation sous-cutanée ou intrapéritonéale du sang d'un homme atteint de fièvre récurrente provoque, après trente-six heures à cinq jours d'incubation, l'éclosion d'accidents fébriles infectieux en tout comparables à ceux que l'on observe en clinique humaine. Certains de ces animaux présentent le cycle évolutif habituel de la maladie humaine, mais la rechute n'est pas constante ; la guérison est la règle.

Mais, pour que l'inoculation soit positive, le prélèvement du sang chez l'homme doit être effectué au cours des accès fébriles, pendant lesquels le spirille existe dans le sang circulant. Pendant les périodes apyrétiques, le spirille disparaît du sang pour se réfugier dans la rate; le sang n'est plus virulent.

Des phénomènes identiques s'observent, d'ailleurs, chez le singe ; les spirilles fourmillent dans le sang pendant l'accès; quand l'accès rétrocède, ils sont très abondants dans la rate, où ils sont inclus dans les leucocytes ; dans ces phagocytes, les spirilles prennent un aspect granuleux et finissent par être digérés complètement (Metchnikoff, Soudakewitch, etc.). La rate joue donc un rôle défensif indéniable dans la pathogénie de la fièvre récurrente : d'ailleurs, chez des singes dératés, Soudakewitch a montré l'absence de phagocytose, l'abondance énorme des spirilles finissant par entraîner la mort.

Chez la souris, l'injection intrapéritonéale du sang humain infecté détermine une fièvre récurrente classique, présentant même deux à trois rechutes, mais elle guérit. Tous les virus ne sont pas capables d'infecter directement la souris; avec certaines races, comme *Spirillum Obermeieri*, il faut un passage préalable sur le singe pour obtenir l'infection.

Le *rat blanc* présente les mêmes phénomènes, mais ils évoluent plus rapidement sans présenter de rechutes, ou bien la rechute est tardive et éphémère.

Rappelons que, suivant le virus employé et son origine, on observe des différences de virulence parfois importantes ; en général, c'est le virus de la *tick-fever* qui paraît le plus virulent pour l'animal.

MODE D'INFECTION, ROLE DES ECTOPARASITES.

On admet actuellement que la fièvre récurrente se propage par les piqûres d'insectes cuticoles.

Ticktin, le premier, avait observé que des *punaises* (*Acanthi lectularia*) recueillies dans le lit de malades atteints de typhus récurrent

étaient gorgées de sang véhiculant le spirille d'Obermeier; placées sur des singes, elles ne tardaient pas à leur inoculer, par leurs piqûres, une fièvre récurrente expérimentale. Des punaises témoins prises dans des milieux non infectés étaient indemnes de spirilles, et leur piqûre était inoffensive.

De nombreux auteurs (Karlinski, Breinl, Todd, Mathis, Klodnitzky, Nuttal, Schellack, etc.) ont repris ces expériences, dont les résultats ont été positifs ou négatifs, suivant les conditions dans lesquelles les recherches ont été poursuivies.

En 1907, Mackie, sans vouloir diminuer le rôle de véhicule attribué à la punaise, a surtout incriminé le *pou* (*Pediculus vestimenti*) dans la transmission du spirille. A Nasik (Inde), il a recueilli dans un pensionnat, où sévissait la fièvre récurrente, 400 poux qu'il a disséqués : 44 étaient infectés. Il n'arriva cependant pas à contaminer des singes piqués par ces insectes.

Sergent et Foley ont fait des observations analogues à Beni-Ounif (Sud-Oranais).

Ch. Nicolle, Blaizot et Conseil ont récemment démontré que le pou était bien l'agent de transmission de la fièvre récurrente; mais la piqûre de ces insectes est inefficace. L'infection se produit par l'écrasement du pou, dont la cavité lacunaire, riche en spirilles, met en liberté ces derniers, qui peuvent alors contaminer une excoriation cutanée produite à la faveur du grattage.

Quant au spirille de la *tick-fever*, il semble être convoyé par une tique (*Ornithodorus moubata*).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE.

Le diagnostic bactériologique de la fièvre récurrente s'effectue très aisément par la recherche du spirille :

1° Prélever *pendant un accès fébrile* une gouttelette de sang par les procédés usuels, par piqûre d'un doigt ou du lobule de l'oreille.

a. Examiner entre lame et lamelle, à l'état frais. On constate l'existence de spirilles avec leurs caractères décrits plus haut et leur mobilité particulière.

b. Étaler sur lame une autre goutte de sang. Fixer par l'alcool-éther, colorer, comme il a été dit, par le violet aniliné d'Ehrlich ou le Giemsa.

2° Sur le cadavre, prélever des petits morceaux de rate, fixer par l'alcool. Colorer les coupes par le procédé de Nikiforoff (Voy. p. 768).

3° On peut inoculer le sang à des singes, des rats, des souris, et

pour l'identification, faire la différenciation par la séro-réaction et l'immunité croisée (p. 769).

IMMUNITÉ. — SÉROTHÉRAPIE.

Chez l'homme, une première atteinte de fièvre récurrente confère l'immunité. Chez l'animal, inoculé expérimentalement, il en est de même.

Les recherches de Gabritchewsky, de Novy et Knapp ont montré que le sérum d'animaux guéris et vaccinés était doué de *propriétés agglutinantes et bactéricides.*

Il possède, dans de certaines limites, un *pouvoir préventif.* D'après Novy et Knapp, le sérum d'un rat guéri, injecté préventivement à un rat sain qu'on inocule ensuite avec du virus récurrent, n'est pas préservé de l'infection, mais la période d'incubation est prolongée. Si, cependant, l'animal est hypervacciné par des injections multiples dans le péritoine, son sérum protège le rat; il est pourvu, de plus, de *propriétés curatives* manifestes ; dans le sang de rats déjà infectés, l'injection de sérum amène, en une heure, la disparition complète des spirilles.

Gabritchewky avait d'ailleurs observé antérieurement une défervescence brusque chez un singe traité par l'injection de sérum d'un autre singe, guéri d'une atteinte expérimentale.

Des expériences d'immunité croisée ont été tentées pour essayer de distinguer les diverses races de spirilles ; d'après Mathis et Léger, puis Ch. Nicolle, Blaizot et Conseil, ces épreuves ne donnent pas de résultats nets.

CHAPITRE LXI

AMIBES

Les Amibes ont fait l'objet de fort nombreuses études.

Diverses variétés en ont été décrites, mais, parmi elles, deux nous intéressent plus particulièrement : ce sont l'Amibe dysentérique, qui joue un rôle pathogène spécifique dans certaine variété de dysenterie, et l'Amibe vulgaire du colon, que l'on oppose habituellement à la première, car elle vit à l'état normal dans le tube digestif, mais à l'état saprophytique.

AMIBE DYSENTÉRIQUE.

On ne peut déterminer exactement quel est l'auteur qui a décrit le premier l'Amibe dysentérique. Lœsh cependant semble l'avoir rencontrée, bien qu'il l'ait dénommée à tort *Amœba coli*. Koch, Kartulis, Hlava, Councilman et Lafleur, Kruse et Pasquale, Schaudinn, etc., ont affirmé son rôle spécifique. Depuis lors, son étude a suscité de nombreux travaux; citons plus particulièrement les recherches d'Hartmann et de Viereck, qui ont opéré une dissociation nouvelle et ont décrit, à côté de l'*Entamœba histolytica* de Schaudinn, une autre variété, plus spéciale aux régions africaines : l'*Entamœba tetragena* (Viereck) ou *Entamœba africana* (Hartmann).

ENTAMŒBA HISTOLYTICA (Schaudinn).

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — *Entamœba histolytica* se montre sous la forme d'un large corps protoplasmique, dont les dimensions varient suivant l'échantillon observé (de 25 à 40 μ). Au repos, elle est ronde ou ovale, ou piriforme. On verra qu'à l'état de mouvement sa forme varie constamment.

C'est l'examen à l'état frais (fig. 300) qui montre sa forme la plus caractéristique ; il permet de plus d'observer sa mobilité particulière.

Le parasite présente deux portions inégales :

L'une sombre, granuleuse : l'*endoplasme*, qui contient des débris cellulaires et alimentaires, et surtout des hématies. Ces dernières peuvent être tellement nombreuses que l'endoplasme en est littéralement bourré ; on perçoit enfin un noyau rond pourvu d'un nucléole.

L'autre portion du corps amibien est claire, transparente, réfringente : c'est l'*ectoplasme*.

Un caractère primordial de l'*Entamœba histolytica* vivante est sa *mobilité* : examinée dans une selle dysentérique, entre lame et lamelle, à la température du laboratoire, les mouvements qu'elle présente sont actifs et très prononcés, à ce point qu'on ne peut suivre ses contours quand on veut la dessiner à la chambre claire. En un point de l'ectoplasma, le parasite émet un pseudopode souvent en forme de doigt de gant ; puis un autre prend naissance en un point opposé ; puis ils se retirent alors que d'autres apparaissent ailleurs.

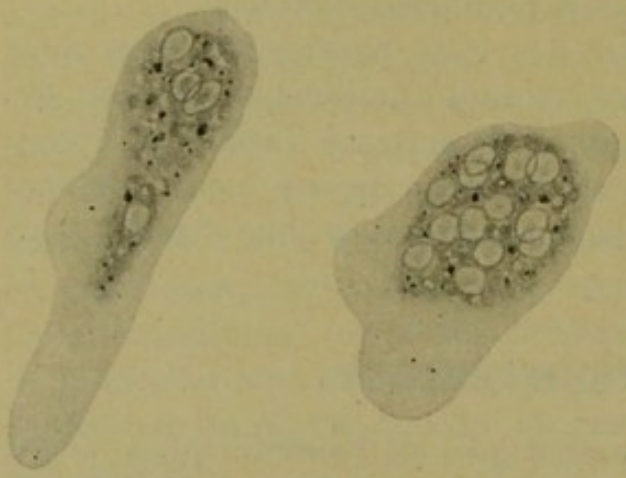


Fig. 300. — *Entamœba histolytica* (Schaudinn) vivante.

L'endoplasme est moins mobile ; néanmoins, on le voit s'étirer, s'étrangler, se renfler tour à tour, et les éléments cellulaires qu'il contient semblent subir l'action d'un courant qui les entraîne d'un bout à l'autre du parasite ; par instants, on croirait assister à la coulée d'une substance en fusion.

Ces mouvements ne font pas progresser l'Amibe ; ils s'effectuent sur place ; au bout de quelques heures, ils se ralentissent, puis cessent ; en même temps l'Amibe prend une forme ronde, et la distinction entre l'endo et l'ectoplasme n'est plus perceptible ; le parasite est uniformément granuleux, et le noyau devient plus nettement visible.

Dans les préparations fixes et colorées, cette différenciation en endo et ectoplasme n'existe pas. L'Amibe dysentérique apparaît ronde, limitée par un contour net, creusée d'un grand nombre de vacuoles, renfermant des hématies ; le noyau est rond et excentrique (fig. 301).

Dans les coupes, elle est petite, rétractée par les agents fixateurs ; elle est ronde, à contour net ; son protoplasma est vacuolaire ; le noyau n'est accusé que par une ligne circulaire difficilement colorable.

Fig. 301. — Frottis coloré de selle de dysenterie amibienne ; amibes dysentériques. Leucocytes éosinophiles. Hématies.

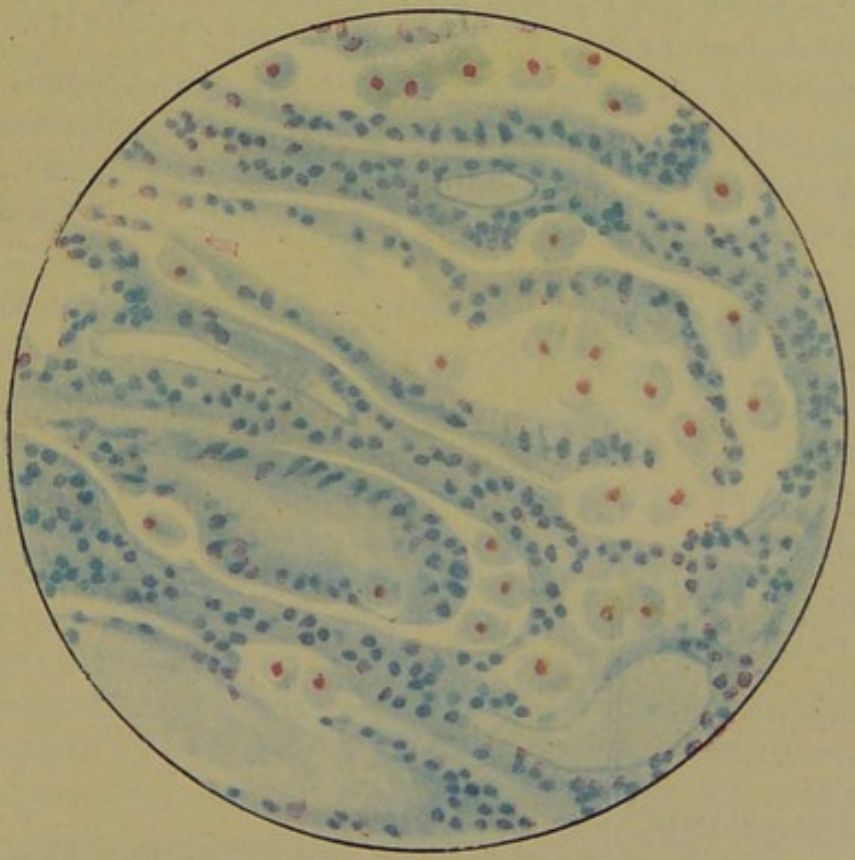


Fig. 302. — Coupe d'intestin dysentérique. Amibes dysentériques (coloration de Mallorg et Wright).

Coloration. — Une bonne coloration d'Amibe dysentérique est assez difficile à obtenir : elle dépend beaucoup du mode de fixation.

Frottis. — Après étalement aussi mince que possible, fixer par un des procédés suivants :

1° Vapeurs d'acide osmique à 1 ou 2 p. 100. Placer la préparation au-dessus de la solution osmique pendant quelques minutes; laver à l'eau ; examiner sans colorer.

2° *Fixateur de Schaudinn.* — Avant que le frottis ne soit desséché, plonger la préparation dans la solution suivante portée à 50°, pendant dix à quinze minutes :

Solution saturée de sublimé.....	2 parties.
Alcool absolu.....	1 partie.

Additionner de quelques gouttes d'acide acétique, puis soumettre à l'action de l'alcool iodé.

Les meilleurs modes de coloration sont les procédés de Romanoski, Laveran, Giemsa (Voy. *Hématozoaires du paludisme*).

Le protoplasma est coloré en bleu, le noyau et les hématies en rouge; autour du noyau, une petite masse violacée est perceptible : c'est l'endoplasme rétracté par les agents fixateurs.

Coupes. — Fixer par l'alcool, ou le sublimé acétique; le formol est un mauvais fixateur de l'Amibe. Colorer par :

Hématéine-éosine : le protoplasma est rose, le noyau violet.

Hématéine et fuchsine picriquée (Van Gieson). Protoplasma coloré en jaune fauve, noyau violet brunâtre. Ce procédé donne d'excellentes préparations si la fixation a été effectuée au sublimé acétique.

Hématoxyline ferrique (Heidenhain). — Fixer au sublimé acétique. Protoplasma à peine teinté; son contour est nettement indiqué par une ligne bleu noir; le noyau montre des grains de chromatine de même teinte.

Picro-indigo-carmin (Borrel). — Fixation nécessaire par le liquide de Flemming. Colorer tout d'abord pendant dix minutes par une *solution aqueuse saturée de rouge-magenta*, puis pendant quatre minutes par la solution suivante :

Solution aqueuse saturée d'acide picrique.....	aa
— — — de carmin et indigo.....	

Laver, déshydrater, xylol.

Les Amibes sont grisâtres, limitées par un contour bleu; l'ectoplasme et l'endoplasme sont nettement distincts : l'ectoplasme prend l'aspect d'un fin réticulum ou d'une substance hyaline bleutée;

l'endoplasme, granuleux, est rouge, bleu ou gris suivant le degré de la décoloration; le noyau est violet ou rougeâtre.

Thionine-acide oxalique (Mallory et Wright). — Fixer par l'alcool. Colorer pendant cinq minutes par une solution aqueuse, saturée de thionine. Différencier par une solution d'acide oxalique à 1 ou 2 p. 100; suivre la différenciation au microscope; l'arrêter dès que les noyaux prennent une teinte violacée. Laver. Déshydrater, etc.

Le protoplasma est bleuté; le noyau est rouge ou violet, alors que celui des leucocytes environnants est bleu foncé (fig. 302).

CULTURES.

De nombreux auteurs se sont efforcés d'obtenir des cultures de l'Amibe dysentérique.

Signalons, à titre documentaire, les essais d'Auerbach, Vivaldi, qui opérèrent en milieu liquide. Celli et Fiocca se servirent de milieux au *fucus crispus*, Schardinger de macération de foin, Kartulis de macération de paille. Sur ces milieux, les Amibes qui cultivent sont des Amibes banales.

Musgrave et Clegg ont employé une gélose peu nutritive, préparée comme suit : eau, 1000; gélose, 20; extrait de bœuf, 0,3 à 0,5. Après alcalinisation, on coule en boîtes de Petri. Ils ont ainsi obtenu des cultures impures d'Amibes diverses et croient avoir réalisé la culture de l'Amibe dysentérique; les kystes de cette dernière auraient, à la suite de l'ingestion, conféré la dysenterie amibienne expérimentale au chat et même à l'homme. Ces résultats sont intéressants et mériteraient d'être confirmés.

Par un procédé identique, Lesage a cultivé des Amibes, mais leur nature dysentérique est douteuse. Enfin, en ensemençant les selles dysentériques dans un extrait de leucocytes, il a observé encore des cultures d'Amibes probablement saprophytes.

En un mot, la culture de l'Amibe dysentérique reste à découvrir.

Dans tous ces essais, la culture amibienne n'est jamais pure; pour se développer, elle a besoin d'une culture satellite de microbes banaux dont elle se nourrit.

PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES.

Mode de reproduction. — *Entamœba histolytica* se reproduit suivant un mode qui lui est particulier, différant nettement de celui que présente *Entamœba coli*.

Sa reproduction s'effectue par *division* et par *bourgeonnement*.

Division. — On peut voir, dans l'Amibe vivante, le noyau se diviser en deux, sa division précédant celle du protoplasma. On assiste ainsi à la formation de deux Amibes filles, qui restent d'abord accolées, mais se séparent bientôt l'une de l'autre.

Bourgeonnement. — Kystes. — Schaudinn a suivi toutes les

phases de ce phénomène en étudiant l'Amibe dans le mucus dysentérique, abandonné à lui-même sous une cloche humide.

L'Amibe devient tout d'abord entièrement granuleuse ; le noyau devient flou, puis laisse échapper des grains chromatiques dans la masse protoplasmique environnante. Puis, en un point de la périphérie de l'Amibe, un bourgeon sphérique prend naissance, qui s'entoure d'une enveloppe épaisse d'aspect gélatineux; en son centre se montre un espace clair, le noyau, ou bien des grains chromatiques venant du noyau primitif du parasite.

Ce kyste, quand il atteint 5 à 6 μ, se détache ; son cytoplasma se condense et se peuple de deux ou trois noyaux; passant à l'état adulte, sa paroi s'épaissit, le protoplasma devient volumineux, puis se divise en deux, trois ou quatre Amibes filles. Sous l'influence de la distension qu'elle subit, l'enveloppe se rompt, et les Amibes filles deviennent libres.

La production de ces kystes s'effectue quand les conditions vitales de l'Amibe deviennent précaires ; on l'observe chez les dysentériques quand, au moment où la guérison s'annonce, les selles redeviennent solides; elle prend naissance en général quand la multiplication par division cesse.

Vitalité. — Résistance. — On sait peu de choses sur la vitalité d'*Entamœba histolytica*. Dans l'intestin, cependant, elle doit être grande, témoin les récidives multiples qu'elle provoque sans nouvelle contamination. Les examens histologiques montrent qu'elle vit à l'état de latence dans les couches profondes du gros intestin, son activité se réveillant à la moindre cause occasionnelle.

Quand l'Amibe est tombée dans le milieu extérieur, on est peu renseigné sur sa résistance aux agents atmosphériques, à la chaleur, à la dessiccation. Toutefois, dans ces conditions, on sait qu'elle s'enkyste; le kyste figure en réalité sa forme de résistance, qui lui permet sans doute une longue conservation.

Musgrave et Clegg, puis Strong ont étudié l'action des antiseptiques sur les cultures qu'ils ont cru obtenir : l'Amibe résiste peu aux solutions de formol et de quinine, les kystes ne sont détruits que par les solutions de potasse et de soude à 20 p. 100.

Dans les selles, l'acide borique ne possède aucune action; par contre, le sublimé, l'acide osmique, les solutions d'acides minéraux et surtout le chlorhydrate neutre de quinine arrêtent instantanément les mouvements du parasite; le permanganate de potasse, le bleu de méthylène sont moins efficaces (H. Vincent).

POUVOIR PATHOGÈNE DE L'AMIBE DYSENTÉRIQUE.

On a beaucoup discuté le pouvoir pathogène de l'Amibe dysentérique : les uns ont voulu voir en elle un hôte banal de l'intestin, incapable de provoquer des lésions; les autres ont affirmé son rôle spécifique dans l'étiologie de la dysenterie amibienne.

Le désaccord qui a régné pendant longtemps entre les auteurs tient à l'impossibilité d'obtenir des cultures pures d'Amibes et de reproduire à l'aide de ces dernières une dysenterie expérimentale. Néanmoins, son rôle pathogène peut être prouvé de plusieurs façons :

1° L'Amibe dysentérique siège dans les lésions qui correspondent à l'état morbide intestinal spécial qu'on observe. Dans la dysenterie bacillaire, elle est absente.

2° Les selles de dysenterie contenant l'Amibe dysentérique sont seules capables de provoquer chez le chat, en injection intrarectale, une dysenterie amibienne typique (Voy. plus loin) ; les mêmes selles filtrées sur flanelle (Kartulis) ou chauffées à 45° pendant trente-cinq minutes (Marchoux) ne peuvent plus la provoquer. Enfin l'injection de selles de sujets indemnes d'Amibes dysentériques, ou porteurs d'*Amœba coli* vulgaire, de dysentériques bacillaires, ne peut conférer la dysenterie expérimentale.

MANIFESTATIONS PATHOLOGIQUES.

L'Amibe dysentérique donne naissance à des lésions présentant diverses localisations.

Dans sa *localisation intestinale*, la plus fréquente, elle engendre une dysenterie spéciale, caractérisée par la formation d'ulcères profonds, à bords décollés surplombant les régions atteintes. Parfois elle porte ses atteintes sur l'*appendice* (appendicite amibienne décrite par Harris, Kartulis, Musgrave).

De l'intestin elle peut coloniser dans le *foie* pour déterminer l'*hépatite* dite *dysentérique*, ou grand abcès tropical du foie, dans le *poumon*, dans la *rate* (Kartulis), dans le *cerveau* (Kartulis, Legrand et Axisa).

Dans tous ces viscères, l'Amibe provoque tout d'abord de la *nécrose* des tissus qu'elle envahit. Dans ces *abcès nécrotiques*, l'Amibe seule est perceptible, et le tissu nécrosé est vierge de tout autre germe ; plus tard, survient la suppuration vraie, qui, dans l'intestin, s'ouvre dans la cavité digestive pour produire les ulcères décrits ; dans le foie, le poumon, le cerveau, les abcès peuvent s'ouvrir en dehors de

l'organe dans les séreuses environnantes. Le pus se forme sous l'influence du développement des germes banaux apportés par l'Amibe (aérobies et anaérobies).

DYSENTERIE AMIBIENNE EXPÉRIMENTALE.

Le chat, le chien, le singe peuvent, dans certaines conditions, contracter la dysenterie amibienne expérimentale; le jeune chat est assurément l'animal le plus sensible; le chat adulte est plus résistant.

Pour la réaliser, on peut se servir des selles ou de pus d'abcès du foie, contenant des Amibes vivantes, ou des mêmes produits desséchés, contenant des kystes.

Technique. — *Injection intrarectale.* — A l'aide d'une pipette mousse, on introduit dans le rectum d'un jeune chat $0^{cc},5$ de selles dysentériques ou de pus hépatique. L'injection d'une quantité plus grande risque de provoquer l'intolérance rectale, auquel cas l'animal rejette le produit injecté, et l'inoculation reste négative.

Ingestion. — On mélange à du hachis de viande des selles ou du pus hépatique; le chat l'ingère très facilement. Pour que l'inoculation réussisse dans ces conditions, le produit amibifère doit contenir des kystes qui résistent à l'action nocive du suc gastrique.

Symptômes et lésions. — Deux à trois jours après l'inoculation ou l'ingestion, l'animal présente de la diarrhée muqueuse ou muco-sanglante; dans les selles, on observe des Amibes mobiles, gorgées de globules rouges. Les jours suivants, les symptômes s'exagèrent, puis le chat devient abattu et triste; son poil se hérisse. Il finit par succomber le dixième ou le quinzième jour.

A l'autopsie, on constate, au niveau du gros intestin, les lésions caractéristiques de la dysenterie amibienne humaine, débutant par la nécrose, se continuant par des abcès et des ulcères en bouton de chemise; à leur niveau, les Amibes sont facilement décelables.

Chez certains chats adultes qui guérisent spontanément de leur dysenterie, on a pu constater l'existence d'abcès du foie, où les Amibes fourmillent comme dans l'hépatite suppurée humaine.

RECHERCHE ET DIAGNOSTIC.

Dans les selles. — Dans une selle fraîchement émise, et non mélangée d'urine, prélever à l'aide d'une pipette ou d'une anse de platine un flocon muqueux.

Déposer sur une lame; recouvrir d'une lamelle. Observer ainsi à l'état frais avec un objectif 6.

Outre les cellules épithéliales, les leucocytes, le plus souvent éosinophiles (Billet), on reconnaît facilement les Amibes dysentériques à leur aspect décrit plus haut, avec la différenciation protoplasmique en endo et ectoplasme, leur mobilité, la formation de pseudopodes (fig. 303). Elles sont disséminées uniformément dans la préparation ou réunies sous forme de nids plus ou moins abondants.

Fig. 303. — Examen à l'état frais d'un flocon de mucus de dysenterie amibienne.

Il faut se rappeler que, dans un fragment de mucus, ces parasites peuvent être très nombreux, mais aussi très rares. La recherche en est alors malaisée. En ce cas, recourir au procédé de H. Vincent, qui les fait reconnaître rapidement.

Déposer sur les bords de la lamelle une goutte de solution aqueuse de bleu de méthylène à 1 p. 100 : tous les éléments autres que les Amibes (leucocytes, cellules épithéliales, etc.) se colorent immédiatement en bleu; au contraire, les Amibes restent tout d'abord incolores et tranchent par leur aspect clair sur le fond bleu de la préparation. Puis leurs mouvements se ralentissent, cessent, et le parasite finit par se colorer.

Dans le pus des abcès hépatiques, cérébraux, etc. — La

technique est la même : on recherche l'Amibe dans une gouttelette de pus, ou, de préférence, dans le produit de raclage de la paroi de l'abcès, où elle se trouve en plus grande abondance.

Quel que soit le produit à examiner, on peut compléter la recherche par l'examen de l'Amibe après coloration, en ayant soin d'employer les procédés de fixation qui ont été indiqués. Mais cette méthode ne vaut pas l'examen à l'état frais.

ENTAMŒBA TETRAGENA.

Entamœba tetragena (Viereck) ou *africana* (Hartmann) serait, d'après ces auteurs, intermédiaire entre *Entamœba coli* et *Entamœba histolytica*; ils l'ont rencontrée et étudiée dans des selles de dysenterie non bacillaire; chez l'animal, elle provoque des lésions de dysenterie expérimentale.

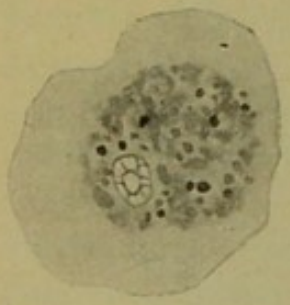


Fig. 304. — *Entamœba tetragena* vivante (Viereck).

Elle se caractérise, au point de vue morphologique (fig. 304), par une différenciation nette de l'endo et l'ectoplasme, la formation de pseudopodes courts et larges et par l'existence d'un noyau nettement visible pendant la vie du parasite. Ce noyau est relativement riche en grains chromatiques et possède en son centre un karyosome.

Hartmann a pu suivre son développement et sa reproduction; ils s'effectuent comme dans *Entamœba coli* (Voy. plus loin). Mais, à l'inverse de cette dernière, qui possède un kyste à huit noyaux, les kystes d'*Entamœba tetragena* n'en possèdent que quatre.

Le pouvoir pathogène expérimental de cette Amibe la fait ranger dans le cadre des Amibes dysentériques.

AMIBE VULGAIRE DU CÔLON (*Entamœba coli*).

Entamœba coli est un hôte banal de l'intestin; elle ne possède aucun pouvoir pathogène. L'inoculation intrarectale ou l'ingestion de selles qui la véhiculent ne provoque aucun phénomène morbide.

A l'étude, elle présente des dimensions sensiblement analogues à celles d'*Entamœba histolytica*. Elle se montre sous l'aspect d'un vaste corps protoplasmique granuleux; à l'état de repos, on n'observe pas de distinction nette entre un endo et un ectoplasme (fig. 305);

elle est pourvue d'un noyau rond, riche en chromatine, limité par une membrane nucléaire nette. Enfin le protoplasma est creusé de plusieurs vacuoles de volume variable.

Entamœba coli est peu mobile; ses pseudopodes sont larges, constitués par une substance hyaline qui figure un ectoplasme, dont la limite se confond insensiblement avec l'endoplasme granuleux.

Elle se multiplie par *division simple* ou *schizogonie*, ou en deux, ou en huit Amibes filles.

Schaudinn a observé l'enkystement, dont il a décrit les phases.

Quand elle va s'enkyster, l'Amibe du côlon commence par chasser les corps étrangers qu'elle contient; puis le protoplasma se rétracte et s'entoure d'une membrane gélatineuse presque transparente. Le noyau subit ensuite successivement deux stades évolutifs :

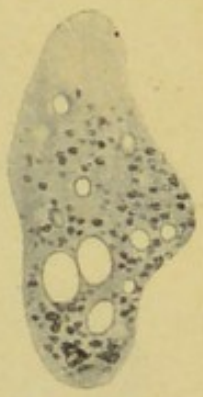


Fig. 305. — *Amœba coli.*

1° *Autogamie.* — Il prend la forme d'une haltère et se divise par des phénomènes d'amitose.

2° *Sporogonie.* — Les noyaux se rapprochent du centre et se divisent en deux; les quatre noyaux ainsi nés s'écartent deux par deux et arrivent au pôle opposé du pôle primitif; à cette époque, la membrane gélatineuse devient résistante (fig. 306); les deux noyaux d'origine différente se fusionnent. De cette copulation résulte un nouveau noyau, qui se divise en quatre, puis en huit noyaux secondaires. Chacun d'eux, lors de l'éclosion en kyste, donne une Amibe nouvelle.

AUTRES AMIBES.

Amœba buccalis. — *Amœba buccalis* vit en saprophyte dans la cavité buccale; elle se trouve dans les dents cariées et la salive de sujets atteints de cancer de la bouche ou de la langue. Elle se rapproche par sa morphologie à la fois d'*Entamœba histolytica* et d'*Entamœba coli*; elle leur est intermédiaire.

Elle présente une division nette de son protoplasma en endo et ecto; plasme; le noyau, nettement visible, est entouré d'une enveloppe épaisse-dans l'endoplasme on perçoit une vacuole contractile.

On ignore son mode de reproduction.

Amœba maxillaris. — Cette dernière a été décrite par Kartulis, qui l'a observée dans le pus d'une ostéomyélite maxillaire; elle présente une grande analogie avec *Entamœba histolytica*; même séparation de l'endo et de l'ectoplasme, même contenu de l'endoplasma (débris cellulaires, hématies), même mobilité; des pseudopodes, les uns sont mousses, les autres pointus; le noyau est plat et entouré d'une zone claire.

Le mode de reproduction est inconnu.

Amœba urogenitalis. — Sous ce vocable, divers auteurs ont décrit plusieurs Amibes développées le plus souvent dans la vessie, et assez

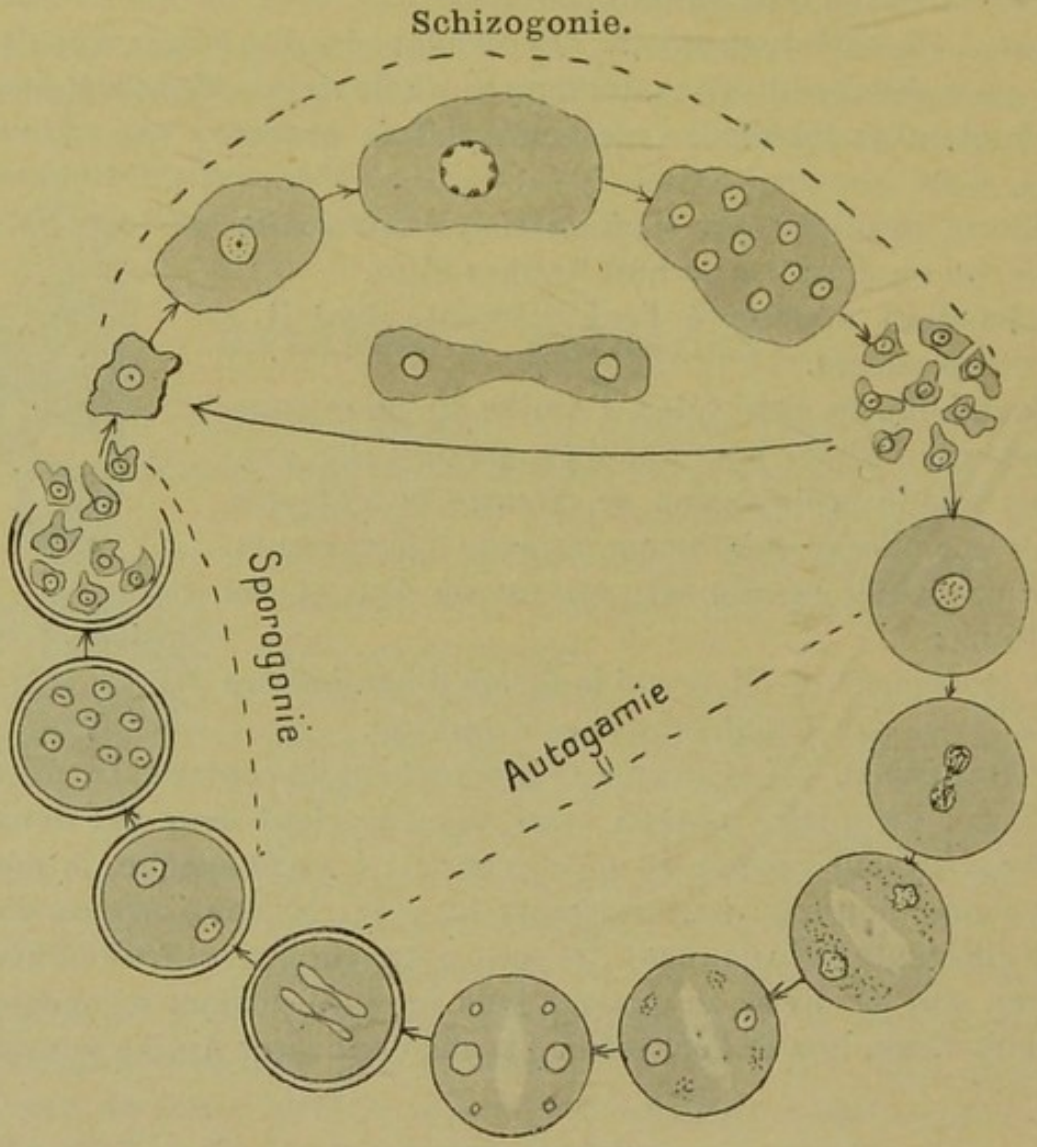


Fig. 306. — Cycle d'évolution d'*Amœba coli* (d'après Schaudinn).

analogues à *Entamœba histolytica*. On est encore mal renseigné sur leur véritable nature.

CHAPITRE LXII

HÉMATOZOAIRE DU PALUDISME

L'agent pathogène du paludisme est un Hématozoaire, découvert par Laveran, en 1880, dans le sang des paludéens qu'il observait alors à l'hôpital militaire de Constantine.

Cette découverte fut tout d'abord accueillie avec scepticisme, car on eut peine à prendre pour un parasite une forme amibienne si différente des germes que Pasteur avait étudiés. Des luttes sans nombre s'engagèrent entre Laveran et les savants italiens, mais le savant français devait triompher, et sa belle découverte fut confirmée par de nombreux observateurs, au nombre desquels il faut compter ceux qui, au début, se posaient en contradicteurs convaincus.

Ce n'est que beaucoup plus tard, en 1898, qu'une nouvelle notion, due à Ronald Ross, vint montrer que, pour être transmis de l'homme à l'homme, l'Hématozoaire du paludisme devait passer par un hôte intermédiaire, le moustique. Cette découverte fut le point de départ d'une série de nouvelles recherches fructueuses, qui firent connaître l'évolution complète du parasite et ses modes de reproduction.

MORPHOLOGIE.

L'examen microscopique de l'Hématozoaire du paludisme peut être pratiqué à l'état frais, ou sur les préparations de sang desséché et coloré. C'est sur ces dernières que l'on peut seulement observer les différences qui ont été décrites entre les variétés connues.

Examen dans le sang humain frais. — Quelle que soit la variété que l'on étudie, on constate que, suivant le stade de son évolution, le parasite revêt successivement les formes classiques suivantes :

1° *Corps sphériques ;* 2° *corps en rosace ;* 3° *corps en croissant ;* 4° *corps flagellés.*

A. ***Corps sphériques.*** — Dans un globule rouge, on perçoit de petits éléments constitués par une substance hyaline réfringente, tranchant sur la teinte jaunâtre de l'hématie par son aspect incolore ;

ils mesurent, au début, 1 à 3 μ de diamètre; à cette période, ils peuvent déjà être pourvus de quelques grains de pigment.

Quand ils sont un peu plus volumineux (fig. 307), cet examen montre nettement qu'ils sont doués de mouvements amiboïdes continus, d'où le nom de *corps amiboïdes* qui leur a été donné; ils sont dus à la formation constante de pseudopodes qui naissent, puis s'effacent à tour de rôle; l'hématie parasitée devient plus volumineuse (certaines sont envahies ainsi par deux ou trois parasites);

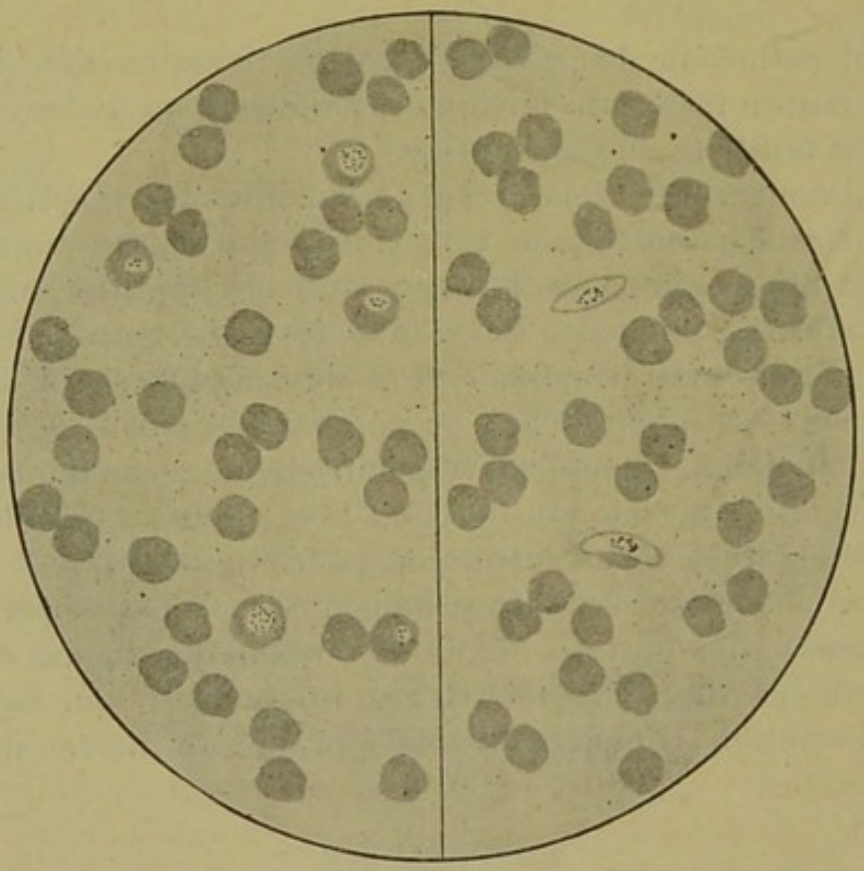


Fig. 307. — Hématozoaire du paludisme vu dans le sang à l'état frais.
A gauche : corps sphériques intraglobulaires. — *A droite* : corps en croissant.

les grains de pigment, devenus plus nombreux, envahissent la presque totalité du parasite; ils sont, eux aussi, animés de mouvements; ils semblent sautiller sur place sous les yeux de l'observateur. Un noyau devient apparent, mais difficile néanmoins à percevoir sans coloration.

B. *Corps en rosace.* — Arrivé à ce stade, le contour du parasite se festonne, les grains de pigment s'amassent petit à petit en son centre; puis les festons et les dentelures qui les séparent s'accusent, l'hématozoaire se segmente et prend l'aspect d'une *rosace* ou d'une *marguerite*.

C. *Corps en croissant.* — Dans le sang de paludéens chroniques

arrivés à la période dite de « cachexie palustre », l'Hématozoaire prend la forme d'un *croissant*. Allongé, un peu incurvé ou rectiligne, long de 8 à 9 μ sur 2 μ de large environ, il figure une masse transparente dont la partie médiane est envahie par des grains de pigment disposés en couronne. Il est complètement libre dans le sang, ou bien se trouve souvent accolé à des débris d'hématies qu'il embrasse dans sa concavité. Dans la même préparation, on peut voir encore des corps ovalaires, puis sphériques, provenant d'une transformation des corps en croissant.

D. *Corps flagellés*. — Au bout de vingt à trente minutes d'observation d'une préparation de sang à l'état frais, on voit des filaments prendre naissance sur le bord des corps sphériques amiboïdes ou dérivés des croissants. Ces filaments, très minces, sont très mobiles et s'agitent assez vivement pour refouler les hématies qui arrivent à leur contact; ils sont munis, à leur extrémité terminale, d'un petit renflement. Laveran les a nommés *flagelles*, et les corps qui les supportent : *corps flagellés*. Les corps flagellés peuvent être munis d'un ou deux flagelles, parfois de trois à quatre (fig. 320, en bas).

Après un certain temps, les flagelles se détachent et s'agitent vivement, en se déplaçant. Une fois libérés de leurs flagelles, les corps sphériques se déforment et restent immobiles.

Ces flagelles s'observent encore dans le sang de l'estomac du moustique; comme on le verra, ce sont des éléments mâles, destinés à féconder des éléments femelles; ils représentent donc un stade important de l'évolution du parasite.

Coloration. — L'examen à l'état frais a permis d'étudier l'aspect général de l'Hématozoaire; l'examen après coloration donne une idée plus exacte de sa structure.

Méthodes de coloration. — **Thionine phéniquée.** — Colorer pendant quelques secondes, laver, sécher.

Les noyaux des leucocytes sont bleus, les Hématozoaires de couleur pourpre; les hématies sont colorées en vert.

Procédé au bleu boraté. — Colorer avec une solution composée de :

Bleu de méthylène	3	grammes.
Borax	5	—
Eau	100	—

Laisser en contact quelques secondes, la coloration étant presque instantanée. Laver, sécher.

Les Hématozoaires sont colorés en bleu foncé, de même les noyaux des leucocytes. Les hématies sont bleutées.

Procédé de Romanowski. — Mélanger les deux solutions suivantes :

Solution aqueuse saturée de bleu.....	2 parties.
Solution aqueuse d'éosine à 1 p. 100.....	5 —

Agiter, se garder de filtrer le précipité qui se forme.

Ne pas verser le colorant sur la lame, sans quoi le précipité masquerait les détails; mais verser le contenu dans une boîte de Petri, par exemple, et placer la lame, la face à colorer en bas. La laisser séjourner dans un bain pendant deux heures. Laver à l'eau, à l'alcool, sécher.

Les hématies sont colorées en rose, les noyaux des leucocytes en violet, les Hématozoaires en bleu (protoplasma et nucléole).

Procédé de Laveran. — Préparer, au moment du bain, le mélange suivant :

Solution d'éosine à 1 p. 100.....	4 cent. cubes.
Bleu Borrel.....	7 — —
Eau distillée.....	1 cent. cube.

Colorer pendant dix à quinze minutes (même précaution que pour le procédé de Romanowski : face en dessous). Laver à grande eau.

Faire agir, pour la différenciation, une solution de tanin à 5 p. 100 pendant cinq minutes environ. Laver de nouveau, sécher.

Les hématies sont colorées en rose, les noyaux leucocytaires en violet. Le protoplasma des parasites est bleu, le nucléole est rouge violacé.

Procédé de Giemsa. — Le procédé de Giemsa a pour but d'éviter l'emploi de deux liquides colorants; on utilise un mélange de bleu et d'éosine.

Ce mélange se compose de bleu-azur II de Grübler et d'éosine, dissous dans la glycérine et l'alcool méthylique :

Solution d'éosine à 1 p. 1 000.....	2 cent. cubes.
Solution de bleu Azur II à 1 p. 1 000.....	1 cent. cube.
Eau distillée.....	8 cent. cubes.

Colorer pendant dix minutes. Laver. Différencier par le tanin à 5 p. 100. Laver. Sécher.

Procédé de Leishman. — Le colorant de Leishman s'obtient en dissolvant dans 10 centimètres cubes d'alcool méthylique des pastilles de tanin avec la poudre d'un mélange desséché, composé à parties égales de bleu de méthylène additionné de 0,5 p. 100 de carbonate de soude et d'éosine à 1 p. 1 000.

On verse sur la préparation III à IV gouttes de la solution obtenue; laisser en contact pendant trente secondes, puis ajouter VI à VIII gouttes d'eau; laisser ce mélange en contact avec la préparation pendant cinq à dix minutes. Laver. Sécher.

La coloration est moins intense avec ce procédé qu'avec les précédents, mais il a l'avantage d'éviter les dépôts de précipité.

Procédé de Marino. — Le bleu de Marino est versé sur la lame comme précédemment, mais, au lieu de l'étendre d'eau, on l'additionne d'éosine à 1 p. 1 000. La coloration est faible.

Coloration des corps flagellés. — Les corps flagellés peuvent être colorés dans les lames de sang laissées à l'état frais, à la température ordinaire. On humecte par l'haleine une lame de verre, on dépose à sa surface une goutte de sang prélevée chez un malade porteur de croissants, ou dans l'estomac d'un moustique dix à trente minutes après la piqûre; étaler rapidement cette goutte. Placer la face de la lame où l'étalement est effectué sur une autre lame recouverte de papier buvard imbibé d'eau et dont le centre a été découpé. Laisser en contact avec cette sorte de chambre humide pendant trente à quarante-cinq minutes environ. Sécher, fixer, colorer par une des méthodes précédentes.

Aspect de l'Hématozoaire coloré (fig. 308 à 315). — Traité par les colorations composées (Romanowski, Laveran, Giemsa, etc.), qui sont les plus aptes à l'étude morphologique du parasite, l'Hématozoaire se présente de la façon suivante :

Il est constitué d'une façon générale par une masse protoplasmique colorée en bleu, un noyau incolore au centre duquel un nucléole ou caryosome est teinté en rouge vif. Les grains de pigment conservent leur aspect constaté dans le sang frais.

Le volume de la masse protoplasmique est très variable : dans les formes petites du corps sphérique, le protoplasma est réduit à une mince lame, le noyau occupant presque toute l'étendue du parasite. A un degré d'accroissement un peu plus accusé, c'est le protoplasma qui grandit; dans les formes les plus développées, il occupe à son tour presque tout l'élément, puis le noyau se divise, et avec lui le caryosome.

Quand le corps sphérique évolue vers le stade de corps en rosace (fig. 311 et 313), on observe une multiplication des caryosomes qui, petit à petit, vont se ranger à la périphérie de l'élément : la segmentation s'accuse, et chaque segment est constitué par une petite masse de protoplasma bleu munie d'un caryosome. Quand les segments se désoudent, chacun d'eux présente la structure de la forme la plus jeune du corps amiboïde.

Les croissants (fig. 315) sont teintés en bleu et sont munis en leur partie centrale d'un caryosome qu'entoure la couronne ovalaire de grains de pigment.

Les corps flagellés ou microgamétocytes, dans leur portion sphé-

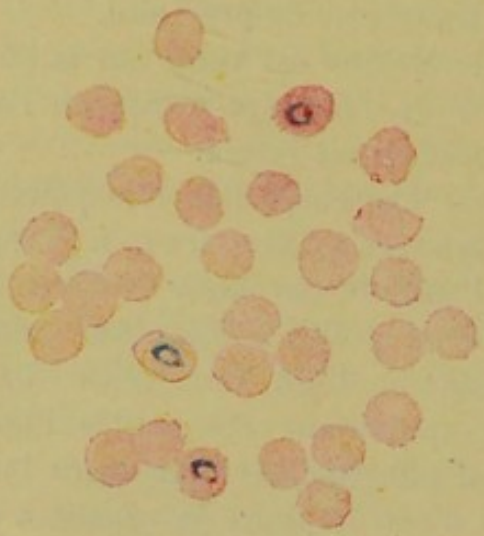


Fig. 308. — Parasite de la tierce (forme amiboïde).

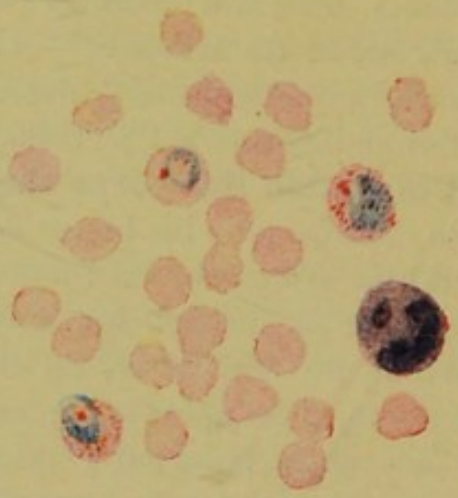


Fig. 309. — Parasite de la tierce, corps amiboïdes avec grains de Schüffner.

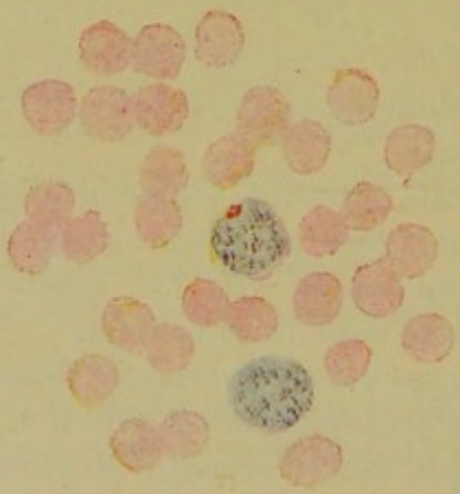


Fig. 310. — Parasite de la tierce (forme amiboïde).

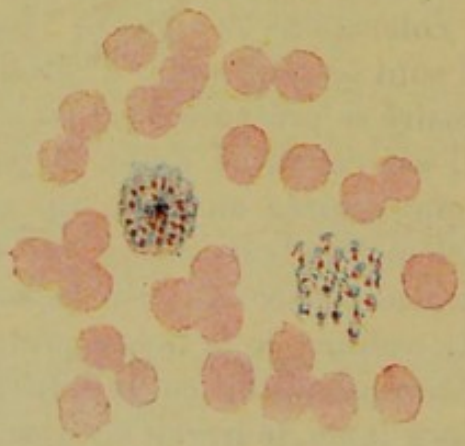


Fig. 311. — Parasite de la tierce (rosace entière et rosace dissociée en mérozoïte)

rique, montrent une masse protoplasmique teintée en bleu, parsemée de grains de pigment; elle contient encore des amas de chromatine qui ont tendance à se porter vers la périphérie de l'élément. Les flagelles sont légèrement teintés en bleu, mais contiennent surtout des chapelets de granulations chromatiques colorées en rouge.

Variétés morphologiques. — De nombreux auteurs ont été frappés, au cours des examens de sang paludéen, de certaines diffé-

rences morphologiques présentées, à stade égal, par l'Hématozoaire de Laveran, suivant la phase clinique que présentait la malaria. Ils en ont déduit qu'il devait exister plusieurs variétés d'Hématozoaires, d'autant que l'inoculation à l'homme d'une forme d'Hématozoaire

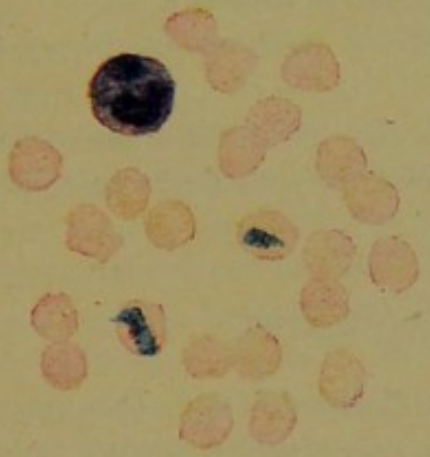


Fig. 312. — Parasite de la quarte (forme amiboïde).

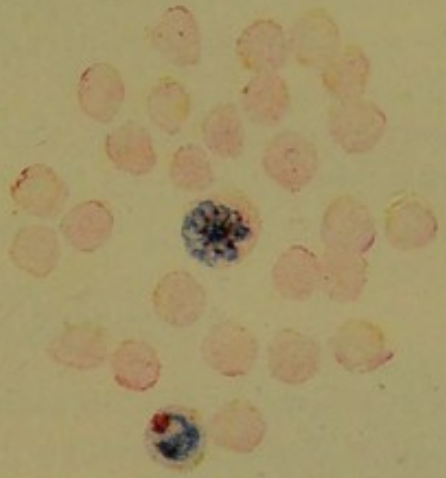


Fig. 313. — Parasite de la quarte (corps en rosace).

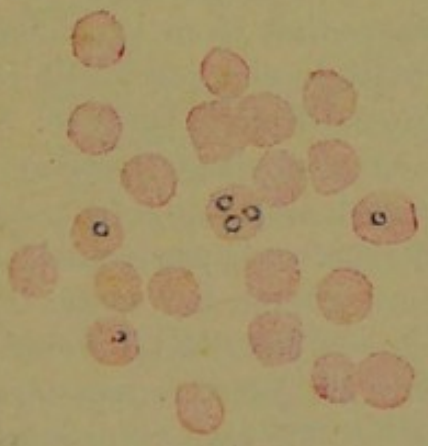


Fig. 314. — Parasite de la fièvre tropicale (corps de première invasion).

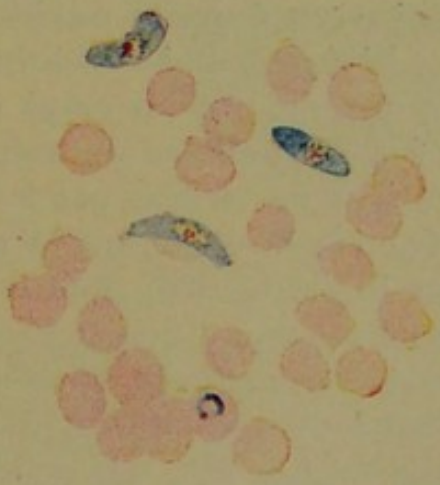


Fig. 315. — Parasite de la fièvre tropicale (corps sphériques et croissants).

provoque chez lui une infection de même forme, clinique et parasitaire à la fois.

Laveran, Metchnikoff n'admettent pas cette doctrine pluraliste. Pour eux, il n'existe qu'un seul et unique parasite pouvant déterminer toutes les formes cliniques, mais ces dernières varient suivant la résistance du terrain sur lequel il évolue. Laveran fait remarquer, à l'appui de cette thèse, que des paludéens rapatriés des pays chauds présentent des rechutes sous l'aspect de fièvre tierce ou quarte.

C'est néanmoins la doctrine pluraliste qui est le plus généralement

exprimée, la différence s'accusant encore, d'après ses nombreux partisans, dans l'évolution particulière de chaque variété d'Hématozoaire. On a l'habitude de décrire ainsi :

1° *Plasmodium vivax,* qui détermine la fièvre tierce ;

2° *Plasmodium malariæ*, parasite de la fièvre quarte ;

3° *Laverania malariæ*, parasite de la tierce maligne, ou fièvre tropicale.

Pour éviter des redites, nous indiquerons les différences caractéristiques de ces diverses formes au fur et à mesure de la description des stades évolutifs qu'elles subissent.

ÉVOLUTION DE L'HÉMATOZOAIRE.

L'évolution de l'Hématozoaire du paludisme doit être étudiée :

1° *Dans le sang humain*, où il subit une *reproduction asexuée* (*schizogonie*) ;

2° *Dans le corps du moustique*, où la reproduction s'effectue suivant le *mode sexué* (*sporogonie*).

Évolution dans le corps humain. — 1° ***Plasmodium vivax*** (tierce bénigne). — Au stade initial de *plasmodium vivax*, le *schizonte*, *forme asexuée*, est un corps ovalaire, dont le diamètre peut être évalué à un seizième du volume de l'hématie qu'il parasite. Ses dimensions ne tardent pas à doubler ; son protoplasma représente une fine bande entourant le noyau, formant ainsi un *petit anneau* ou une bague (fig. 308), dont le chaton est représenté par le nucléole. Il prend cet aspect quand l'accès de fièvre atteint son acmé. Puis l'Hématozoaire grandit en même temps que le globule rouge qui le contient double de volume, pâlit et présente des grains rouges caractéristiques (fig. 309), dits *grains de Schüffner* (fait particulier à cette forme de la tierce) ; vingt-quatre heures après la fin de l'accès, le petit anneau devient *grand anneau* ; le protoplasma est plus volumineux et *doué de mouvements amiboïdes très actifs*, qui rendent son contour plus irrégulier. Entre trente-six et quarante heures, les dimensions sont telles que le parasite remplit la presque totalité de l'hématie ; le pigment, qui était disséminé, s'amasse au centre de l'élément pour permettre à la segmentation de s'effectuer.

Les contours du parasite deviennent festonnés, et l'Hématozoaire subit une division en quinze à vingt segments, lui donnant l'aspect dit « en rosace ». Chaque segment représente un *mérozoïte*, qui, lors de la rupture de l'hématie et de la rosace, est mis en liberté et va parasiter un nouveau globule rouge. Cette division, dans le cas de la tierce, demande quarante-huit heures pour s'effectuer.

Bien que la reproduction dans le corps humain ne soit, en général, qu'asexuée, on rencontre cependant quelques formes *sexuées* à côté des précédentes; ces éléments sont les *gamètes*, mâles et femelles, corps sphériques dont les dimensions atteignent le double d'un globule rouge normal. Ils sont libres ou endoglobulaires; le protoplasma, uniformément pigmenté, ne subit jamais de segmentation; ils sont le point de départ de la reproduction sexuée qu'on observera dans le corps du moustique. *Il n'existe pas de corps en croissant.*

2° ***Plasmodium malariæ*** (fièvre quarte). — Le parasite de la fièvre quarte poursuit son évolution en soixante-douze heures : au début, rien ne permet de différencier le parasite de celui de la fièvre tierce; seules, les dimensions des hématies parasitées peuvent donner une indication; dans la tierce, elles sont augmentées, et l'hématie se décolore;

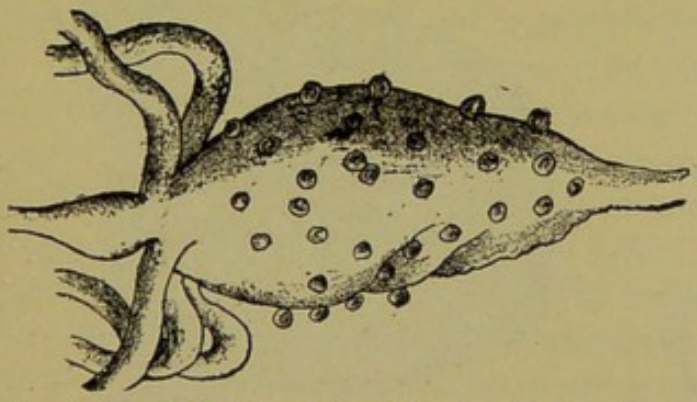


Fig. 316. — Enkystement de l'Hématozoaire dans la paroi gastrique du moustique (Ross).

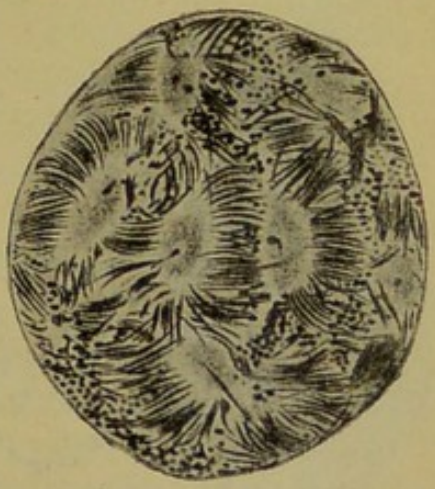


Fig. 317. Oocyste mûr (Grassi).

dans la quarte, elles ne varient pas, et l'hématie garde sa coloration.

Quand il a atteint son plein développement, l'Hématozoaire se montre sous la forme d'une *bande*, sorte de *ruban* étroit, peu pigmenté, puis plus large et très pigmenté, s'étendant d'un bord à l'autre de l'hématie (fig. 312 et 313). Notons expressément qu'à cette époque les hématies contenant le parasite ne sont ni décolorées, ni augmentées de volume, comme on le voit dans la tierce bénigne. De plus, les formes amiboïdes irrégulières de cette dernière n'existent pas; des mouvements amiboïdes se produisent, mais lentement. Puis l'examen des corps en rosace montre la même division, mais les mérozoïtes nouvellement nés ne sont, en général, qu'au nombre de cinq à huit.

Enfin on observe aussi des *gamètes* à gros grains de pigment, mais leurs dimensions sont plus petites que celles des parasites de *plasmodium vivax;* leur diamètre est sensiblement égal à celui d'un globule rouge. Ici non plus, *pas de corps en croissant.*

3° ***Laverania malariæ*** (fièvre tropicale, ou tierce maligne)

manifeste sa présence, au début, par des corps sphériques en anneaux analogues aux précédents, mais plus petits (fig. 314); une hématie en contient fréquemment plusieurs; leurs contours semblent plus nets, et l'aspect dit en chaton de bague est presque la règle. Dans les éléments plus volumineux et plus âgés, les mouvements amiboïdes sont très vifs; les hématies prennent une teinte plus foncée, comme *cuivrée*.

Les formes de segmentation, rares dans le sang circulant, sont nombreuses dans la rate ou la moelle osseuse; elles sont petites et fournissent six à douze mérozoïtes.

Au lieu des gamètes sphériques spéciaux aux parasites précédents,

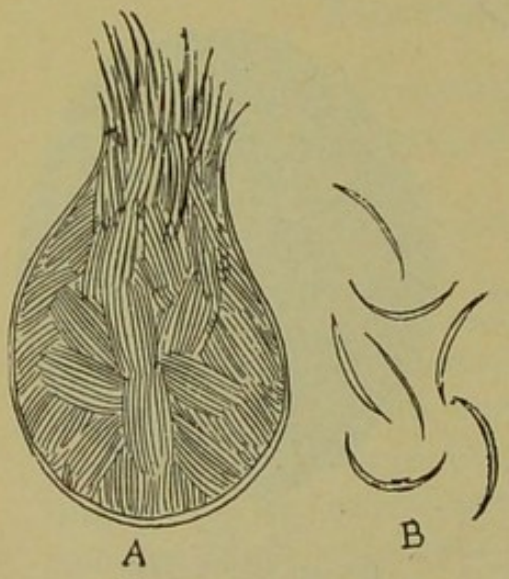


Fig. 318. — A, oocyste ouvert. — B, sporozoïtes libres (Grassi).

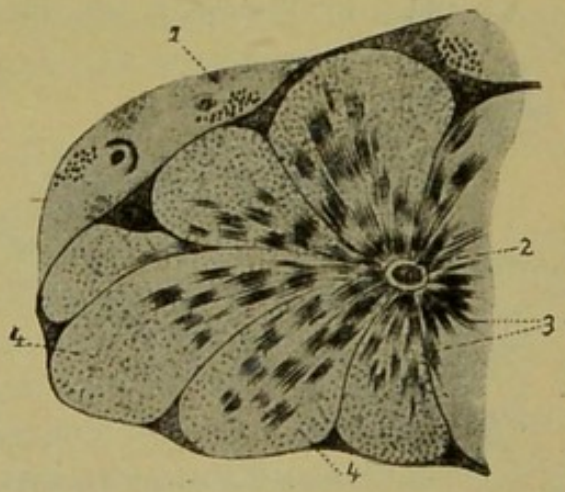


Fig. 319. — Sporozoïtes (3) dans une coupe de glande salivaire de moustique infesté (Grassi).

Laverania malariæ donne naissance à des *corps en croissants*, mâles et femelles (fig. 315).

Le croissant femelle (*macrogamète*) est allongé, son pigment se condense au centre sous l'aspect d'une couronne entourant le noyau.

Le croissant mâle (*microgamétocyte*) est plus trapu, plus volumineux; son pigment est disséminé dans toute l'étendue du protoplasma.

Évolution dans le corps du moustique. — C'est dans le corps du moustique que s'effectue la *sporogonie*, ou *reproduction sexuée*.

Quand le moustique vient à piquer l'homme, il absorbe, avec le sang, des parasites à leurs différents degrés de développement : corps annulaires, corps amiboïdes, corps en rosace, gamètes sphériques ou en croissant. Les trois premiers sont rapidement détruits, *seuls les gamètes et les croissants résistent et continuent à évoluer*.

Les macrogamètes prennent une forme sphérique, et leur chroma-

tine s'accumule au centre ; il en est de même des microgamétocytes ; mais, chez eux, la chromatine se divise habituellement en quatre groupes qui gagnent la périphérie de l'élément, fusent dans les prolongements flagellés qui se forment (*microgamètes*) et ne tardent pas à se détacher du corps sphérique, qui succombe. Le microgamète s'approche du macrogamète (élément femelle), qui pousse à sa rencontre une élevure, sorte de pseudopode. Ce pseudopode happe le microgamète, qui pénètre dans l'intérieur du macrogamète et le féconde (fig. 320).

Ce macrogamète, une fois fécondé, change de forme et prend, environ douze heures après, l'aspect d'un fuseau. Les auteurs lui ont donné des dénominations différentes : *zygote*, *vermicule*, *ookinète*. Doué de mouvements, il s'insinue entre les cellules épithéliales de la muqueuse gastrique du moustique, puis se transforme en un kyste pigmenté (*oocyste*), qui atteint, quarante-huit heures après l'infection de l'hôte nouveau, les dimensions d'un globule rouge ; il siège dans la musculeuse ; son volume augmente à tel point que le troisième jour il est six fois plus gros ; il fait alors hernie dans la cavité du corps du moustique (fig. 316), et son protoplasma se divise en kystes filles ou sporoblastes (Schaudinn et Lühe), qui prennent ensuite une apparence striée, due à la présence de *corps falciformes* ou *sporozoïtes* (fig. 317). Quand il est arrivé à maturité, la paroi de l'oocyste se rompt (fig. 318) ; les sporozoïtes devenus libres envahissent la cavité générale de l'insecte, et de là, grâce aux mouvements dont ils sont animés, se rendent dans les glandes salivaires (fig. 319).

Ces sporozoïtes présentent une forme allongée, lancéolée ; leur protoplasma se colore fortement aux extrémités ; au centre est un noyau chromatique assez dense et volumineux.

Dans les glandes salivaires, ils se groupent les uns à côté des autres, formant comme une palissade.

Si le moustique porteur de sporozoïtes dans les glandes salivaires pique un sujet sain, il les inocule ; ces nouveaux éléments pénètrent dans l'intérieur des hématies, les parasitent et se comportent comme un mérozoïte qui va parcourir les divers stades (corps amiboïde, corps en rosace) de la reproduction asexuée ou schizogonie déjà décrite (fig. 320).

ACTION PATHOGÈNE EXPÉRIMENTALE.

L'Hématozoaire du paludisme est inoculable à l'homme. Il reproduit ainsi chez lui le tableau de la malaria sous ses divers aspects cliniques. Toutes les tentatives faites chez les animaux, même les singes, ont échoué.

Chez l'homme, l'inoculation sous-cutanée ou, de préférence, intra-veineuse, est suivie, huit à dix jours après, de l'apparition des

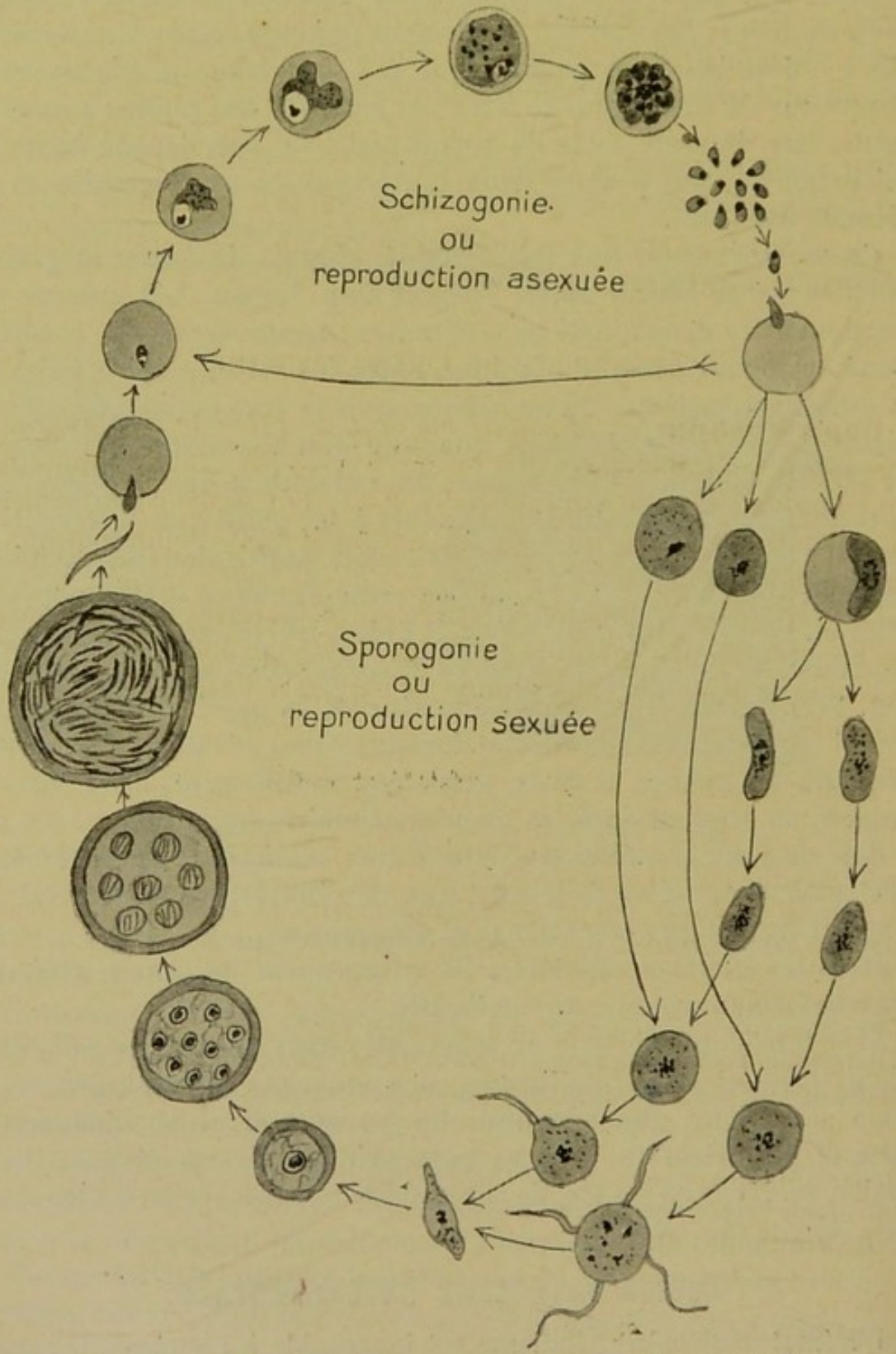


Fig. 320. — Évolution de l'Hématozoaire du paludisme (schématique).

Hématozoaires dans la circulation, coïncidant avec l'entrée en scène de tous les symptômes classiques.

L'inoculation expérimentale peut être effectuée par la piqûre de moustiques ayant sucé du sang de paludéens porteurs d'Hématozoaires. L'expérience, aujourd'hui classique, effectuée par P. Manson sur son fils, le démontre pleinement : P. Manson fit venir d'Italie des moustiques ayant piqué des paludéens. Il leur fit piquer son propre fils, qui n'avait jamais quitté l'Angleterre; quelques jours après, le paludisme évoluait chez lui, suivant le type tierce, avec les Hématozoaires dans le sang.

Le moustique ne peut être infestant que si le parasite a suivi en lui les transformations successives nécessaires à l'envahissement des glandes salivaires par les sporozoïtes.

RECHERCHE DE L'HÉMATOZOAIRE.

Dans le sang. — *Moment où doit se faire le prélèvement du sang.* — L'Hématozoaire ne se trouve pas indifféremment à tout moment dans le sang du paludéen : tout dépend de la forme clinique de paludisme qu'il présente et aussi du traitement quinique subi antérieurement.

Le traitement quinique, en effet, fait disparaître l'Hématozoaire de la circulation générale ; les croissants cependant échappent à la règle ; ils sont beaucoup moins sensibles à l'action de ce médicament.

Prélèvement. — Assurer l'asepsie absolue de la région où le prélèvement doit être effectué, de préférence au savon, puis à l'alcool. Ces détails ont pour but non seulement d'éviter l'infection du sujet, mais aussi d'éviter les impuretés venant de la peau, pouvant introduire dans le sang à examiner des éléments qui gêneraient l'observation. Sécher ensuite, car les liquides et la sueur altèrent les globules rouges et leur font subir des modifications qui pourraient être de nature à fausser l'interprétation.

Piquer avec une épingle flambée soit la pulpe d'un doigt de la main, soit la région para-unguéale (l'opération est moins douloureuse), soit le lobule de l'oreille (piqûre moins douloureuse encore, et donnant du sang à volonté, en plus grande abondance qu'au doigt). Presser : une gouttelette de sang se met à sourdre. On la recueille sur une lame que l'on prépare différemment, suivant que l'on veut pratiquer l'examen du sang frais, ou à l'état coloré après dessiccation.

Examen à l'état frais. — Choisir une lame de verre et une lamelle bien planes. Les nettoyer préalablement à l'alcool ou l'HCl, pour les débarrasser de toute matière grasse qui empêcherait l'uniformité de la répartition du sang entre elles deux.

Recueillir sur la lame la goutte de sang qui perle au point de la piqûre faite précédemment, la recouvrir de la lamelle. Inutile de luter à la paraffine ; la périphérie de la préparation se dessèche légèrement et opère d'elle-même le lutage.

Observer avec un éclairage de moyenne intensité, sans éclairage Abbé (une trop grande lumière ne permettrait pas d'établir la réfringence convenable à l'examen) avec un objectif 8 ou 9 à sec de Vérick. Examiner la préparation dans les régions où les globules rouges sont vus à plat et n'adhèrent pas entre eux : dans les zones où ils sont accolés en pile et vus par la tranche, l'examen est impossible.

Ces préparations montrent divers éléments histologiques; ce sont :

a. *Les hématies.* — Elles peuvent avoir conservé leur aspect normal, mais souvent elles sont le siège d'altérations portant sur leur forme; le globule rouge présente alors un contour irrégulier; de plus, à son intérieur, des vacuoles sont parfois perceptibles.

b. *Les leucocytes.* — Des polynucléaires et mononucléaires s'y rencontrent. A signaler particulièrement la teneur de certains polynucléaires en grains pigmentés mélaniques. Il en est de même des grands mononucléaires. Ce sont les *leucocytes mélanifères*, débarrassant le sang circulant des déchets parasitaires; les lymphocytes ne présentent pas ces caractères.

c. *Les hématozooaires.* — Suivant la forme clinique, suivant la période à laquelle le sang est examiné, on décèle les différents aspects connus : dans l'intérieur du globule rouge, on perçoit de petites taches de protoplasma pâle, à contour souvent imprécis, mal défini, contenant des grains de pigment noir. Ce sont les *corps sphériques* ou *amiboïdes* reconnaissables aux mouvements qu'ils présentent les *corps en rosace*, les *gamètes*, les *croissants*, et, si l'examen dure vingt à trente minutes, les *corps flagellés* apparaissent.

Dans le sang des paludéens, on peut rencontrer exclusivement, soit l'une, soit l'autre de ces formes parasitaires. Mais fréquemment deux et même trois d'entre elles s'y trouvent associées; tout dépend souvent de la période de l'accès à laquelle le sang a été prélevé.

Cet examen à l'état frais, aboutissant à la constatation d'un de ces parasites, à quelque variété qu'il appartienne, suffit pour imposer le diagnostic de paludisme. Mais le praticien, surtout peu exercé à cette observation, ne saurait être trop rigoureux dans l'interprétation de ce qu'il voit; car les altérations globulaires peuvent donner le change avec la présence de l'Hématozoaire; il les faut bien connaître pour éviter une erreur grossière.

Certains globules rouges présentent à leur intérieur des vacuoles qu'il ne faut pas confondre avec l'Amibe de la malaria : leurs bords sont nettement tranchés; si elles semblent présenter parfois des mouvements, ce n'est qu'une apparence; elles ne contiennent pas de grains de pigment; si un doute persiste encore, il disparaîtra

définitivement par l'examen du sang coloré; l'Hématozoaire sera teinté; la vacuole ne prendra pas le colorant.

Examen après coloration. — Étaler sur une lame de verre, en couche aussi mince et aussi uniforme que possible, la goutte de sang obtenue par la piqûre. Durant cet étalement, avoir soin de conserver aux hématies leur aspect normal sous peine de nouvelles erreurs; pour cela, la dessiccation doit être faite rapidement. Pour cela :

1° Chauffer légèrement à la flamme une lame de verre bien plane et bien nettoyée préalablement, de façon que sa température soit supportable à la main;

2° Y déposer immédiatement une gouttelette de sang et l'étaler de suite (fig. 334).

La lame étant saisie de la main gauche, saisir une carte de visite, par exemple, ou une lamelle à bords bien rectilignes de la main droite. L'appliquer sur la lame obliquement à l'endroit de la gouttelette, de façon que celle-ci s'étale transversalement dans l'angle dièdre formé par la lame et la carte. Puis tirer très doucement cette dernière vers la droite sans cesser de l'appuyer légèrement sur la préparation. En même temps, souffler fortement sur le sang qui s'étale ainsi progressivement pour obtenir, de concert avec la chaleur, une dessiccation rapide. Préparer ainsi huit à dix lames.

3° Fixation soit par l'alcool absolu pendant une demi-heure, soit par l'alcool-éther pendant un quart d'heure; éviter surtout la fixation par la chaleur.

4° Pour la coloration, employer l'un des procédés énoncés plus haut.

Les préparations colorées doivent toujours être examinées avec l'objectif à immersion.

La coloration de l'Hématozoaire achève de le caractériser; il sera dès lors impossible de le confondre avec un leucocyte ou avec une vacuole occupant l'intérieur du globule rouge.

En certaines circonstances, surtout quand il s'agit de paludéens non encore traités, l'Hématozoaire est en général en assez grande abondance dans chaque préparation, et chaque champ de microscope peut en faire voir un, deux et même plusieurs exemplaires; on peut même observer des hématies qui contiennent plusieurs Hématozoaires. Mais ces cas sont relativement peu fréquents, et bien souvent on est obligé d'examiner dix, vingt, trente champs avant d'en rencontrer un; bien plus, ce n'est quelquefois qu'aux deuxième, troisième, cinquième préparations, et même davantage, que le parasite peut être perçu.

La présence de l'Hématozoaire ainsi constatée suivant toutes les règles précitées impose le diagnostic de « paludisme ».

CHAPITRE LXIII

PIROPLASMES

CARACTÈRES GÉNÉRAUX.

Les piroplasmes sont des Hématozoaires endoglobulaires, responsables de diverses infections se développant chez les bovidés, les ovidés, les équidés, le chien, etc.

Ce sont en général de petits éléments arrondis, ou de préférence ovalaires, renfermant un noyau et un blépharoplaste. Ils siègent dans les hématies des animaux qu'ils infectent ; on les retrouve en grand nombre dans la rate, où ils peuvent se trouver en dehors des hématies.

La *coloration* s'effectue par les procédés usités pour la coloration de l'Hématozoaire du paludisme : les méthodes de Laveran, de Giemsa sont les procédés de choix. Le protoplasma présente une teinte bleutée; les éléments chromatiques de chaque parasite sont rouge violacé.

Leur *reproduction* s'effectue par schizogonie et sporogonie. Les schizontes, corps arrondis, situés dans les globules rouges ou à l'état libre dans le plasma, bourgeonnent pour donner naissance à un certain nombre de mérozoïtes. Les corps piriformes, intraglobulaires sporontes), se reproduisent par division longitudinale. Cette reproduction est donc asexuée.

La reproduction sexuée ou sporogonie s'effectue dans l'organisme des *tiques* qui assurent la propagation des animaux malades aux animaux sains. Les sporontes se transforment en macrogamètes et microgamétocytes : les premiers sont sphériques, les derniers cunéiformes. Le zygote (microgamète fécondé) est vermiculaire.

Les piroplasmes sont *cultivables* dans du sang citraté à la température de 37°. Les parasites s'arrondissent et perdent leur chromatine; on voit ensuite le noyau se reformer et se diviser en plusieurs corps arrondis s'entourant de protoplasma. Les corps arrondis, qui prennent l'aspect de spores, donnent dans la suite des piroplasmes sphériques, mais jamais piriformes.

transmission de ces parasites s'effectue par l'intermédiaire des

tiques. Ces insectes absorbent, avec le sang, les piroplasmes qu'il contient, mais l'infestation n'a lieu que par les filles des tiques qui ont sucé le sang des animaux malades.

PIROPLASMA BIGEMINUM.

Piroplasma bigeminum est l'agent pathogène de la fièvre du Texas des bovidés (Smith et Kilborne), de l'hémoglobinurie du bœuf, qu'on a observée en Finlande et en Afrique australe, de la malaria bovine, de la *tristeza* des bovidés, sévissant en Argentine.

Cette piroplasmose se manifeste par de l'hémoglobinurie accompagnée de fièvre, d'inappétence, d'amaigrissement, de parésies diverses, d'anémie marquée avec fluidité et pâleur du sang, tous ces symptômes aboutissant presque fatalement en quelques jours à la mort. L'autopsie montre des ecchymoses sous-cutanées, une rate hypertrophiée, des reins gros et congestionnés, au poumon, parfois, des foyers d'hépatisation.

Morphologie. — *Dans le sang*, Laveran et Nicolle ont décrit le parasite sous deux aspects :

On constate, en effet, dans les hématies, des parasites arrondis, de 1 μ à 1 μ, 5 de diamètre ; une hématie peut héberger plusieurs éléments semblables. Les plus volumineux subissent la schizogonie : le noyau s'allonge, puis se divise ainsi que le protoplasma.

En outre, on perçoit des éléments piriformes longs de 2 μ, 5 à 3 μ. Dans la portion renflée, se trouve le noyau avec le blépharoplaste. Lignières a vu, dans certaines formes libres, l'extrémité pointue se continuer par une sorte de flagelle.

Ces parasites piriformes (sporontes) se multiplient suivant le mode asexué, par division longitudinale. Introduits dans le tube digestif des tiques, ils subissent la sporogonie.

Dans la rate, ce sont les éléments arrondis qui dominent ; ils s'y multiplient activement en dehors des cellules et envahissent les hématies à la faveur de leurs mouvements amiboïdes.

Infection expérimentale. — A part le bœuf, tous les animaux sont réfractaires à l'infection expérimentale. Chez lui, l'inoculation sous-cutanée, intraveineuse, de sang riche en *Piroplasma bigeminum*, confère sûrement la maladie, qui évolue comme dans les conditions naturelles.

Transmission. — La transmission s'effectue par plusieurs variétés de tiques. (*Ixodus bovis*, *Rhipicephalus decoloratus*, *Boophilus bovis*).

Immunité. — Une atteinte de piroplasmose guérie confère l'immunité; une inoculation chez de tels animaux reste sans résultat. Mais leur sérum n'est doué d'aucune propriété préventive ni curative.

PIROPLASMA PARVUM.

Cet autre piroplasme infecte aussi les bœufs; on le nomme encore piroplasme bacilliforme. La maladie revêt tantôt une allure aiguë, provoquant de la fièvre, de l'ictère, de la diarrhée sanglante, et se terminant fréquemment par la mort ; ou bien elle présente une allure lente à forme cachectique avec ictère chronique.

Morphologie. — Le parasite se présente sous trois aspects :

Forme annulaire et forme bacillaire dans l'infection aiguë; il est doué de mouvements amiboïdes ; son protoplasma contient un amas chromatique.

Aspect punctiforme dans le type cachectique; il est alors constitué par des amas chromatiques immobiles.

Inoculation. — Les inoculations restent négatives chez tous les animaux.

Transmission. — La transmission s'effectue par des tiques (*Rhipicéphalus appendiculatus*).

PIROPLASMA OVIS.

La piroplasmose du mouton se présente sous deux formes : une forme grave, mortelle, caractérisée par de l'anémie, de l'hémoglobinurie avec prostration très marquée ; une forme légère, restant souvent méconnue à cause de son allure silencieuse.

L'agent pathogène a été découvert en Roumanie par Babès. Il a été bien étudié par Bonome en Italie, par Laveran et Nicolle à Constantinople; on l'a retrouvé dans l'Afrique australe, aux Indes, en France.

Il diffère peu du *Piroplasma bigeminum* et est transmis par les tiques du mouton (*Rhinocephalus bursa*). Une atteinte guérie assure l'immunité.

PIROPLASMA EQUI.

Les chevaux du Transvaal sont souvent atteints d'une piroplasmose analogue à celle du bœuf (Theiler) ; Thiroux l'a observée à Madagascar, Pallin dans l'Inde.

Piroplosma equi, son agent pathogène, découvert par Laveran, ressemble beaucoup à *Piroplasma bigeminum*, mais est plus petit. Il se transmet par *Rhipicephalus Evertsi*.

Le sang infecté est inoculable au cheval sain.

PIROPLASMA CANIS.

La piroplasmose du chien, fréquente en France, au Sénégal, en Afrique australe, au Tonkin, etc., est produite par *P. canis*. Elle présente une forme aiguë et une forme lente.

Dans la forme aiguë, la température s'élève à 40°; l'anorexie est complète ; l'ictère, l'hémoglobinurie se déclarent, la rate s'hypertrophie ; le sang est pâle et fluide ; des parésies surviennent, puis l'animal devient hypothermique et succombe entre le troisième et le dixième jour de l'affection.

La forme lente se traduit par de l'anémie, de la faiblesse musculaire, parfois de la fièvre, rarement de l'ictère et de l'hémoglobinurie.

Morphologie. — L'aspect du *P. canis* rappelle très étroitement celui de *P. bigeminum*. Dans le sang, on décèle en effet, en plus ou moins grande abondance, des parasites surtout endoglobulaires, constitués par une masse protoplasmique qui paraît condensée à la périphérie de l'élément et figure ainsi une membrane d'enveloppe ; elle est pourvue d'un noyau. Ce noyau est allongé et excentrique, ou au contraire central.

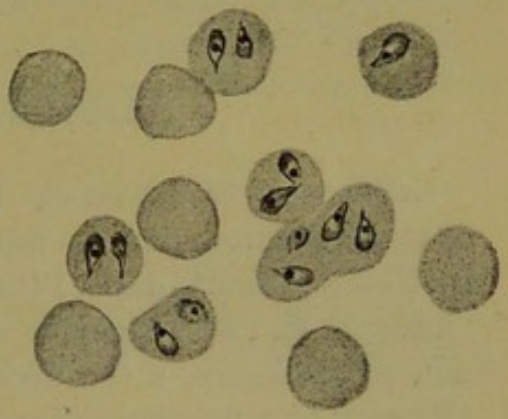


Fig. 321. — *Piroplasma canis*.

Le parasite revêt la forme ronde ou l'aspect piriforme.

Coloration. — Les procédés dérivés de la méthode de Romanowski conviennent bien. Nocard préfère la coloration de Laveran au bleu Borrel et à l'éosine ; il y ajoute de la thionine phéniquée. Le protoplasma est bleu ; le noyau prend une teinte carmin.

Reproduction. — Les figures de reproduction s'observent mieux dans le sang des viscères que dans celui de la circulation générale. Elle s'effectue suivant le mode connu de la division longitudinale (schizogonie). Dans le tube digestif des tiques, elle s'effectue par sporogonie avec formation de zygotes, comme *P. bigeminum*.

Cultures. — Nocard n'a jamais pu arriver à cultiver ce parasite. Kleine, dans du sang défibriné dilué, a signalé des modifications d'aspect, mais sans multiplication appréciable.

Transmission. — La transmission s'effectue ici encore par des tiques (*Dermacentor reticulatus, Hæmaphysalis læchi*).

Inoculations. — L'inoculation sous-cutanée, intramusculaire, intraveineuse, de sang ou de tissus vasculaires provoque chez le chien seul, quand ces tissus contiennent le parasite, une piroplasmose analogue à l'infection spontanée. Les parasites apparaissent dans le sang après deux jours ; les premiers symptômees prennent naissance après une incubation de cinq à six jours ; elle est plus courte en cas d'inoculation intraveineuse.

Immunité. — Une première atteinte confère l'immunité. Nocard a montré que le sérum de chiens guéris possède une action préventive faible ; pour la mettre en évidence, il faut inoculer au moins 10 centimètres cubes de sérum, et encore la mort n'est-elle pas toujours empêchée ; on n'observe le plus souvent qu'un retard dans l'évolution de l'affection.

Toutefois, si l'on renforce l'immunité des animaux guéris par des injections répétées de sang virulent, la propriété préventive du sérum devient plus marquée. Un tel sérum est encore doué de propriétés curatives s'il est injecté vingt-quatre à quarante-huit heures après une inoculation de virus tuant les témoins en cinq jours. Il est inefficace s'il intervient après l'apparition des parasites dans le sang.

CHAPITRE LXIV

LEISHMANIA

LEISHMANIA DONOVANI.

Leishmania Donovani est l'agent pathogène d'une affection parasitaire connue sous le nom de kala-azar indien, sévissant plus particulièrement dans l'Inde, caractérisée par de la fièvre, de l'anémie, de l'hypertrophie de la rate. Ce parasite, qui se rapproche des piroplasmes, a été découvert par Leishman dans la région de Calcutta et à la même époque par Donovan à Madras.

MORPHOLOGIE.

Aspect microscopique. — Le parasite, nommé encore corps de Leishman-Donovan, est un élément ovalaire, rond ou piriforme, mesurant 2 à 4 μ de longueur sur 1 μ, 5 à 3 μ de large.

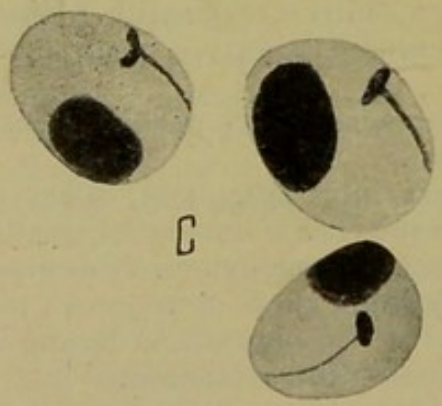


Fig. 322. — *Leishmania* amplifiés. (d'après Donovan).

La coloration met sa structure en évidence : il est constitué par une masse protoplasmique non granuleuse, entourée très vraisemblablement d'une membrane d'enveloppe, d'une cuticule très mince. En un point de la périphérie de l'élément, contre la membrane d'enveloppe, un noyau est perceptible ; il est placé habituellement à l'extrémité du petit diamètre ; en face du noyau se trouve un centrosome qui se présente sous la forme d'un point ou, plus souvent, d'un bâtonnet très mince, disposé perpendiculairement ou parallèlement au grand axe du noyau (fig. 322).

Coloration. — *Leishmania Donovani* se colore bien par les méthodes utilisées pour l'Hématozoaire du paludisme. Ce sont les procédés dérivés de la méthode de Romanowski, principalement

ceux de Giemsa et Leishman, qui donnent les meilleurs résultats.

Une fois coloré, le parasite se présente avec le protoplasma légèrement bleuté, plus teinté à la périphérie ; le noyau est violacé ; le centrosome est rouge vif.

Reproduction. — C'est dans la rate (frottis de pulpe splénique) qu'on observe le plus facilement le mode de reproduction : le parasite se multiplie par simple scission longitudinale, précédant ou suivant la division du noyau. Cette division peut être multiple ; on assiste alors à la formation de rosaces composées de trois à six éléments ; les noyaux siègent à la périphérie et les centrosomes à la partie centrale de l'élément.

CULTURES.

L. Rogers est le premier qui put obtenir des cultures de *Leishmania Donovani*. Il utilisa pour cela le sang recueilli par ponction de la rate, rendu incoagulable par l'addition de citrate de soude. Plus tard, il se servit de sang humain ou de sang de lapin, auquel il ajouta une solution stérile de citrate de soude à 5 p. 100, rendue légèrement acide par l'acide citrique.

On répartit ce milieu en petits tubes. Après ensemencement du produit splénique, on porte à l'étuve à 22°.

Le développement est assez rapide, car en quarante-huit heures, la multiplication s'effectue. En suivant l'évolution, on constate que le parasite augmente de volume, puis se divise ; une vacuole apparaît vers le centrosome ; le corps protoplasmique s'allonge, la vacuole atteint la surface, puis éclate, et du centrosome naît un flagelle. Ce nouveau corps très allongé, parfois en forme de grain d'orge (fig. 323), est arrondi à l'extrémité flagellaire, pointu au contraire à l'extrémité opposée. Il ne possède pas de membrane ondulante.

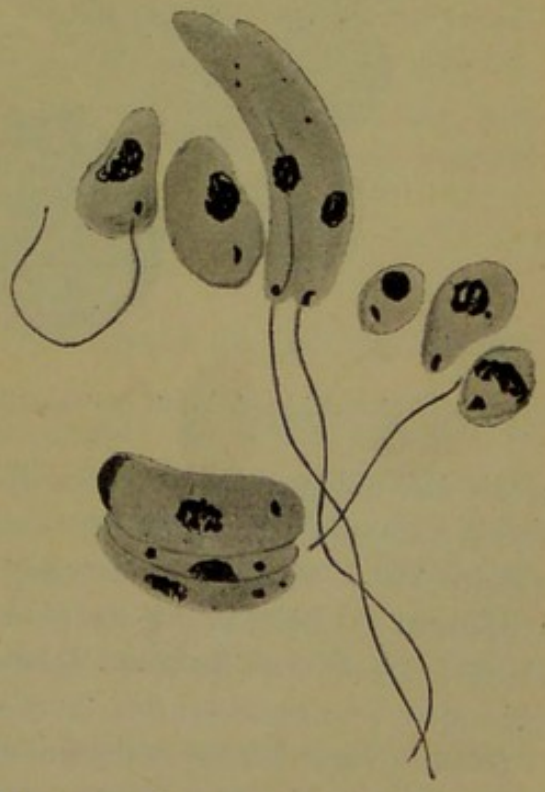


Fig. 323. — Formes de culture de *Leishmania Donovani* (d'après Christophers).

Ces cultures ne sont pas repiquables en série.

HABITAT DANS L'ORGANISME.

Leishmania Donovani siège en petite quantité dans le sang et en plus grande abondance dans les viscères, principalement la rate ; il est le plus souvent intracellulaire ; si quelques éléments sont perçus à l'état libre, c'est en raison de la désagrégation des cellules qui le contiennent, mais ils ne tardent pas à être phagocytés.

Dans le sang, il se rencontre presque exclusivement dans les polynucléaires ou mononucléaires : Donovan, Laveran et Mesnil ont signalé leur présence éventuelle dans les hématies, fait qui

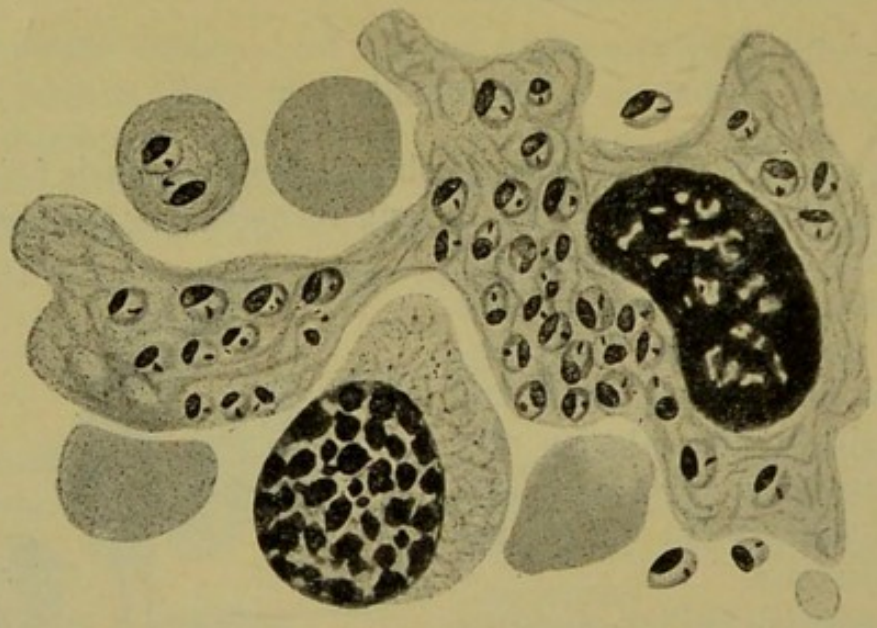


Fig. 324. — Macrophage de la rate contenant de nombreux parasites (Donovan). Gross. = 1 200.

avait été nié par Cristophers, Rogers et Leishman ; il n'arrive toutefois à envahir les globules rouges que si la température du malade atteint 39°,5 ou 40° ; en ce cas, il présente une forme particulière : l'élément est petit (1 μ à 1 μ,5) et ne renferme qu'une masse chromatique ; il est vrai qu'il ne tarde pas à grossir et à prendre l'aspect classique ; ce seraient des formes jeunes.

Dans la rate, les corps de Leishman-Donovani se rencontrent dans l'intérieur de larges cellules mononucléaires (fig. 324), dont le protoplasma en est littéralement bourré : ce sont des cellules de l'endothélium vasculaire. Laveran et Mesnil ont signalé leur présence dans une substance qu'ils désignent sous le nom de « gangue », représentant sans doute le vestige du protoplasma des mêmes cellules en dégénérescence.

Dans le foie, on perçoit le parasite dans les cellules endothéliales des vaisseaux capillaires, dont elles obstruent la lumière.

On le retrouve encore dans les *poumons*, les *reins*, les *ganglions mésentériques*, surtout dans la *moelle osseuse*.

Il siège aussi dans les *ulcérations intestinales* et les granulations qui les précèdent, de même dans les *papules* non ulcérées de la peau et les *ulcères cutanés* ; il se trouve ici encore dans les cellules endothéliales des capillaires.

MODE D'INFECTION. — HOTE INTERMÉDIAIRE.

Rogers avait constaté que, dans les zones d'endémicité, le kala-azar sévissait sous forme de petites épidémies de maisons ou de familles. On pense qu'un insecte piqueur devait jouer le rôle d'intermédiaire. Patton a observé dans la punaise de l'Inde (*Cimex rotundatus*) des formes flagellées rappelant celles des cultures du parasite. Ces faits n'ont pas été confirmés par Donovan.

P. Manson fait observer que l'agent intermédiaire ne doit pas être fatalement un insecte hématophage, car le parasite est peu abondant dans le sang périphérique ; les ulcérations cutanées se révèlent en assez grande quantité ; pour lui, les mouches non piqueuses pourraient bien s'infecter par contact avec ces ulcères, et, en se posant sur des excoriations, porter le virus pris sur des malades. En réalité, le mode de transmission n'est pas encore connu.

RECHERCHE DU PARASITE.

Le diagnostic du kala-azar ne peut être assuré qu'après la découverte du parasite.

Dans le sang. — Prélever une goutte de sang suivant la technique habituelle. Faire des frottis suivant les indications de Donovan : l'étalement doit se terminer brusquement, en ligne droite (et non en queue), car c'est à la limite extrême de l'étalement que se rencontrent le plus grand nombre de leucocytes où doit se trouver le parasite. Fixer par l'alcool-éther. Colorer par le liquide de Giemsa.

Cummins conseille l'examen de la sérosité retirée d'une pustule obtenue par un vésicant quelconque : les leucocytes y sont très abondants.

Dans la rate et le foie. — En cas d'hypertrophie hépatique, ponctionner, avec les précautions d'usage, plutôt le foie que la rate. La ponction splénique peut occasionner une hémorragie mortelle.

Faire un frottis avec la pulpe splénique ou hépatique. Le traiter comme les frottis de sang.

LEISHMANIA INFANTUM.

Leishmania infantum est l'agent pathogène d'une forme de kala-azar qui sévit chez les enfants en Tunisie et en certaines régions du Sud de l'Italie (anémie splénique infantile fébrile). Découvert par Cathoire à Tunis en 1904, il fut étudié ultérieurement en Italie par Pianese, et en Tunisie par Ch. Nicolle et ses élèves. Lemaire

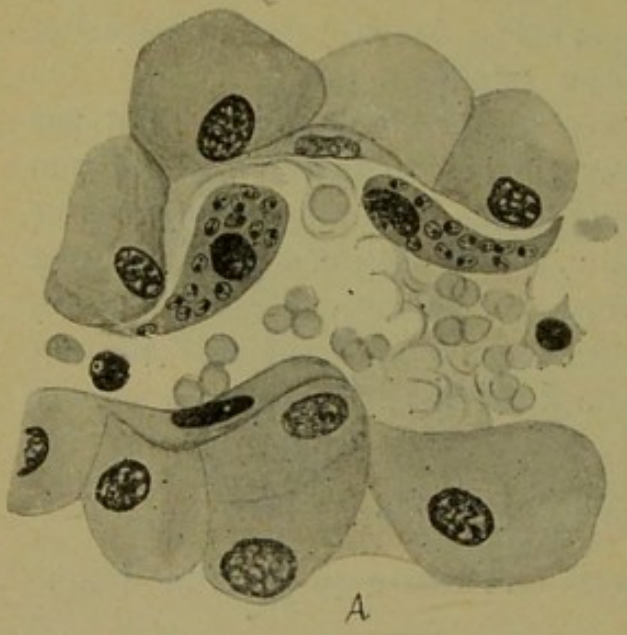


Fig. 325. — Coupe de foie. *Leishmania* dans les cellules endothéliales (Ch. Nicolle). Gross. = 1 000.

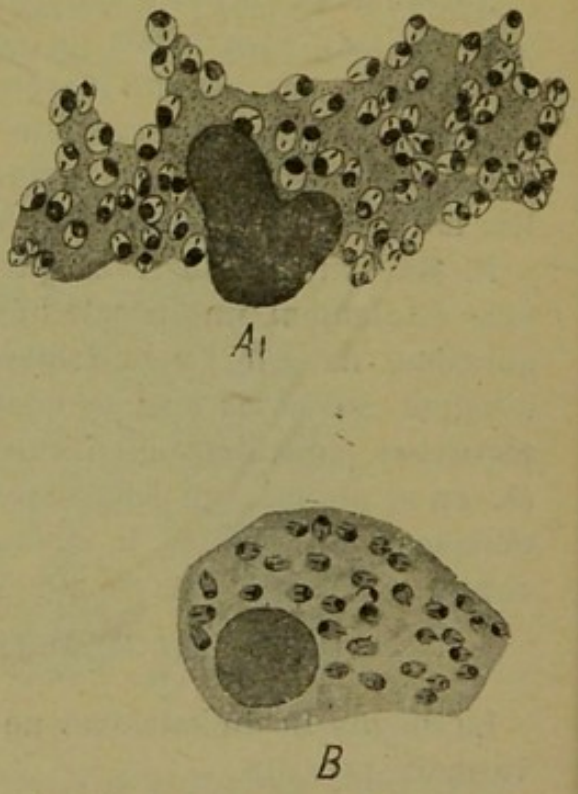


Fig. 326. — A, parasites dans la pulpe de rate d'un enfant. — B, parasites dans le foie d'un chien infecté (Ch. Nicolle). Gross. = 1 000.

l'a signalé dans la province de Constantine, Sergent et ses collaborateurs dans la province d'Alger.

Morphologie. — Au point de vue morphologique (fig. 326), *Leishmania infantum* se rapproche très étroitement de *Leishmania Donovani.*

Il ne se rencontre habituellement pas dans le sang ; par contre, il est abondant dans le foie (fig. 325) et surtout la rate (fig. 326) et la moelle osseuse. Dans ces organes, on le rencontre généralement inclus dans les cellules endothéliales et les « gangues ».

Cultures. — Le parasite du kala-azar tunisien ne se cultive pas dans le milieu de Rogers. Il donne, au contraire, une culture

abondante dans le *milieu de Novy et Mac Neal*, qui n'est autre que de la gélose normale au sang (sang de lapin défibriné, 1 partie, pour 2 parties de gélose) ; la multiplication s'effectue dans l'eau de condensation.

Ch. Nicolle prépare le milieu suivant, qui donne de meilleurs résultats :

Eau	900 grammes.
Sel marin	6 —
Gélose	14 —

La gélose a préalablement macéré dans l'eau pendant vingt-quatre heures pour être débarrassée de ses impuretés.

On répartit en tubes, et l'on ajoute un tiers de sang de lapin défibriné.

Les cultures qui apparaissent dans l'eau de condensation sont très abondantes ; elles peuvent être repiquées indéfiniment. Elles se montrent à 22°, vers le septième jour.

Les parasites prennent la forme de flagellés. Dans les vieilles cultures, ils s'amassent pour figurer des rosaces, vers le centre desquelles se dirigent les extrémités munies des flagelles.

Action pathogène expérimentale. — Contrairement à *Leishmania Donovani*, *Leishmania infantum est inoculable au chien et au singe*.

Nicolle a montré la réceptivité du *chien* à l'action de ce parasite : l'inoculation intrapéritonéale ou intrahépatique d'un fragment de rate parasitée détermine chez lui la même affection qu'on observe chez l'enfant ; la répartition du parasite est identique dans les deux cas.

L'inoculation de cultures donne des résultats négatifs.

Le *singe* (*Macacus sinicus*, *Macacus cynomolgus*) prend l'infection dans les mêmes conditions.

Chez le cobaye et la souris, Laveran et Pettit ont obtenu, par inoculation intrapéritonéale, une multiplication locale du parasite mais sans aucune généralisation.

Mode d'infection. — La réceptivité du chien à l'inoculation expérimentale a conduit Ch. Nicolle à envisager cet animal comme un réservoir possible du virus, au contact duquel l'enfant pourrait s'infecter.

Il examina 220 chiens recueillis à la fourrière de Tunis ; chez 4 d'entre eux, il découvrit dans la rate et la moelle osseuse le parasite qu'il put cultiver sur son milieu.

Par conséquent, le chien contracte spontanément le kala-azar, et il est vraisemblable d'admettre qu'il constitue ainsi un foyer

d'infection pour l'homme. Sergent signale que le chat peut s'infecter à la même source.

Ch. Nicolle suppose que la contagion s'effectue par l'intermédiaire des puces. Cette hypothèse a été confirmée par C. Basile.

LEISHMANIA FURONCULOSA.

Ce parasite se rencontre dans la lésion cutanée appelée suivant la région où elle sévit : bouton d'Orient, bouton du Nil, clou de Biskra, clou de Gafsa, bouton d'Alep, bouton de Bagdad. On lui attribue à juste titre un rôle pathogène spécifique dans sa production.

Vu en 1876 par Lewis et Cunningham, il ne fut envisagé comme protozoaire qu'en 1882 par Cunningham. Les recherches ultérieures (Firth, Wright, Martsinowsky et Bogrow, Nattan-Larrier, Mesnil, Nicolle et Remlinger), en le décelant dans ces diverses productions, contribuèrent à faire affirmer leur communauté d'origine.

Leishmania furonculosa est morphologiquement semblable à *Leishmania Donovani* ; aucun caractère ne permet de l'en différencier. Comme ce dernier, il est intracellulaire et se rencontre dans les polynucléaires, grands mononucléaires, et les cellules endothéliales ou conjonctives.

Il se cultive en milieu de Novy.

Il est inoculable à l'homme. Ch. Nicolle et Sicre ont pu l'inoculer au *Macacus sinicus*. Fait curieux, un *Macacus sinicus*, guéri d'un bouton d'Orient obtenu expérimentalement, est resté réfractaire à l'inoculation, faite onze mois après, de *Leishmania infantum* (Ch. Nicolle), alors qu'un témoin fut réceptif, ce qui tendrait à démontrer l'analogie qui existe entre ces deux parasites.

CHAPITRE LXV

TRYPANOSOMES

Les Trypanosomes sont des Protozoaires appartenant à la classe des Flagellés. Ce sont des parasites du sang des Vertébrés.

Vus pour la première fois par Valentin (de Berne) en 1841, dans le sang de la truite, ils ont été retrouvés par Gluge, Mayer, Gruby, dans le sang de la grenouille. Des observations nouvelles les décelèrent chez le mulot, la taupe, le rat. Mais ce n'est qu'avec les travaux de Lewis, en 1878, qu'on commença à les bien connaître.

En 1880, Evans attribue à un Trypanosome un rôle spécifique dans l'étiologie du *surra* qui sévit chez le cheval et le chameau ; Bruce, en 1895, fait jouer le même rôle à un autre Trypanosome dans la production du *nagana* ; il écrit déjà que la mouche tsetsé est l'hôte intermédiaire chargé de propager le virus d'un animal malade à un animal sain.

Depuis, Rouget découvre le Trypanosome de la dourine ; Dutton, Castellani, en 1901, celui de la maladie du sommeil, spéciale à la race humaine.

Ces découvertes ont donné naissance à des recherches sans nombre sur ces nouveaux parasites.

CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES TRYPANOSOMES.

Structure. — Tout Trypanosome est constitué par un corps protoplasmique allongé, piriforme et aplati, muni à sa partie médiane d'un *noyau* et d'un *centrosome* ou *blépharoplaste* ; il est garni latéralement d'une *membrane ondulante* plissée, dont le bord libre est épaissi par la présence d'un filament libre, un *flagelle* qui émane du centrosome (fig. 327).

Fig. 327. — Trypanosome du rat (d'après Laveran et Mesnil).

A l'extrémité postérieure, une vacuole intraprotoplasmique est perceptible ; on y observe des granulations chromatiques éparses.

Mobilité. — Examinés à l'état frais dans le plasma sanguin, les Trypanosomes sont mobiles ; la mobilité est due aux ondu-

lations de la membrane qui produisent des mouvements de *contorsion* sur place, et aux vibrations du flagelle qui produisent la *progression* au cours de laquelle le flagelle, représentant l'extrémité antérieure, se trouve en avant. Les mouvements sont variables en intensité et en quantité, suivant les races de Trypanosomes.

Coloration. — Ces détails de structure s'accusent davantage par la coloration élective par les procédés dérivés de la méthode de Romanowski : Giemsa, Laveran, Leishman.

Le protoplasma est teinté en bleu, le noyau en rouge ; en son centre siège un caryosome ; le centrosome, arrondi, est rouge; il en est de même du flagelle, auquel on reconnaît trois portions :

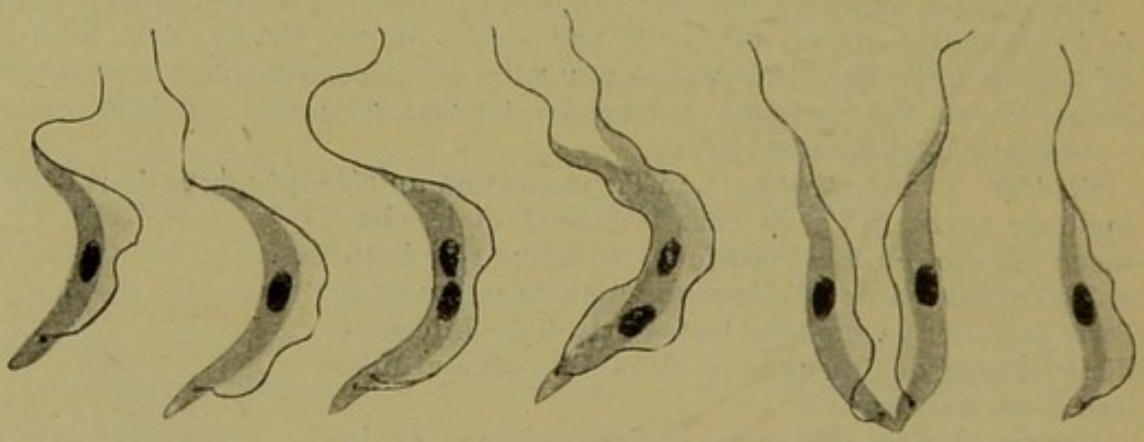


Fig. 328. — Mode de reproduction générale des Trypanosomes.

la *racine*, allant du centrosome à l'origine de la membrane ondulante; le *filament bordant*, qui longe le bord libre de cette dernière; le *flagelle libre*. La membrane ondulante, expansion du protoplasma, est colorée en bleu, comme ce dernier.

Biologie générale. — ***Reproduction.*** — *Dans le sang des vertébrés*, les Trypanosomes se reproduisent par *division longitudinale* (fig. 328). Le volume du parasite s'accroît, puis le centrosome et le noyau se divisent; la division du noyau s'opère par simple allongement de la masse chromatique, suivi de son étranglement. La racine du flagelle se divise en deux parties, chacune d'elles se mettant en rapport avec les deux centrosomes; puis le flagelle subit un clivage qui donne naissance à deux flagelles. Enfin la masse protoplasmique subit la même division longitudinale, le tout aboutissant à la formation des deux parasites parfaits, qui finissent par se séparer (*reproduction asexuée*).

D'après Koch, Gray, Prowazek, les Trypanosomes subiraient une *reproduction sexuée dans le corps des glossines*, insectes piqueurs assurant la propagation du parasite.

Nutrition. — Il est fort probable que les Trypanosomes se nourrissent par *osmose*, leur permettant des échanges entre leur substance et le milieu nutritif où ils vivent.

Produits toxiques. — Les Trypanosomes pathogènes doivent élaborer des produits uniques, témoin les phénomènes d'anémie constatés chez les sujets qui en sont porteurs. Mais on n'a pu mettre encore en évidence les toxines produites.

Cultures. — On obtient des cultures à 22° en milieu de Novy et Mac Neal (gélose au sang) avec les Trypanosomes non pathogènes (*Trypanosoma Lewisi*, Trypanosome des Oiseaux et des Batraciens). Ces cultures sont indéfiniment repiquables. Les Trypanosomes cultivés sont allongés, mobiles, mais dépourvus de membrane ondulante. Dans les vieilles cultures, ils s'amassent en rosace, les flagelles en occupant le centre.

Les Trypanosomes pathogènes ne sont pas cultivables.

Pouvoir pathogène. — Tous les Trypanosomes ne sont pas pathogènes. Certains, comme *Tryp. Lewisi*, *Tryp. Theileri*, peuvent se rencontrer en abondance dans le sang du rat, sans provoquer le moindre trouble morbide.

Le groupe des Trypanosomes *non pathogènes* se distingue du suivant par quelques détails morphologiques et par la constance de leur virulence pour l'animal qu'ils ont infecté; puis ils ne parasitent qu'une seule espèce animale.

Les *Trypanosomes pathogènes* peuvent parasiter plusieurs espèces animales différentes. Transportés d'une espèce à une autre, ils subissent progressivement l'adaptation à cette dernière, accroissent leur virulence vis-à-vis d'elle et la perdent pour leur hôte d'origine.

Réaction vis-à-vis des sérums de sujets infectés. — Le sérum d'un animal trypanosomé, mis en contact avec un Trypanosome de la même espèce, présente vis-à-vis de ce dernier une *action trypanolytique* (Levaditi et Muttermilch). Léger et Ringenbach ont montré que cette action n'était pas rigoureusement spécifique, car les Trypanosomes d'espèce différente, étrangers à l'infection de l'animal, peuvent la subir également. Néanmoins l'existence de la réaction permet d'affirmer que l'animal infecté est réellement trypanosomiasique.

Levaditi et Muttermilch ont encore décrit le *phénomène de l'attachement*; il est plus spécifique que le précédent : mis en contact avec le sérum d'un organisme trypanosomé, le Trypanosome correspondant *s'attache* aux leucocytes prélevés sur des lapins ou des cobayes sains. Le phénomène ne se produirait pas avec des Trypanosomes d'espèce étrangère.

TRYPANOSOMA GAMBIENSE.

Trypanosoma gambiense, découvert par Dutton en 1901, est le parasite spécifique de l'infection dénommée Trypanosomiase humaine, qui, ainsi que nous le verrons, prend le masque d'une infection

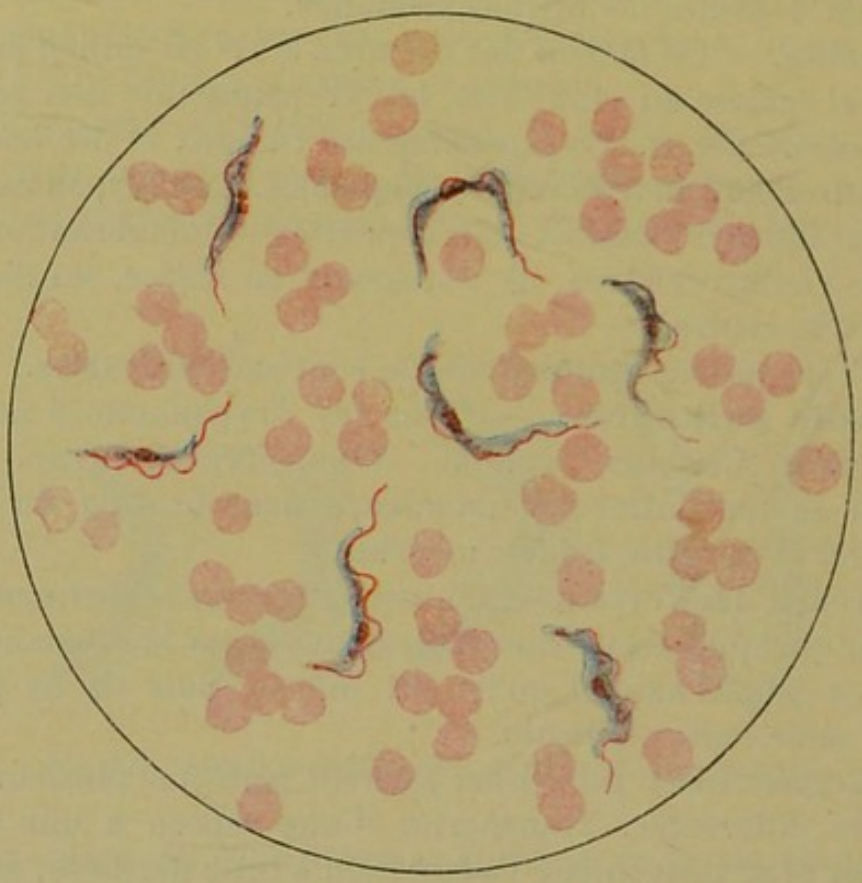


Fig. 329. — *Trypanosoma gambiense* dans le sang (coloration par le Giemsa).

générale sur laquelle se greffent des lésions méningées donnant lieu à la « maladie du sommeil ».

MORPHOLOGIE.

Le parasite montre les caractéristiques suivantes (fig. 329) :

Il est long de 17 à 28 μ, large de 1 μ, 40 à 2 μ (Laveran et Mesnil); la masse protoplasmique, allongée, contient des granulations chromatiques; le noyau a une forme ovalaire et occupe la partie médiane; le centrosome est parfois entouré d'une vacuole. Le flagelle libre présente une longueur égale au quart de la longueur du parasite. La portion libre est parfois très réduite, ou même absente; le protoplasma se prolonge alors jusqu'à son extrémité terminale; il s'agit là de formes courtes se montrant à côté de formes longues.

La membrane ondulante est étroite et très ondulée.

Vu à l'état frais, il présente une grande mobilité; il progresse suivant une ligne sinueuse, le flagelle en avant.

Dans la rate, on peut être appelé à observer une *forme latente*, dont l'aspect est un peu spécial; le parasite semble se désagréger et se réduit à un simple noyau entouré d'une vacuole. Puis on assiste à la division du noyau qui met en liberté un centrosome : un flagelle prend naissance, et un nouveau Trypanosome est ainsi formé, prêt à envahir ensuite la circulation.

HABITAT ET POUVOIR PATHOGÈNE CHEZ L'HOMME.

En 1902, Dutton, qui a vu et décrit le premier ce Trypanosome, l'avait observé dans le sang d'un sujet mort d'une affection fébrile, réfractaire à la quinine, caractérisée par de la fièvre, de l'œdème de la face et des membres inférieurs, une grosse rate, de l'hypertrophie ganglionnaire, des érythèmes cutanés, de la faiblesse générale.

Des observations analogues, cliniques et bactériologiques, furent faites ultérieurement au Congo et dans l'Ouganda par Manson, Daniels, Broden, Brumpt, Forde, etc.

L'année suivante, étudiant des malades atteints de maladie du sommeil, Castellani, puis Bruce, Nabarro, Brumpt retrouvèrent un parasite identique dans le liquide céphalo-rachidien.

Divers auteurs conclurent à l'identité de ces deux parasites et admirent que la maladie de Dutton et la maladie du sommeil représentaient les phases d'une seule et même infection à Trypanosomes, la maladie du sommeil n'étant qu'un épisode surajouté, pouvant d'ailleurs ne pas se produire. En effet :

Dans de nombreux cas de maladie du sommeil, il existe des Trypanosomes dans le sang ; l'observation montre ensuite que des sommeillards ont commencé par présenter tous les symptômes de la maladie de Dutton avec Trypanosomes dans la circulation. Puis, dans les deux affections, on note l'hypertrophie ganglionnaire avec Trypanosomes dans le suc des ganglions. Enfin toutes deux ont la même répartition géographique, parallèle à l'aire de distribution des glossines, dont le rôle de propagateurs du virus est indéniable.

Dans la trypanosomiase humaine, on rencontre donc *Tryp. gambiense* dans le *sang*, la *rate*, la *lymphe ganglionnaire*, le *liquide céphalo-rachidien*. Cette répartition n'est pas toujours égale d'un malade à l'autre, et même chez le même malade, aux époques successives de l'infection. C'est ainsi que le parasite peut se rencontrer dans le sang et être absent dans le liquide cérébro-spinal. Il peut aussi, dans chacun

de ces liquides, être tout d'abord abondant, puis disparaître progressivement. Il existe dans le sang circulant avant que le premier symptôme se soit déclaré.

MODE D'INFECTION.

Il est actuellement bien établi que *Glossina palpalis* est l'hôte intermédiaire, qui assure le plus fréquemment la propagation de la trypanosomiase humaine. D'après Roubaud, ce transport du virus peut être mécanique dans un certain nombre de cas (le pouvoir infectant ne serait pas alors supérieur à quarante-huit heures) ; mais il est le plus souvent consécutif à une évolution de longue durée dans le corps de l'insecte. Pour lui, l'introduction de Trypanosomes dans l'organisme des glossines serait suivie de deux phénomènes :

1° Culture banale dans l'intestin moyen, due à la présence du sang ingéré ; elle est fugace et disparaît quand la mouche est soumise au jeûne ;

2° Développement de longue durée pouvant amener une infection de tout le tube digestif, même de la trompe. C'est au moment où la trompe contient des Trypanosomes que la glossine est infectante.

D'après Tante, *Glossina morsitans* jouerait en certaines régions un rôle identique.

Enfin G. Martin, Lebœuf, Roubaud, ayant observé en des régions d'endémicité de maladie du sommeil l'absence de glossines, ont été tentés d'incriminer certains moustiques, notamment les *Stegomyia* et les *Mansonia*, qui pourraient jouer le même rôle.

POUVOIR PATHOGÈNE EXPÉRIMENTAL.

De nombreux animaux sont réceptifs à *Tryp. gambiense* : cheval, chèvre, mouton, singe, lapin, cobaye, rat, souris.

Parmi les singes, les cynocéphales sont réfractaires ; les macaques, au contraire, sont sensibles. D'après Thiroux, *Cercopithecus ruber* présente une sensibilité toute particulière. Chez ces animaux, l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse est suivie d'une infection rappelant d'assez près la trypanosomiase de l'homme ; l'animal héberge de nombreux trypanosomes dans son sang.

Par injection intrarachidienne, on peut reproduire la maladie du sommeil (Brumpt, Bruce).

Le rat blanc est un réactif très sensible, surtout après l'injection péritonéale ; après quinze jours d'incubation, les parasites sont perceptibles dans le sang ; chez eux, l'infection dure trois mois environ, se terminant par la guérison ou la mort.

Chez le lapin, le cobaye, les bovidés, équidés, etc., les Trypanosomes abondent dans la circulation ; mais l'infection revêt une allure lente et peut même ne s'accompagner d'aucun trouble appréciable.

Enfin la réalisation expérimentale de la trypanosomiase humaine peut être effectuée, chez le singe notamment, par la piqûre de glossines ayant sucé du sang de malades infectés (Bruce et Nabarro).

DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DE LA TRYPANOSOMIASE HUMAINE.

Le diagnostic de la trypanosomiase humaine n'est souvent possible qu'à la faveur de la recherche du parasite ; cette dernière peut être complétée par l'examen des propriétés du sérum.

Recherche du parasite. — ***Examen du sang.*** — Prélever le sang par piqûre à l'extrémité du doigt, de préférence pendant un accès fébrile. L'examiner ensuite entre lame et lamelle. Cet examen à l'*état frais* permet de voir les Trypanosomes vivants et d'observer leurs mouvements. Comme ils sont parfois peu nombreux, il est bon de prolonger la recherche pendant dix à vingt-cinq minutes avant de pouvoir se prononcer d'une façon ferme et de parcourir la préparation à l'aide d'une platine mobile qui permet d'en scruter successivement toute l'étendue.

L'examen à l'état frais fait encore percevoir un phénomène important pour le diagnostic : c'est l'*auto-agglutination des hématies* ; les globules rouges sont réunis en effet en amas, formant comme des îlots au milieu du plasma sanguin. Cette auto-agglutination peut même s'observer à l'œil nu, la préparation entre lame et lamelle présentant un aspect grenu particulier.

La recherche peut être effectuée après étalement, *dessiccation*, fixation et coloration. Pour la coloration, employer les procédés de Giemsa (fig. 329), Leishman, Laveran.

Si les Trypanosomes sont rares, il convient de faire des préparations épaisses, en dissolvant l'hémoglobine par l'acide acétique à 1 p. 100 (Laveran).

A l'aide de ces méthodes simples, on obtient habituellement des résultats positifs dans 32 à 38 p. 100 des cas ; quelques auteurs ont pu les obtenir dans 50 p. 100.

L'examen du sang *après centrifugation* donne une proportion plus élevée : 90 à 95 p. 100.

Prélever le sang par ponction d'une veine du pli du coude à l'aide d'une aiguille de platine stérilisée. Le sang est recueilli directement dans un tube à centrifugation contenant préalablement 1 centimètre cube de solution

citratée. 10 centimètres cubes de sang sont ainsi soumis à trois centrifugations successives.

Par une première centrifugation, on sépare la plus grande partie des globules rouges du plasma qui renferme alors les globules blancs, les Trypanosomes et souvent des filaires. Dans ce but, G. Martin et Lebœuf conseillent d'arrêter la centrifugation vers la septième minute et de vérifier de minute en minute le moment où la séparation en deux couches est à peu près distincte. Pour qu'elle soit favorable à l'examen, la partie liquide doit tenir en suspension quelques nuages d'hématies.

Décanter et soumettre le liquide à une deuxième centrifugation pendant dix minutes. Le sédiment obtenu contient des leucocytes, une petite quantité de globules rouges, toutes les filaires et parfois quelques rares Trypanosomes.

Enfin, après une troisième centrifugation de vingt minutes de ce liquide encore décanté, on obtient un dépôt qui contient quelques leucocytes et hématies et les Trypanosomes restés en suspension lors de la deuxième centrifugation.

On prélève alors le sédiment qu'on observe entre lame et lamelle ou après coloration.

Louis Martin opère plus simplement : 5 centimètres cubes de sang prélevés par ponction veineuse sont recueillis dans un volume égal d'eau physiologique additionnée de 1 p. 100 d'oxalate de potassium. Centrifuger énergiquement. La couche des hématies est surmontée d'une légère couche blanchâtre de leucocytes où se trouvent les Trypanosomes. Recueillir cette couche à l'aide d'une pipette effilée, et examiner comme précédemment.

Examen du suc ganglionnaire. — L'examen doit porter sur un ganglion nettement hypertrophié. Après asepsie de la région, on immobilise le ganglion entre le pouce et l'index de la main gauche ; de la main droite, on ponctionne à l'aide d'une aiguille de seringue. L'aiguille introduite comprime le ganglion pour en exprimer le suc qui monte par capillarité. Retirer l'aiguille ; refouler le contenu à l'aide d'une seringue bien sèche, et examiner à l'état frais entre lame et lamelle la ou les gouttes obtenues. On peut aussi faire des étalements que l'on colore par les procédés décrits.

Les Trypanosomes peuvent être abondants ou rares sans raison appréciable. En cas de résultat négatif, il est bon de renouveler la recherche sur d'autres groupes ganglionnaires. C'est dans les ganglions cervicaux qu'ils se trouvent en général en plus grand nombre.

G. Martin et Lebœuf ont enregistré par cette technique 91 p. 100 de résultats positifs.

Examen du liquide céphalo-rachidien. — Par une ponction lombaire, recueillir 20 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien ; ce dernier peut être louche ou clair. Centrifuger. Décanter le liquide ; à l'aide d'une pipette effilée, puiser le culot de centrifugation ; examiner sur lame à l'état frais ou après dessiccation et coloration.

Outre des lymphocytes et des grands mononucléaires, on constate des Trypanosomes, dont le nombre varie suivant les cas.

Inoculations. — Les résultats des recherches précédentes peuvent rester négatifs, et le Trypanosome être cependant présent. Les inoculations à l'animal, en faisant porter la recherche sur une plus grande quantité du produit à expertiser, permettent de mettre en évidence le parasite resté introuvable par les méthodes directes.

Inoculer sous la peau ou dans le péritoine, de préférence au *Cercopithecus ruber*, 20 centimètres cubes de sang, 10 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien. Après une incubation de sept à vingt-quatre jours, Thiroux et d'Anfreville ont ainsi obtenu des résultats positifs dans des cas où l'examen direct avait échoué, même après centrifugation.

La découverte du *Trypanosoma gambiense* dans un organisme, par l'une quelconque de ces méthodes, impose le diagnostic de trypanosomiase.

Examen des propriétés du sérum. — Ces recherches peuvent être complétées par la recherche de la réaction trypanolytique et du phénomène de l'attachement dont il a été question plus haut.

TRYPANOSOMA BRUCEI (TR DU NAGANA).

Le *nagana* est une infection trypanosomiasique qui atteint, en Afrique centrale, le cheval, l'âne, le bœuf, le chien.

Morphologie. — *Trypanosoma Brucei* est long de 20 à 30 μ sur 1 μ, 5 à 2 μ, 5 de large. Il est mobile. L'extrémité postérieure est arrondie; le protoplasma contient des granulations chromatiques; le noyau ovoïde est central; la membrane ondulante est fortement plissée; le flagelle est long et robuste.

Il se multiplie par division binaire longitudinale.

Dans le sang des animaux injectés, observé *in vitro*, les parasites s'accolent entre eux pour figurer des rosaces, dans lesquelles ils se touchent par l'extrémité postérieure, les flagelles se trouvant à l'extérieur. Cette agglutination s'effectue plus rapidement à la suite de l'addition de sérum d'animal immunisé (Nocard).

Culture. — Le parasite pousse assez bien à 25° dans l'eau de condensation des tubes de gélose-sang de Novy et Mac Neal. Les Trypanosomes y sont groupés deux par deux, réunis par leur extrémité postérieure; plus tard ils sont agglomérés en rosace.

Action pathogène expérimentale. — L'inoculation sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale, de sang riche en *Trypanosoma Brucei* reproduit facilement l'infection et entraîne la mort chez le singe, le chien, le rat, la souris, le lapin, le cobaye, le cheval;

chez le bœuf, le mouton et la chèvre, l'infection prend une allure chronique qui peut aboutir à la guérison.

Mode de transmission. — La propagation de l'infection s'effectue par l'intermédiaire des mouches tse-tsés ou glossines.

Immunité. — Les animaux qui guérissent du nagana sont vaccinés contre de nouvelles atteintes; injecté à des animaux neufs, leur sérum protège ces derniers contre l'action pathogène du *Tr. Brucei*.

D'après Laveran, le sérum humain possède un pouvoir préventif et curatif relatif. Chez des animaux infectés, l'injection de sérum humain fait disparaître momentanément les Trypanosomes. Inoculé à titre préventif, il peut retarder le développement du parasite, mais ne l'empêche pas.

TRYPANOSOMA ROUGETI OU EQUIPERDUM (DOURINE).

La dourine est une effection spéciale au cheval. Elle se propage par le coït. Son agent pathogène spécifique est *Trypanosoma equiperdum*, découvert par Rouget en 1884.

Morphologie. — Long de 25 à 28 μ, large de 2 μ, il présente une extrémité postérieure bifide; le protoplasma est dépourvu de granulations : noyau médian, membrane ondulante bien plissée. Mobilité assez accusée avec mouvements de translation.

La multiplication s'effectue par division binaire longitudinale.

Tous les essais de culture ont échoué.

Action pathogène expérimentale. — On peut infecter les animaux nuisibles (souris, rat blanc, lapin, chien, cheval, âne) par inoculation sous-cutanée, intraveineuse, intrapéritonéale de sang trypanosomifère, ou de sérosité sanguinolente recueillie au niveau des organes génitaux externes; de même encore on déposera sur une muqueuse excoriée la sérosité en question.

Ces faits montrent comment s'effectue la propagation par contact.

Chez le cheval, l'inoculation sous-cutanée reproduit trait pour trait la maladie contractée naturellement : œdème au point inoculé, production de plaques indurées au niveau de la région costale, de la croupe, de l'encolure, etc., anémie, paraplégie, accès épileptiformes.

Le singe, le cobaye, les bovidés, les oiseaux sont réfractaires.

Immunité. — D'après Rouget, le sang d'animal infecté, recueilli à la période ultime de la maladie, possède pour la souris un pouvoir préventif, mais est dénué de propriétés curatives.

TRYPANOSOME DU SURRA (TR. EVANSI).

Le surra est une trypanosomiase qui sévit dans l'Inde, en Indo-Chine, aux Philippines, chez le cheval, l'âne, le chameau, l'éléphant.

Le Trypanosome, agent pathogène de cette infection, a été découvert

par G. Evans en 1880. Il est morphologiquement semblable à *Trypanosoma Brucei*. Les cultures sont plus difficiles à obtenir qu'avec ce dernier.

Il est transmis par l'intermédiaire de certaines mouches (tabanides, stomoxes); on ignore toutefois s'il peut se multiplier dans l'organisme de ces mouches, comme *Trypanosoma Brucei* dans celui des glossines.

Laveran et Mesnil ont montré que des chèvres vaccinées contre le nagana étaient sensibles au Trypanosome du surra, au même titre que les animaux neufs.

TRYPANOSOME DU MAL DE CADERAS (TR. EQUINUM).

Le mal de Caderas, ou maladie de la croupe, sévit sur les chevaux en Amérique du Sud.

Trypanosoma equinum, son agent pathogène, décrit par Elmassian, est

Fig. 330. — *Trypanosoma Evansi* (surra).

Fig. 331.— *Trypanosoma equinum* (mal de Caderas).

long de 20 à 25 μ, large de 3 à 4 μ. Identique à *Trypanosoma Evansi* et *Trypanosoma Brucei*, il en diffère cependant par la petitesse de son centrosome.

On observe avec lui les phénomènes d'agglutination *in vitro*.

Le parasite est inoculable aux animaux suivants : singe, chien, chat, cobaye, souris, lapin, équidés. Les bovidés, le porc, le mouton et la chèvre sont moins sensibles.

La spécificité de ce Trypanosome peut se mettre en évidence dans les recherches d'immunité croisée avec les Trypanosomes de la dourine et du nagana. Des animaux vaccinés par ces derniers restent sensibles à l'action de *Trypanosoma equinum*.

Laveran et Mesnil ont montré le pouvoir préventif du sérum humain sur l'infection expérimentale par ce parasite. Son action curative est très limitée.

TRYPANOSOME DU RAT (TR. LEWISI).

Le Trypanosome du rat a été découvert par Lewis en 1878. Il est fréquent chez *Mus ratus*, *Mus decumanus*, *Mus rufescens*. Sa présence dans le sang de cet animal ne provoque aucun symptôme morbide, sauf parfois à la suite d'inoculations expérimentales.

Morphologie. — Examiné à l'état frais, *Trypanosoma Lewisi* se montre sous l'aspect d'un corps aplati et fusiforme ; il est souvent enroulé sur lui-même ; il est extrêmement mobile ; il traverse rapidement le champ des préparations, le flagelle en avant, comme une flèche, d'où l'expression consacrée de « mouvement en flèche ».

Après coloration, on perçoit un protoplasma finement granuleux ; noyau ovalaire occupant le tiers antérieur du corps ; membrane ondulante

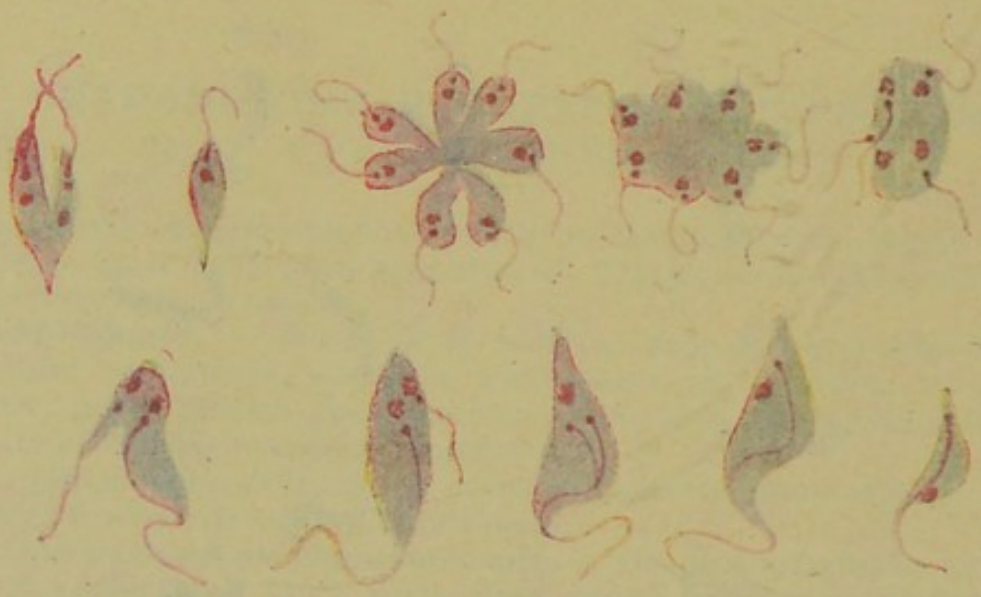


Fig. 332. — Reproduction de *Trypanosoma Lewisi* (d'après Laveran et Mesnil).

incolore, limitée par le flagelle, qui se teinte en lilas, comme le noyau et le centrosome.

Reproduction. — Les figures de multiplication s'observent de préférence dans l'exsudat péritonéal du rat inoculé avec du sang trypanosomifère depuis cinq à huit jours.

Le parasite augmente tout d'abord de volume, puis le centrosome se rapproche du noyau ; noyau et centrosome se divisent ; la base du flagelle, puis tout le glagelle se clivent ; il en résulte deux flagelles ; le protoplasma se divise ensuite, pour donner lieu à deux parasites jeunes, qui ultérieurement peuvent suivre la même évolution (fig. 332).

On connaît un autre mode de reproduction : le Trypanosome s'arrondit et se montre sous l'aspect d'un corps sphérique muni de plusieurs flagelles ; les noyaux, centrosomes, flagelles se divisent ; la périphérie de la masse protoplasmique se festonne, puis celle-ci se segmente pour figurer une rosace dont les éléments se désoudent et représentent, une fois libres, des parasites filles qui évoluent ensuite vers le stade adulte et peuvent se diviser suivant le premier mode.

Cultures. — Des cultures repiquables s'effectuent en milieu de Novy Mac Neal à 24°. On y rencontre des formes rondes ou allongées, fusiformes, ou piriformes, enfin des formes en rosace.

Injectées au rat, ces cultures produisent l'infection sanguine.

Agglutination. — Dans le sang conservé à la glacière, des amas apparaissent vers le deuxième jour, formant des rosaces où les éléments sont attachés par leur extrémité non flagellée.

Cette agglutination est pour ainsi dire instantanée et totale quand on ajoute au sang trypanosomé du sérum de cheval, de poule, de chien, de lapin, ou mieux encore du sérum de rats immunisés. Les amas se désoudent quelques heures après la production du phénomène (Laveran et Mesnil).

Expérimentation. — Les inoculations sous-cutanées, intraveineuses, intrapéritonéales, chez le rat, reproduisent l'infection ; les parasites apparaissent dans le sang après trois à quatre jours (résultats négatifs chez les autres animaux). Le rat peut encore s'infester par la voie gastrique.

Mode d'infection. — Le rat se contamine très probablement par la voie gastrique, en ingérant les cadavres des rats infectés. Les puces joueraient ainsi un rôle de transmission. Prowazek a incriminé *Hæmatopinus spinulosus*.

Immunité. — Un rat anciennement infecté résiste à des inoculations ultérieures. Son sérum, surtout s'il a reçu plusieurs injections, est doué de propriétés préventives chez l'animal neuf ; mais il ne possède aucun pouvoir curatif.

AUTRES TRYPANOSOMES.

On reconnaît encore d'autres trypanosomiases sévissant chez les animaux en Afrique, dans l'Inde, etc.

Signalons le *Trypanosome de Theiler* (*Trypanosoma Theileri*), agent pathogène d'une affection dénommée *Galziekte*, qu'on observe chez les bovidés en Afrique australe.

Trypanosoma dimorphon (Dutton et Todd) s'observe en Sénégambie chez les chevaux ; très semblable à *Trypanosoma Brucei*, il se fait remarquer par son extrémité postérieure très élargie, qui le fait ressembler à un têtard.

Trypanosoma Cazalboui, découvert par Cazalbou chez les équidés et bovidés atteints de *Souma*.

Trypanosoma Pecaudi, qui, au Soudan, infecte les chevaux et les bestiaux atteints de *Baleri*.

Trypanosoma Congolense, qui, d'après Broden, infecte les moutons et les bovidés dans les régions de Léopoldville et Brazzaville.

Enfin on connaît maintenant les Trypanosomes des *Oiseaux* (*Trypanosoma avium*), des Vertébrés à sang froid (*Batraciens, Poissons, Reptiles*).

Tableau des principaux Trypanosomes.

	AUTEURS.	MALADIES.	ESPÈCES RÉCEPTIVES à l'infection naturelle.	RÉPARTITION géographique.	TRANSMISSION du parasite.
T. Lewisi.	Lewis, 1878.	Pas de symptômes.	Rats (*Mus ratus, M. decumanus, M. rufescens*).	Partout où se trouvent des rats réceptifs.	Puces des rats, pou du rat (Prowazek).
T. Theileri.	Theiler, 1902.	Galziekte.	Bovidés.	Afrique australe.	?
T. Evansi.	Evans, 1880.	Surra.	Équidés, chameaux, bovidés, chiens.	Inde, Indo-Chine, Philippines, Afrique du Nord.	?
T. Brucei.	Bruce, 1894.	Nagana.	La plupart des mammifères.	Afrique en grande partie.	*Glossina morsitans* et *fusca.*
T. equiperdum.	Rouget, 1894.	Dourine.	Équidés.	Europe, Afrique du Nord, Perse, Asie Mineure.	Coït.
T. equinum.	Elmassian, 1901.	Mal de Caderas.	Équidés.	Amérique du Sud.	?
T. gambiense.	Dutton, 1901. Castellani, 1903.	Trypanosomiase humaine.	Homme.	Afrique équatoriale.	*Glossina palpalis.*
T. dimorphon.	Dutton et Todd, 1904.	Trypanosomiase des chevaux de Gambie.	Chevaux.	Sénégambie.	?

CHAPITRE LXVI

MICROBES FILTRANTS, DITS « INVISIBLES »

« Les dimensions des microbes ne s'arrêtent pas justement à celles que le microscope nous permet d'apercevoir » (Roux). En 1881, Pasteur avait eu la même pensée quand il avait émis l'hypothèse que le virus rabique devait être un germe invisible. Le bien fondé de cette hypothèse ne s'est vérifié qu'en 1898, où l'on a décrit les premiers microbes possédant ce caractère essentiel. Depuis, de multiples travaux ont révélé que de nombreuses infections relevaient de certains d'entre eux.

On reconnaît qu'un germe rentre dans cette catégorie quand l'examen microscopique reste négatif, et que cependant le filtrat du produit pathologique qui le contient reste virulent.

Toutefois, certaines conditions concernant la filtration sont indispensables à observer.

Cette filtration doit être effectuée rapidement et sous faible pression, car, à la longue, tout filtre finit par laisser passer les microbes : quand on place une bougie dans du bouillon ensemencé avec une eau impure, elle ne tarde pas à être traversée par des microbes mobiles.

La filtration doit être opérée avec le liquide pathologique virulent, non pas pur, mais dilué dans dix, vingt, trente fois son volume d'eau, car la présence d'une grande quantité d'albumine assure rapidement le colmatage des bougies.

La nature de la bougie est importante à envisager ; la bougie Berkefeld, en terre d'infusoires, est plus perméable aux microbes que la bougie Chamberland. Certains d'entre eux cependant traversent les bougies F et même B.

Les expériences de filtration ont besoin d'un contrôle, permettant d'établir que le filtre ne possède aucune tare et n'expose à aucune cause d'erreur. Aussi tous les auteurs ont-ils soin de mélanger au produit à filtrer une culture « test » qui doit être retenue pas le filtre (*B. fluorescens*, choléra des poules, ou une eau de conduite ordinaire, riche en formes vibrioniennes).

Ces microbes, invisibles au microscope, sont encore imperceptibles à la culture. Exception doit être faite cependant pour le microbe de la péripneumonie des bovidés, que Roux et Nocard ont pu cultiver, et que Bordet a mis ultérieurement en évidence par des colorations spéciales. Il en est de même du virus de la poliomyélite, dont la culture a été obtenue récemment par Flexner et Noguchi.

MICROBE DE LA PÉRIPNEUMONIE DES BOVIDÉS.

La péripneumonie est une affection contagieuse qui sévit sur les bovidés ; elle est constituée par le développement, dans les mailles du tissu conjonctif interlobulaire, d'une quantité énorme de sérosité limpide, présentant une teinte ambrée. Cette accumulation de liquide séreux amène surtout des troubles respiratoires. L'affection peut être aiguë ou chronique.

Elle est inoculable aux bovidés seuls ; les autres animaux sont réfractaires. L'inoculation expérimentale de la sérosité sous la peau de l'*encolure* ou du *tronc* d'un veau détermine chez l'animal une fièvre intense, puis un œdème colossal, envahissant tout le tissu cellulaire sous-cutané du tronc ; l'infection, ainsi provoquée, est presque toujours mortelle. Quand la sérosité est introduite dans le tissu cellulaire de l'extrémité de la queue, elle ne provoque qu'une affection bénigne avec œdème peu intense, se résorbant rapidement.

Nature du virus. — De nombreux germes ont été décrits, n'étant doués d'aucun caractère spécifique. En 1898, Nocard, Roux, Borrel et Salimbeni, par la méthode des sacs de collodion, mirent en évidence la nature spéciale du microbe de la péripneumonie de la façon suivante :

Une trace de lymphe péripneumonique, où le microscope ne décèle aucun germe, est ensemencée dans un sac de collodion rempli de bouillon stérile ; le sac est introduit dans le péritoine d'un lapin ; au bout de quinze jours, on le recueille et on aspire son contenu ; ce dernier est opalescent et montre au microscope des granulations impossibles à colorer et sur la nature desquelles on ne peut se prononcer. Après plusieurs passages en sacs, le liquide inoculé dans le tissu cellulaire d'un virus reproduit la maladie expérimentale.

Les lapins ainsi traités maigrissent progressivement et finissent par succomber vers le vingtième jour, sans lésion appréciable ; les organes et les humeurs restent stériles.

Dans des expériences témoins, des lapins reçoivent des sacs non ensemencés ; leur contenu reste clair et les animaux ne présentent aucun trouble. Il est évident qu'une culture s'est développée dans les sacs ensemencés, que cette culture est virulente, et cependant aucun germe n'est perceptible.

Plus tard, Dujardin-Beaumetz réussit à obtenir des cultures *in vitro* à 38° dans du bouillon Martin, additionné de 6 à 8 p. 100 de sérum de bœuf ; il obtint un louche à peine sensible. En additionnant de gélose ce bouillon-sérum, on obtient un milieu solide qui, ensemencé, donne lieu à une foule de petites colonies si minimes qu'elles ne forment qu'un dépôt à la surface du milieu. Ces colonies se teintent par les matières colorantes usuelles et ne prennent pas le Gram ; émulsionnées dans l'eau sur une lame, elles se montrent composées de grains très ténus, dont la forme est impossible à définir. L'inoculation de ces cultures donne des résultats positifs.

S'agirait-il d'un virus filtrant ?

On filtre sur bougie Berkefeld ou sur bougie F. Chamberland de la sérosité étendue de trente fois son volume d'eau. Le filtrat est ensemencé en bouillon-sérum ; ce dernier donne une culture typique ; on l'inocule sous la peau d'un veau ; il détermine la maladie expérimentale.

On pouvait donc conclure que le virus de la péripneumonie était un virus filtrant et un germe invisible par les procédés d'investigation connus.

Des recherches récentes de Bordet, reprises par Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan vinrent compléter les résultats précédents.

Pour essayer de cultiver le virus, Bordet utilisa la gélose sanglante contenant de l'extrait de pomme de terre et de la glycérine, comme pour la culture du Bacille de la coqueluche. Après vingt-quatre à quarante-huit heures d'étuve à 37°, le milieu prend une teinte noirâtre le long de la strie d'ensemencement. Il ne se forme aucune culture apparente ; cependant, en frottant la surface avec une fine baguette de verre, on ramène de quoi faire une préparation. On émulsionne dans une gouttelette d'eau, on fixe par l'alcool absolu.

La coloration au Giemsa permet de percevoir un microbe se montrant sous l'aspect d'un fin filament ondulé, ou enroulé en S, formant même des spires, ressemblant, en un mot, à un spirochète.

Repiquées en bouillon ordinaire (deux volumes) additionné d'un volume de sérum frais de lapin, on obtient des cultures franchement opalescentes, montrant les mêmes filaments. Après plusieurs jours, on observe des formes globuleuses, des granulations à centre clair.

Borrel, Dujardin-Beaumetz, Jeantet et Jouan ont repris cette étude et ont observé ce germe à l'ultramicroscope et après surcoloration, précédée d'un mordançage par le procédé de Löffler. Pour avoir un matériel d'étude plus abondant, ils ont opéré sur le culot de centrifugation des cultures, lavé dans l'eau physiologique. Ils ont constaté ainsi un extraordinaire polymorphisme du germe en question, se montrant sous forme de diplocoque, de tétrade, de morula, de filaments, de chaînettes, noyés pour ainsi dire dans une gangue visqueuse. En raison de la présence de cette gaine, des filaments à aspect pseudo-mycélien, des polarités multiples, ils lui ont donné le nom d'*Asterococcus mycoïdes*.

Ainsi donc, le virus de la péripneumonie des bovidés ne serait pas un microbe invisible, mais cependant un virus filtrant, puisque, malgré sa visibilité, il traverse les filtres.

Résistance du virus. — Le virus perd son activité sous l'in-

fluence de l'air et de la lumière ; en tubes scellés, il la conserve pendant un mois, après quoi la virulence s'atténue. Cette dernière disparaît sous l'influence de la chaleur (75°) ; elle donne des réactions très atténuées quand la lymphe est chauffée à 55° et 65°.

Vaccination. — On sait qu'on peut obtenir chez l'animal une affection bénigne quand, au lieu d'inoculer le virus sous la peau de l'encolure ou du tronc, on pratique l'inoculation sous la peau de l'extrémité de la queue. Cette affection bénigne, ainsi provoquée, guérit et confère l'immunité.

Willems a pu, par ce procédé, vacciner les animaux à l'aide de la sérosité pulmonaire recueillie purement sur le cadavre des animaux infectés spontanément. L'inoculation peut se faire par scarifications ou par la voie sous-cutanée. Après l'inoculation, les plaies se cicatrisent ; puis, vers le douzième ou quinzième jour, des symptômes généraux apparaissent : fièvre, inappétence, tristesse ; la région inoculée se tuméfie, devient chaude et douloureuse ; les plaies s'ouvrent et s'ulcèrent ; tous ces phénomènes rétrocèdent en quinze ou trente jours. L'intensité de la réaction locale varie suivant les sujets ; seuls doivent être considérés comme vaccinés ceux qui ont présenté un engorgement net. Ceux qui n'ont pas présenté cette réaction doivent subir une nouvelle inoculation vaccinale six semaines après.

FIÈVRE DE TROIS JOURS OU FIÈVRE A PAPPATACIS.

La fièvre dite de « trois jours » sévit dans les climats chauds, tropicaux et subtropicaux. En Europe, son foyer le plus important est l'Herzégovine ; elle est fréquente en Dalmatie, en Italie ; on la signale à Malte, au Caire, en Crète, à Shangaï, aux Philippines.

Reproduction expérimentale de l'infection. — Du sang prélevé le premier jour de l'affection est inoculé, à la dose de $0^{cc},5$, sous la peau de sujets sains ; après une inoculation de quelques jours, ces derniers présentent tous les symptômes classiques : frissons, fièvre, prostration avec douleurs vives dans les membres.

Il résulte de telles expériences que la fièvre de trois jours est une infection *transmissible* et sûrement *parasitaire*. Le virus se trouve en circulation dans le sang. L'expérience montre qu'il n'y persiste que durant quarante-huit heures.

Nature du virus. — L'hémoculture ne donne que des résultats négatifs. Dœrr pensa qu'il s'agissait d'un virus invisible :

Dans ce but, il filtra sur bougie Berkefeld du sérum de sujets infectés spontanément, et il inocula sous la peau de deux sujets

sains 0cc,14 à l'un et 0cc,28 à l'autre. Six jours après, ils présentèrent tous deux le tableau classique de l'affection.

Par conséquent ce virus invisible traverse les filtres.

Mode de transmission. — Taussig, se basant sur des données épidémiologiques, pensa que la fièvre des trois jours n'était pas contagieuse par contact interhumain direct, mais transmissible d'homme à homme par l'intermédiaire d'un insecte, connu dans les régions où la fièvre sévit : le *Phlebotomus pappataci*.

Dœrr démontra expérimentalement le bien fondé de cette hypothèse : il recueillit des pappatacis et leur fit piquer des malades au premier jour de l'infection ; ces insectes furent envoyés à Vienne, où la fièvre était inconnue ; là, des soldats indemnes, de bonne volonté, s'exposèrent aux piqûres de ces pappatacis supposés infectés ; après quatre à six jours d'incubation, ils présentèrent tous les symptômes de l'infection naturelle.

Le *Phlebotomus pappataci* est donc le convoyeur du virus invisible de la fièvre des « trois jours ». Dœrr montra dans la suite que la piqûre de ces insectes ne devenait infectante que huit jours environ après leur contamination par les malades. Il existe là une analogie frappante avec ce que nous connaissons de la fièvre jaune, où le virus doit subir, dans le moustique, une métamorphose avant de pouvoir déterminer l'infection.

TYPHUS EXANTHÉMATIQUE.

L'étiologie microbienne du typhus exanthématique est restée longtemps inconnue ; Gotschlich a trouvé dans les hématies une espèce de piroplasme ; Thoinot et Calmette ont décelé dans le sang des flagelles. Brühl et Dubief ont isolé des voies respiratoires un diplocoque. Aucun de ces parasites n'a pu être considéré comme l'agent spécifique de cette infection. Ce sont les recherches de Ch. Nicolle, Conor, Comte et Conseil qui ont récemment fait connaître la nature étiologique véritable du typhus pétéchial.

Reproduction expérimentale. — Ces auteurs ont tout d'abord établi l'inoculabilité du typhus exanthématique au singe (chimpanzé et macaque). Le chimpanzé est plus réceptif que les macaques.

On reproduit à coup sûr l'infection chez le chimpanzé en lui inoculant sous la peau 0cc,5 de sang d'homme atteint de typhus. Après une inoculation de huit jours environ, la température s'élève brusquement, s'abaisse le lendemain, puis remonte les jours suivants, pour constituer un plateau durant huit à dix jours ; puis la défervescence s'établit assez rapidement. Les symptômes sont assez modérés :

on note de l'inappétence, l'animal est triste, le poil est hérissé, les yeux sont injectés. Enfin une éruption se déclare, à la face principalement, rappelant trait pour trait l'éruption du typhus humain.

On observe tous les degrés d'intensité, depuis les cas bénins, frustes, jusqu'aux formes les plus graves, se terminant par la mort.

L'inoculation à un animal neuf du sang d'animal infecté reproduit les mêmes phénomènes.

Le sang est virulent dans les premières heures de la fièvre ; il l'est encore au deuxième jour de la convalescence ; Ch. Nicolle a pu conférer l'immunité au bonnet chinois avec le sang recueilli deux jours avant le début de la fièvre. Le virus serait donc présent dans le sang à cette période.

Nature du virus. — L'examen du sang des malades et des animaux infectés expérimentalement ne révèle la présence d'aucun microorganisme ; les résultats fournis par le microscope et l'ultramicroscope restent négatifs. Il en est de même de l'hémoculture. Ch. Nicolle a pensé qu'il pourrait s'agir d'un virus invisible :

En effet, le sérum obtenu par simple coagulation, injecté au bonnet chinois après filtration, s'est montré immunisant et peut-être virulent. A lui seul, ce fait paraît suffisant à Ch. Nicolle pour démontrer que l'agent pathogène du typhus est un virus filtrant.

Le sérum obtenu par centrifugation, injecté aux animaux sains après filtration, n'est ni virulent, ni immunisant ; ces expériences négatives peuvent s'expliquer par ce fait que les débris cellulaires contenus dans le sang défibriné colmatent les pores du filtre. Et de fait, en séparant par centrifugation les divers éléments constitutifs du sang, Ch. Nicolle a constaté que les leucocytes étaient assurément les plus virulents ; le plasma l'est beaucoup moins, et, s'il possède encore quelque virulence, ce doit être à la faveur des débris leucocytaires qu'il véhicule. Pour lui, le virus doit être contenu dans les leucocytes.

Mode de transmission. — D'après Ch. Nicolle, Comte et Conseil, le typhus exanthématique se dissémine et se transmet par les poux (*Pediculus vestimenti*). Leurs études épidémiologiques le leur avaient fait supposer ; l'expérimentation le prouva nettement.

On fait piquer par des poux des singes infectés ; on dépose les insectes sur des singes neufs ; après une incubation de plusieurs jours, ces derniers présentent une atteinte typique de typhus expérimental. Le pou ne devient infectant que du cinquième au septième jour après le repas infectant. Le virus subirait donc dans l'organisme de l'insecte une évolution particulière, pouvant seule lui conférer ce pouvoir.

Immunité. — Une première atteinte de typhus confère chez le singe une immunité solide, quel qu'ait été le mode d'infection ; mais il faut que la maladie ait été grave. Si elle a été légère, l'immunité n'est pas sûrement obtenue. Elle est exceptionnelle quand l'injection virulente n'a été suivie d'aucune réaction fébrile apparente.

Sérothérapie. — Le sérum de l'homme convalescent de typhus et du singe guéri du typhus expérimental possède des *propriétés préventives* vis-à-vis de la maladie humaine et de l'infection expérimentale. Ces pouvoirs peuvent être mis en évidence avec le sérum recueilli entre les dixième et douzième jours qui suivent la défervescence; après ce délai, ils s'atténuent rapidement pour disparaître après quinze à vingt jours.

Pour Legrain et Raynaud en 1895, Legrain et Treille en 1910, le sérum des convalescents serait doué de *propriétés thérapeutiques* ; une ou plusieurs injections sous-cutanées abaissent la température, calment les troubles cardiaques et généraux et transforment un typhus grave en un typhus bénin. Sur quarante malades ainsi traités, ils n'ont enregistré que trois décès. Cette méthode paraissait donc riche en espérances. Ch. Nicolle et ses collaborateurs n'ont pu confirmer ces résultats thérapeutiques.

SCARLATINE.

On a longtemps accusé le Streptocoque d'être l'agent spécifique de la scarlatine ; des recherches précises ont démontré qu'il ne jouait dans cette infection qu'un rôle d'association secondaire.

En 1911, Cantacuzène réussit à transmettre la scarlatine expérimentale à des singes inférieurs, en leur inoculant sous la peau du sang ou une émulsion ganglionnaire de scarlatineux ; plusieurs jours après, ces animaux contractent une scarlatine typique avec une éruption caractéristique et, ultérieurement, une desquamation des plus nettes.

Landsteiner, Levaditi et Prazek ont reproduit la même infection expérimentale chez le chimpanzé, en lui badigeonnant la gorge avec du dépôt amygdalien prélevé sur des enfants atteints de scarlatine.

Enfin Bernhardt, confirmant ces données essentielles, a réalisé la scarlatine expérimentale en injectant au singe du sang de scarlatineux filtré sur bougie Berkefeld.

Le virus scarlatineux traverserait dans les filtres et rentrerait dans le cadre des microbes invisibles.

ROUGEOLE.

Il était tout indiqué d'effectuer pour la rougeole les recherches qui avaient été poursuivies pour la scarlatine.

Anderson et Goldberger ont tout d'abord inoculé avec succès le sang

et diverses humeurs de rougeoleux à des singes (*Macacus rhesus* et *Cynomolgus*) : après une période d'incubation de durée variable, ces animaux ont présenté de la fièvre pendant plusieurs jours, soit seule, soit accompagnée de larmoiement, de coryza et d'une éruption caractéristique.

La recherche du germe pathogène est restée négative, mais les auteurs ont pu déterminer que le virus morbilleux était un germe invisible et traversant le filtre Berkefeld.

Ce virus invisible serait fragile et détruit par le chauffage à 58°.

Ils ont montré, en outre, que le virus existe dans le sang pendant les premiers jours de l'éruption, et qu'il en disparaît entre la soixante-quinzième et la cent treizième heure après son début. Il existe encore dans les produits de sécrétion des glandes lacrymales de la muqueuse nasale, pharyngée.

Ces notions essentielles ont été confirmées par plusieurs auteurs, notamment Ch. Nicolle et Conseil, qui ont constaté que la rougeole était inoculable et contagieuse vingt-quatre heures avant le début de l'éruption, constatation qui concorde avec les faits connus de contagion interhumaine.

VIRUS DE LA FIÈVRE JAUNE.

On a décrit de multiples germes capables de provoquer la fièvre jaune. Parmi eux, rappelons pour mémoire le Bacille ictéroïde isolé par Sanarelli du sang des malades, et qui n'est en réalité qu'un agent d'association secondaire.

Les notions que l'on possède actuellement sur l'étiologie de cette infection sont récentes; elles ont été mises en évidence par la Commission américaine (Reed, Carol, Agramonte), qui a fait connaître la nature du virus, son mode de transmission et les moyens de lutter contre elle.

Reproduction expérimentale. — Par ponction veineuse, on prélève du sang à un malade atteint de fièvre jaune depuis un à deux jours; on l'injecte sous la peau d'un sujet sain; ce dernier, après une incubation de trois à quatre jours, présente tous les symptômes de la fièvre jaune. Le sang de ce deuxième malade est inoculé dans les mêmes conditions à un sujet sain, qui contracte encore la fièvre jaune.

De ces expériences il résulte donc que le virus réside dans le sang; il en disparaît au quatrième jour de la maladie.

Nature du virus. — Toutes les recherches microscopiques les plus minutieuses sont restées sans résultat. L'hémoculture est négative dans les milieux artificiels connus.

La Commission américaine a démontré que ce virus traversait les filtres; en effet, du sérum, même non dilué, provenant d'un malade atteint depuis vingt-quatre à quarante-huit heures, est filtré à la bougie Berkefeld ou à la bougie F. Chamberland; inoculé à un sujet

sain, il reproduit le typhus amaril. Il peut traverser la bougie B, mais après dilution dans son volume d'eau. Ces conclusions ont été confirmées par les Commissions anglaise et française.

Par conséquent, le virus amaril est un germe dit invisible.

Résistance du virus. — Le virus amaril est très fragile; le sérum qui le contient, chauffé à 55° pendant cinq minutes, perd sa virulence. Il en est de même quand il a été conservé à l'air pendant quarante-huit heures entre 24° et 30°; à l'abri de l'air, sous une couche d'huile de vaseline, il ne perd sa virulence qu'en six à huit jours.

Mode de transmission. — La fièvre jaune se transmet par l'intermédiaire d'un moustique : *Culex fasciatus* ou *Stegomyia fasciata* (expériences de la Commission américaine). Ce moustique s'infecte en piquant l'homme atteint de fièvre jaune, et inocule le virus qu'il a ingéré aux sujets sains, qu'il pique ultérieurement.

Cette transmission est soumise à deux conditions essentielles : 1° il faut que la piqûre du malade ait été faite pendant les deux premiers jours de la maladie; 2° il faut un intervalle de douze jours après la piqûre du malade pour que l'insecte puisse inoculer le virus à un sujet sain. Le virus doit donc subir dans le corps du moustique certaines métamorphoses, qui lui confèrent le pouvoir infectant.

Dans certaines conditions, l'infection peut se transmettre du moustique femelle à ses descendants. D'après Marchoux et Simond, le moustique issu des œufs héréditairement infectés n'est infectant qu'après le quatorzième jour de son existence à l'état d'insecte parfait.

Immunité. — Une première atteinte, même bénigne, de fièvre jaune confère l'immunité. C'est ce qui explique l'état réfractaire des natifs des foyers endémiques, qui ont contracté dans l'enfance une atteinte restée fruste de fièvre amarile.

D'après Marchoux et Simond, une injection de sérum contenant le virus, chauffé à 55° pendant cinq minutes avec du sang défibriné, conservé huit jours sous huile de vaseline, confère une immunité relative contre une inoculation virulente ultérieure.

Le sérum prélevé chez un malade au huitième jour est doué de propriétés préventives; il en est de même du sérum des convalescents; ce dernier jouirait même d'un certain pouvoir curatif (Marchoux et Simond).

VIRUS DE LA POLIOMYÉLITE ÉPIDÉMIQUE.

La nature de la poliomyélite dite « paralysie infantile » est restée totalement ignorée jusqu'à ces dernières années. En 1887, Cordier en avait décrit une épidémie dans les environs de Lyon; en 1905, Médin

en a observé une nouvelle à Stockholm ; depuis, les épidémies se multiplièrent et se montrèrent en Suède, en Norvège, à New-York, en France. C'est à l'occasion de ces épidémies américaines que furent établies les premières notions concernant son étiologie véritable.

Reproduction expérimentale. — Landsteiner et Popper, puis Flexner et Lewis, Levaditi, Leiner et Wiesner démontrèrent que le chimpanzé, les singes inférieurs (*Mac. cynomolgus*, *sinicus*, *rhesus*, etc.) pouvaient contracter expérimentalement la poliomyélite.

On recueille sur un sujet mort de poliomyélite un fragment de moelle épinière ; on le triture et on l'émulsionne dans un mortier avec de l'eau physiologique, et on injecte l'émulsion dans le *péritoine* d'un singe : après une incubation variant de cinq à douze et même vingt jours, on observe des tremblements généralisés, des parésies de certains groupes musculaires, de l'agitation et de l'incoordination des mouvements. Puis des paralysies font rapidement leur apparition. D'après Levaditi, elles revêtent un type inférieur, ascendant, rappelant le syndrome de Landry, un type supérieur, un type monoplégique. L'animal finit habituellement par succomber à ces accidents ; s'il guérit, il conserve pendant longtemps sa ou ses paralysies, avec déformation du membre et une atrophie musculaire marquée.

Les lésions anatomo-pathologiques sont étroitement parallèles à celles qu'on observe chez l'homme.

La poliomyélite peut ainsi être transmise en série de singe à singe.

L'infection s'obtient encore quand l'injection de moelle virulente est effectuée dans le *cerveau*, la *circulation générale*, la *chambre antérieure de l'œil*. L'inoculation *sous-cutanée* est moins favorable ; l'injection dans les *nerfs périphériques* est suivie de succès ; la paralysie débute alors par les muscles du membre correspondant.

Nature du virus. — L'examen des diverses humeurs de l'organisme avait montré l'absence de germes. Landsteiner et Levaditi, puis Flexner et Lewis, etc., ont alors recherché s'il ne s'agissait pas d'un virus invisible : en effet, si l'on injecte dans le cerveau d'un simien une émulsion de moelle virulente filtrée au filtre Berkefeld, voire même au filtre Chamberland, il contracte la poliomyélite comme dans les expériences précédentes, avec cette différence, toutefois, que la période d'incubation est plus longue.

La moelle de ce singe injectée à un autre singe lui confère la même affection ; il s'agit donc bien non d'une toxine, mais d'un germe figuré et traversant les filtres.

Flexner et Noguchi ont pu récemment cultiver le virus de la poliomyélite et le mettre en évidence : ils utilisent un milieu composé de liquide d'ascite, additionné de gélose et de fragments frais de rein de lapins, le tout recouvert d'une couche d'huile de paraffine.

En culture anaérobie, ils obtinrent, après quelques jours, des

colonies fournies de corps globuleux isolés ou groupés en chaînettes, se colorant en rouge violet par le Giemsa.

Injectées au singe, ces cultures reproduisent la poliomyélite expérimentale.

Siège du virus. — D'après Flexner et Lewis, le virus siège dans la *moelle*, le *bulbe*, le *cerveau*, en un mot dans tout le *système nerveux central*; dans les premiers jours, il siégerait encore dans la circulation et le liquide céphalo-rachidien; enfin ils l'ont décelé, par les résultats positifs de l'inoculation, dans la muqueuse nasale, l'amygdale, les glandes salivaires, les ganglions mésentériques et les ganglions avoisinant le lieu de l'injection.

D'après Flexner et Lewis, le virus s'éliminerait par la muqueuse nasale; l'inoculation du filtrat de cette dernière, recueilli chez un singe mort après cinq mois, a donné un résultat positif, alors que la moelle n'était plus virulente. D'après ces faits, les sujets ayant présenté une atteinte de poliomyélite doivent être dangereux pour leur entourage pendant de longs jours après le début de la maladie.

Mode de transmission. — L'expérience montre que le virus de la poliomyélite pénètre dans les organismes sains par la *voie digestive* et la *voie respiratoire*.

Leiner et Wiesner ont pu, en effet, donner la poliomyélite à des singes en leur administrant, par la bouche ou l'intestin, des moelles émulsionnées dans l'eau physiologique.

Flexner et Lewis ont déposé chez des singes du matériel virulent sur la muqueuse naso-pharyngée, préalablement scarifiée. Quelques expériences ont été couronnées de succès. Landsteiner et Levaditi supposent que, de la muqueuse, le virus se rend aux centres nerveux en suivant les filets nerveux.

Propriétés biologiques du virus. — Facilement tué par la chaleur et les antiseptiques, le virus de la poliomyélite est très résistant aux influences extérieures, notamment au froid et à la dessiccation; Wickman en avait conclu que les objets usuels pouvaient jouer un rôle infectant.

Le lait, l'eau, additionnés de virus, peuvent conférer la poliomyélite après trente et un jours de séjour à la température du laboratoire (Landsteiner, Levaditi et Pastia).

D'après Flexner et Clark, le corps des mouches nourries avec de la moelle virulente conserve intact le virus pendant au moins vingt-quatre heures.

Immunité. — Une première atteinte de poliomyélite confère au singe l'immunité; de plus, dans le sang des personnes et des animaux guéris, Netter et Levaditi ont mis en évidence l'existence

d'anticorps spécifiques : le sérum de ces sujets neutralise en effet *in vitro* le virus de la poliomyélite; mais, *in vivo*, il est incapable d'enrayer ou même de prévenir la maladie. Les tentatives de vaccination et de sérothérapie sont donc restées infructueuses.

VIRUS DE LA RAGE.

Maladie infectieuse, transmissible par inoculation directe, la rage humaine provient de la rage des animaux et plus particulièrement du chien, du chat, du loup.

Siège du virus. — L'observation clinique, puis, l'expérimentation, de l'autre, ont fixé d'une façon précise le siège du virus rabique.

La rage survenant après morsure par un animal enragé, il était hors de doute qu'il était contenu dans la *salive*. Sa virulence fut démontrée expérimentalement en 1813 par Gruner et le comte de Salm, puis par Magendie et Breschet, qui, inoculant la salive buccale d'un homme atteint de rage à deux chiens, virent l'un d'eux devenir enragé. Hertwig démontra bientôt la virulence de la salive parotidienne. Des expériences ultérieures confirmèrent cette donnée. Nocard et Roux établirent dans la suite que la salive était virulente trois jours avant l'apparition des symptômes initiaux, à une époque, par conséquent, où la maladie n'est révélée par aucun phénomène morbide appréciable.

Le siège électif du virus rabique est assurément le *système nerveux* (Galtier, Pasteur, Chamberland et Roux). L'expérience montre que l'inoculation de fragments d'encéphale, de bulbe, de protubérance, de moelle, de liquide céphalo-rachidien, est certainement suivie de rage; c'est le bulbe qui paraît le plus virulent. Que l'on recueille, en effet, le bulbe d'un enragé, et qu'on en inocule une parcelle sous la dure-mère (Pasteur) d'un chien ou d'un lapin, ces animaux prendront la rage après une inoculation variable de douze à quinze jours.

Roux a démontré la virulence des *nerfs périphériques*, mais elle serait inconstante.

Le virus rabique se trouve encore dans le *mucus bronchique* (Paul Bert). Le *pancréas*, les *capsules surrénales*, la *glande lacrymale*, la *glande mammaire* peuvent le contenir encore.

Le sang, la lymphe, les ganglions lymphatiques, le foie, la rate, l'urine ne sont pas virulents.

Inoculation aux animaux. — L'inoculation aux animaux peut s'effectuer suivant plusieurs procédés :

Nous avons déjà vu qu'introduit après trépanation *sous la dure-mère*, le virus rabique (*virus des rues*) conférait la rage après douze à quinze jours. Le bulbe d'un lapin ainsi enragé, inoculé de la même manière à de nouveaux lapins, donne des résultats identiques, mais, au fur et à mesure des divers passages effectués, la période d'incubation diminue pour n'atteindre que six à sept jours, durée qui désormais devient fixe. C'est ce qu'on appelle le *virus fixe*.

La rage peut être encore provoquée par inoculation dans la *chambre antérieure de l'œil*.

L'inoculation *sous-cutanée* semble moins constante dans les résultats obtenus : le tissu adipeux, en effet, d'après Hermann, n'est guère favorable à l'absorption du virus : on admet d'ailleurs que les animaux gras, inoculés par cette voie, prennent moins souvent la rage que les animaux maigres. L'injection intramusculaire est plus sévère que l'injection sous-cutanée.

Résistance. — Le virus rabique, très sensible à la chaleur, est rapidement détruit par une température de 90° (Roux), en vingt-quatre heures par une température de 45°. Il résiste au contraire au froid : Gibier a conservé à — 10° pendant dix mois un cadavre de lapin rabique : son virus était encore doué de virulence.

La dessiccation anéantit rapidement cette propriété. Pasteur a obtenu l'atténuation du virus rabique, voire même sa destruction, en exposant à l'air sec à 23°, pendant six jours, une moelle de lapin : dans le vide, à la même température, la virulence est conservée pendant trente jours environ.

Nature du virus. — L'inoculabilité, la transmissibilité en série du virus rabique prouvent indiscutablement qu'il s'agit d'un être animé et vraisemblablement d'un microbe. De nombreux auteurs l'ont recherché : Pasteur avait constaté dans le tissu nerveux central la présence de corpuscules arrondis, réfringents.

Fol aurait pu isoler et même cultiver des granulations rondes observées dans les coupes de moelle. Babès aurait donné la rage après inoculation de cultures d'un microcoque venant de la substance nerveuse. Bruschettini découvre un Bacille; Memuro un Blastomycète; Negri, Guarnieri ont décrit des Protozoaires.

En 1903, Negri découvre dans le cerveau de chiens, puis d'hommes morts de rage, des corps particuliers (corps de Negri), surtout dans les cellules nerveuses de la corne d'Ammon. Pour lui, il s'agissait du parasite de la rage ; pour Babès, ces corpuscules sont le résultat d'une réaction de la cellule, due à l'invasion du virus rabique.

P. Bert, Nocard, Roux avaient remarqué qu'en filtrant le virus

rabique sur bougie Chamberland, le filtrat était dénué de virulence, alors que le résidu restant sur le filtre conférait la rage à l'animal inoculé.

En 1903, Remlinger démontre que le filtre Berkefeld peut laisser passer le virus en question, car, avec le filtrat, il peut donner la rage aux animaux. D'après ces constatations, on était en droit de conclure qu'il s'agit d'un virus filtrant.

La filtration doit être effectuée sur un cerveau entier de lapin, broyé dans un mortier ; à la pulpe très fine obtenue, on incorpore 300 à 400 centimètres cubes d'eau. On inocule dans la dure-mère $0^{cc},50$ à 1 centimètre cube du filtrat. On obtient ainsi 30 p. 100 de résultats positifs.

Récemment Noguchi, ensemençant du cerveau et de la moelle d'animaux (lapins, cobayes, chiens) atteints de rage expérimentale, a obtenu des corpuscules granulaires minuscules, à la limite de la visibilité; à côté d'eux, il a constaté l'existence de « corpuscules pléomorphiques chromatoïdes » un peu plus volumineux. Ces corpuscules se colorent bien par le Giemsa.

Le milieu de culture employé a été celui que Noguchi avait utilisé pour la culture du Tréponème.

Enfin, l'inoculation des cultures au chien, au lapin, au cobaye, reproduit chez ces animaux la rage expérimentale. Les frottis de cerveau de ces derniers ont montré l'existence constante des corpuscules décrits. Ces faits semblent montrer le rôle pathogène spécifique des corps découverts par Noguchi. Il s'agirait alors d'un virus filtrant, mais non invisible.

Vaccination. — *Vaccination par virus atténué* (Pasteur). — Pasteur avait observé que les rares chiens qui survivaient à la rage expérimentale étaient devenus réfractaires à de nouvelles inoculations. De tels faits lui faisaient entrevoir la possibilité d'une vaccination préventive, d'où l'idée d'obtenir un virus incapable de tuer le chien, mais capable de lui conférer l'immunité. Il arriva au but cherché en atténuant sa virulence. Voici comme il procéda tout d'abord :

Pasteur remarqua qu'en transportant la rage du chien au singe, au fur et à mesure qu'on effectuait ces passages, la période d'incubation de la rage conférée au singe se prolongeait, et la virulence du tissu nerveux s'affaiblissait. Par contre, elle s'exaltait en passant du singe au lapin, et la période d'incubation pour ce dernier devenait de plus en plus courte, jusqu'à ce qu'elle eût atteint le chiffre minimum de six à sept jours, taux où elle reste alors invariable (virus fixe). Il obtenait ainsi des virus d'activité différente.

En inoculant au chien, sous la peau, des moelles de virulence

minime, puis progressivement croissante, l'animal devenait réfractaire ; il possédait l'immunité contre un virus actif au maximum, introduit dans le cerveau, après trépanation. Ce fut l'objet d'une communication retentissante à l'Institut, en 1884 ; devant une commission de contrôle, il fit l'expérience suivante : 19 chiens vaccinés restèrent réfractaires aux inoculations virulentes, qui amenèrent la mort de 14 chiens témoins; de plus, 23 chiens vaccinés furent impunément soumis aux morsures de chiens enragés : les témoins contractèrent la rage dans la proportion de 66 p. 100.

La grande découverte était faite, il fallait rendre la méthode pratique. En 1885, Pasteur, Chamberland et Roux annoncent le résultat de nouvelles recherches, au cours desquelles ils ont atténué le virus rabique en soumettant à la dessiccation la moelle de lapin, mort du virus fixe. La technique était la suivante : dans un flacon fermé à la ouate et dont le fond renferme des fragments de potasse, on suspend les moelles, la virulence s'atténue de jour en jour ; elle est nulle vers le treizième ou quatorzième jour. L'injection de ces moelles, en commençant par les moins virulentes et en continuant par celles dont la virulence est de plus en plus accusée, confère l'immunité aux animaux en expérience.

Il ne restait plus qu'à tenter la vaccination chez l'homme. Le premier essai fut tenté chez Joseph Meister, mordu par un chien enragé, et porteur de blessures multiples et profondes qui devaient entraîner fatalement la mort. J. Meister resta indemne.

Au début de ces essais, Pasteur injectait des moelles du quatorzième, puis du treizième, douzième jour, etc., jusqu'au cinquième; le traitement durait donc dix jours. Il reconnut que cette méthode était insuffisante pour les cas graves, où il faut intervenir plus activement; dans ce traitement intensif il utilisait dans le troisième jour les moelles du sixième jour ; au quatrième, les moelles virulentes. C'est actuellement la méthode la plus employée : suivant la gravité des cas, le traitement dure ainsi de quinze à vingt-deux jours.

Les injections vaccinantes sont pratiquées sous la peau des hypocondres; elles sont à peine douloureuses. Souvent elles sont suivies d'érythème local et de démangeaisons, mais d'aucune réaction générale.

Pour se rendre compte de l'efficacité des vaccinations pastoriennes, il suffit de connaître le résultat des vaccinations opérées depuis l'origine du traitement sur des milliers d'individus mordus : les statistiques de l'Institut Pasteur et des autres instituts antirabiques sont éloquentes à cet égard : en effet, la mortalité globale s'élève environ à 1 p. 100, alors que la moyenne des cas non vaccinés

donnait une léthalité de 16 p. 100. Mais de cette mortalité globale on peut défalquer les cas où la rage se déclare moins de quinze jours après les dernières inoculations, et où la vaccination n'a pas eu le temps de déterminer des réactions rendant l'organisme réfractaire; dans ces conditions la mortalité rectifiée s'élève en général à 0,30 p. 100. On voit par ces chiffres les immenses services qu'a rendus la découverte immortelle de Pasteur.

Vaccination par sérum-virus (A. Marie). — A. Marie a modifié le traitement préventif pastorien en additionnant le virus rabique de sérum antirabique; Remlinger a effectué la même technique :

« On broie finement 1 gramme de bulbe de lapin de passage, et on prépare ainsi une émulsion dans 10 centimètres cubes de bouillon faible ou d'eau physiologique : on la passe à travers un linge. A 2 centimètres cubes de cette dilution décimale on ajoute 4 centimètres cubes de sérum antirabique de mouton, et on injecte ce mélange (6 centimètres cubes) sous la peau du ventre, en deux points » (A. Marie).

On répète la même injection les trois jours suivants, puis le malade reçoit les émulsions de moelle desséchée à partir du sixième jour.

Alors que les vaccinations pastoriennes confèrent l'immunité après quinze jours de traitement, ce procédé confère une immunité rapide. En effet, Remlinger a montré que 60 centimètres cubes de sérum-virus pouvaient préserver de la rage un mouton, inoculé par injection intra-oculaire trois jours auparavant.

Sérum antirabique. — Babès montra que le sérum des animaux vaccinés contre la rage neutralisait *in vitro* le virus rabique. A. Marie, Remlinger préparèrent un sérum antirabique.

A. Marie inocule dans les veines du mouton une émulsion fine de virus des rues ou de virus fixe (cerveau de lapin). Il répète l'injection trois fois à huit jours d'intervalle; deux semaines après la dernière, il inocule d'emblée le virus fixe sous la peau à doses croissantes. Un mouton reçoit ainsi en huit ou neuf semaines 3 grammes de cerveau rabique.

Alors que le sérum normal de mouton n'a aucune action immunisante, le sérum de mouton vacciné présente des propriétés antirabiques manifestes, puisqu'il neutralise la virulence des émulsions rabiques. Son emploi à titre préventif et curatif n'a pas encore donné les résultats auxquels on pouvait s'attendre.

VIRUS DE LA VACCINE.

Le virus de la vaccine semble bien appartenir à cette classe des germes invisibles; c'est ce qui résulte des travaux de Rouget, Remlinger, Carini, Negri.

On recueille sur une génisse de la pulpe vaccinale fraîche ; on la broie et on y ajoute dix à douze fois son poids d'eau ; on filtre l'émulsion obtenue à travers une bougie Berkefeld V. Le filtrat, inoculé sous la peau d'une génisse saine, à la dose de 40 centimètres cubes, a donné à Rouget 4 résultats positifs sur 10.

Carini, Negri ont montré qu'il est préférable de laisser macérer la pulpe vaccinale broyée dans l'eau stérile; après un séjour de quarante-huit à soixante-douze heures à la glacière, on broie de nouveau, puis on la laisse à la glacière pendant deux semaines. On filtre alors sur coton, puis sur papier, puis à travers la bougie.

Un tampon d'ouate hydrophile imbibé de ce filtrat est mis en contact pendant dix heures avec la cornée scarifiée d'un lapin. Une pustule vaccinale prend naissance ; son contenu peut être inoculé avec succès à la génisse (Negri).

Le contact de ce tampon avec la peau rasée d'un lapin donne les mêmes résultats (Remlinger et Osman Nouri).

VIRUS DE LA CLAVELÉE.

La clavelée est une affection contagieuse spécifique, atteignant le mouton et caractérisée par une éruption pustuleuse (claveau), qui siège au niveau de la peau et des diverses muqueuses.

Seules les pustules et leur contenu sont virulents; c'est par les poussières du claveau desséché que la contagion s'opère le plus généralement. D'après Nocard, le sang n'est jamais virulent.

Nature du virus. — Borrel a démontré que la clavelée était due à un germe traversant la bougie Berkefeld : le produit de raclage d'une pustule mis en suspension dans 100 centimètres cubes d'eau, puis filtré et inoculé au mouton lui donne la clavelée. Le virus traverse les pores de la bougie Berkefeld ; ceux de la bougie F Chamberland le retiennent.

Immunité. — On peut conférer l'immunité anticlaveleuse par la clavelisation : on vaccine le mouton en provoquant chez lui une atteinte bénigne de clavelée, par inoculation de claveau à la face interne de l'oreille ou au niveau de la queue.

On a reconnu que cette vaccination pouvait être dangereuse, car, sur le nombre des moutons clavelisés, certains (1 à 10 p. 100) contractent une clavelée grave et succombent.

Borrel a cherché alors les moyens d'effectuer l'immunisation passive : à des moutons guéris de la clavelée, il inocule à plusieurs reprises le contenu de pustules d'inoculation : il obtient ainsi un sérum qui présente des propriétés préventives et curatives. Son application préserve de la clavelée, mais la durée de l'immunité est minime.

Bridré et Broquet ont utilisé avec succès la vaccination par *virus sensibilisé* ; voici leur technique et les résultats obtenus :

La pulpe claveleuse est broyée à l'appareil Latapie. Le produit du broyage, dilué au cinquième dans l'eau physiologique, est passé sur tarlatane. Ce filtrat grossier est centrifugé pendant deux heures et mis en contact avec 3 à 4 volumes de sérum anticlaveleux. On laisse en contact pendant trois jours à la température du laboratoire ; on centrifuge, et le culot est dilué dans l'eau physiologique (2 centigrammes par centimètre cube d'eau salée).

Le liquide trouble qui surnage est le vaccin anticlaveleux.

On injecte sous la peau du mouton 0cc,25 de ce vaccin. Vers le cinquième jour, il présente une légère réaction fébrile et une réaction locale, variable suivant l'âge du sujet. En deux ou trois jours, l'œdème a disparu. La lésion vaccinale ainsi provoquée reste close ; s'il se forme une croûte superficielle, celle-ci ne se montre en aucune façon virulente.

Cette vaccination confère l'immunité au bout de quarante-huit heures ; celle-ci dure au moins cinq mois. Elle ne comporte aucun danger pour l'animal : les animaux vaccinés peuvent être laissés en contact avec les sujets sains sans danger de contamination pour ces derniers. La méthode peut donc être employée en milieu épidémique.

VIRUS DE LA FIÈVRE APHTEUSE.

Maladie virulente, contagieuse, la fièvre aphteuse sévit particulièrement chez les bovidés, le porc, le mouton, la chèvre : elle est transmissible à l'homme.

Elle est inoculable ; un léger frottement sur les muqueuses, effectué avec un objet chargé de liquide des pustules, suffit à déterminer la fièvre aphteuse.

Siège du virus. — La sérosité des aphtes qui se développent sur les muqueuses est virulente ; il en est de même de toutes les sécrétions avec lesquelles elle se mélange lors de la rupture des phlyctènes : jetage, salive, etc.

Le virus ne siège pas dans le lait, quoiqu'on en ait pensé. Si le lait est virulent, c'est qu'il a été contaminé par la rupture des phlyctènes qui se développent sur les trayons ; le lait recueilli purement dans la mamelle n'est en effet jamais virulent.

La virulence du sang n'a jamais été prouvée d'une façon certaine.

Nature du virus. — On a décrit des microcoques divers comme agents pathogènes de la fièvre aphteuse. Il s'agissait sans doute d'impuretés des téguments.

Löffler et Frosch ont montré que le microscope et les cultures ne

peuvent déceler aucun germe dans le liquide séreux des pustules, et cependant ce dernier inoculé confère la fièvre aphteuse ; ils ont apporté la preuve la plus évidente de l'existence, dans ces pustules, d'un germe invisible, traversant les filtres :

A 1 partie de sérosité aphteuse on ajoute 39 parties d'eau stérile ; on filtre le mélange sur bougie Berkefeld : 1 centimètre cube de filtrat est injecté dans les veines d'un veau ; celui-ci contracte une fièvre aphteuse typique. Le résultat est identique quand on fait passer le filtrat à travers deux ou trois bougies successives. Le virus est arrêté au contraire par le filtre de Kitasato et la bougie B Chamberland.

La lymphe des pustules, conservée en tubes scellés, est encore virulente après le quatorzième jour ; filtrée et conservée à la glacière, elle conserve ses propriétés pendant trois à quatre mois.

La dessiccation lui fait perdre son activité en vingt-quatre heures à la lumière du jour. Un chauffage de 50° pendant un quart d'heure, à 70° pendant dix minutes, tue fatalement le virus.

Il résiste fort peu à l'action des antiseptiques.

Immunisation. — Par l'inoculation intraveineuse de 1 centième à 1 dixième de centimètre cube de lymphe chauffée à 37°,5 pendant douze heures, Löffler et Frosch ont obtenu l'immunité dans 30 à 50 p. 100 des cas.

Siegel a montré que le sérum d'animal atteint de fièvre aphteuse, recueilli lors de l'éruption pustuleuse, possède des propriétés préventives. Injecté à des sujets sains, ce sérum empêche les effets d'une injection virulente ultérieure.

Löffler et Frosch, en pratiquant des injections intraveineuses répétées de lymphe virulente, ont obtenu un sérum qui serait doué de propriétés préventives. Ils l'ont utilisé pour la vaccination en mélange avec du virus (séro-vaccination par la *séraphtine*), à la dose de 10 à 20 centimètres cubes. Ce procédé est irrégulier dans ses effets, voire même dangereux, car un certain nombre d'animaux ainsi traités contractent la fièvre aphteuse.

Des essais de vaccination passive ont été tentés à l'aide du sérum seul ; Löffler et Uhlenhuth estiment que, si elle est impraticable chez le bœuf, elle peut être utile chez le mouton et le porc.

VIRUS DU HOG-CHOLÉRA.

Le hog-choléra sévit surtout sur les jeunes porcs. Cette infection se traduit principalement par des symptômes pulmonaires et intestinaux. L'autopsie montre, au niveau de l'intestin grêle, de la congestion, puis des

ulcérations des plaques de Peyer, avec hypertrophie des ganglions mésentériques. Au niveau des poumons, on perçoit des noyaux de bronchopneumonie, et même de petits infarctus hémorragiques.

Nature du germe spécifique. — Il y a quelques années seulement, le hog-choléra était considéré comme relevant de l'action pathogène d'un Bacille analogue au paratyphique B décrit par Salmon. Toutefois les travaux effectués en Amérique par Dorset, Schweinitz, Morton, Mac Clintock, Boxmeyer et Siffer, puis en France par Carré, Leclainche et Vallée, etc., arrivèrent à une conclusion inattendue : ces auteurs démontrèrent en effet que le virus spécifique était un organisme filtrant ; le Bacille décrit antérieurement ne serait qu'un germe saprophyte.

Quand on inocule à des porcelets sains du sang ou des pulpes d'organes broyés, recueillis sur le cadavre de porcs ayant succombé au hog-choléra, on détermine chez les premiers l'infection caractéristique. Le sang du porc inoculé présente des propriétés virulentes, et cependant le Bacille de Salmon ne s'y trouve pas encore.

On dilue dans 10 volumes d'eau le sérum ou le sang complet d'un porc infecté ; on filtre sur bougie Berkefeld V ou sur bougie B ou F Chamberland. On obtient un filtrat incultivable, où aucun germe n'est décelable. Cependant, si on en inocule 20 à 30 centimètres cubes sous la peau des porcs jeunes, le hog-choléra se déclare chez eux avec tous les caractères de l'infection naturelle.

D'après ces faits, le Bacille de Salmon serait complètement étranger au hog-choléra.

AUTRES VIRUS FILTRANTS.

Peste bovine. — La peste bovine est une maladie infectieuse inoculable, se manifestant par un état typhoïde grave. Elle sévit sous forme épidémique, atteignant de préférence les bovidés, mais aussi le mouton et le chameau.

Le sang, la lymphe, toutes les sécrétions normales et pathologiques sont virulents ; leur inoculation à un animal sain reproduit sûrement l'affection.

Nicolle et Adil-bey ont montré que le virus spécifique était invisible et incultivable ; le liquide virulent, dilué préalablement et filtré à travers une bougie Berkefeld, détermine l'infection après inoculation.

Peste des oiseaux. — Maladie infectieuse, inoculable, sévissant chez les poules, étudiée en Italie par Centanni, Maggiora et Valenti, retrouvée ensuite dans le Tyrol et en Belgique. Les animaux présentent de l'inappétence, de la somnolence ; ils se tiennent, les plumes hérissées, dans un coin de leur cage ; la crête devient violacée ; la température s'abaisse à 30° ; ils succombent entre le troisième et le huitième jour.

Le sang et les organes sont virulents ; il suffit de piquer une poule saine avec une aiguille trempée dans le sang de poule malade pour qu'elle contracte l'infection et meure en trente à trente-six heures.

Le lapin est réfractaire, ce qui différencie nettement cette infection d'avec le choléra des poules, avec lequel la peste bovine semble présenter beaucoup d'analogie.

Le microscope et les cultures sont incapables de déceler le virus. L'expérience montre que le sang et la pulpe d'organes, dilués dans l'eau physio-

logique, filtrés sur bougies Berkefeld et Chamberland F, sont virulents après filtration.

Horse sickness. — Infection sévissant en Afrique du Sud sur les chevaux qui passent la nuit en plein air, alors que ceux qui sont abrités dans une écurie bien close restent indemnes. C'est d'ailleurs ce qui a fait supposer qu'elle était transmissible par des insectes piqueurs. Elle est inoculable; le virus est contenu dans le sang et la sérosité, qui se développe dans le tissu cellulaire sous-cutané de la tête et de l'encolure.

Aucune forme microbienne n'y est perceptible, mais ces humeurs diluées dans trois fois leur volume d'eau sont encore virulentes après filtration sur bougie Berkefeld ; d'après Nocard, le filtre Chamberland arrête au passage le germe supposé. Mac Fadyean a observé cependant la virulence de ces produits après filtration sur bougie F. Chamberland.

LIBRARY OF THE
BRITISH MEDICAL ASSOCIATION

CHAPITRE LXVII

ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A LA CLINIQUE

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DU PUS.

Le pus, au point de vue pratique, doit être considéré comme étant toujours d'origine microbienne.

Il est impossible d'énumérer ici tous les microbes susceptibles de provoquer la suppuration ; cette propriété est probablement commune à tous les microbes pathogènes sans exception. Toutefois, il est un certain nombre de microbes qu'on rencontre plus communément dans telle ou telle circonstance :

Dans les *suppurations aiguës* habituelles : *Staphylocoque* et *Streptocoque* ; moins souvent, *Tétragène*, *Pneumocoque*, *Entérocoque* ; ou bien le *Gonocoque*, le *Méningocoque*, le *Bacille pesteux*, le *Bacille typhique*, l'*Amibe dysentérique*, etc.

Dans les *suppurations fétides*, on rencontre d'ordinaire des microbes anaérobies : *Bacillus perfringens*, etc.

Les *suppurations subaiguës* ou *chroniques* sont plutôt l'apanage du *Bacille tuberculeux*, de l'*actinomycose*, des *sporotrichoses*.

Tout au moins dans les processus subaigus ou chroniques, la présence d'une bactérie habituellement pyogène ne s'oppose pas à la présence simultanée du Bacille tuberculeux ; en pareil cas, la constatation de cette bactérie pyogène ne dispense donc pas de chercher le Bacille de Koch.

Prélèvement. — Voyez page 213.

Opérations complémentaires. — A. Expédition. — Envoyer au laboratoire la pipette qui a servi au prélèvement, après avoir étiré le verre et scellé les deux extrémités.

Ou bien envoyer la seringue remplie de son contenu.

Ou bien verser le contenu de la pipette ou de la seringue dans un tube stérile.

A défaut de tube stérile fourni par le laboratoire, on peut utiliser une ampoule usagée de médicaments : chaque praticien en possède.

La laver soigneusement à l'eau, sécher rapidement et flamber dans la flamme d'une lampe à alcool pour la stériliser. Sceller une extrémité et introduire, par celle qui est encore ouverte, la pointe de la pipette ou de l'aiguille qui ont servi à opérer le prélèvement; pousser dans l'intérieur de l'ampoule le contenu de l'une ou de l'autre.

Placer ensuite le tube dans un étui métallique bourré de coton; disposer cet étui dans une caisse de bois garnie de coton ou de sciure.

Expédier enfin au laboratoire par les voies les plus rapides.

B. Renseignements. — Toute demande d'analyse de pus (ou de tout autre produit) sera accompagnée d'une note, faisant connaître au bactériologiste les renseignements utiles pour la conduite de l'expertise et pour l'appréciation des résultats : observation résumée, localisation des lésions, état général du malade, aspect du pus, hypothèse vraisemblable sur sa nature; est-il ou n'est-il pas indiqué de rechercher le Bacille tuberculeux, etc. ?

C. Quand on a l'impression que le pus n'a pas été recueilli d'une manière aseptique et que cela peut fausser l'examen, il faut bien spécifier dans l'énoncé des résultats qu'il y a lieu de faire des réserves sur les indications données par l'expertise.

D. On n'oubliera jamais de stériliser, après l'expertise, ce qui reste des produits envoyés.

Expertise bactériologique. — Examen microscopique direct. — L'examen direct à l'état frais est habituellement inutile. Il n'est indispensable que dans le cas d'abcès hépatique, quand on veut rechercher les amibes dysentériques.

Dans tous les autres cas, c'est l'examen *après coloration* qui s'impose.

Confection des frottis. — Déposer sur une ou, de préférence, plusieurs lames, une goutte de pus, et l'étaler sur la lame. Fréquemment on se contente, dans ce but, de déposer simplement une lamelle sur la goutte, et on l'envoie ainsi au laboratoire. Il n'est pas de pratique plus défectueuse, car les préparations effectuées ultérieurement sont détestables : en effet, pendant le trajet, les bords se dessèchent et, entre lame et lamelle, les éléments du pus s'altèrent; il en est de même de certains germes qu'il contient. De plus, la lamelle une fois soulevée et retirée, tout étalement correct devient impossible.

Il est infiniment préférable de pratiquer sur place cet étalement de la façon suivante : sans trop appuyer, et *avec le moins de traumatisme possible*, pour éviter de déformer les cellules pyoïdes et de modifier les rapports que présentent les microbes avec ces dernières

(surtout s'il s'agit de pus blennorragique), on promène sur la lame une lamelle ou une lame, ou une carte de visite. L'étalement doit être *mince* et *uniforme*. Faute de cette précaution, on peut compromettre les résultats de l'expertise.

Si le pus présente des grains jaunes faisant penser à l'actinomycose, prélever un grain et l'écraser entre deux lames.

Fixer légèrement à la flamme et colorer.

Coloration. — Pour la coloration, utiliser au moins deux lames. On traitera la première par une *coloration simple* (violet de gentiane, fuchsine diluée, thionine phéniquée) qui permet de se rendre compte de la présence de microbes, de leur forme, de leur mode de groupement, de leurs rapports avec les cellules du pus (situation intra ou extracellulaire). Noter en même temps les caractères et la qualité des éléments histologiques (poly ou mononucléaires).

On traitera la seconde par la *méthode de Gram*, avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée, pour déterminer nettement si le ou les germes observés prennent ou non le Gram, caractères indispensables pour orienter les recherches d'identification.

Examen. — On reconnaîtra ainsi facilement au seul examen microscopique les microbes de la suppuration banale : Staphylocoque (*cocci* en grappes) ; Streptocoque (*cocci* en chaînettes) ; Pneumocoque (*coccus* lancéolé, encapsulé) ; Gonocoque (*coccus* en grain de café, décoloré par le Gram et intracellulaire) ; l'*Actinomyces*, le *Sporotrichum*, etc., mais aussi d'autres germes (bâtonnets et spirilles divers), que ce seul examen sera incapable de déterminer et pour lesquels il faut recourir à l'identification. Le plus souvent, en effet, l'examen direct n'est qu'une recherche d'orientation.

Mise en culture. — L'examen direct après coloration peut être insuffisant : dans le pus, certains Staphylocoques se présentent parfois sous l'aspect de cocci isolés, ou groupés par deux ou trois; les grappes caractéristiques sont absentes. Le Streptocoque peut ne se montrer qu'avec de très courtes chaînettes, ou même sous la forme de diplocoques. La culture seule peut faire le diagnostic, à plus forte raison quand la morphologie ne permet pas de différenciation. Enfin les cultures sont indispensables quand le pus contient des germes de plusieurs sortes et qu'il convient d'isoler.

Les milieux à employer diffèrent suivant les constatations de l'examen direct :

Si le germe observé est supposé être du Staphylocoque, Bacille d'Eberth, Colibacille, Pyocyanique, utiliser les milieux ordinaires et de préférence les milieux solides, qui permettent d'obtenir des colonies isolées; on ensemencera donc sur plusieurs tubes de gélose

ordinaire, en ayant soin, pour obtenir l'isolement, d'ensemencer successivement tous les tubes avec la même anse, sans recharger. On peut encore couler le milieu en boîtes de Petri et, après refroidissement, ensemencer en stries sur plusieurs boîtes.

Si l'on soupçonne la présence du Méningocoque, du Gonocoque, du Bacille de Ducrey, employer la gélose-ascite (gélose à 3 p. 100, 3 parties; liquide d'ascite stérile, 1 partie) ou la gélose au sang.

En cas de sporotrichose, ensemencer sur gélose sucrée de Sabouraud, et laisser à la température du laboratoire.

En cas d'actinomycose, ensemencer en gélose glycérinée ou sur pomme de terre.

Si l'on suppose l'existence de microbes anaérobies, ensemencer en gélose de Veillon ou en tubes de Vignal suivant la technique habituelle.

Examen des colonies. — La culture ayant poussé, il faut examiner les colonies apparues : on note leurs caractères macroscopiques, à l'œil nu et à la loupe, puis leurs caractères microscopiques ; on réensemence enfin les colonies isolées sur les divers milieux de culture appropriés, et on procède à l'identification définitive.

Inoculations. — Dans la pratique courante, l'inoculation à l'animal n'est nécessaire que dans les cas où l'on soupçonne la nature tuberculeuse du pus, ou l'existence du Pneumocoque, du Pneumobacille, du Bacille pesteux, du Bacille morveux.

En cas de tuberculose, inoculer le pus sous la peau d'un cobaye, ou, s'il ne contient pas de germes associés, dans le péritoine. Si le Bacille de Koch est en cause, les lésions se développent ultérieurement : dans le premier cas, sous forme d'un chancre cutané tuberculeux suivi de tuberculose généralisée ; dans le second, sous forme de péritonite et d'infection tuberculeuse généralisée.

Si l'on pense au Pneumocoque, inoculer directement le pus sous la peau d'une souris, qui succombera en vingt-quatre heures de pneumococcie généralisée.

Pour la peste, inoculer sous la peau un rat, une souris, un cobaye, très sensibles à l'infection pesteuse.

Pour la morve, inoculer un cobaye mâle dans le péritoine pour déterminer l'orchite caractéristique.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES CRACHATS.

L'analyse bactériologique des crachats est l'une des expertises les plus couramment demandées aux laboratoires.

Tantôt il s'agit de constater si les crachats renferment des Bacilles tuberculeux ; tantôt on cherche d'autres microbes, spécialement Pneumocoque, Streptocoque, parfois le Bacille pesteux, la Bactérie

charbonneuse, etc. Nous donnons ci-dessous la liste des germes pathogènes qu'on est exposé à rencontrer éventuellement ; on voudra bien se reporter à la deuxième partie de ce livre pour l'étude de chaque microbe en particulier.

Bacille tuberculeux.	*Micrococcus catarrhalis.*	Bacille de Pfeiffer.
Pneumocoque.	Méningocoque.	Bactérie charbonneuse.
Streptocoque.	Pneumobacille.	*Actinomyces.*
Entérocoque.	Bacille pesteux.	*Aspergillus fumigatus.*
Tétragène.	Bacille de la coqueluche.	Oosporoses.

Observations générales. — Les indications données à propos du pus (p. 846) en ce qui concerne l'expédition, les renseignements, etc., sont valables au même titre pour les crachats.

Prélèvement. — Voyez page 214.

I. **Recherche des microbes autres que le Bacille tuberculeux.** — L'examen direct présente ici une importance capitale : l'agent pathogène est généralement décelable, et en assez grande quantité. On réserve l'inoculation pour quelques cas particuliers. Les cultures ne sont indiquées qu'assez rarement.

Examen direct. — *Préparation des frottis.* — Pour débarrasser le crachat des souillures dont il s'est chargé pendant la traversée buccale, il est bon de le laver tout d'abord dans un tube d'eau physiologique. A l'aide d'une pince, on en prélève ensuite une parcelle dans sa portion la plus épaisse. On l'étale sur une lame de verre, en couche aussi mince et uniforme que possible ; dans ce but, on promène la parcelle de crachat à sa surface à l'aide d'une autre lame ; il faut éviter de l'écraser entre les deux lames, comme on le pratique assez souvent.

Si le crachat est trop épais pour subir un étalement convenable, il convient, une fois déposé sur la lame, de le dissocier légèrement.

S'il est muqueux, le placer préalablement sur un papier-filtre qui absorbe la partie liquide ; prélever alors la portion restante, qu'on étalera comme précédemment.

Le frottis effectué, laisser sécher à l'air (sans chauffer, pour ne pas coaguler l'albumine) ; après dessiccation complète, fixer par la chaleur en passant la préparation à deux ou trois reprises dans la flamme d'un bec Bunsen.

On prépare ainsi deux à trois lames.

Coloration. — Sur l'une des préparations, faire une coloration simple, de préférence par la thionine phéniquée, qui permettra une orientation d'ensemble pour déterminer la forme des bactéries décelées, la présence ou l'absence de capsules, etc.

Une deuxième préparation sera colorée par la méthode de Gram. Après lavage et séchage, observer au microscope.

Cet examen décèle la présence de *cellules* plus ou moins nombreuses suivant les cas : *leucocytes dégénérés* provenant de la région touchée par le processus pathologique ; *grandes cellules plates*, polygonales, provenant de la muqueuse buccale et contenant fréquemment une foule de germes, cocci pour la plupart, que l'observateur doit éliminer de son examen.

Enfin on trouve de nombreux germes, mais n'appartenant pas tous à la même espèce : les uns sont les microbes responsables de l'affection en cause (ce sont habituellement, à part de rares exceptions, les plus abondants) ; les autres sont des bactéries diverses appartenant à la flore de l'air atmosphérique, ou recueillies par le crachat dans sa traversée bucco-pharyngée (cocci quelconques, sarcines, leptothrix, levures, etc.). Ne porter attention, en général, qu'aux germes les plus nombreux.

Un simple examen direct suffira souvent en pratique à déterminer la présence du Streptocoque, du Pneumobacille, de l'Aspergillose, des Oosporoses, même du Pneumocoque (avec lequel on pourra parfois confondre l'Entérocoque).

Dans d'autres cas, un complément d'observation est nécessaire ; on peut alors avoir recours soit aux cultures, soit aux inoculations.

Cultures. — Les cultures auront d'autant plus de chances de réussir que le microbe cherché est plus abondant ; l'examen direct donnera des indications utiles à cet égard. Il est souvent facile de cultiver les microbes spécifiques, même très fragiles, quand ils se trouvent en culture presque pure ; ainsi le Bacille de la coqueluche, le Bacille de Pfeiffer, le Bacille pesteux, dans beaucoup de cas.

On aura soin de pratiquer les cultures sur milieux d'isolement, adaptés au microbe cherché : gélose ordinaire, gélose-ascite, gélose-sang, suivant les circonstances, ou suivant les suggestions fournies par l'examen direct.

Les précautions indiquées page 214 seront ici rigoureusement indispensables ; il faut, en effet, se débarrasser des germes provenant de la bouche ou du pharynx, d'autant plus que ces germes sont nombreux et leur culture exubérante.

Inoculations. — L'inoculation sera pratiquée soit à l'aide du crachat lui-même, soit à l'aide des cultures qui en sont issues.

Il y a lieu de s'adresser aux inoculations, surtout pour déceler le Pneumocoque, le Bacille pesteux ou le charbon bactéridien.

La recherche du Pneumocoque sera faite par inoculation sous-cutanée à la souris ou au lapin ; nous préférons le lapin, parce que

la souris est tellement réceptive au Pneumocoque qu'elle succombe à l'inoculation du Pneumocoque normal de la bouche, qu'on n'est jamais sûr d'avoir complètement éliminé par les lavages.

Les crachats pesteux seront inoculés à la souris ou au cobaye, suivant les procédés indiqués page 582.

La recherche du charbon bactéridien demande l'inoculation sous-cutanée au cobaye (p. 380).

II. **Recherche du Bacille tuberculeux. — Coloration.** — La coloration constitue le procédé habituel de diagnostic dans les crachats.

Les crachats seront recueillis et étalés comme il est indiqué ci-dessus; on s'adressera aux parties centrales des crachats nummulaires ; sinon, aux crachats striés de sang ; sinon, aux parties solides des crachats muqueux.

En ce qui concerne le mode de coloration, on peut ordinairement se servir de l'une quelconque des méthodes indiquées pour le Bacille de Koch.

En effet, dans les crachats, il est exceptionnel de rencontrer des Bacilles paratuberculeux, sauf dans deux circonstances : gangrène pulmonaire et dilatation des bronches. En présence de crachats putrides, il faudra donc employer une technique rigoureuse, susceptible de différencier le Bacille de Koch de la plupart des acido-résistants.

Dans tous les autres cas, la constatation de Bacilles colorés par les méthodes habituelles suffit pour affirmer le diagnostic.

Si l'examen fait comme il vient d'être dit demeure négatif, il faut répéter les examens plusieurs fois, et pendant plusieurs jours. On peut faciliter la recherche en s'adressant à l'homogénéisation des crachats.

Homogénéisation des crachats. — Cette méthode se propose de liquéfier tous les éléments des crachats, sauf le Bacille tuberculeux, qui est très résistant; on obtient ainsi un liquide *homogène*. Les Bacilles qu'il renferme sont ensuite concentrés par une technique appropriée.

On a proposé, pour l'homogénéisation, nombre de procédés ; nous ne retiendrons que les plus pratiques.

Procédé de Spengler. — Additionner les crachats de leur volume d'eau chaude, alcaliniser légèrement par la soude ; ajouter 1 à 2 p. 100 de pancréatine, mélanger exactement, placer à 37°. Après deux à trois heures, centrifuger la partie liquide. Examiner le culot.

Procédé de Jacobson. — Ce procédé associe les deux procédés antérieurs de Uhlenluth et Xylander (à l'antiformine) et de Lange et Nitsche (à la ligroïne).

L'antiformine, mélange d'eau de Javel et de soude, dissout tous les

éléments, sauf les Bacilles acido-résistants. La ligroïne (éther de pétrole) fait émulsion ; ses gouttelettes captent par adhérence les corpuscules (y compris les Bacilles) et viennent ensuite se collecter à la surface.

Après avoir dissocié les crachats dans un peu d'eau distillée, on ajoute cinq fois leur volume d'antiformine à 40 p. 100, on place à 37° ; en deux à trois heures, la masse est liquéfiée. A ce moment on ajoute de la ligroïne sur une épaisseur de 2 à 3 millimètres ; agiter fortement, puis laisser reposer à l'étuve : les gouttelettes de ligroïne remontent à la surface, entraînant les Bacilles. Après une demi-heure de repos, on prélève la partie profonde (souvent blanchâtre) de la couche de ligroïne, et on examine après coloration.

Procédé de Bezançon et Philibert. — Bezançon et Philibert homogénéisent par la méthode la plus simple l'ancienne méthode de Biedert ; ils apprécient ensuite la densité du liquide et la rectifient au besoin pour que les Bacilles puissent tomber au fond du liquide; il faut qu'ils soient plus lourds que ce liquide : or la densité du Bacille varie de 1,010 à 1,080 (Dilg) ; celle des liquides homogénéisés entre 0,990 et 1,120 ; dans certains cas, il est donc nécessaire de diminuer la densité du milieu, en pratique à 1,004 au plus.

1° Mesurer le volume du crachat (éprouvette graduée) ; mesurer dix fois son volume d'eau. Verser dans une capsule de porcelaine le crachat, la moitié de l'eau et autant de gouttes de lessive de soude qu'il y a de centimètres cubes de crachat.

2° Chauffer doucement, environ dix minutes, en agitant, et versant peu à peu le reste de l'eau. Laisser refroidir.

3° Prendre la densité. Si elle dépasse 1,004, ajouter la quantité voulue d'alcool à 50° pour ramener à 1,000.

4° Centrifuger le liquide pendant une heure. Recueillir le culot, étaler, colorer.

Quelle que soit la méthode employée, les crachats traités par homogénéisation seront toujours colorés par une méthode susceptible d'éliminer les acido-résistants (de préférence le Ziehl-Neelsen).

Aspect et nombre des bacilles. — Les bacilles se montrent le plus souvent homogènes, parfois granuleux, comme formés de grains séparés ; ils sont tantôt longs, tantôt courts : ordinairement isolés, plus rarement en amas. Enfin leur nombre est très variable ; on en trouve parfois 100 et plus par champ de microscope, et inversement on peut n'en rencontrer qu'un seul sur toute une préparation.

Ces variations morphologiques et numériques ont-elles quelque importance ? Il paraît tout d'abord certain qu'il n'y a pas de rapport étroit entre les données cliniques et telle ou telle des variations précédentes. Il est seulement établi que la présence d'un grand nombre de bacilles implique un foyer en voie de fonte, donc une étape relativement avancée de la maladie ; mais inversement, un nombre peu élevé de bacilles peut correspondre à toutes les phases de la tuberculose pulmonaire, depuis le

début jusqu'à la fin. D'ailleurs, chez un même sujet, on peut voir le nombre des bacilles varier beaucoup d'un jour à l'autre.

En ce qui concerne la morphologie, d'après Piéry et Mandoul, les bacilles granuleux longs appartiendraient surtout à la fonte caséeuse; les homogènes courts, en grand nombre, caractériseraient les formes aiguës de la maladie. Ces recherches mériteraient confirmation; il ne nous a pas semblé pour notre part qu'il y eût quelque rapport entre l'aspect ou le nombre des bacilles et la forme ou l'évolution clinique de la maladie.

Associations microbiennes. — En outre du Bacille de Koch, les crachats tuberculeux renferment presque toujours un nombre élevé d'autres microbes, décelables par simple examen microscopique; les plus habituellement rencontrés sont le Tétragène, le Pneumocoque, le Streptocoque, le Bacille de Pfeiffer, des Leptothrix, parfois des levures. Il est probable que la coexistence des microbes de la suppuration doit aggraver le pronostic, mais il ne semble pas qu'il ait été fait d'études suivies sur ce point.

Inoculations. — S'il y a contradiction entre les probabilités cliniques et le résultat négatif de l'examen direct, ou bien si la fétidité des crachats permet de soulever l'hypothèse de bacilles acido-résistants et frappe de suspicion les résultats positifs de l'examen direct, on inoculera au cobaye (inoculation sous-cutanée); les suites de l'inoculation seront appréciées comme il a été dit à propos du Bacille tuberculeux.

Cultures. — En raison de la présence d'autres microbes plus aptes à végéter dans les milieux de culture, le Bacille tuberculeux des crachats est assez difficile à cultiver, sauf quand il est très abondant; mais la culture est alors tout à fait inutile. En fait, la culture du bacille des crachats n'est qu'une curiosité de laboratoire.

Dans tous les procédés, il faut d'abord recueillir purement et laver le crachat (p. 214). On peut ensuite, à l'exemple de Pastor, ensemencer en plaques sur milieux ordinaires, et quelques jours après prélever les portions vierges de la surface pour les ensemencer sur milieux appropriés au Bacille de Koch. Spengler propose deux procédés, basés sur la résistance du bacille : étaler les crachats en couche mince en boîte de Petri, saupoudrer de pancréatine, garnir le couvercle de papier imprégné de formol, laisser deux heures à l'étuve, ensemencer; ou bien prélever sur un fil de platine gros comme une noisette de crachat nummulaire, rôtir trois fois de suite à la flamme sans détacher le bloc, ensemencer la parcelle rôtie qui persiste.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES ANGINES.

L'analyse bactériologique des angines n'est habituellement demandée et effectuée que pour établir ou infirmer le diagnostic de diphtérie vers lequel on est souvent orienté. Il est, cependant, de multiples infections bucco-pharyngées dont il est important de connaître la cause microbienne.

Outre l'angine diphtérique, on connaît les angines à *Streptocoques*, *Staphylocoques*, *Pneumocoques*, *Méningocoques*, etc., qui peuvent revêtir les types pultacé, folliculaire, herpétique, voire même pseudo-membraneux ; les angines à *coccus Brisou* donnant lieu à des fausses membranes analogues à celles de la diphtérie ; les angines à Pneumobacilles, les angines ulcéreuses ou ulcéro-membraneuses produites par la symbiose fuso-spirillaire.

Or il est bien évident que, dans la plupart des cas, l'examen clinique seul ne peut renseigner exactement sur la nature du ou des germes pathogènes qui ont déterminé l'infection ; au cas même où les signes cliniques imposent le diagnostic, comme il arrive s'il s'agit de diphtérie, le contrôle par l'examen bactériologique est indispensable ; ce dernier, d'ailleurs, apporte un secours précieux pour le diagnostic des *associations secondaires*, dont l'importance pronostique ne peut être méconnue.

Ces analyses comportent l'examen direct et les cultures.

Or, c'est le plus souvent sur les résultats donnés par les cultures qu'on s'appuie pour établir un diagnostic. Widal et Bezançon ont cependant démontré que de tels résultats pouvaient être entachés d'erreur ; l'ensemencement de gorges, même normales, donne lieu souvent, en effet, à des colonies nombreuses, même confluentes, de Streptocoques ou de tout autre germe banal, saprophyte de la cavité bucco-pharyngée, et qu'on est ainsi tenté, si la gorge est malade, de prendre pour un germe pathogène. Aussi le seul examen des cultures est-il susceptible de prêter à confusion.

L'examen direct des frottis d'exsudat pseudo-membraneux ou pultacé renseigne davantage, car il permet de mettre en évidence la prédominance de tel ou tel microbe, et de lui attribuer ainsi un rôle mieux défini dans la pathogénie des infections de la région. Il est d'autant plus indiqué dans les cas où le germe pathogène n'est pas cultivable, comme dans l'angine de Vincent.

L'examen direct des frottis présente donc une grosse importance qu'on a trop souvent le tort de méconnaître. La culture reprend tous ses droits quand on veut isoler et identifier les germes décelés par l'observation microscopique.

Prélèvement. — Faire gargariser tout d'abord le malade à l'eau bouillie pour enlever le plus possible les impuretés microbiennes ; faire ouvrir la bouche du patient, abaisser la langue à l'aide d'une spatule, et introduire dans la gorge un tampon d'ouate monté sur un agitateur de verre, ou une tige métallique ou de bois, ou encore une pince à forcipressure (certains laboratoires ont, à la disposition constante du praticien, une série de tubes contenant un tampon

d'ouate monté sur un agitateur de verre, tout l'appareil étant stérilisé préalablement au four Pasteur). Détacher une parcelle de l'exsudat ou de la fausse membrane à examiner, en frottant légèrement à l'aide du tampon et en lui imprimant au besoin un mouvement de rotation. Dans cette manœuvre, faire le moins de traumatisme possible, et éviter de faire saigner la muqueuse sous-jacente.

Expédition au laboratoire. — Si l'examen ne doit pas être pratiqué sur place, envoyer le produit au laboratoire ; pour cela, le placer dans un tube stérile, que l'on bouchera à l'aide d'un bouchon de caoutchouc pour éviter la dessiccation ; ou bien l'envelopper dans du taffetas gommé. Si l'on n'a pu ramener aucun exsudat, mais seulement du mucus, introduire le coton imbibé de ce dernier dans un tube stérile à l'abri de la dessiccation, comme précédemment.

Avec cet envoi, le praticien ne devra pas omettre d'indiquer au laboratoire le type clinique de l'angine observée : angine pultacée, cryptique, pseudo-membraneuse, ulcéreuse, etc. Ces données constituent souvent un secours précieux pour le bactériologiste, qui orientera ses recherches suivant les renseignements fournis.

Examen bactériologique. — Dans tous les cas, faire d'abord un examen direct après coloration, puis des cultures.

Examen direct. — Détacher une parcelle du produit prélevé. Enlever la salive qui l'imbibe par du papier buvard. Faire un frottis aussi mince que possible. Laisser sécher à l'air. Fixer par la chaleur. Colorer.

Pour la coloration, employer toujours la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée, car dans la plupart des préparations on trouve des germes prenant et ne prenant pas le Gram.

Le microscope montrera, suivant le cas, des germes divers : des Leptothrix, des Spirilles habituellement rares, hôtes saprophytes de la cavité buccale, des cocci isolés, en zooglées, ou en diplocoques, ou en chaînettes, des bâtonnets divers pouvant ressembler plus ou moins au Bacille de Löffler. Toutes ces constatations sont utiles, car la morphologie des germes rencontrés peut déjà orienter le bactériologiste sur leur nature et sur les méthodes de culture qu'il devra employer pour leur isolement et leur identification.

Parfois même, cet examen direct, pratiqué à la période aiguë de l'affection, permet déjà d'établir un diagnostic ; c'est le cas de l'angine fuso-spirillaire de Vincent ; un frottis de la pulpe putrilagineuse de cette variété d'angine présente, en effet, l'aspect caractéristique décrit plus haut (p. 645).

Cultures. — Comme le plus souvent l'analyse bactériologique est demandée pour s'assurer de la présence ou de l'absence de la diph-

térie, la mise en culture s'effectue habituellement dans les milieux électifs pour le Bacille de Löffler. Cette culture spéciale est légitime, en effet, car l'examen direct peut révéler, à côté de cocci et microbes divers, des bâtonnets prenant le Gram, ressemblant au Bacille de Löffler ; la culture seule permet de les identifier. De même, il arrive que, sur un processus d'apparence banale, comme l'angine phlegmoneuse par exemple, se greffe le processus diphtérique, qu'il soit primitif ou secondaire.

Enfin, on connaît quelques atteintes d'angine de Vincent qui se sont accompagnées de diphtérie.

L'ensemencement en tubes de *sérum coagulé* s'impose donc dans la plupart des cas ; on ensemence l'exsudat ou la fausse membrane en strie sur trois tubes sans recharger le tampon d'ouate.

Nous avons vu plus haut (p. 408) comment il faut interpréter les résultats des cultures ainsi obtenues.

Pour déceler par la culture la plupart des autres germes, on emploie les tubes ou les plaques de *gélose ordinaire*, qui laisse pousser abondamment le Streptocoque, le Pneumobacille, le Staphylocoque, le Tétragène, le Colibacille, etc.; ce milieu peut convenir encore pour le Pneumocoque.

On emploie la *gélose-ascite* (agar à 3 p. 100 : 3 parties; ascite : 1 partie) quand l'examen direct a montré une assez grande abondance de cocci en grains de café, ne prenant pas le Gram, pouvant être rapportés soit au Méningocoque, soit à des Pseudo-Méningocoques.

L'ensemencement s'effectue de préférence sur trois boîtes de Petri, où l'on a préalablement coulé ce milieu spécial.

Ce n'est que dans des cas exceptionnels qu'on utilisera d'autres milieux, notamment la *gélose sucrée* de Sabouraud, pour déceler la sporotrichose pharyngée, l'*oosporose*, la *gélose* et la *pomme de terre glycérinées* pour l'actinomycose, la *gélose acide* (une goutte d'acide lactique dans 10 centimètres cubes de gélose, etc.).

Coupes et coloration de la fausse membrane. — On peut se rendre un compte assez exact du rôle qu'a joué un germe dans la pathogénie d'un processus pseudo-membraneux en examinant les coupes de la fausse membrane. La qualité des germes découverts ainsi par l'examen microscopique peut donner des renseignements utiles.

Dans ce but : fixer la fausse membrane par l'alcool absolu, l'inclure dans la paraffine, débiter en coupes. Colorer les coupes par la thionine, ou de préférence par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée.

Inoculations. — Il est rare qu'on ait à inoculer directement à

l'animal les produits bucco-pharyngés ; les inoculations ne sont pratiquées qu'avec les cultures provenant des colonies isolées qui ont poussé sur les milieux après isolement; elles sont utilisées surtout pour identifier le Bacille de Löffler, le Pneumocoque.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DU LIQUIDE CÉPHALO-RACHIDIEN.

Nombreuses sont les variétés de microbes capables d'infecter les méninges. En dehors du *Méningocoque* et des *Pseudo-Méningocoques*, on connaît les méningites dues au *Streptocoque*, *Staphylocoque*, *Pneumocoque*, *Pneumobacille*, *Colibacille*, *Bacille typhique*; en quelques observations on a retrouvé du *Gonocoque* authentique; on cite quelques faits où l'*actinomycose* est en cause; la *tuberculose* des méninges est une infection courante. Enfin il faut rappeler les réactions qui se produisent au cours de maladies dont les germes sont inconnus, *poliomyélite*, *oreillons*, sans omettre ceux qui, bien que connus, ne sont pas décelables, comme dans la *méningite syphilitique*.

Or, si en certains cas la clinique seule peut mettre le praticien sur la voie du diagnostic, le plus souvent, pour confirmer nettement ce dernier, il faut avoir recours aux méthodes de laboratoire; c'est à l'analyse bactériologique du liquide céphalo-rachidien qu'il convient de s'adresser.

Prélèvement du liquide céphalo-rachidien. — Le prélèvement du liquide céphalo-rachidien s'effectue en pratiquant une *ponction lombaire*. En voici la technique :

Elle peut s'effectuer, le malade étant assis ou couché.

Dans le premier cas, le malade s'assoit sur le bord du lit, tournant le dos à l'opérateur, les bras accolés au tronc, les jambes pendantes, la tête fléchie ; la colonne vertébrale, courbée en avant pour « faire le gros dos », attitude qui exagère l'écartement des apophyses épineuses. Cette position assise, très commode pour l'opérateur, est souvent impossible à réaliser pour un malade atteint de méningite. De plus, elle expose à des syncopes, puis, quand l'aiguille a pénétré dans le canal rachidien, à une issue trop brusque du liquide céphalo-rachidien, habituellement en hypertension.

Le décubitus latéral est donc préférable. Le malade est couché sur le bord du lit ; les cuisses sont fortement fléchies sur l'abdomen, les jambes sur les cuisses, la tête sur le thorax. Ici encore, le sujet, en faisant le gros dos, écarte ses apophyses épineuses. La tête repose sur un traversin pas trop élevé.

Enfin on aura recours à un aide pour maintenir le sujet et l'empêcher de faire des mouvements brusques au moment de la piqûre.

On aseptise soigneusement le champ opératoire ; on savonne, puis, après avoir essuyé, on lave avec un coton imbibé d'alcool-éther, puis au sublimé.

On repère ensuite l'espace intervertébral où l'aiguille sera introduite.

L'espace de choix est celui qui sépare la quatrième de la cinquième vertèbre lombaire. Pour le trouver, il suffit de joindre par une ligne horizontale la partie la plus élevée des deux crêtes iliaques; elle passe habituellement par le sommet de l'apophyse épineuse de la quatrième lombaire ; l'espace situé au-dessous est celui que l'on doit choisir.

Entre temps, l'opérateur s'est muni d'une aiguille dite à ponction lombaire : aiguille de Tuffier ou de Krœnig.

L'aiguille de Tuffier est une aiguille de platine, longue de 8 centimètres de long, et mesurant 1 millimètre de diamètre extérieur : l'extrémité piquante est taillée en biseau court. Elle est munie d'un mandrin intérieur, petit fil métallique résistant.

L'aiguille de Krœnig est analogue, mais elle est munie d'un robinet destiné à modérer l'issue du liquide quand l'hypertension du liquide céphalo-rachidien en est trop considérable, et à éviter ainsi les accidents dus à une décompression trop brusque.

L'aiguille qu'on emploie doit être stérilisée à l'autoclave à 120° pendant vingt minutes. Dans la pratique courante, une ébullition d'une demi-heure est suffisante.

L'opérateur, qui a assuré l'antisepsie de ses mains, est alors prêt pour la ponction : de l'index de la main gauche, il repère l'espace intervertébral qu'il a choisi ; de la main droite, il prend comme une plume à écrire l'aiguille munie de son mandrin et pique les téguments sur la *ligne médiane*. Après ce premier temps, il l'enfonce alors profondément, d'avant en arrière, et légèrement de bas en haut : il traverse ainsi le ligament interépineux, puis l'aiguille est momentanément arrêtée sur le ligament jaune qui offre une certaine résistance à la pénétration : on pousse alors un peu plus fortement, on éprouve la sensation de traverser une barrière à consistance cartilagineuse; aussitôt cette sensation perçue, l'aiguille qui a traversé du même coup la dure-mère et les feuillets de l'arachnoïde tombe dans l'espace sous-arachnoïdien. On retire le mandrin, et le liquide s'écoule par l'extrémité de l'aiguille ouverte à l'extérieur. On en recueille ainsi 5 à 10 centimètres cubes dans un tube stérile.

La piqûre peut encore être pratiquée, non plus sur la ligne médiane, mais à 1 centimètre de cette dernière : on dirige alors l'aiguille un peu obliquement en haut et en dedans pour la faire passer entre les lames vertébrales.

Expédition. — Pour l'expédition, boucher hermétiquement le tube à l'aide d'un bouchon de caoutchouc ou de liège; prendre les précautions stipulées dans la circulaire du ministre de l'Intérieur, du 2 février 1912, c'est-à-dire entourer le tube d'ouate et l'introduire dans un étui métallique, et placer celui-ci dans une boîte de bois, parfaitement close.

Cet envoi devra être fait le plus rapidement possible après avoir recueilli le liquide céphalo-rachidien, et par les voies les plus directes.

Expertise bactériologique. — Que le liquide céphalo-rachidien soit clair ou trouble, on doit toujours le soumettre à la *centrifugation*, dans des tubes effilés. Centrifuger pendant dix à quinze minutes, quand le liquide est clair; une centrifugation de cinq minutes suffit, quand il est trouble, pour obtenir un culot très appréciable, sinon abondant.

Après centrifugation, décanter le liquide surnageant soit avec une

pipette stérile, soit simplement en renversant le tube obliquement; le culot restera dans la partie effilée du tube, où il pourra être facilement prélevé pour l'examen.

Examen direct. — Avec une pipette fine, puiser tout ou partie du culot (fig. 333). Étaler soigneusement sur plusieurs lames, pour en faire des frottis minces et uniformes. Laisser sécher. Fixer à l'alcool-éther. Colorer.

Faire tout d'abord une coloration simple, à la thionine phéniquée,

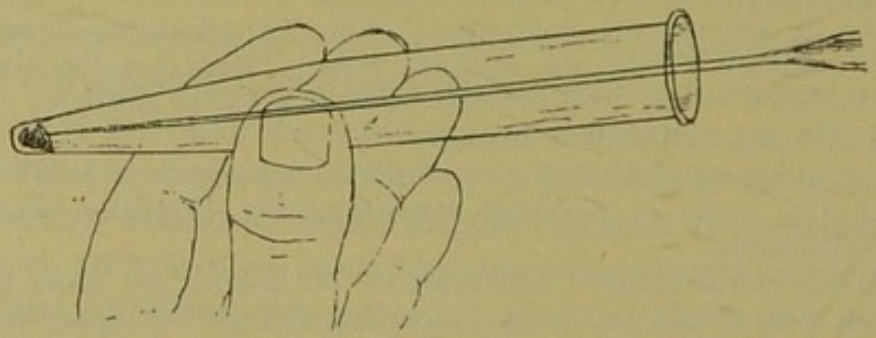


Fig. 333. — Manière de recueillir le culot de centrifugation.

par exemple, qui, par les constatations cytologiques et microbiennes qu'elle assure, donnera au diagnostic une certaine orientation.

Deux éventualités peuvent se produire :

1° Le frottis examiné montre une leucocytose variable suivant les cas en qualité ou en quantité (polynucléose ou lymphocytose) et *absence complète de microbes.*

Dans ce cas, plusieurs hypothèses sont à envisager :

S'il existe de la polynucléose prédominante, noter avec soin l'état des polynucléaires; ils peuvent être normaux ou altérés. S'ils sont normaux, penser à la *méningite aseptique* de Widal et de ses élèves. S'ils sont altérés, ils peuvent être le reflet d'une méningite microbienne, mais dont les microbes, très rares, passent inaperçus: c'est ce qui arrive parfois dans la méningite méningococcique.

En cas de lymphocytose prédominante ou exclusive, penser à la *méningite tuberculeuse*, où le Bacille de Koch n'est décelable que par des procédés spéciaux. On effectuera alors une coloration par la méthode de Ziehl, comme pour mettre en évidence le Bacille tuberculeux dans les crachats. Cette technique permet de le déceler assez fréquemment et d'établir ainsi d'emblée le diagnostic.

Si cette recherche reste négative, il faut envisager diverses hypothèses : celles d'une méningite syphilitique, saturnine, ourlienne, enfin d'une réaction méningée amicrobienne survenant au cours d'infections diverses (pneumonie, bronchopneumonie, scarlatine, rougeole, érysipèle, etc.).

2° Le frottis montre une leucocytose encore variable (polynucléaires ou lymphocytes), mais aussi des *microbes* : cocci isolés ou en grappes, en chaînettes, en diplocoques, en tétrades, bâtonnets divers, tous ces germes pouvant être contenus dans l'intérieur des polynucléaires ou de larges cellules endothéliales ou extracellulaires.

En ce cas, colorer une nouvelle lame par la méthode de Gram avec suraddition de fuchsine de Ziehl diluée à 1 p. 10, pour déterminer si les microbes décelés se rangent dans l'une ou l'autre catégorie des germes prenant ou ne prenant pas le Gram.

On pourra déjà ainsi diagnostiquer la présence du Staphylocoque, du Streptocoque sans avoir besoin de recourir aux cultures, mais pour tous les autres germes, celles-ci s'imposent pour arriver à les identifier complètement.

Mise en culture. — Suivant la nature des germes rencontrés à l'examen microscopique, on recourra à des milieux différents.

Si l'on a constaté un coccus en grain de café, ne prenant pas le Gram, suspect par conséquent d'être du Méningocoque ou un Pseudo-Méningocoque, ou du Gonocoque, on ensemencera en gélose-ascite (3 parties de gélose pour 1 partie d'ascite), ou en gélose-sang.

En cas de diplocoque lancéolé, encapsulé, prenant le Gram, penser au Pneumocoque et ensemencer sur gélose ordinaire, ou de préférence en gélose-ascite, où les colonies se développent plus abondamment.

S'il s'agit d'un bâtonnet, qui peut être du Bacille typhique, du Colibacille, du Pneumobacille, du Pyocyanique, etc., on peut se contenter d'ensemencer en gélose ordinaire.

D'après Bezançon et Griffon, on pourra utiliser la gélose-sang pour cultiver le Bacille tuberculeux.

Quel que soit le milieu employé, ensemencer largement la surface à l'aide de la plus grande partie du culot de centrifugation obtenu.

Au bout de vingt-quatre à trente-six ou quarante-huit heures d'étuve, des colonies ont poussé; il faut les identifier. En prélever une parcelle, l'émulsionner dans une gouttelette d'eau versée sur une lame. Colorer. Selon le microbe constaté, repiquer les colonies sur divers milieux capables d'assurer sa détermination exacte ; recourir, au besoin, à l'inoculation à l'animal, et à la recherche de ses propriétés biologiques spécifiques.

Inoculation à l'animal. — On peut inoculer ces cultures, mais aussi parfois le liquide céphalo-rachidien total. Ces inoculations de liquide céphalo-rachidien sont indiquées surtout pour la recherche du *Pneumocoque* ; les résultats qu'elles donnent sont très rapidement

obtenus; il suffit d'en introduire 1 à 2 centimètres cubes sous la peau, ou 0cc,25 à 0cc,50 dans le péritoine d'une souris pour conférer à cette dernière une septicémie mortelle en vingt-quatre à trente-six heures.

Pour la recherche de la *tuberculose*, suivre la technique de Widal : injecter dans le péritoine d'un cobaye 10 centimètres cubes de liquide céphalo-rachidien. Si le Bacille de Koch est en jeu, l'animal présentera au bout de quelques semaines une tuberculose péritonéale, puis généralisée, avec les lésions connues. Mais les résultats ne peuvent être constatés que tardivement, ce qui rend cette inoculation impraticable pour un diagnostic rapide.

On peut encore employer le procédé de Nattan-Larrier et Griffon, et injecter quelques gouttes du liquide dans la mamelle d'un cobaye femelle en lactation ; s'il véhicule du Bacille de Koch, une tuberculose rapide de la mamelle se déclare, et, au bout de huit à dix jours, l'examen du lait montre des Bacilles tuberculeux décelables par la méthode de coloration habituelle.

ANALYSE DES EXSUDATS SÉRO-FIBRINEUX.

Nous aurons en vue les exsudats de la plèvre, du péritoine, des articulations.

Deux cas peuvent se présenter : le liquide est *purulent*, ou bien il est *séro-fibrineux*.

I. **Exsudats purulents**. — Lorsque le liquide est purulent, on se comportera comme il a été indiqué pour le pus (Voy. p. 846). Rappelons que les microbes les plus fréquemment rencontrés en pareilles circonstances sont :

Pour la plèvre : Streptocoque, Pneumocoque, Staphylocoque, Bacille de Koch, plus rarement, Colibacille, Tétragène, etc. ;

Pour le péritoine : Colibacille, microbes anaérobies ;

Pour les articulations : Gonocoque, Pneumocoque, Streptocoque, Staphylocoque, Bacille de Koch.

II. **Exsudats séro-fibrineux**. — 1° La plupart des épanchements fibrineux, surtout ceux de la plèvre, se coagulent spontanément après la ponction. D'autre part, il semble que le caillot forme en quelque sorte un filet et englobe la majeure partie des microbes. Par suite, les procédés d'analyse demandent souvent une technique un peu spéciale, imitée de l'analyse du sang.

2° L'agent le plus habituel des exsudats non purulents de la plèvre ou du péritoine est le *Bacille tuberculeux* ; on sait en effet que toute pleurésie dite « primitive » est tuberculeuse (Kelsch et Vaillard), et il en est de même de la plupart des ascites inflammatoires. Mais on

peut rencontrer parfois, dans les exsudats séro-fibrineux de la plèvre, d'autres microbes : Pneumocoque, Streptocoque, Staphylocoque, Bacille typhique, etc.

3° On se rappellera la règle suivante : sauf quelques cas particuliers, où les circonstances cliniques démontrent que l'exsudat n'est pas tuberculeux (par exemple, pleurésies accompagnant la pneumonie franche), *la constatation de la présence d'une espèce microbienne spécifique* (Pneumocoque, Streptocoque, Staphylocoque, etc.) *n'exclut aucunement la possibilité d'une infection tuberculeuse et ne dispense pas de chercher le Bacille de Koch* ; il est en effet avéré que les exsudats tuberculeux sont souvent infectés secondairement par des bactéries diverses.

4° Nous envisageons exclusivement ici le point de vue bactériologique et, par suite, nous n'avons à donner que les indications nécessaires à cet égard. Mais l'expert n'oubliera pas qu'il doit faire état de tous les renseignements obtenus en cours d'analyse; spécialement dans le cas particulier, il faut noter et indiquer la *formule histologique*. On se souviendra qu'en général les processus aigus (pneumoniques, etc.; début de la pleurésie banale) s'accompagnent de polynucléose, et les processus subaigus ou chroniques, surtout de mononucléose. Il peut exister en outre de grandes cellules endothéliales. Mais la présence d'éléments cellulaires, même très abondants, n'est pas fatalement la signature d'une infection microbienne *décelable*. Widal et ses élèves ont en effet montré qu'il peut exister des *pleurésies puriformes aseptiques*, avec leucocytes intacts et sans microbes décelables par examen direct ou culture, — contrairement aux *pleurésies purulentes*, qui présentent des leucocytes dégénérés et, en outre, renferment des microbes.

5° Au point de vue pratique, il y a lieu d'envisager successivement :

La recherche du Bacille de Koch ;

La recherche des microbes autres que le Bacille de Koch.

A. ***Recherche du Bacille de Koch***. — Les procédés les plus usuels sont l'examen direct après concentration et l'inoculation au cobaye ; la culture peut également être utilisée avec succès. L'examen direct immédiat est beaucoup plus aléatoire.

Examen direct immédiat. — On étale et fixe une goutte de liquide ; on colore par le procédé de Ziehl-Neelsen (p. 655). Ce procédé ne donne pour ainsi dire jamais de résultat positif.

Examen direct après concentration des microbes. — Les Bacilles étant toujours peu nombreux, il y a intérêt à les concentrer sous un faible volume. Mais les résultats obtenus par les procédés de cet ordre sont actuellement indécis : il est certain qu'on a souvent

confondu le Bacille de Koch avec les bacilles acido-résistants, fréquemment présents dans les liquides pleuraux.

Quel que soit le procédé employé, il faut s'astreindre à pratiquer une coloration rigoureusement élective, susceptible de ne pas laisser d'hésitation en ce qui concerne les acido-résistants (Voy. p. 692).

1° Les exsudats *non coagulables spontanément* peuvent être centrifugés ; on examine le culot.

Le résultat est généralement négatif.

2° Pour les liquides *spontanément coagulables*, on s'adresse au caillot.

a. On peut se contenter de dilacérer le caillot à mesure qu'il se forme, en agitant avec des perles de verre stérilisées ; on centrifuge ensuite et on examine le culot (M. Labbé).

b. *Inoscopie*. — Jousset recueille le caillot en filtrant sur une compresse bouillie dans de l'eau alcaline ; on lave ensuite à l'eau distillée. Le caillot est alors mis à digérer avec 25 à 30 centimètres cubes de suc gastrique artificiel (p. 867), de préférence à 50° ; agiter de temps à autre. Une fois la digestion achevée (deux à trois heures), centrifuger, examiner le culot.

c. *Homogénéisation du caillot*. — Technique de Bezançon, Griffon et Philibert : additionner le caillot de quelques gouttes de lessive de soude (une goutte par centimètre cube de caillot), puis ajouter dix fois son volume d'eau, chauffer ; le caillot se dissout. Centrifuger, examiner le culot.

Cultures. — A la condition d'ensemencer le liquide sitôt extrait de l'organisme, avant coagulation, on peut obtenir des cultures des exsudats pleuraux tuberculeux.

a. Bezançon et Griffon ensemencent sur sang gélosé glycériné 1 centimètre cube d'exsudat par tube ; porter à 38°.

b. Le *procédé de Wetter*, culture sur pomme de terre glycérinée, paraît être le plus fidèle. Il donne souvent des résultats positifs, mais tardivement (trois à quatre semaines).

Dans de grands tubes à pommes de terre (20 cent. × 2 ; hauteur du fond, 4 cent.), on place un cylindre de pomme de terre et 8 centimètres cubes de la solution suivante, légèrement alcalinisée :

Peptone	1
Chlorure de sodium	0,5
Glycérine	10
Eau	100

Les tubes sont stérilisés comme d'habitude.

Pour l'usage, répartir dans une série de tubes 8 centimètres cubes d'exsudat, sitôt après ponction. Placer à l'étuve.

La fibrine se rétracte en grande partie sur le tubercule.

Les colonies apparaissent d'abord dans le réseau de fibrine.

Inoculation. — En raison de l'incertitude actuelle des autres

procédés, c'est encore l'inoculation qui constitue le procédé de choix.

Qu'il s'agisse de liquide de pleurésie, d'ascite ou d'arthrite, on inoculera toujours dans le péritoine du cobaye.

1° Si le liquide n'est pas coagulable spontanément et qu'on en possède une assez grande quantité, il est préférable de centrifuger au préalable 40 à 80 centimètres cubes et d'inoculer le culot.

2° L'exsudat pleurétique nécessite une manœuvre spéciale : car il est spontanément coagulable, il renferme peu de bacilles, enfin il peut être toxique et tuer le cobaye par intoxication. Il est bon d'inoculer beaucoup d'exsudat, mais en plusieurs fois.

a. On utilisera avec avantage la technique de Le Damany.

Au moment de la ponction, le liquide est versé dans une série de tubes à essais, 10 à 20 centimètres cubes par tube. On inocule à un même cobaye le contenu d'un tube par semaine. Pour pratiquer cette inoculation (liquide et caillot), utiliser un tube à essai stérilisé, terminé par une effilure large de 3 à 5 millimètres ; verser dans le tube la dose d'exsudat à injecter; inoculer dans le péritoine du cobaye, à travers une boutonnière. Continuer les inoculations jusqu'à épuisement du liquide, ou jusqu'à ce que les adhérences péritonéales empêchent les injections.

b. Widal et Ravaut inoculent le liquide avant coagulation, au lit même du malade.

Au moment de la ponction pleurale, on laisse deux aiguilles en place, l'une dans la plèvre du malade, l'autre dans le péritoine du cobaye ; on transvase immédiatement du malade au cobaye.

B. ***Recherche des microbes autres que le Bacille de Koch.*** — Le meilleur procédé est la culture. L'examen direct et l'inoculation ont des indications plus restreintes.

Examen direct. — Comme ci-dessus (examen immédiat). Coloration à la thionine et au Gram.

Cultures. — L'exsudat sera ensemencé largement, et dans une grande quantité de milieu liquide (dix fois au moins le volume de l'exsudat). On adaptera le milieu au microbe cherché; en général, bouillon ou bouillon-sérum.

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DU SANG.

A l'état normal, le sang est à peu près toujours stérile. Cependant, pendant la digestion, des germes intestinaux peuvent passer dans le chyle, et de là dans le sang (Nocard, Porcher et Desoubry) ; de même, chez les animaux en état de moindre résistance, surtout

chez les animaux jeunes, on trouve assez souvent dans le sang des bactéries diverses (Sacquépée et Loiseleur, Garnier et Simon); mais ces infections sanguines sont tout à fait éphémères. En règle générale, le sang de l'homme, à l'état de bonne santé, est stérile.

A l'état pathologique, il n'en va pas de même. Il existe tout d'abord un certain nombre d'agents pathogènes qui se développent dans le sang même : Hématozoaire du paludisme, Spirille de la fièvre récurrente, etc. En outre, au cours de certaines maladies infectieuses, l'agent pathogène se trouve toujours ou peut se trouver éventuellement dans le sang; mais, chez l'homme, les microbes sont en pareil cas presque toujours très rares ; aussi doit-on, pour les mettre en évidence, avoir recours à la culture du sang, l'examen direct étant impuissant à les déceler.

L'analyse du sang peut être pratiquée :

Par examen direct à l'état frais ;

Par examen direct après dessiccation et coloration ;

Par ensemencement (hémoculture) ;

Par inoculation.

I. **Examen direct à l'état frais.** — Ce mode d'examen est indiqué pour la recherche de l'Hématozoaire du paludisme, des Trypanosomes, des Piroplasmes, des Spirilles de la fièvre récurrente. Il donne rarement des résultats, du moins chez l'homme, au cours des maladies microbiennes autres que les précédentes.

Technique. — Prélever le sang au doigt ou à l'oreille (Voy. p. 211). Recueillir une goutte de sang sur une lame ; couvrir d'une lamelle, en appuyant légèrement, sans écraser; examiner (objectif à sec, fort).

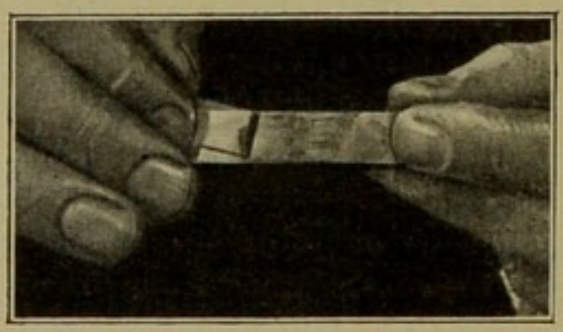


Fig. 334. — Étalement du sang sur lame.

La formation rapide du réticulum fibrineux gêne l'examen. Si l'observation doit être prolongée, on examinera en goutte pendante (p. 161); enduire la lamelle de vaseline liquide, recueillir une goutte de sang sur la face enduite, renverser sur la lame creuse, luter les bords. Déposé sur vaseline, le sang ne se coagule que très lentement.

II. **Examen direct après coloration.** — L'examen après coloration est indiqué tout d'abord dans les mêmes circonstances que l'examen à l'état frais. On a en outre essayé de rassembler les microbes sous un faible volume de liquide, par des artifices divers.

Technique habituelle. — Le sang, prélevé comme d'habitude, est étalé, puis fixé et coloré.

Étalement (fig. 334). — Recueillir une petite goutte de sang vers le tiers de la lame. Avec une forte carte de visite, bord posé bien à plat sur la lame, étaler d'abord la goutte transversalement, puis, en appuyant nettement, la carte faisant avec la lame un angle de 45° environ, étaler très régulièrement sur les deux tiers de la lame. La couche de sang doit être mince, uniforme et continue. Laisser sécher à la température ambiante.

On peut substituer à la carte de visite une forte lamelle ou, à défaut, une lame rodée.

Fixation. — Fixer la préparation par l'alcool absolu, ou, à défaut, l'alcool-éther (p. 238).

Coloration. — Pour la recherche des parasites du sang, on emploiera les procédés spéciaux indiqués ailleurs (p. 789).

Techniques spéciales. — Pour mettre en évidence des microbes peu nombreux, on a proposé de dissoudre les globules rouges ou d'homogénéiser le caillot, pour centrifuger ensuite.

Dissolution des globules rouges. — On reçoit le sang dans vingt fois son volume d'eau distillée ; les globules rouges sont dissous. Le liquide hémolysé est centrifugé ; on examine le culot (Nattan-Larrier et Bergeron).

Homogénéisation du caillot. — Le caillot se comporte en partie comme un filet dont les mailles enserrent les microbes.

Technique de Jousset (*inoscopie*). — Laver le caillot pour dissoudre l'hémoglobine ; faire digérer ensuite la fibrine du caillot dans une solution de suc gastrique artificiel (pepsine, 3 gr. ; glycérine, 10 c. c. ; HCl, 10 c. c. ; fluorure de sodium, 3 c. c. ; eau, 1000), placer à 55°, agiter. Quand la fibrine est dissoute, centrifuger, examiner le culot.

Technique de Bezançon, Griffon et Philibert. — Broyer le caillot au mortier, ajouter 20 centimètres cubes d'eau et V à X gouttes de lessive de soude ; porter à l'ébullition ; centrifuger, examiner le culot.

Jusqu'ici, ces divers procédés n'ont donné que peu de résultats. La découverte annoncée du Bacille tuberculeux ne repose peut-être que sur une erreur (Voy. *Bacilles acido-résistants*, p. 695).

III. **Ensemencement.** — L'ensemencement du sang, — l'*hémoculture*, suivant l'expression proposée par l'un de nous, — est entrée dans la pratique courante depuis une dizaine d'années.

A cette époque, J. Courmont, Busquet, Widal et Lemierre, Sacquépée et Perquis ont établi que le Bacille typhique est constamment présent dans le sang au cours de la fièvre typhoïde humaine ; ces constatations ont été universellement confirmées depuis. Elles renversaient l'opinion admise jusqu'alors : on pensait en effet que le sang humain, même à l'état pathologique, ne renfermait presque jamais de microbes.

Dans la suite, l'hémoculture a permis de constater des infections sanguines très variées, dues au Streptocoque, au Pneumocoque, à l'Entérocoque, au Tétragène, au Méningocoque, aux Bacilles paraty-

phiques, au Bacille coli, au Pneumobacille, au Bacille pyocyanique, etc. Nous renvoyons pour les détails à l'étude particulière de chaque microbe.

L'importance clinique de l'hémoculture est considérable ; elle constitue à l'heure actuelle une base fondamentale du diagnostic dans un grand nombre de maladies.

Technique. — A. **Prélèvement du sang.** — On récolte le sang par ponction de la veine, suivant les indications données p. 211.

B. **Ensemencement.** — Le sang, obtenu par ponction de veine, peut être ensuite traité de plusieurs manières pour hémoculture. Il faut empêcher la coagulation, sans mettre obstacle à la culture.

Dans tous les cas, on ensemencera des quantités de sang relativement considérables, 3 à 5 et même 10 centimètres cubes, pour avoir le plus de chances de succès.

1° *Procédé de J. Courmont.* — On répartit 3 centimètres cubes de sang dans un ballon renfermant 300 à 500 centimètres cubes de bouillon ordinaire ou de milieu de Cambier (Voy. p. 462). Agiter, mettre à 37°.

2° *Procédé de Sacquépée et Perquis.* — 15 à 20 centimètres cubes de sang sont tout d'abord recueillis dans un ballon renfermant des perles ou des fragments de verre, puis défibrinés par agitation pendant cinq minutes. A l'aide d'une pipette à effilure assez large, on répartit ensuite le sang défibriné en deux ballons de bouillon (100 centimètres cubes), à raison de 2 à 5 centimètres cubes par ballon. Le ballon renfermant le reste du sang avec le tampon de fibrine est additionné de 20 à 50 centimètres cubes de bouillon. Les trois ballons sont portés à l'étuve.

Dans les deux ballons ensemencés avec le sang liquide, la culture se fait dans les mêmes conditions que pour le procédé de Courmont, à la seule condition que l'ensemencement soit pratiqué peu de temps (une heure au plus) après le prélèvement. Si l'ensemencement est retardé, il faut s'attendre à ce que la culture soit également retardée de douze ou vingt-quatre heures.

Dans le ballon-tampon, la culture est souvent plus tardive et demande en moyenne trente-six heures à trois jours. Ce ballon-tampon a surtout pour objet d'accroître les chances de réussite, en augmentant très notablement la quantité de sang ensemencée, dans le cas où les microbes seraient particulièrement peu nombreux.

Le procédé a l'avantage de demander relativement peu de milieu nutritif; de permettre la culture d'un volume assez considérable de sang ; d'être facilement maniable, même lorsqu'on doit faire les prélèvements à quelque distance du laboratoire.

3° *Procédé Conradi-Kayser.* — La bile dissout les globules rouges et empêche la coagulation. Conradi avait tout d'abord préconisé

la bile de bœuf, additionnée de 10 p. 100 de glycérine et 10 p. 100 de peptone. On emploie plus généralement la bile seule, suivant la technique indiquée par Kayser : recueillir purement de la bile de bœuf, laisser reposer un ou deux jours, décanter ; répartir par 5 centimètres cubes et stériliser. Dans chaque récipient, ensemencer 1 centimètre cube à 2cc,5 de sang. Mettre à l'étuve. On recommande généralement de pratiquer un étalement sur milieu d'Eudo après vingt-quatre heures d'étuve. Mieux vaut opérer comme pour tout autre procédé d'hémoculture ; la technique est indiquée plus loin.

Les procédés à la bile sont applicables à peu près exclusivement aux Bacilles typhiques, paratyphiques et coli. Ils ont l'avantage de la simplicité ; mais ils ne se prêtent guère à la culture d'autres microbes (Streptocoque, Staphylocoque, Pneumocoque), dont la présence n'est pas sans intérêt, même au cours d'une fièvre typhoïde. Ce sont en réalité des procédés de nécessité, parfois précieux.

4° *Procédé de B. Lafforgue.* — On rend le sang incoagulable par addition de 0cc,1 de citrate de soude à 20 p. 100 pour 10 centimètres cubes de sang; on centrifuge ; le culot est ensemencé en bouillon, 50 à 100 centimètres cubes de bouillon pour 10 centimètres cubes de sang. Ce procédé exclut le sérum.

5° *Procédé de Schottmüller.* — On fait fondre de la gélose, qu'on maintient fondue vers 42°. Au sortir de la veine, le sang est mélangé à son volume de gélose ; on coule en boîtes de Petri.

Ce procédé a l'avantage de donner d'emblée des colonies séparées, mais il est un peu délicat pour la pratique courante, et de plus les cultures sont généralement tardives.

6° Gildemeister a proposé d'ensemencer le sang après dissolution dans l'eau distillée ; procédé très mauvais.

Variantes. — Dans certains cas (recherche du Gonocoque en particulier), il y a intérêt à faire les cultures sur bouillon-sérum, au lieu de bouillon.

Il est parfois indiqué de chercher les anaérobies ; on pratiquera les ensemencements, de préférence avec le sang défibriné, suivant la technique spéciale aux anaérobies.

C. **Examen des cultures.** — Quel que soit le procédé employé, il faut ensuite procéder à l'examen des cultures. Ce premier examen sera pratiqué après douze ou vingt-quatre heures ; s'il est négatif, on le reprendra après trente-six heures, quarante-huit heures, etc.

Les cultures en bouillon ou milieux analogues sont les plus favorables pour l'examen. On verra si le milieu, après vingt-quatre heures, est ou n'est pas franchement hémolysé; le Bacille typhique n'hémolyse jamais ; le Streptocoque hémolyse presque toujours.

Quand le bouillon est trouble, on l'agite d'abord pour répartir

uniformément, puis on en prélève une partie pour l'examen. Si le bouillon est clair, il faut prélever tout au fond, dans la couche des globules rouges sédimentés, sans agiter.

Pour les milieux à la bile, agiter avant le prélèvement.

Les prélèvements seront traités comme d'ordinaire. On pratiquera d'abord un examen après coloration simple, par la thionine de préférence ; s'il existe des microbes, on traitera une deuxième préparation par la méthode de Gram ; enfin on examinera entre lame et lamelle pour constater si le microbe est ou n'est pas mobile.

D. **Identification des microbes.** — Il faut ensuite identifier les microbes. Dans ce but, on pratique des réensemencements. Deux cas peuvent se présenter.

a. *La morphologie est uniforme.* — Dans tous les cas, d'emblée, même lorsque l'examen décèle des microbes de morphologie uniforme, on fera des isolements sur milieux solides, de manière à obtenir des colonies séparées dès le premier repiquage.

On pratique en même temps des ensemencements sur les divers milieux, variables suivant les indications données par l'examen direct. Nous rappellerons les espèces rencontrées le plus souvent :

Bacilles mobiles ne prenant pas le Gram. — Bacille typhique, Bacilles paratyphiques, Bacille coli.

Bacilles immobiles, ne prenant pas le Gram. — Pneumobacille, Bacille pesteux ; exceptionnellement, le Bacille typhique et le Bacille coli peuvent être immobiles dans la première culture.

Cocci prenant le Gram. — Staphylocoque, Streptocoque, Entérocoque, Pneumocoque, Tétragène.

Cocci ne prenant pas le Gram. — Méningocoque, *Micrococcus melitensis*, Gonocoque.

Nous renvoyons à la deuxième partie de ce volume pour l'étude des milieux à mettre en œuvre dans chaque cas particulier, de même que pour les propriétés biologiques (réactions sériques, etc.) et l'action pathogène expérimentale spéciales aux différentes espèces.

Le plus souvent, on aboutit sans hésitation ; le microbe trouvé présente l'ensemble des caractères d'une espèce microbienne classée.

Mais il peut arriver qu'on se heurte à quelque anomalie apparente ; les caractères sont hybrides. En pareil cas, il s'agit presque toujours d'une association microbienne. On s'adressera alors aux colonies isolées lors du premier repiquage; on reprendra l'étude en partant de plusieurs colonies bien isolées, quand bien même ces colonies présenteraient toutes la même apparence. En opérant de cette façon, on ne trouvera presque jamais d'espèces très atypiques ; il ne faut tout au moins pas oublier cette précaution élémentaire avant d'annoncer la découverte d'espèces nouvelles.

b. *La morphologie n'est pas uniforme.* — Si l'examen direct décèle deux ou plusieurs microbes de morphologie différente, on pratiquera tout d'abord des isolements sur milieux solides. On partira des colonies isolées obtenues par cette première manœuvre pour étudier les caractères de chaque espèce : morphologie, cultures, réactions biologiques, etc.

IV. **Inoculation.** — L'inoculation du sang n'est guère indiquée que pour la recherche du Bacille tuberculeux. On pourrait inoculer le sang défibriné, ou le sang rendu incoagulable (citrate de soude), ou le sang dissous dans la bile. Jusqu'ici on s'est adressé surtout au caillot sanguin, lavé pour enlever l'hémoglobine ; après broyage, on inocule au cobaye, de préférence sous la peau (Jousset).

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'URINE.

A l'état normal, l'urine de la vessie est presque toujours aseptique, mais elle se charge d'un certain nombre de microbes pendant son passage dans l'urètre.

Parmi ces microbes, il faut surtout connaître ceux qui pourraient prêter à confusion.

a. Le *Micrococcus ureæ* (van Tieghem), microbe qui paraît constamment présent dans l'urine et constitue au moins l'un des agents de la fermentation ammoniacale. Il se développe rapidement dans les urines abandonnées à elles-mêmes. Il se présente sous des aspects variés, diplocoques, tétracoques, cocci en chaînettes, parfois strepto-bacilles. Les colonies sur gélatine ont l'apparence de taches de bougie.

b. La *Torula cerevisiæ*, levure assez fréquente chez les diabétiques.

c. Les *Bacilles du smegma* (p. 694), acido-résistants, qu'il faut éviter de confondre avec le Bacille tuberculeux.

d. Le *Diplococcus reniformis* (p. 643), morphologiquement analogue au Gonocoque.

e. Le *Colibacille*.

A l'état pathologique, l'urine peut renfermer des microbes très variés.

Dans les lésions localisées (cystites, pyélites, néphrites), on trouve le plus souvent le *Colibacille*, le *Gonocoque*, le *Streptocoque*, le *Staphylocoque*, le *Bacille tuberculeux*, divers *microbes anaérobies*; plus rarement le *Bacille typhique*, le *Bacille pyocyanique*, le *Pneumocoque*, le *Proteus*, etc.

En outre, *au cours des infections générales*, les microbes pathogègnes peuvent être éliminés par l'urine, avec ou sans lésion rénale :

Bacille typhique, *Bacilles paratyphiques*, *Streptocoque* (peut-être même le *Bacille de Koch*; mais le fait est contesté et en tout cas bien exceptionnel).

Les procédés de recherche sont bien différents suivant qu'on s'adresse au Bacille tuberculeux ou aux autres microbes; nous envisagerons successivement ces deux éventualités, après avoir indiqué le mode de prélèvement.

Prélèvement. — Dans tous les cas, le prélèvement sera opéré aseptiquement, suivant la technique indiquée page 213.

Il peut être indispensable de procéder à l'examen de l'urine d'un seul rein; il appartient alors au chirurgien de procéder à la récolte de l'urine de l'uretère.

L'urine étant un milieu *très fermentescible* sera soumise à l'analyse aussitôt que possible après l'émission. S'il faut attendre plus d'une heure, on la conservera dans la glace. En ce qui concerne surtout les cultures et inoculations, c'est-à-dire les seuls procédés susceptibles de donner une garantie absolue, on se rappellera que les résultats n'ont aucune signification si les urines n'ont pas été : 1° recueillies aseptiquement; 2° soumises à l'analyse dans un délai très court après le prélèvement, ou tout au moins conservées à 0° pendant les quelques heures nécessaires au transport. Une urine mal recueillie ou mal conservée donnera à peu près toujours en abondance du Colibacille et du Streptocoque.

Recherche des microbes autres que le Bacille tuberculeux. — On procédera à l'examen direct et aux cultures.

Examen direct. — Deux cas se présentent : l'urine est purulente ou elle ne l'est pas.

a. *Si l'urine est purulente*, il peut suffire de laisser déposer à la glacière dans un verre conique; il vaut mieux centrifuger et examiner le dépôt.

Lorsque ce dépôt est peu abondant, il arrive parfois que les préparations ne tiennent pas, les sels urinaires précipités par dessiccation se redissolvant dans l'eau ou les réactifs. En pareil cas, après avoir centrifugé, on décante complètement le liquide en ne laissant que le culot, puis on verse dans le tube à centrifuger de l'eau de conduite stérilisée; on répète deux fois la même opération, et finalement on étale le culot de centrifugation.

Lorsque, sans être purulente, l'urine renferme des flocons ou des filaments, on fera porter l'examen sur ces particules solides.

b. *Si l'urine est claire*, il faut centrifuger avant tout examen et recueillir le dépôt; mais l'examen direct d'une urine claire donne rarement des renseignements utilisables.

Les examens seront pratiqués suivant les procédés habituels :

1° Examen entre lame et lamelle :

2° Examen après coloration simple, de préférence à la thionine phéniquée ;

3° Examen après coloration par la méthode de Gram.

On n'oubliera jamais de colorer par le Gram, surtout lorsqu'on trouve des diplocoques qui peuvent faire penser au Gonocoque.

Observations. — Il faut noter avec soin la présence ou l'absence d'*éléments figurés anormaux* autres que les microbes (cylindres, cristaux, globules blancs, globules rouges, cellules épithéliales).

L'examen peut être gêné par la présence de *cristaux*, qui empêchent la mise au point, ou de *glucose*, qui s'oppose à la dessiccation. On fera dissoudre par addition de soude les cristaux d'acide urique (tablettes losangiques). L'addition d'acide acétique permettra de dissoudre les cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien (cristaux en couvercle de cercueil) et d'urate d'ammoniaque (boules épineuses).

Les urines renfermant du sucre seront diluées au préalable dans cinq à dix fois leur volume d'eau distillée.

Cultures. — L'urine renfermant normalement des germes, les cultures seront toujours faites sur milieux solides, de manière à obtenir d'emblée des colonies isolées.

On emploiera un milieu approprié au microbe cherché : gélose, gélose-sérum, parfois gélatine, ou milieux spéciaux à telle ou telle espèce.

La présence de certaines espèces, Gonocoque, Bacille typhique, Bacille pyocyanique, est toujours un fait pathologique.

La présence du Bacille coli, du Staphylocoque, du Streptocoque, ne revêt une signification pathologique que lorsque ces microbes, très abondants, constituent la presque totalité de la flore urinaire.

Recherche du Bacille tuberculeux. — On s'adresse à l'examen direct ou aux inoculations.

Examen direct. — Les préparations étant étalées comme ci-dessus, on pratiquera les colorations spéciales au Bacille tuberculeux. En raison de la présence des Bacilles du smegma, il est indispensable de décolorer par l'alcool, après avoir décoloré par un acide (méthode de Ziehl-Neelsen, p. 655) ; le Bacille de Koch reste seul coloré, le Bacille du smegma se décolore. En cas de doute, on aura recours à l'inoculation, seul procédé certain de diagnostic.

Dans l'urine, le Bacille de Koch se présente le plus souvent isolé ou en petits groupes, parfois en amas assez cohérents ; le Bacille du smegma peut d'ailleurs présenter la même disposition.

Inoculation. — On inoculera le culot de centrifugation au cobaye, sous la peau ; l'inoculation dans le péritoine risque de tuer par

infection banale. Les suites de l'inoculation seront appréciées comme il a été dit à propos du Bacille tuberculeux (p. 666).

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES SELLES.

L'analyse bactériologique des selles est le plus souvent délicate, parce que normalement les selles renferment un nombre considérable de microbes, dont la présence peut être un obstacle à la découverte des germes pathogènes.

Cohendy estime que, chez l'homme adulte, 1 milligramme de fèces montre en moyenne 143 870 000 microbes à l'examen direct et donne en cultures 4 261 660 espèces, dont 77 p. 100 anaérobies.

La flore fécale des *enfants* a été bien étudiée, surtout par Tissier. Chez les nourrissons élevés au sein, c'est le *Bacillus bifidus* qui domine de beaucoup ; il existe en outre le Colibacille et l'Entérocoque. Chez les nourrissons non élevés au sein, la flore est différente ; on trouve en proportions variables les trois espèces précédentes, plus des Streptocoques, des Staphylocoques, des Sarcines.

Chez l'adulte, les espèces rencontrées sont très nombreuses, variables suivant les individus. La plus répandue est le Colibacille ; viennent ensuite le *Bacillus lactis aerogenes*, l'Entérocoque, des Streptocoques, souvent le *Proteus*, et surtout des espèces anaérobies, dont quelques-unes seulement sont connues : *B. bifidus*, *B. perfringens*, *B. funduliformis*, etc.

En pratique, on est amené à pratiquer l'analyse des fèces dans deux circonstances bien différentes. Tantôt on procède à cette analyse sans idée préconçue, pour définir la flore microbienne et constater si elle présente ou non quelque anomalie : on s'adresse alors aux *méthodes générales*. Le plus souvent, au contraire, on veut chercher un microbe pathogène déterminé : il faut alors utiliser les *méthodes spéciales*.

Méthodes générales. — Les méthodes générales sont basées sur l'examen direct et sur les cultures. On ne peut rien attendre de l'inoculation des fèces aux animaux, car ces derniers succombent à l'infection par les microbes normaux de l'intestin.

Pour l'examen direct comme pour les cultures, on diluera les selles dans l'eau stérile, de manière à obtenir une émulsion légèrement trouble et parfaitement homogène.

S'il existe du mucus, des flocons, ou d'autres produits anormaux, on les examinera séparément.

Examen direct. — On pratiquera successivement :

a. Un examen à l'état frais ;

b. Un examen après coloration simple ;

c. Un examen après coloration au Gram.

Ces examens permettront d'apprécier les propriétés morphologiques des espèces les plus abondantes. Normalement, les trois quarts environ des microbes des selles ne prennent pas le Gram.

Cultures. — Il faut opérer un isolement rigoureux, tout en appliquant des méthodes susceptibles de donner le plus de chances de succès. Trois procédés au moins seront mis en œuvre.

a. On ensemencera par *dilutions successives sur plaques de gélatine.* — Ce procédé, généralement insuffisant en raison de la liquéfaction rapide produite par les espèces banales, rendra parfois de grands services, spécialement pour la recherche des *Proteus* et du Bacille pyocyanique.

b. Un autre ensemencement sera pratiqué *sur plaques de gélose, en surface* : étaler une goutte de dilution, de mucus, etc., sur la gélose, répartie en grandes boîtes de Petri, à l'aide d'un répartiteur ; sans recharger l'instrument, ensemencer de même une deuxième, puis une troisième boîte. — Par ce procédé, on isolera la plupart des germes aérobies : Colibacille, Entérocoque, Streptocoques.

c. Les procédés précédents ne visent que les microbes aérobies. Il est nécessaire, en outre, de rechercher les *microbes anaérobies.* Dans ce but, on pratiquera des dilutions en gélose sucrée profonde, suivant la technique de Veillon.

Interprétation des résultats. — L'examen direct, et surtout les cultures, peuvent dénoncer la prédominance d'une espèce normalement absente ou peu commune, ou la présence d'une espèce pathogène. Il est évident que la constatation du Vibrion cholérique, du Bacille dysentérique, du Bacille typhique, revêt toujours un caractère pathologique. Pour la plupart des autres espèces, y compris le Bacille pyocyanique, le *Proteus*, l'Entérocoque, le Streptocoque, les anaérobies, et à plus forte raison le Colibacille, les conclusions seront beaucoup plus réservées ; on ne peut les considérer comme réellement pathogènes qu'en se basant sur les circonstances cliniques et étiologiques, et éventuellement sur l'action spécifique du sérum sanguin à leur égard.

Méthodes spéciales. — Elles ont été étudiées plus haut. Voir en particulier *Bacilles typhique, paratyphique* (p. 454), *dysentérique* (p. 516), *Vibrion cholérique* (p. 561), *Amibe dysentérique* (p. 780).

CHAPITRE LXVIII

ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A L'HYGIÈNE

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DES EAUX.

L'analyse bactériologique des eaux constitue l'une des plus importantes et des plus délicates des applications de la bactériologie à l'hygiène.

Nous dirons quelques mots du prélèvement et du transport des échantillons avant d'exposer l'analyse bactériologique.

Opérations préliminaires. — Prélèvement ; transport ; renseignements. — L'analyse doit porter sur l'eau telle qu'elle est réellement constituée, sans que les manœuvres nécessaires pour le prélèvement et pour le transport amènent des modifications d'aucune sorte, par suite de contaminations accidentelles.

Tout le matériel nécessaire pour les prélèvements et le transport doit être fourni, sur demande, par les laboratoires de bactériologie.

I. *Prélèvement des échantillons.* — **Prélèvement à une canalisation.** — On prépare des récipients convenables.

Des bouteilles à goulot étroit, de 125 à 250 centimètres cubes, conviennent parfaitement. La flacon est lavé soigneusement à plusieurs reprises, séché, bouché à la ouate, entouré de papier et stérilisé au four Pasteur ; on stérilise en même temps un bouchon, entouré de papier. Après stérilisation, le tout est placé dans un étui métallique.

Au moment voulu, faire couler l'eau pendant quelques minutes, pour vider les conduites où elle a pu demeurer stagnante. Déboucher ensuite le flacon, sans toucher à son orifice ; flamber rapidement l'orifice, laisser refroidir, remplir jusque près de la racine du col. Saisir le bouchon de liège par son extrémité large, obturer l'orifice. Couvrir le bouchon de cire, pour assurer l'étanchéité. On place enfin sur le flacon une étiquette, indiquant la provenance de l'échantillon, son numéro et le jour du prélèvement.

Il est préférable de prélever deux flacons différents pour chaque échantillon.

Prélèvement dans une rivière. — Il faut éviter de recueillir la vase du fond, la terre du bord et les poussières de la surface.

On utilisera le même flacon que ci-dessus : le saisir avec une longue pince à mors coudés, plonger en plein courant un peu au-dessous de la surface. Si la pince est trop courte, amarrer le flacon sur une perche.

Prélèvement dans les réservoirs profonds ou les puits. — Quand il s'agit d'ouvrages récents, il faut tout d'abord se débarrasser des débris de maçonnerie et détritus divers en laissant se remplir et épuisant plusieurs fois de suite le puits ou le réservoir.

Le prélèvement peut être opéré comme ci-dessous (Voy. *Prélèvement en profondeur*). Il suffit, en pratique, de fixer le flacon par son goulot à une corde stérilisée, de longueur convenable ; le descendre débouché, laisser remplir, remonter, et opérer ensuite comme plus haut.

Prélèvement en profondeur. — *a.* Pour des profondeurs modérées (2 à 8 mètres environ), on peut se contenter d'un dispositif très simple : amarrer le flacon, muni de son bouchon, à l'extrémité d'une perche ; passer à travers la partie libre du bouchon l'extrémité d'un long fil métallique. Faire plonger la perche ; une fois arrivé à la profondeur voulue, tirer le fil d'un coup sec ; le bouchon saute et le flacon se remplit.

b. Quand la profondeur est plus grande, il est préférable de s'adresser à des appareils spéciaux. Les modèles sont nombreux. Citons celui de Miquel (fig. 318). On effile et coude l'extrémité M d'un matras d'essayeur, on flambe fortement tout l'appareil, et on ferme l'extrémité libre avant refroidissement ; il se fait ainsi un vide partiel. Le matras est fixé dans un encadrement métallique portant un poids en plomb P à sa partie inférieure ; une corde A soutient l'ensemble, pendant qu'un fil métallique B est passé en collier autour du coude du matras. Pour l'usage : faire plonger en tenant par la corde ; à la profondeur voulue, casser l'effilure en tirant sur le fil.

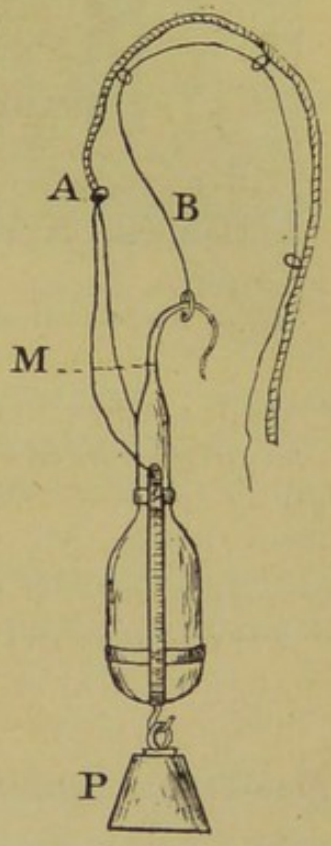


Fig. 335. — Appareil de Miquel pour prélever les eaux en profondeur.

II. *Transport.* — Quand la chose est possible, il vaut mieux faire les ensemencements sur place. Dans la pratique, on est presque toujours obligé d'expédier les échantillons à un laboratoire. A la condition d'être bien compris, ce transport n'a d'ailleurs pas d'inconvénient sérieux.

Le transport doit être exécuté le plus rapidement possible, à basse température.

Il est démontré qu'aux environs de 0° la composition bactérienne de l'eau demeure à peu près stationnaire, au moins pendant le laps de temps habituellement nécessaire pour les transports les plus éloignés. Au contraire, à la température ambiante, les germes pullulent avec une très grande rapidité. Ainsi, Miquel trouve dans

l'eau de la Vanne 48 microbes par centimètre cube sitôt après le prélèvement ; 38000 après séjour de vingt-quatre heures sur la table du laboratoire ; 125000 après deux jours.

Lorsqu'un échantillon d'eau arrive au laboratoire à une température élevée, supérieure à 8°, *les résultats de l'analyse ont donc toutes chances d'être faussés*, par suite de la multiplication accidentelle des germes.

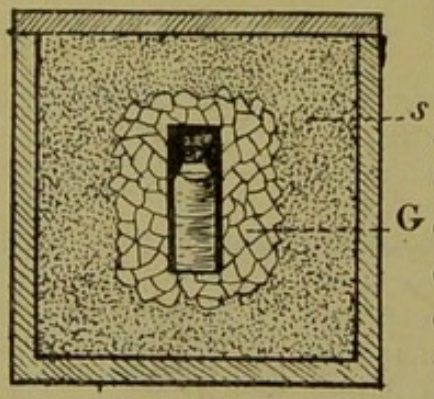


Fig. 336. — Dispositif pour le transport des échantillons d'eaux.

En pratique, on opère généralement ainsi : on remplit à moitié de sciure de bois, S, des caisses en bois, carrées (fig. 336) ; on place au milieu les échantillons, enveloppés de leur étui ; on entoure les étuis de glace, G, en gros morceaux (8 à 15 kilogrammes en moyenne) ; la caisse est enfin remplie complètement de sciure de bois. Expédier par les voies les plus rapides, avec une étiquette très apparente : *Échantillon d'eau destiné à l'analyse bactériologique.*

III. ***Renseignements.*** — A tout envoi d'échantillon sera jointe une *feuille de renseignements* ; on y consignera exactement et en détail toutes les observations épidémiologiques ou autres qui peuvent intéresser l'expertise. Nous conseillons de suivre le questionnaire ci-dessous, rédigé pour les expertises de l'armée :

(Lieu et date du prélèvement.)
le 19

Feuilles de renseignements

pour l'analyse bactériologique de l'eau de

Le médecin chargé de prélever les échantillons *doit répondre de la manière la plus précise à toutes les questions ci-après :*

1° Autorité qui a prescrit l'analyse ;

2° Localité ou établissement alimentés par l'eau ;

3° Jour et heure du prélèvement ;

4° Causes qui motivent l'analyse : épidémie de , source à capter, appréciation de l'eau de boisson, etc. ;

5° Origine de l'eau : source, émergence ou résurgence, puits, forage, rivière, lac, citerne, réservoir, eau de drainage, galerie filtrante ;

6° Point où l'échantillon a été prélevé. S'il s'agit d'une rivière, d'un puits, d'un lac, d'un réservoir, d'une citerne, indiquer la profondeur à laquelle l'eau a été puisée ;

7° Faire connaître s'il existe des dépôts vaseux dans le puits, la citerne ou le réservoir ;

8° Influence des pluies, des fontes de neige ou de la sécheresse sur la limpidité de l'eau, sur son niveau et son débit habituels. Oscillations thermiques de l'eau, en été et en hiver ;

9° Existe-t-il un périmètre de protection de la source ou du puits et quelle est son étendue?

10° Le terrain avoisinant a-t-il des fissures ou des effondrements? Quelle est sa nature? L'épreuve de la fluorescéine a-t-elle été faite?

11° Autres causes de souillure permanentes ou accidentelles de l'eau : habitations, fosses fixes, fumiers, étables, lavoirs, abreuvoirs, égouts, cimetières, usines, etc.;

12° Mode d'épuration auquel l'eau est soumise;

13° Usage de l'eau : boisson, cuisines, lavabo, abreuvage des chevaux;

14° Température ambiante au moment du prélèvement;

Température de l'eau au même moment.

15° Observations diverses.

Principes généraux de l'analyse bactériologique des eaux.

1° Sauf quelques exceptions (eau de sources profondes bien filtrées), les eaux renferment toujours des microbes; elles les empruntent au sol qu'elles traversent, aux surfaces qu'elles lavent, aux poussières, etc. Le nombre des microbes contenus dans les eaux est, d'ailleurs, extrêmement variable, suivant une infinité de circonstances; mais il est établi que les eaux impures sont très riches en microbes, tandis que les eaux pures en renferment généralement beaucoup moins. Aussi la simple *numération* constitue-t-elle un premier procédé d'appréciation.

2° Toutefois, la numération ne suffit pas à elle seule pour apprécier le degré de pureté des eaux; il est possible que parmi les microbes contenus dans une eau, et quelle que soit leur abondance, se trouvent des espèces pathogènes, spécialement le Bacille typhique et le Vibrion cholérique, agents de maladies ordinairement véhiculées par les eaux. Il faut donc chercher ces microbes : la *recherche des microbes pathogènes* constitue un deuxième procédé d'appréciation.

3° Mais il est avéré que la recherche du Bacille typhique dans les eaux est très difficile, pour ne pas dire illusoire, car les divers procédés d'isolement aboutissent à peu près uniquement à la découverte du Colibacille, à l'exclusion du Bacille typhique, même dans les eaux notoirement typhogènes. D'autre part, il ne suffirait pas de constater la présence ou l'absence du Bacille typhique ou du Vibrion cholérique; il faut, en outre, s'assurer si l'eau est exposée à se trouver contaminée par ces microbes. Or, ces deux germes proviennent des excreta ou des cadavres; on conçoit, par suite, difficilement qu'ils puissent passer dans les eaux sans être accompagnés des microbes constamment présents dans les excreta et les cadavres; ces microbes constituent, en quelque sorte, leurs satellites obligés. Parmi eux, et pour des raisons techniques, c'est encore le Colibacille qu'il est le plus facile de prendre comme témoin.

Toutefois, on n'est pas fixé sur la signification exacte du Colibacille dans les eaux. Il y est très fréquent, mais non constant. Depuis quelques années, à la suite de H. Vincent et de Petruschky et Pusch, on admet en général qu'il faut non seulement constater la présence du Colibacille, mais encore préciser son abondance ; la *colimétrie* constituera ainsi un troisième procédé d'appréciation.

4° Pour les mêmes raisons que nous venons d'exposer en 3°, on doit attacher une grande importance à la présence ou à l'absence d'autres *espèces de l'intestin ou de la putréfaction*, spécialement les microbes du groupe *Proteus*, les Spirilles, l'Entérocoque, d'autres espèces encore que nous signalerons plus loin, éventuellement aussi les thermophiles et les anaérobies.

5° D'après les considérations précédentes, l'analyse d'une eau comporte essentiellement :

I. La détermination du nombre des microbes : c'est l'*analyse quantitative* ;

II. La détermination de la nature des microbes : c'est l'*analyse qualitative*.

L'analyse qualitative comportera :

A. L'identification des colonies sur les milieux employés pour la numération ;

B. La recherche et le dénombrement du Colibacille ;

C. La recherche des espèces pathogènes ;

D. Éventuellement, d'autres procédés d'usage moins général.

I. — Analyse quantitative. — Numération des germes.

Procédé de choix. — *Ensemencement sur plaques de gélatine.* — On peut utiliser la gélatine ordinaire (p. 122), ou plus simplement le milieu suivant, qui donne dans le cas particulier les mêmes résultats :

Gélatine extra.....	120 à 200 gr., suivant la saison.
Peptone.....	20 grammes.
Sel marin.....	5 —
Eau	1 000 —

Alcaliniser légèrement, répartir en tubes de 10 centimètres cubes, stériliser.

Pour les eaux potables, on ensemencera trois tubes au moins, respectivement avec un cinquantième, un vingt-cinquième et un dixième de centimètre cube de l'eau à analyser, soit I goutte, II gouttes et V gouttes d'une pipette stérilisée donnant L gouttes par centimètre cube. On met à fondre trois tubes de gélatine, en veillant à ce que leur température ne dépasse pas 40° au moment de

l'ensemencement; répartir dans chacun d'eux la quantité voulue d'eau à analyser, mélanger très exactement, couler en boîtes de Petri ou en fioles de Gayon. Les plaques sont refroidies rapidement sur platine refroidissante ou simplement sur papier buvard humecté d'eau froide; on les porte ensuite à 18° ou 22°.

Si l'on avait des raisons de croire que l'eau est extrêmement riche en germes, on pratiquerait en outre une autre numération avec 1/50, 1/25 et 1/10 de centimètre cube d'eau diluée au dixième et au centième. En pratique, les eaux qui nécessiteraient de telles dilutions sont tellement chargées de germes que cette seule indication suffit à les faire considérer comme mauvaises.

Les colonies commencent à apparaître nettement dès le deuxième jour. Il s'en développe de nouvelles jusqu'au quinzième jour environ. A ce moment, la numération sera faite exactement.

Mais il arrive assez souvent que les plaques ne sont pas utilisables jusqu'au quinzième jour; certaines colonies, en effet, *liquéfient* la gélatine, et lorsque ces colonies liquéfiantes sont nombreuses ou très envahissantes, la plus grande partie de la plaque se trouve liquéfiée. Aussi faut-il surveiller les cultures *tous les jours* et pratiquer la numération dès qu'on prévoit que la liquéfaction serait très avancée vingt-quatre heures après.

S'il existe des espèces liquéfiantes, il est nécessaire de percevoir l'*odeur* de la culture; certaines espèces dégagent, en effet, une odeur putride ou ammoniacale.

Numération des colonies. — Quand les colonies sont peu nombreuses, on les compte une à une sur toute la plaque, après avoir divisé cette dernière en secteurs égaux, par des traits à l'encre ou au crayon gras.

Si les colonies sont très nombreuses, on se contente de compter les colonies de deux secteurs, choisis de telle manière que leur richesse microbienne représente sensiblement la moyenne de l'ensemble de la plaque. On fait la moyenne des deux numérations, et on multiplie le chiffre trouvé par le nombre des secteurs. On rapporte enfin la numération *au centimètre cube*, toujours pris comme unité.

Si, par exemple, on trouve vingt colonies sur la plaque ensemencée avec un cinquantième de centimètre cube, le nombre des microbes est : $20 \times 50 = 1\,000$ par centimètre cube.

La même numération est répétée pour toutes les plaques.

On donne comme chiffre définitif le chiffre moyen des trois plaques. Si, par exemple, on trouve, par centimètre cube, respectivement 1 000, 1 100 et 1 200 germes par centimètre cube dans chacune des boîtes, le chiffre définitif sera $\frac{1\,000 + 1\,100 + 1\,200}{3} = 1\,100$.

Le chiffre ainsi obtenu représente le *nombre réel* des colonies, quand la numération a pu être effectuée au quinzième jour.

Mais nous avons vu que la liquéfaction oblige parfois à pratiquer la numération avant le quinzième jour ; en pareil cas, le chiffre obtenu est *inférieur* à la réalité. On peut alors exprimer le résultat de deux manières différentes :

a. Ou bien faire ressortir que le chiffre donné n'est pas réel par la formule suivante : *Le nombre des bactéries par centimètre cube est de N ; mais la numération ayant été interrompue par la liquéfaction de la gélatine au neuvième jour, ce chiffre est inférieur à la réalité d'environ x p. 100.* On déterminera ce chiffre *x* d'après les indications ci-dessous ;

b. Ou bien substituer au chiffre trouvé le neuvième jour le chiffre de germes qui seraient apparus jusqu'au quinzième jour, si la plaque avait pu être suivie jusque-là.

Il va sans dire qu'une pareille détermination demeure un peu hypothétique ; elle est faite par comparaison avec les résultats moyens d'un très grand nombre d'analyses. On utilisera l'une ou l'autre des estimations portées sur le tableau ci-dessous :

	D'après de Rossi, sur 100 germes, ne sont pas apparus	D'après H. Vincent, on multipliera le chiffre trouvé en cultures à 16°-18° par :	D'après Miquel, on multipliera le chiffre trouvé en cultures à 20° par :
	—	—	—
Au 1er jour.....	99	»	50
Au 2e —	85	19,6	7,353
Au 3e —	76	8,82	3,937
Au 4e —	65	5,61	2,584
Au 5e —	53	3,86	1,887
Au 6e —	40	3,05	1,570
Au 7e —	30	2,40	1,379
Au 8e —	21	1,82	1,282
Au 9e —	14	1,52	1,224
Au 10e —	9	1,33	1,164
Au 11e —	4	1,19	1,121
Au 12e —	3	1,10	1,086
Au 13e —	2	1,06	1,052
Au 14e —	0	1,04	1,024
Au 15e —	0	1	1

Il se développe souvent, en même temps que les bactéries, un certain nombre de *moisissures* ; elles seront comptées à part.

Variantes. — Bonjean ensemence sur gélatine neuf plaques par échantillon, dont trois avec l'eau pure, trois avec l'eau diluée au dixième, trois avec l'eau diluée au centième ; pour chacune d'elles,

on ensemence respectivement 0cc,25, 0cc,50 et 1 centimètre cube.

Miquel emploie actuellement une technique très analogue : ensemencement sur gélatine d'eau pure, d'eau diluée au cinquantième, au millième, au cent-millième, etc.

Ensemencement sur gélose ou sur gélose-gélatine. — Le développement des germes sur gélatine à basse température étant un peu lent, on a essayé de substituer à la gélatine la gélose ou la gélatine additionnée de gélose (gélose-gélatine). De tels milieux peuvent être portés à 37° ; la culture est pratiquement terminée du troisième au cinquième jour, car il ne se développe plus guère de colonies dans la suite. Mais le nombre de germes trouvés par ces procédés est inférieur, parfois énormément inférieur à celui qu'on trouve par ensemencement sur gélatine; de plus, les colonies ne présentent pas les caractères différentiels (liquéfaction, pouvoir chromogène, figuration) si utiles des cultures en gélatine. Aussi l'emploi de la gélose et de la gélose-gélatine est-il à peu près universellement abandonné.

II. — Analyse qualitative.

A. **Identification des germes.** — Les colonies obtenues sur gélatine seront identifiées suivant les procédés habituels. On constatera la forme des microbes, leur mobilité, leurs réactions colorantes (coloration simple et au Gram) ; on appréciera exactement les caractères descolonies sur gélatine : forme, dimensions, coloration, opacité ou transparence, liquéfaction ou ramollissement, etc. Avec un peu d'exercice, ces renseignements sommaires suffisent pour cataloguer les espèces les plus fréquentes ; mais, au début, il est utile de pratiquer des repiquages sur les divers milieux. En pratique, il suffit d'identifier les espèces dominantes pour chaque échantillon.

Il est surtout indiqué de constater s'il existe des colonies liquéfiantes et dégageant une odeur putride ou ammoniacale, ou d'autres microbes appartenant à la flore habituelle de la putréfaction.

On trouvera à la fin de ce chapitre un tableau faisant connaître les caractères essentiels des microbes rencontrés le plus souvent.

B. **Recherche et numération du Colibacille.** — Nous avons dit déjà quel intérêt s'attache à la recherche du Colibacille. Les procédés employés dans ce but sont très nombreux. Nous indiquerons en détail celui de H. Vincent et ferons connaître ensuite quelques autres procédés assez répandus.

Procédé de H. Vincent. — *Culture en milieu phéniqué à 41°,5.* — En milieu phéniqué, à température relativement élevée, le Colibacille se développe mieux et plus vite que les autres germes.

1° On ensemence l'eau à doses croissantes.

a. Dans cinq tubes, on verse 10 centimètres cubes d'eau peptonée à 1 p. 100 et salée à 0,5 p. 100 ; à chacun des tubes on ajoute l'eau en expertise à dose respective de 0cc,05, 0cc,10, 0cc,25, 0cc,50 et 1 centimètre cube.

b. Dans deux autres tubes renfermant 20 centimètres cubes d'eau peptonée salée, on ensemence respectivement 2 centimètres cubes et 5 centimètres cubes.

c. Dans cinq ballons, on verse l'eau à analyser à dose de 10 centimètres cubes, 20 centimètres cubes, 50 centimètres cubes, 100 centimètres cubes et 200 centimètres cubes. On ajoute à chaque ballon la solution suivante, stérilisée, mais non filtrée :

Peptone.....	50 grammes.
Sel marin.....	25 —
Eau.....	100 —

à dose telle que la culture renferme 1 p. 100 de peptone ; par exemple, 2 centimètres cubes de la solution pour 100 centimètres cubes d'eau à analyser.

2° A chaque tube ou ballon, on ajoute de l'acide phénique, en proportion de 0,85 p. 1 000.

On obtient très simplement cette proportion en ajoutant, pour 2 centimètres cubes du mélange, 1 goutte au trentième de solution phéniquée à 5 p. 100.

3° Après avoir mélangé bien exactement, on porte à l'étuve à 41°,5. Au bout de quatorze à seize heures, on examine les cultures.

Si le *B. coli* s'est développé, il existe un trouble net et uniforme. Quelques microbes peuvent se développer dans le même temps, mais sous un autre aspect : trouble léger (Streptocoque court, Bacille immobile liquéfiant la gélatine), trouble léger avec voile (*Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*).

On réensemence alors à nouveau le liquide trouble en bouillon phéniqué ; au besoin, on procède à un troisième passage. Au bout de quatre à cinq heures, même si la culture du deuxième ou troisième passage est demeurée limpide, on la repique sur bouillon simple, bouillon lactosé carbonaté, bouillon au rouge neutre, lait tournesolé.

La culture en bouillon simple apparaît dès quatre à cinq heures ; on la réensemence sur pomme de terre, agar et gélatine.

On complète enfin l'identification du microbe par l'examen microscopique (forme, coloration, réaction au Gram, mobilité, cils) et par la recherche de l'indol.

4° Ce procédé permet de dénombrer facilement le Colibacille. Si, par exemple, on trouve du Colibacille dans les récipients ensemencés avec 0cc,5 et plus, sans en trouver dans les tubes ensemencés avec moins de 0cc,5, on conclut que l'eau renferme 2000 Colibacilles par litre.

Procédé d'Eijkman. — Ce procédé est basé sur deux propriétés différentes : d'une part, comme l'a montré Rodet, le Colibacille végète à haute température ; d'autre part, il fermente la glucose.

Le milieu d'Eijkman comporte, p. 100, 10 grammes de peptone, 10 grammes de glucose et 5 grammes de sel marin.

On ensemence l'eau dans la solution précédente, à raison de 100 centimètres cubes d'eau pour 15 centimètres cubes de solution. On porte à 46°. Au bout de vingt-quatre heures, s'il existe du Colibacille, le milieu donne des gaz. On réensemence alors sur milieux d'isolement.

Ce procédé paraît infidèle. Quoi qu'en pense Eijkman, il ne paraît pas démontré que tous les Colibacilles provenant de l'organisme d'animaux à sang chaud fermentent la glucose à 46°.

Procédé de Savage. — Basé sur la réduction du rouge neutre.

A 1 000 centimètres cubes de bouillon, on ajoute :

Peptone Defresne.....	20 grammes.
Sel marin.....	20 —
Glucose.....	5 —

Puis 5 centimètres cubes de rouge neutre à 5 p. 100.

On ensemence et porte à 37° ; s'il existe du Colibacille, après vingt-quatre heures, le milieu est fluorescent et jaune verdâtre.

La valeur du procédé est discutée. Braun et J. Courmont le recommandent. D'après Sicre, H. Vincent, Rochaix et Dufourt, un certain nombre de microbes autres que le Colibacille provoquent la même réaction : Bacille paratyphique B, Bacille fluorescent putride, Bacille pyocyanique, Uro-bactéries ; mais la présence de ces bactéries n'est guère moins suspecte que celle du Colibacille. Certains Colibacilles ne donnent pas la réaction dans les conditions indiquées.

Procédé de Lacomme. — Lacomme combine les procédés d'Eijkman et de Savage. On ensemence sur milieu d'Eijkman, additionné au moment de l'emploi de XII gouttes (au 20e de centimètre cube) de solution de rouge neutre par tube de 15 centimètres cubes. Chaque tube est ensemencé avec 100 centimètres cubes d'eau. On porte à 45°-46°.

On obtient en vingt-quatre heures la réaction caractéristique : fluorescence, production de gaz.

C. **Recherche des microbes pathogènes.** — Voy. *Recherche du Bacille typhique*, p. 454 ; *Recherche du Bacille dysentérique*, p. 516 ; *Recherche du Vibrion cholérique*, p. 562.

D. **Autres procédés.** — **Recherche des anaérobies.** — H. Vincen préconise la recherche des anaérobies ; ces microbes font en effet partie de la flore intestinale et des produits de putréfaction ; leur présence dans les eaux peut servir à indiquer une contamination accidentelle.

Les eaux pures ne renferment pas d'anaérobies stricts, alors qu'on peut en rencontrer 50 et plus par centimètre cube dans les eaux souillées. La recherche des anaérobies est surtout indiquée pour les eaux de puits, citernes et rivières.

On emploie le tube de Vignal (p. 184) ; l'eau à analyser est ensemencée à dose de 1/10 à 1 centimètre cube dans le milieu suivant :

Gélatine	100 à 200	grammes.
Glucose	10	—
Chlorure de sodium	5	—
Glycérine	5	—
Eau	1 000	—

Additionner de sulfo-indigotate de soude au moment de l'emploi.

Sont seules comptées comme anaérobies strictes les colonies floconneuses ou faiblement granuleuses.

Recherche des bactéries thermophiles. — Elle a été proposée par H. Vincent ; les thermophiles font partie de la flore intestinale habituelle.

L'eau est ensemencée en bouillon, et la culture est portée quarante-huit heures à 56°. Seuls les thermophiles se développent à cette température.

Expérimentation physiologique. — Sous ce nom, Bonjean recommande l'inoculation à l'animal d'une culture globale de l'eau.

On ensemence en bouillon 10 centimètres cubes d'eau ; après quatre jours d'incubation à 35°, la culture obtenue est inoculée à dose de 0^{cc},3 dans le péritoine du cobaye. On suit attentivement l'animal : la température est prise d'abord d'heure en heure, puis matin et soir. Les grands écarts de température, la formation d'abcès, etc., indiquent d'ordinaire la présence de bactéries virulentes, qui tuent l'animal. A l'autopsie, on ensemence le sang et les organes.

Ce procédé décèle des microbes virulents : Colibacille, Bacille pyocyanique, *Bacillus anthracis*, Staphylocoque, Tétragène, etc.

III. — Interprétation des résultats.

Dans l'interprétation des résultats de l'analyse bactériologique, il faut tenir compte des diverses évaluations fournies par les recherches quantitatives et qualitatives.

L'analyse quantitative a longtemps été employée à peu près seule pour l'appréciation des eaux potables.

Il est bon de connaître les estimations établies par Miquel :

0 à 10	germes par	centimètre	cube..	Eau excessivement pure.
10 à 100	—	—	..	— très pure.
100 à 1 000	—	—	..	— pure.
1 000 à 10 000	—	—	..	— médiocre.
10 000 à 100 000	—	—	..	— impure.
100 000 et au delà	—	—	..	— très impure.

Sans être prises à la lettre, ces estimations sont encore utilisables actuellement.

Mais il est indispensable de joindre aux résultats de la numération ceux de l'analyse qualitative ; nous avons exposé plus haut pourquoi. Actuellement, cette analyse qualitative se base, en grande partie, pour les expertises courantes, sur la recherche du Bacille coli et des bactéries de la putréfaction.

En ce qui concerne le Bacille coli, H. Vincent propose les estimations suivantes :

10 000 à 50 000	Bacilles coli par litre.	—	Eau profondément souillée par les matières fécales ; dangereuse pour la boisson (eaux d'égout, eaux de rivière).
1 000 à 10 000	—	—	Eau mauvaise ou très mauvaise. Impropre à la boisson (eau de rivière, de puits contaminés, etc.).
100 à 1 000	—	—	Eau suspecte, tantôt en période d'infection légère, tantôt au début ou au déclin d'une contamination plus grande.
50 à 100	—	—	Eau passable ou médiocre. A surveiller.
10 à 50	—	—	Eau d'assez bonne ou de bonne qualité.
0	—	—	Eau pure ou très pure.

L'interprétation des résultats peut être, suivant les cas, très simple ou très délicate.

Elle est très simple, quand l'eau est franchement bonne ou franchement mauvaise :

Une eau qui renferme moins de 1 000 germes par centimètre cube et moins de 50 Colibacilles par litre est *bonne*.

Une eau qui renferme plus de 10 000 germes par centimètre cube, avec plus de 1 000 Colibacilles par litre est *mauvaise*.

L'interprétation est aussi assez facile quand les chiffres trouvés pour la numération globale et pour la numération du Colibacille sont à peu près parallèles.

Si l'on trouve, par exemple, 2 000 germes par centimètre cube avec 200 Colibacilles par litre, on conclura que l'eau *doit être surveillée*, car elle est susceptible d'être sérieusement contaminée d'un moment à l'autre.

Certains résultats sont plus embarrassants ; on peut trouver beaucoup de Colibacilles et relativement peu de microbes, ou inversement.

En pareil cas, on apportera la plus grande attention à la présence et au nombre des bactéries ordinairement véhiculées avec les matières fécales, spécialement les diverses bactéries de la putréfaction ; leur présence ou leur absence pourra orienter le jugement dans un sens ou dans l'autre.

De toute façon, on n'oubliera jamais que les résultats trouvés et l'interprétation qui en résulte sont valables *exclusivement pour*

l'échantillon soumis à l'examen; ils n'entraînent aucune conclusion sur la valeur de la même eau à d'autres époques et en d'autres circonstances.

L'appréciation définitive ne peut être basée que sur plusieurs analyses faites aux diverses saisons et dans des circonstances météoriques différentes, toutes les autres conditions restant les mêmes par ailleurs.

IV. — Flore bactérienne des eaux.

A. Espèces dont la présence comporte une signification spéciale :

1° **Espèces pathogènes, agents de maladies transmissibles par l'eau :**

Bacille typhique.
Bacille paratyphique B.
Vibrion cholérique.
Bacille dysentérique.

2° **Autres espèces habituellement pathogènes :**

Staphylocoque doré.
Staphylocoque citrin.
Streptocoque.
Bacille du charbon.
Bacille du tétanos.
Vibrion septique.
Bacille tuberculeux.
Bacille diphtérique.
Pneumobacille.

3° **Espèces accidentellement pathogènes** (habituellement saprophytes) :

Staphylocoque blanc.
Entérocoque.
Bacille pyocyanique.
Bacillus fœcalis alcaligenes.
Colibacille.
Proteus vulgaris.
Proteus mirabilis.

4° **Espèces indiquant généralement une contamination des eaux (microbes d'origine intestinale ou microbes de la putréfaction).** — Il faut citer d'abord certaines espèces qui proviennent souvent ou habituellement de l'intestin :

a. Les agents des maladies transmissibles par l'eau (Voy. ci-dessus) ;
Le colibacille ;
L'entérocoque.

b. En outre, certaines espèces habituelles des putréfactions :

Proteus vulgaris.
Proteus mirabilis.
Bacillus fluorescens liquefaciens.
Bacillus fluorescens putridus.
Bacillus fluorescens non liquefaciens.
Bacillus cloacæ.
Spirillum tenue.
Spirillum undula.
Spirillum serpens.

c. Enfin quelques espèces qui ne se rencontrent guère que dans les eaux mpures :

Micrococcus prodigiosus. *Bacillus janthinus.* *Bacillus violaceus.*

B. **Espèces rencontrées le plus communément dans les eaux, par ensemencements sur plaques de gélatine.** — Ces espèces sont nombreuses ; beaucoup d'entre elles sont encore incomplètement étudiées.

Nous les étudierons sommairement sous forme de tableau, dans l'ordre suivant :

I. *Espèces non chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine* en dix à quinze jours, à la température ambiante ;

II. *Espèces non chromogènes, liquéfiant la gélatine ;*

III. *Espèces chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine ;*

IV. *Espèces chromogènes, liquéfiant la gélatine.*

Rappelons que l'on considère comme non chromogènes les microbes donnant des colonies blanches ou incolores.

Les espèces liquéfiant très lentement ou tardivement (d'ordinaire ou toujours après le quinzième jour) sont classées parmi les espèces non liquéfiantes.

Pour chaque espèce, nous donnerons l'aspect ordinaire en cultures sur plaques de gélatine ; sauf indication contraire, l'aspect décrit est celui des colonies superficielles. Les colonies profondes sont souvent beaucoup moins différenciées. La description correspond au stade de développement maximum.

Abréviations. — *G* +, prend le Gram ; *G* —, ne prend pas le Gram.

m., mobile ; *im.*, immobile ;

mm., millimètres ;

liq. t. r., liquéfaction très rapide (premier ou deuxième jour) ;

liq. r., liquéfaction rapide, vers le quatrième ou cinquième jour ;

liq. l., liquéfaction lente, du onzième au dix-huitième jour ;

liq. t., liquéfaction tardive, après trois semaines ;

susp., espèces dont la présence indique une contamination certaine ou probable ;

dang., espèces dont la présence implique une contamination spécifique très dangereuse pour l'homme.

Tableau I.

Espèces non chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
Coccus aquatilis.....	Blanc-porcelaine.	G + Im.
C. candicans.....	Blanc laiteux.	Blanc sur gélose. Im. Air et sol.
C. candidus.....	Blanc neigeux.	Im. Air.
C. concentricus.....	Blanc bleuâtre.	Im. Bords souvent dentés.
C. plumosus.....	Blanc : prolongements latéraux.	Bords souvent relevés.
C. ureæ.....	Blanc de bougie.	Voy. p. 871.
C. viticulosus.....	Blanc ; large ; irradiations dans la profondeur.	En piqûre, chevelu de filaments autour du trait.
Staphylococcus albus..	Voy. p. 256.	**Susp.**
Entérocoque.....	Voy. p. 301.	**Susp.**
Sarcina alba.....	Blanc ; petites colonies.	Liq. vers 15e jour.
B. typhique.....	Voy. p. 432.	**Dang.**
B. paratyphiques.....	Voy. p. 475.	**Dang.**
B. coli.....	Voy. p. 489.	**Susp.**
Pneumobacille.....	Voy. p. 357.	**Susp.**
B. lactis aerogenes....	Voy. p. 363.	**Susp.**
B. acidi lactici.....	Centre blanc ; pourtour bleuté.	Paraît identique à *B. lactis aerogenes*.
B. aquatilis sulcatus..	Cf. *B. typhique* (montagne de glace).	Mob. Culture jaune ou verdâtre sur p. de t.
B. figurans.....	Centre blanc ; filaments formant des figures irrégulières.	Un peu mob. Sur gélose en strie, culture en plume d'oiseau.
B. dendriticus.....	Blanc, avec ramifications latérales en dendrites.	Voile épais en bouillon. Liq. lentement gélatine, 1 à 2 mois.
B. bullescens.....	Blanc un peu brunâtre.	Im. Gaz abondants par piqûre en gélatine.
B. devorans.....	Boule blanche au fond d'une cupule.	Liq. lente ou nulle. En piqûre, forme un canal creux, sans liquéfier. Mob. G —.
Proteus Zopfii.....	Blanc floconneux ; filaments. Cf. *Moisissure à gros mycélium*.	Mob. G +. Non sporulé. En piqûre, culture arborescente.
Proteus Zenkeri.....	*Id.*	Mob. G +. Odeur putride en bouillon.
Spirillum concentricum.....	Disque blanc, 5 mill., cercles concentriques.	Mob., cilié, 2 à 4 spires.
Sp. undula.....	Colonies petites, transparentes, un peu jaunâtres.	2 à 5 spires. Mob., cilié. **Susp.**

Tableau II.

Espèces non chromogènes, liquéfiant la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES; HABITAT ORDINAIRE; OBSERVATIONS.
Staph. albus.....	Voy. p. 256.	
Streptococcus albus....	Blanc; bord surélevé.	Longues chaînettes. Air.
Coccus radiatus.	Blanc, reflets vert jaune; prolongements donnant l'aspect d'étoile de mer. Liq. r.	Sur pomme de terre, traînée brune.
Sarcina candida.....	Blanc, puis jaunâtre. Liq. r.	
Urobacillus Freudenreichii.....	Blanc laiteux; bord irrégulier. Liquide visqueux. Colonies petites.	Mob. Bacilles et filaments.
Urobacillus Schutzenbergii I.....	Blanc laiteux, rond. Liq. r.	Mob. Coccobacille.
Urobacillus Schutzenbergii II.....	Id.	Mob. Bac. filamenteux.
B. megaterium.....	Col. petites, rondes, blanc gris. Liq. l.	Bac. très gros, 5 à 10 μ sur 2 μ; peu mobiles. Gr +. Sporulés. Sol.
B. punctatus.....	Au 3e jour, liquéf. en forme de coupe; liquide bleuâtre, avec points blancs. Liq. t. r.	Mob. Gr —. Brun sur pomme de terre.
B. vermicularis.....	Blanc gris, bord ondulé, centre plissé.	Bac. en chaînettes. Spores ovales, surtout sur pomme de terre.
B. termo (ou *Bacterium t.*).....	Au 3e jour, centre grisâtre; autour, liquide trouble; autour du liquide, bordure claire sinueuse. 10 mm. Parfois verdissement du milieu. Liq. r.	Bac., diplobac. et streptobac. Mob. En bouillon, trouble avec léger voile. Sur pomme de terre, enduit jaunâtre. Liquéfie le sérum coagulé.
Proteus vulgaris.....	Voy. p. 525.	**Susp.**
Proteus mirabilis.....	Voy. p. 527.	**Susp.**
B. cloacæ.....	Col. bleutée en surface, jaunâtre en profondeur.	Bac. court. Mob. Gr —. Non sporulé. Paraît ne différer du *colibacille* que par la propriété de liquéfier la gélatine : donne indol, coagule le lait, etc. **Susp.**

B. mesentericus vulgatus (ou *B. de la pomme de terre*).....	Au 2e jour, grosse colonie ; centre gris ou jaunâtre, pourtour plus clair ; à la périphérie, prolongements droits, drus, radiés, donnant l'aspect d'oursin.	Bac. mobile, Gr +, spores rondes. En bouillon, trouble avec voile plissé épais, blanc. Sur pomme de terre, membrane grisâtre, lacis de festons saillants (aspect d'intestin avec ses villosités, *mesentericus*). Air, sol ; très répandu, très résistant.
B. mesentericus ruber, fuscus, niger.....	Comme le *B. mesent. vulgatus*.	Mêmes caractères que le précédent, sauf le pouvoir chromogène : culture respectivement rouge, brune ou noire sur pomme de terre.
B. subtilis.....	Blanc ou jaunâtre ; d'abord arrondi, puis filaments radiaires ténus (aspect cilié). Liq. r.	Bac. long, 4 à 5 μ, mob., chaînettes. Gr +. En bouillon, voile plissé, liquide clair. Sur p. de terre, membrane blanchâtre plissée. Ubiquitaire.
B. mycoïdes (le *B. ramosus* et le *B. radicosus* semblent identiques à *B. mycoïdes*).	Au 2e jour, 5 à 10 mm., blanche, formée de filaments entrelacés, épais à la surface, minces en profondeur ; apparence nuageuse, aspect d'un mycélium de moisissure.	Bac. mobile, Gr +, 1 à 2 μ sur 1 μ. Sporulé. En strie sur gélose, culture en plume d'oiseau. En bouillon, liquide clair, voile humide, flocons au fond. Sol.
B. implexus.....	Points blancs. Au microscope, aspect de filaments entrelacés. Liq. r.	Im. Gr +. Sporulé.
B. nubilus.....	Taches grisâtres peu visibles. Au microscope, cf. le précédent. Liq. l.	Peu mob. Souvent en chaînettes.
B. radiatus aquatilis..	Bleutée. Au microscope, cf. le précédent. Liq. r.	Peu mob. Jaune ou brun sur pomme de terre.
B. gazoformans.....	Au 2e jour, cupule liquéfiée, masse blanchâtre ; souvent bulles de gaz. Liq. r.	Bac. grêles, mob. Jaune brun sur pomme de terre.
Vibrio choleræ.....	Voy. p. 544.	**Dang.**

Tableau III.

Espèces chromogènes, ne liquéfiant pas la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES; HABITAT ORDINAIRE; OBSERVATIONS.
Streptococcus cinereus.	Col. ronde, gris jaunâtre, surface plissée.	Gr +. Invisible sur p. de terre.
Micrococcus luteus.....	Ronde, jaune de soufre. 2 à 4 mm.	Zooglées. Jaune-citron sur gélose. Air.
M. aquatilis luteus....	Ronde, transparente, jaune, 2 mm.	Diploc. ou streptoc. Gr —. Culture épaisse jaune sur p. de terre.
M. citreus.....	Couleur crème, 5 à 8 mm.; surélevées.	Diploc.
M. flavus tardigradus.	Jaune de chrome; 1 mm.	Cocci isolés ou en amas.
Urosarcina Hansenii..	Jaunâtre.	En bouillon, dépôts sableux.
B. subflavus.....	Jaune pâle; bord éch.	Un peu mob. Chaînettes.
Spirillum serpens.....	Jaune verdâtre ou brunâtre; ronde. Liq. t.	Mob. 10 à 30 µ, 3 à 4 spires. Jaune sur gélose, blanc sur p. de terre. **Susp.**
Sp. tenue.....	Jaune brun; liq. t.	Mob. 4 à 15 µ, grêle, 1 à 5 spires. Rien sur p. de terre. **Susp.**
Sp. undula.....	Voy. *Tableau I.*	
B. aureus.....	Jaune d'or; 1 à 4 mm.	Peu mob. Amas ou chaînettes.
M. aurantiacus.....	Jaune-orange.	Amas. Orange sur p. de terre. Voile jaune sur bouillon.
B. aurantiacus.....	Id.	Peu mob. Chaînettes.
M. stellatus.....	Brun jaunâtre, 2 mm. Prolongements radiés en étoile de mer.	En piqûre, arborisations autour de la strie.
B. fuscus.....	Brun jaunâtre.	Im.
B. brunneus.....	Visqueux; d'abord blanchâtre, puis brun.	Im. Souvent sporulé.
B. stolonatus.....	Teinte variable, blanc ou brun, 1 mm. Très saillant en surface.	Mob. Brunit le bouillon.
M. agilis.....	Rose ou rouge, très petit.	Mob. Diploc., tétrades. Gr +.
M. roseus.....	Rose, surélevé, 1 à 3 mm.	Diploc. ou tétr. Rose en bouillon.
M. cinnabareus.....	Rouge-brique, puis cinabre, 1 mm.	Air.
Sarcina carnea.....	Rose.	
B. latericus.....	Rouge-brique; punctiforme.	Im.

B. rubefaciens.....	Rouge vineux.	Mob.
B. rosaceus metalloides.	Boutons rouge-carmin ; 3 à 5 mm. Liq. l.	Im. Reflets métalliques sur gélatine en strie.
B. fluorescens non liquefaciens.....	Disque clair, surface chagrinée, bords sinueux. La gelée ambiante est jaune verdâtre, fluorescente.	Im. **Susp.**
B. fluorescens putridus.	Comme la précédente. Odeur forte, urineuse.	Mob. Gr —. **Susp.**
B. erythrosporus.....	Blanc ; gelée verdâtre.	Mob. Spores colorées en rouge.
B. berolinensis indicus.	Blanc d'abord, puis (4e jour) bleu-indigo.	Mob. Bleu sur gélose et sur p. de terre acide.
B. syncyaneus.....	Col. petites, muqueuses; la gelée est bleu gris.	Peu mol. Zooglées. Lait bleu.
M. violaceus.....	Violet ; col. saillantes.	Souvent en chaînes. **Susp.**
B. janthinus.....	Centre bleu ou violet, parfois incolore, saillant ; 1 à 2 mm. Liq. t.	Peu mob. Violet sur p. de terre, sur gélose, sur le lait, qu'il coagule. **Susp.**

Tableau IV.

Espèces chromogènes, liquéfiant la gélatine.

DÉSIGNATION.	ASPECT DES COLONIES SUR PLAQUES GÉLATINE.	AUTRES CARACTÈRES ; HABITAT ORDINAIRE ; OBSERVATIONS.
M. flavus liquefaciens.	Jaune ; auréole liquéfiée, traversée par tractus radiés (en roue de voiture), 4 à 6 mm.	Diploc. et amas. Jaune sur p. de terre.
M. flavus desidens....	Jaune brunâtre, 5 à 10 mm. Ramollit sans liquéfier.	Air. Jaune brun sur p. de terre.
St. aureus.....	Voy. p. 256.	**Susp.**
St. citreus.....	Voy. p. 256.	**Susp.**
Sarcina flava.....	Jaune ; liq. r.	Air.
Sarcina aurantiaca...	Jaune-orange.	Air.
B. ochraceus.....	Petites sphères, d'abord jaune pâle, puis jaune ocre doré. Liq. r.	Peu mob. Gr —. Ocre sur gélose et p. de terre.
B. arborescens.....	Jaune au centre ; tantôt arrondie, avec anneau extérieur filamenteux, tantôt en forme de gerbe de blé avec ligature médiane.	Im. Gr —. Jaune brun sur gélose et p. de terre.
B. plicatus.....	Blanc jaunâtre ; points saillants (aspect mûriforme).	Im.

B. mesentericus vulgatus, ruber, etc.....	Voy. *Tableau II.*	
B. subtilis.....	*Id.*	
B. cloacæ.	*Id.*	
M. cremoïdes.....	En profondeur, petites col., jaune ou brun. En surface, jaunâtre; souvent prolongements radiaires.	Amas. Jaunâtre sur gélose, crème sur p. de terre.
Cladothrix chromogenes.....	Points blanc jaunâtre; auréole brune.	Odeur forte. Sur gélose, strie blanche et auréole brune.
M. fuscus.....	Brun ou noir. Liq. r.	
M. rosaceus.....	Rose.	
Sarcina rosea.....	Rose en surface; jaune en profondeur.	Rouge sur p. de terre.
B. prodigiosus.....	Col. d'abord grisâtre, puis rouge. Liq. t. r. et très étendue.	Mob. en milieux liquides. Gr —. Bacilles ou cocci suivant les milieux. Rouge sur p. de terre à 20°. **Susp.**
B. rouge de Kiel.....	Rouge, contour sinueux; liq. r., vers 5e jour.	Bac. long, 3 à 5 μ, très peu mob. Sur p. de terre, rouge violacé à 30°, carmin à 25°.
B. rouge de Lustig....	Rouge, contour sinueux, liq. r.	Très mob. Grains rouges aux pôles du corps bacillaire.
B. fluorescens liquefaciens.....	Blanc gris; le milieu ambiant présente une fluorescence verte. Liq. t. r. et très étendue.	Mob. Gr. — En bouillon, trouble avec fluorescence. Putréfaction. **Susp.**
B. chlororaphis.....	Centre gris, filaments radiés; cristaux verts dans le liquide de liquéfaction, 6e au 12e jour.	Mob. En bouillon, trouble avec souvent cristaux verts.
B. polychrome.....	Col. verte, entourée d'une zone teinte en vert ou vert bleuâtre, sans fluorescence. Souvent, grains bleus dans la colonie.	Bac. polymorphe. Gr —. Sur la plupart des milieux, pigments variables : vert, rouge, brun, violet, bleu.
B. pyocyanique.....	Voy. p. 348.	**Susp.**
B. cæruleus.....	Bleu ou bleu gris, 5 mm.	Mob.
B. lividus.....	Bleu noir, col. en taches d'encre.	Mob. Bleu noir sur gélose.
B. violaceus.....	Membrane épaisse, d'abord jaunâtre, puis violette. Liq. r.	Violet noir sur gélose. **Susp.**

ANALYSE BACTÉRIOLOGIQUE DE L'AIR.

Pour le moment, l'analyse bactériologique de l'air est beaucoup moins importante que l'analyse de l'eau.

Pasteur a établi le premier que l'air renferme toujours des microbes, plus dans les régions habitées, moins dans les régions inhabitées. Les nombreuses recherches faites depuis n'ont guère fait que confirmer ces constatations initiales.

Le nombre des microbes de l'air est toujours relativement peu élevé. Aussi est-il toujours nécessaire de faire porter les analyses sur une quantité considérable, au moins plusieurs litres d'air, à l'aide d'appareils spéciaux.

Les appareils actuels utilisent toujours l'*aspiration*. Pour aspirer de faibles volumes, on peut relier les appareils aux aspirateurs à eau (2 à 50 litres) des chimistes, ou bien à de grands flacons à écoulement d'eau ; le volume d'eau écoulé indique le volume d'air introduit. Quand on veut aspirer des volumes d'air plus considérables, on utilise soit la trompe à eau (p. 174), soit un ventilateur ; le débit peut être mesuré par un compteur à gaz.

Appareils pour l'analyse de l'air.

On peut classer en trois groupes les appareils proposés. Les microbes se déposent sur un milieu solide ; ou bien ils sont captés sur une bourre formant filtre ; ou bien on les émulsionne dans un liquide.

I. **Dépôt sur milieu solide.** — Les procédés de cet ordre sont très imparfaits, car beaucoup de germes échappent. Citons le *tube de Hesse*.

Un tube de verre long et large (70 centimètres × $3^{cm},5$), stérilisé, est fermé à chaque bout par un bouchon à un trou, muni d'un tube de verre ; au moment de l'emploi, on verse dans le tube de la gélose ou de la gélatine, qu'on enroule et refroidit suivant le procédé d'Esmarch Le tube est monté sur un pied, comme les appareils à photographie ; on aspire lentement par une extrémité 20 litres par heure. L'air circulant lentement, une partie des germes se dépose sur les parois.

II. **Filtration sur bourres formant filtre.** — Ces procédés sont indiqués surtout lorsque les cultures ne peuvent être faites qu'un certain temps après les prélèvements. Ils fonctionnent mal par temps humides.

On peut utiliser des bourres insolubles ou des bourres solubles.

Bourres insolubles. — *Procédé de Petri.* — Dans un tube de verre, on intercale quatre tamis en cuivre, délimitant deux cylindres ; chaque cylindre est rempli de sable fin. L'air est aspiré par une tubulure latérale.

Pour les cultures, on verse le sable dans de la gélatine fondue, qu'on coule en boîte après mélange.

Procédé de Miquel. — Très analogue, mais plus simple. On prépare d'abord le sable : le passer au tamis Wolf, garder ce qui passe à la toile n° 60 et rejeter les grains qui traversent la toile n° 80 ; laver, sécher.

D'autre part, étrangler un tube de verre, ouvert aux deux extrémités (fig. 337) ; tasser sur l'étranglement un tampon de coton O ; verser le sable en B, sur une hauteur de 8 à 10 centimètres. Boucher aux deux bouts, stériliser à sec.

Pour l'emploi : placer le tube verticalement, sable en haut ; relier l'extrémité inférieure à un aspirateur ; déboucher l'extrémité supérieure ; aspirer. L'opération terminée, verser le sable dans de l'eau stérile, agiter fortement, ensemencer l'eau en gélatine.

Procédé de Frankland. — On substitue au sable deux bourres de coton de verre. Mais cette substance se dissocie difficilement dans les liquides.

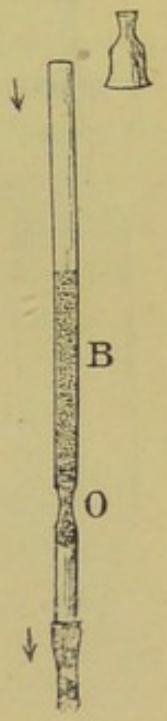


Fig. 337. — Filtre à bourre de Miquel.

Bourres solubles. — Les bourres solubles sont préférables aux précédentes, parce qu'elles permettent facilement de mettre en culture tous les microbes arrêtés sur le filtre.

Procédé de Miquel. — L'appareil est construit comme pour le procédé ci-dessus du même auteur. La bourre employée est le sulfate de soude desséché, proposé par A. Gautier : on chauffe le sulfate à 200° ; il se dissout d'abord dans son eau de condensation, puis se solidifie à nouveau et se dessèche. Le sel desséché est pilé au mortier, tamisé, stérilisé ; on garnit l'appareil comme ci-dessus.

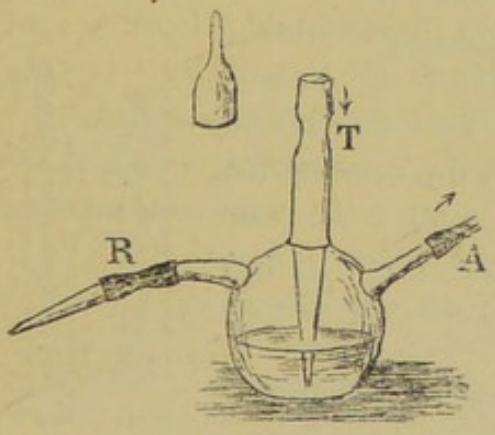


Fig. 338. — Ballon diluteur de Miquel.

Après fonctionnement, la bourre est dissoute dans 10 centimètres cubes d'eau stérile, qu'on répartit en milieu de culture (gélose ou gélatine).

III. **Émulsion dans les liquides.** — Tous les procédés, sauf celui de Richet, sont basés sur le barbotage.

Ils sont indiqués lorsque la culture peut être faite sitôt après l'ensemencement.

Procédé de Miquel. — On emploie le *ballon diluteur* de Miquel (fig. 338). C'est un ballon à trois tubulures : l'une, centrale, fermée à l'extérieur par un capuchon de verre, plonge au fond du ballon ; les deux autres sont laté-

rales : la première sera mise en communication avec l'aspirateur ; la seconde, munie d'un ajutage de caoutchouc terminé par une pipette scellée, servira plus tard à répartir le liquide. On verse dans le ballon une quantité connue d'eau ; on stérilise.

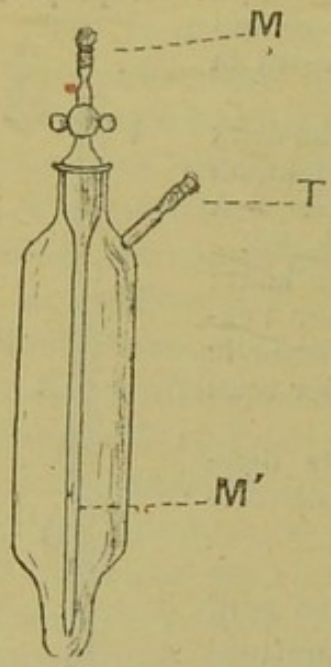


Fig. 339. — Tube barboteur de Straus et Wurtz.

Pour l'emploi, la tubulure A est reliée à l'aspirateur ; on enlève le capuchon : l'air passe par T et s'échappe par A, après avoir barboté dans l'eau. L'aspiration terminée, on rince d'abord en aspirant l'eau à plusieurs reprises ; on casse ensuite l'extrémité de la pipette et on répartit l'eau dans les milieux de culture (plaques de gélatine).

Procédé de Straus et Würtz. — L'appareil (fig. 339) se compose d'un flacon cylindrique, rétréci au fond ; le col laisse passer un tube-pipette MM' formant bouchon et plongeant presque à fond. Sur le côté, le flacon porte une tubulure latérale étranglée T, avec un tampon d'ouate sous l'étranglement, un autre au-dessus. On verse dans le cylindre la quantité de gélatine, 10 centimètres cubes, nécessaire pour remplir l'appendice ; on stérilise, puis on ajoute I ou II gouttes d'huile stérilisée, pour éviter la formation de mousse pendant le barbotage.

Pour l'emploi, après avoir débouché le tube central et liquéfié la gélatine, relier à l'aspirateur, faire barboter, en tenant le fond de l'appareil à la main pour empêcher la gélatine de se solidifier ; l'opération terminée, rincer le tube central avec la gélatine, faire tomber dans le milieu le tampon, mélanger ; enrouler la gélatine sur le cylindre et faire solidifier, comme pour le tube d'Esmarch.

Procédé de Laveran. — C'est le plus pratique des procédés de ce groupe. L'appareil de Laveran (fig. 340) comporte deux longs tubes à essai, réunis en haut par une tubulure horizontale ; chacun d'eux est obturé par un bouchon de caoutchouc portant une pipette qui plonge au fond. L'une des pipettes est graduée en dixièmes de centimètre cube ; l'un des tubes porte un trait de jauge à 10 centimètres cubes. On verse 10 centimètres cubes d'eau sucrée à 1 p. 100 dans le tube gradué ; on stérilise à l'autoclave, pipettes garnies d'ouate.

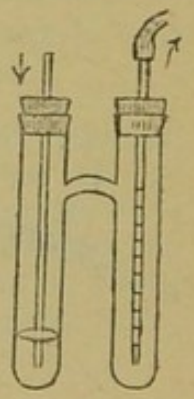


Fig. 340. — Appareil de Laveran pour analyse de l'air.

Pour l'emploi, la pipette graduée est reliée à l'aspirateur ; l'air passe par l'autre pipette, barbote dans l'eau, et finalement s'échappe par la pipette graduée. Grâce aux brisures multiples du trajet, tous les germes se déposent. Quand on a fait passer assez d'air, on arrête l'aspiration, on rince avec l'eau sucrée d'abord la pipette, puis, à plusieurs reprises, en inclinant l'appareil, la tubulure de jonction et le deuxième tube ; finalement, on aspire l'eau sucrée par la pipette graduée et on répartit en milieux de culture (gélose, gélatine).

Procédé de Richet. — Ce procédé est surtout indiqué quand on veut analyser des volumes d'air considérables. L'appareil a été proposé pour purifier l'air amené par les ventilateurs, mais il peut servir également pour les analyses.

Un ventilateur électrique est placé dans un cylindre métallique, ouvert aux deux extrémités; au-dessus du ventilateur, se trouve un flacon plein d'eau, qui laisse tomber l'eau goutte à goutte sur les ailettes du ventilateur. Quand ce dernier est en marche, les germes amenés avec l'air sont captés, au moins en partie, par l'eau qui tombe en pluie ; cette eau est projetée par les ailettes sur les parois du cylindre, d'où elle ruisselle. On la recueille et répartit en milieux de culture.

Analyse quantitative.

Le nombre des germes est toujours rapporté au *mètre cube*.

Avec l'un ou l'autre des appareils précédents, il est facile de dénombrer les germes de l'air. Les ensemencements sur gélatine ou sur d'autres milieux sont pratiqués et observés comme d'ordinaire. Connaissant, d'une part, le volume d'air analysé ; d'autre part, le nombre des germes obtenus sur la totalité des plaques, on en déduit le nombre de germes par mètre cube.

Si, par exemple, on a aspiré 10 litres d'air et que les cultures donnent 50 colonies, on dit que l'air renferme 5 000 germes par mètre cube.

Pour fixer les idées, citons quelques chiffres. L'air marin, au large, est très pur, à peine 1 germe par mètre cube ; il en est de même sur les montagnes et aux pôles. A Paris, on trouve dans les rues environ 3 000 à 10 000 germes ; dans les hôpitaux, 16 000 et parfois 50 000 ou plus (Miquel, Laveran).

Analyse qualitative.

L'analyse qualitative a surtout été faite par isolement des colonies obtenues sur gélatine ou gélose. On n'a guère trouvé jusqu'ici que des espèces banales.

Il est cependant établi que certains germes pathogènes peuvent exister quelque temps dans l'atmosphère (microbes de la bouche, du pharynx, etc.); les malades projettent en parlant ou toussant des gouttelettes (gouttelettes de Flügge) qui restent peu de temps en suspension et se sédimentent ensuite avec les poussières. Si, par exemple, on place à diverses hauteurs des boîtes de Petri pleines d'eau dans un espace clos où l'on fait ensuite tousser un tuberculeux, on constate que l'eau, inoculée au cobaye, le tuberculise souvent ; le Bacille de Koch a donc existé dans l'atmosphère. Mais, après quelques minutes, les germes se déposent.

Analyse des poussières.

Elle a fourni quelques résultats intéressants, car les poussières concentrent en quelque sorte les microbes de l'atmosphère ambiante. On les analyse

facilement en émulsionnant dans l'eau et ensemençant le liquide de lavage.

Le nombre des microbes, *par gramme*, est toujours élevé, plus dans les lieux habités ; en moyenne, 500 000 à 5 000 000.

L'analyse qualitative y a parfois décelé la présence de germes pathogènes : Streptocoque et Pneumobacille (Kelsch et Simonin), Pneumocoque (Netter), Bacille de Koch (Cornet), Bacille diphtérique, Bacille tétanique, Vibrion septique, etc. Ces diverses constatations ont été faites après inoculation à l'animal ; le nombre si élevé des germes rend en effet bien délicat l'isolement rigoureux des espèces pathogènes.

TABLE ALPHABÉTIQUE

Abcès des lapins, 190.
Accidents sériques, 87.
Acétique (fermentation), 29.
Achard, Lannelongue et Gaillard (sérum antituberculeux de), 683.
Achorions, 736.
— *gallinæ*, 737.
— *quinckeanum*, 737.
— *Schœnleini*, 737.
Acido-résistants (bacilles), 692.
Actinobacillose, 706.
Actino-congestine (expériences de MM. Richet et Portier sur l'), 85.
Actinomyces bovis, 699.
— — (action pathogène expérimentale), 704.
— — (cultures), 701.
— — (habitat, action pathogène), 703.
— — (morphologie), 699.
— — (Propriétés biologiques), 702.
Actinomycose, 699.
— (diagnostic bactériologique de l'), 705.
Aérobies, 13.
— (fixation d'oxygène par un microbe), 181.
— (isolement des microbes), 163.
— (procédés de culture et ensemencement des microbes), 151.
Age (influence de l') sur la réceptivité, 39.
Agglutination, 50, 59, 353.
— de l'*Actinomyces bovis*, 703, 705.
— des bacilles dysentériques du type Flexner, 513.
— — — type Shiga, 506.
— — — de Löffler par le sérum antidiphtérique, 395.
— — morveux, 419.
Agglutination du bacille paratyphique A, 477.
— — — B, 482, 486.
— — pesteux, 577.
— — de Pfeiffer, 530.
— — du rouget du porc, 428.
— — du tétanos, 604.
— — tuberculeux, 678.
— — typhique, 442.
— du coccobacille de la coqueluche, 536.
— du colibacille, 492.
— (mécanisme de l'), 62.
— du méningocoque, 311.
— du pneumocoque, 293.
— du sérum anticharbonneux, 381.
— — antiméningococcique, 325.
— — charbonneux, 374.
— — des sujets infectés par le *Micrococcus melitensis*, 343.
— spécifiques, 312.
— du *Sporotrichum Beurmanni*, 712, 716.
— du Streptocoque, 274.
— (technique de l'), 64.
— du tréponème, 763.
— du vibrion cholérique, 551.
— — septique, 622.
Agglutinines, 57, 60.
— (détermination de la nature spécifique ou non des), 65.
— (Épreuve d'absorption des), 65.
— de groupe ou coagglutinines, 63.
— (rapports entre les) et les précipitines, 68.
— (saturation des), 312.
— des sérums normaux, 62.
— non spécifiques, 62.
— spécifiques, 60.
Aiguilles (stérilisation des), 212.
Air (analyse bactériologique de l'), 896.
— (analyse qualitative de l'), 899.
— (analyse quantitative de l'), 899.
— (appareils pour l'analyse de l'), 896.
Albumineuses (sérosités), 134.
Alcoolique (fermentation) 28.
Alexine, 44, 47, 51, 69, 72.
Algues bleues, 2.
Alimentaire (anaphylaxie), 89.
Alttuberculin, 672.
Ambocepteur, 48, 69.
Ammoniacale (fermentation), 29.
Amibes, 773.
— diverses, 783.
— dysentérique, 773.
— — (pouvoir pathogène de l'), 779.
— vulgaire du côlon, 782.
Amœba buccalis, 783.
— *coli*, 773, 783.
— *maxillaris*, 783.
— *urogenitalis*, 784.
Anaérobies, 14.
— (culture et isolement des), 171.
— facultatifs, 14.
— (isolement des), 183.
— — en tubes, 184.
— (microbes) des processus fétides et gangreneux, 636.
— (pipette de Roux pour), 178.
— (procédés de culture des), 176.
— (recherche des) dans les eaux, 883.

Anaérobies (streptocoques), 643.
— (tube de Roux pour), 182.
— (tube de Vignal pour isolement des), 184.
Analyse de l'air (appareils pour l'), 896.
— bactériologique de l'air, 896.
— — des angines, 854.
— — appliquées à la clinique, 846.
— — appliquées à l'hygiène, 876.
— — des crachats, 849.
— — de l'eau (feuilles de renseignements pour l'), 878.
— — des eaux, 876.
— — — (principes généraux pour l'), 879.
— — du liquide céphalo-rachidien, 858.
— — du pus, 846.
— — du sang, 865.
— — des selles, 874.
— — de l'urine, 871.
— des eaux (interprétation des résultats), 886.
— des exsudats séro-fibrineux, 862.
— des poussières, 899.
— qualitative de l'air, 899.
— — de l'eau, 883.
— quantitative de l'air, 899.
Anaphylactiques (manifestations) chez l'homme, 87.
Anaphylaxie, 85.
— alimentaire, 89.
— (anti-), 92.
— (Injections de sérum et), 87.
— au liquide de kyste hydatique, 89.
— (manifestations expérimentales de l'), 85.
— (mécanisme de l'), 90.
— sérique, 87.
— (spécificité de l'), 92.
— (théorie de Besredka), 90.
— (théorie de Biedl et Kraus), 92.
— (théorie de M. Nicolle), 91.
— (théorie de von Pirquet et Schick), 90.
Anaphylaxie (théorie de Ch. Richet), 90.
— (théorie de Vaughan), 91.
— à la tuberculine et à la maléine, 89.
Anasarque du cheval (streptocoque de l'), 282.
Anesthésie, 195.
Angines à bacilles fusiformes, 646, 649.
— (analyse bactériologique des), 854.
— de Vincent, 644, 646.
Animaux (inoculation aux), 170,
— (inoculation des), 187.
— pour l'inoculation (choix de l'espèce et mode d'inoculation), 209.
— inoculés (observation des), 208.
— de laboratoire, 187.
— — (chenil, cages, bocaux pour), 188.
— — (élevage et entretien des), 187.
— — (maladies des), 190.
— — (*Pasteurellæ* des), 599.
— — (préhension, contention, anesthésie des), 192.
— — (prélèvements chez les), 214.
— (réceptivité des), 209.
— sauvages (*Pasteurella* des), 597.
Anti-anaphylaxie, 92.
Anticharbonneuse (sérothérapie), 384.
— (symptômes et accidents dus à la vaccination), 383.
— (vaccination), 382.
Anticholérique (sérum), 551, 570.
— (vaccination), 568.
Anticlaveleuse (vaccination), 842.
Anticolilysine, 496.
Anticoquelucheux (sérum), 539.
Anticorps, 472.
— dans le sérum anticharbonneux, 381.
— dans le sérum des pneumoniques, 293.
Antigène, 70, 73, 74.
Antidiphtérique (sérum), 410.
Antidysentérique (sérothérapie), 519.
— (sérum), 519.
— (vaccination), 517.
Antigène de Desmoulières 756.
— syphilitique (préparation de l'), 756.
Antigonococcique (sérothérapie), 340.
— (vaccinothérapie), 340.
Antimélitococcique (sérothérapie), 347.
— (vaccination), 347.
Antiméningococcique (réactions vis-à-vis du sérum), 311.
— (sensibilisatrice du sérum), 312.
— (sérothérapie), 326.
Antimorveuse (vaccination), 425.
Antipesteuse (sérothérapie), 586.
— (vaccination), 588.
Antipesteux (effets du sérum) sur la peste expérimentale, 587.
Antirabique (sérum), 840.
— (vaccination), 838.
Antiscarlatineux (sérum), 281.
Antisensibilisine, 91.
Antiseptiques (action des) sur les bactéries, 22.
— (stérilisation par les), 113.
Antisérums (réactions du bacille dysentérique type Shiga sur les), 905.
— (réactions du gonocoque vis-à-vis de l'), 333.
Antistreptococcique (sérothérapie), 280.
— (vaccination), 279.
Antistreptocolysine, 278.
Antisyphilitique (sérothérapie), 765.
— (vaccination), 765.
Antitétanique (sérum), 614.
Antituberculeuse (vaccination), 679.
Antityphique (sérum) de Besredka, 474.
— (sérum) de Chantemesse, 474.

Antityphique (sérum) de Rodet et Lagriffoul, 474.
— (vaccination), 469.
— — Résultats pratiques, 472. Antitoxines, 56.
Antitoxique (théorie) de l'immunité, 45.
Appareils pour l'analyse de l'air, 896.
— Chamberland pour filtration par compression, 112.
— à contention de Latapie, 193.
— de filtration, 108.
— — de Chamberland, 110.
— — de Martin, 110.
— générateur d'hydrogène, 173.
— pour inoculations, 197.
— Latapie pour récolte du sang, 216.
— — — du sérum, 130.
— de Laveran pour l'analyse de l'air, 898.
— Lumière pour récolte du sérum, 217.
— de Miquel pour prélever les eaux en profondeur, 877.
— de Roux pour produire l'hydrogène, 172.
Arloing, Cornevin et Thomas (procédé de) pour la vaccination contre le *Bacillus Chauvœi*, 632.
Artère (ponction de l') pour prélèvement de sang, 216.
Arthrites (recherche du méningocoque dans le pus des), 325.
Arthrospores, 13.
Arthus (expériences et phénomène d'), 86.
Artichaut, 127.
Aryesky (procédé de) pour la coloration des spores, 244.
Aspergillose, 722.
Aspergillus Boudardi, 708.
— *fumigatus*, 722.
— — (action pathogène expérimentale), 724.
— — (cultures), 723.
— *fumigatus* (diagnostic bactériologique), 725.
Aspergillus fumigatus (habitat; mode d'infection chez l'homme), 724.
— — (morphologie), 722.
— (propriétés biologiques), 723.
— *lepidophyton*, 738.
— *nidulans*, 703.
— *niger* (culture de l'), 16.
Associations microbiennes, 23, 38.
Autoclave Chamberland, 98.
— (fonctionnement de l') comme appareil à vapeur sous pression à 100°, 103.
Autolyse aseptique (procédé de l') pour la préparation de la toxine dysentérique, 510.
Autopsies, 217.
— chez l'animal, 218.
— chez l'homme, 217.
Bacillaire (dysenterie), 501.
Bacilles, 3.
— accidentellement acido-résistants, 693.
— acido-résistants, 692.
— — (coloration des), 241.
— — vrais, 692.
— du chancre mou, 540.
— — — pathogène (action expérimentale), 542.
— — (cultures), 541.
— — (diagnostic de l'infection par le), 543.
— — (morphologie), 540.
— — (siège), 541.
— de la conjonctivite aiguë contagieuse, 533.
— diphtérique, 4, 386.
— — (action pathogène expérimentale), 398.
— — (le) chez les animaux, 397.
— — et bacilles pseudo-diphtériques, 404.
— — (cultures de), 390.
— — (habitat, persistance, associations secondaires), 396.
— — (morphologie), 387.
— — (propriétés biologiques du), 392.
— — (toxine), 400.
— — (virulence), 393.
— — (vitalité), 392.
Bacille de Du Cazal et Vaillard, 697.
— du Ducrey, 540.
— — (siège du), 541.
— dysentérique, 501.
— — (action du sérum sur les différents types de), 520.
— — (isolement du), 515.
— — dysentériques (tableau résumant les caractères différentiels des) 515.
— — du type Flexner, 512.
— — — — (toxines des) 514.
— — — type Shiga (action pathogène), 508.
— — — — (cultures de), 502.
— — — — (morphologie et aspect microscopique) 501.
— — — — (propriétés biologiques), 504.
— — — — (réactions du) vis-à-vis des antisérums, 505.
— — — — (vitalité), 504.
— — — Y de Hiss, 514.
— d'Eberth, 432.
— — (aptitude agglutinative du), 443.
— des empoisonnements alimentaires, 480.
— encapsulés, 357.
— en épingle, 601.
— d'Escherich, 489.
— de Friedmann, 684.
— fusiforme, 644.
— — (action pathogène), 646.
— — (cultures), 645.
— — (morphologie), 644.
— — (recherche et diagnostic), 649.
— de Gartner, 488.
— de Hansen, 685.
— du Hog-choléra, 487.
— de Klebs-Löffler, 386.
— de Koch, 650.
— de la lèpre, 635.
— — (cultures), 686.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection) 639.
— — (morphologie), 685.
— (pouvoir pathogène), 687.
— de la lèpre (réactions à l'égard des sérums), 687.

Bacille de la lèpre (siège), 689.
— — (thérapeutique bactériologique), 691.
— de Löffler, 386.
— — (agglutination du) par le sérum antidiphtérique, 395.
— — (recherche du), 406.
— mélanogène, 353.
— de la morve, 415.
— — (agglutination du), 419.
— — (caractères biologiques), 417.
— — (cultures de), 416.
— — (habitat et manifestations pathologiques), 419.
— — (immunité), 424.
— — (morphologie), 416.
— — (vaccination), 424.
— — (virulence), 417.
— — (vitalité), 417.
— morveux (recherche du) dans l'organisme, 423.
— neigeux, 641.
— de Nicolaier, 600.
— paratuberculeux, 692.
— paratyphiques A et B (tableau indiquant les caractères essentiels des), 440, 441.
— — A, 475.
— — — (cultures), 476.
— — — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 478.
— — — (morphologie), 475.
— — — (pouvoir pathogène), 478.
— — — (propriétés biologiques), 477.
— — — (siège), 478.
— — — (toxines), 478.
— — B, 479.
— — — (action pathogène), 483.
— — — (cultures), 480.
— — — (diagnostic bactériologique du siège de l'infection), 486.
— — — (morphologie), 480.
— — — (propriétés biologiques), 481.
— — — (réactions du) à l'égard des sérums, 482.
— — — (siège), 485.
Bacilles paratyphiques B (toxines), 484.
— — — (vaccination contre le), 486.
— — — (vitalité), 481.
— — et salmonelloses, 475.
— de la peste, 572.
— — (action pathogène expérimentale), 580.
— — (cultures), 574.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection, 582.
— — (divers habitats), 578.
— — (morphologie), 572.
— — (propriétés biologiques), 575.
— — (toxine), 577.
— — (virulence), 575.
— — (vitalité), 575.
— — (voies d'infection), 580.
— pesteux chez les animaux, 579.
— — chez l'homme, 578.
— de Pfeiffer, 527.
— — (action pathogène), 530.
— — (cultures de), 528.
— — (morphologie du), 527.
— — (propriétés biologiques), 530.
— — (vitalité), 530.
— du phlegmon gazeux, 636.
— pisciaire, 684.
— de Preiz-Nocard, 697.
— pseudo-diphtériques, 404.
— pseudo-tétanique de Tavel, 641.
— de la psittacose, 487.
— du pus bleu, 348.
— pyocyanique, 25, 348.
— — (action pathogène), 353.
— — (anomalies et races artificielles), 352.
— — (cultures), 349.
— — (inoculation expérimentale et virulence), 354.
— — (morphologie), 349.
— — (pouvoir chromogène), 352.
— — (propriétés biologiques), 350.
— — (siège), 355.
— — (toxines), 354.
— — (vaccination ; sérothérapie), 356.
Bacilles ramifiés, 3.
— du rhinosclérome, 357 364.
— du rhumatisme articulaire aigu, 638.
— du rouget du porc, 426.
— — — (action pathogène expérimentale), 428.
— — — (propriétés biologiques), 428.
— — — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 429.
— — — (morphologie), 427.
— — — (sérothérapie), 431.
— — — (vaccination), 430.
— — — (virulence), 428.
— — — (vitalité), 428.
— du smegma, 693.
— du tétanos, 600.
— — (action pathogène expérimentale), 606.
— — (cultures), 602.
— — (diagnostic de l'infection par le), 613.
— — (habitat), 605.
— — (morphologie), 601.
— — (pouvoir pathogène), 605.
— — (propriétés biologiques), 603.
— — (toxine), 608.
— — (vitalité), 603.
— tuberculeux, 650.
— — (action pathogène), 661.
— — (agglutination du), 678.
— — aviaire, 651.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 674.
— — (coloration), 654.
— — (cultures), 656.
— — humain et bovin, 650.
— — — — (diagnostic entre les), 666.
— — des mammifères, 651.
— — (modes habituels d'inoculation), 665.
— — (morphologie), 653.
— — morts (toxicité des), 670.
— — pisciaire, 652.
— — (propriétés biologiques), 660.
— — (—) dans les crachats, 852.

Bacille tuberculeux (recherche du) dans les exsudats séro-fibrineux, 863.
— — (— des microbes autres que le) dans les crachats, 850.
— — (— des microbes autres que le) dans les exsudats séro-fibrineux, 865.
— — (— des microbes autres que le) dans l'urine, 872.
— — (—) dans l'urine, 873.
— — (siège), 669.
— — (thérapeutique bactériologique), 682.
— — (toxines), 670.
— — (vaccination), 679.
— — (vitalité), 660.
— tuberculoïdes, 692.
— typhique, 14, 432.
— — agglutiné (culture de), 467.
— — B, paratyphique A, B, paratyphique B et colibacille (tableau indidiquant les caractères essentiels du), 440, 441.
— — chez l'homme, 451.
— — (cultures de), 434.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 463.
— — (Étude du *Bacillus fæcalis alcaligenes* comparé au), 499.
— — dans les milieux extérieurs, 453.
— — (morphologie), 432.
— — morts (vaccination par autolysats de), 471.
— — (persistance du) chez les typhiques guéris, 453.
— (porteurs de), 453.
— typhique (pouvoir pathogène), 446.
— — (procédés de recherche du), 454.
— — (propriétés biologiques), 438.
— — (réactions biochimiques), 439.
— — (réactions du) à l'égard des sérums, 442.
— — (recherche du) dans l'eau, 461.
— — (—) dans les excreta, 468.
Bacille typhique (recherche du) dans la rate, 469.
— — (—) dans les selles, 454.
— — (—) dans les urines, 468.
— — (—) dans le sang, 463.
— — sensibibilisés (vaccination par), 471.
— — (siège, habitat), 451.
— — (toxines), 448.
— — (vaccination par cultures totales stérilisées de), 470.
— — (vitalité), 438.
— — vivants (vaccination par), 469.
— — — (— par autolysats de), 471.
— violets, 25.
— virgule, 544.
— de Weeks, 533.
— de Yersin, 572.
Bacillus aerogenes capsulatus, 636.
— *bifidus*, 635.
— *botulinus*, 634.
— *Bütschlii*, 11.
— *capsulatus mucosus*, 364.
— *Chauvæi*, 628.
— — (action pathogène), 630.
— — (cultures), 629.
— — (morphologie), 629.
— — (propriétés biologiques), 630.
— — (toxines), 632.
— — (vaccination), 632.
— — (vitalité), 630.
— *coli communis*, 489.
— *enteritidis*, 488.
— (famille), 3.
— *fæcalis alcaligenes*, 499.
— — — (Étude du) comparé au Bacille typhique, 499.
— *fluorescens non liquefaciens*, 500.
— *fragilis*, 640.
— *funduliformis*, 639.
— *lactis aerogenes*, 357, 363.
— *maximus buccalis*, 7.
— *mesentericus vulgatus*, 37.
— *mucosus capsulatus*, 358.
— *nebulosus*, 641.
— *ozenæ*, 357.
— *perfringens*, 636.
— *prodigiosus*, 4.
— *putrificus*, 640.
Bacillus radiiformis, 641
— *ramosus*, 639.
— *serpens*, 640.
— *subtilis*, 14, 20, 37.
— *thetoides*, 639.
Bactéridie charbonneuse, 365.
— — (culture de), 368.
— — (immunité), 382.
— — (morphologie), 365.
— — (pouvoir pathogène), 374.
— — (procédé de Roux pour le développement de la), 368.
— — (propriétés biologiques), 370.
— — (recherche de la), 380.
— — (—) dans les milieux extérieurs, 381.
— — (répartition de la) dans l'organisme, 379.
— — (sérothérapie), 384.
— — (vaccination), 382.
— — (virulence), 372.
— — (vitalité), 370.
Bactérienne (flore des eaux), 888.
Bactéries (action des agents chimiques sur les), 22.
— (— extérieurs sur les), 19.
— (— — microbiens sur les), 22.
— (— des antiseptiques sur les), 22.
— (— fermentatives des), 27.
— (Assimilation des), 17.
— (Désassimilation des), 18.
— (Dessiccation des), 22.
— (Formes et dimensions des), 2.
— (germination polaire d'une), 12.
— (mobilité des), 7.
— (nutrition des), 15.
— pathogènes, 37.
— (pléomorphisme des), 3.
— pyogène de la vessie, 494.
— (résorption des), 48.
— (respiration des), 13.
— saprophytes, 36.
— (sécrétion de diastase des), 26.
— (structure des), 5.
— thermophiles, 19.

Bactéries thermophiles (recherche des) dans les eaux, 886.
— urinaire, 494.
— (vie saprophytique et rôle pathogène des), 36.
Bactériologiques (analyses) appliquées à la clinique, 846.
— (—) (appliquées à l'hygiène, 876.
— (coupes), 248.
Bactériolyse, 50, 68.
— (mécanisme de la), 68.
Bactériolysines, 57, 313.
Bactériotropine, 55, 77.
Bacterium aceti, 29.
— *coli*, 489.
— (famille), 3.
— *Zopfii*, 4.
Baguette d'étalement et spatule, 154.
Bain-marie à stérilisation de sérum, 104.
Balanite érosive (spirille de la), 748.
Baleri, 823.
Ballon diluteur de Miquel, 897.
— à fond plat, 152.
Ballon-pipette Chamberland, 131, 138.
Balthazard (toxine typhique de), 450.
Barsiekov (milieu de), 436.
Bâtonnets incurvés, 3.
— (Schéma de la division des), 10.
Bauer (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 761.
Baumgarten (méthode de) pour la coloration du bacille de la lèpre, 685.
Bec Bunsen, 94.
Behring (bovo-vaccin de), 681.
— (procédé de) pour le titrage du sérum antidiphtérique, 413.
Beraneck (tuberculine de), 674.
Berkefeld (bougies), 106.
Besredka (endotoxine de), 451.
— (procédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 511.
Besredka pour la préparation de la toxine pesteuse, 577.
— (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 569.
— (sérum de), 281.
— (— antityphique de), 474.
— (théorie de) de l'anaphylaxie, 90.
Bezançon et Philibert (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 853.
Biedl et Kraus (théorie de) de l'anaphylaxie, 92.
Bile (action dissolvante de la) sur le Pneumocoque, 292.
Blennorragique (pus), 334.
Bobine de fil stérile, 196.
Bocaux pour animaux de laboratoire, 188.
Boidin (procédé de) pour l'obtention de toxine charbonneuse, 374.
Boîte de Koch, 131.
— de Petri, 152.
— — (ensemencement en), 164, 166.
— — avec gélose-ascite ensemencée avec du mucus rhino-pharyngé, 324.
Bollinger (maladie de), 597.
Bonome (streptocoque de), 304.
Bordet et Gengou (coccobacille de), 534.
— — (technique de la réaction de fixation de), 72.
Borrel et Burnet (méthode de) pour la recherche du tréponème, 753.
Böttcher (cellule de), 161.
Botulisme, 634.
Bouchage d'un tube au coton, 95.
Bougies Berkefeld, 106.
— Chamberland, 106.
— filtrantes, 106.
— — (vérification d'une), 107.
— Garros, 106.
— Mallié, 106.
— (stérilisation des), 108.
Bouillon de cheval, de veau, de poule, etc., 116.
— aux extraits de viande, 116.
Bouillon glycériné, 117.
— de haricots, 119.
— Martin, 117.
— peptoné salé (bouillon ordinaire), 115.
— -sang, 137.
— sérum, 136.
— — glucosé, 137.
— sucrés carbonatés, 117.
— de viscères, 116.
Bovidés (microbes de la péripneumonie des), 826.
Bovine (*Pasteurella*), 597.
Bovo-vaccin de Behring, 681.
Bradsot du mouton, 630.
Brau et Denier (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 560.
Broncho-pulmonaires (affections) des cobayes, 190.
Buchner (dispositif de) modifié, 177, 182.
— (procédé de), 177.
— (tube de), 177.
Buffle (*Pasteurella* du), 597.
Burnet et Borrel (méthode de) pour la recherche du Tréponème, 753.
Butyrique (fermentation), 28.
Cadavériques (prélèvements), 219.
Cage pour animaux de laboratoire, 189.
Cambier (procédé de) pour la séparation basée sur la mobilité, 462.
Cancers ulcérés (spirochètes des), 748.
Canine (*Pasteurella*), 598.
Caprine (*Pasteurella*), 598.
Capsules (coloration des), 242.
Caratés (parasites des), 738.
Carottes, 127.
— (infusion de), 118.
Castellani (épreuve de), 65.
Cellulaire (théorie) de l'immunité, 46.
Cellule de Böttcher, 161.
— de Koch, 161.
Centres nerveux (autopsie des), 219.
— — et leurs enveloppes (inoculation dans les), 202.

Céphalo-rachidien (analyse du liquide), 858.
Cérébro-méningé (pus), 316.
Chaleur (action de la) sur les bactéries, 19.
— humide (stérilisation par la), 98.
— (production de), 23.
— sèche (stérilisation par la), 94.
Chalumeau à gaz, 154.
Chamberland (appareil à filtration de), 110.
— (appareil) pour filtration par compression, 112.
— (autoclave), 98.
— (Ballon-pipette),131,138.
— (bougies), 106.
Chambre-étuve, 145.
— humide de Ranvier, 161.
Champignons parasites de la peau et du système pileux, 728.
— — des teignes, 728.
— du Pied de Madura, 707.
Chancel (régulateur de), 147.
Chancre mou (bacille du), 540.
Chantemesse (milieu de), 458.
— (procédé de) pour la concentration par agglutination, 462.
— (sérum antityphique de), 474.
— (stérilisateur à air de), 97.
— (toxine typhique de), 449.
Charbon (culture de), 371.
— expérimental, 376.
— intestinal, 380.
— pulmonaire, 380.
— spontané, 374.
— — chez l'animal, 375.
— — chez l'homme, 374.
— symptomatique, 628.
Charbonneuse (bactéridie), 365.
— (fièvre), 375.
Charbonneux (sang de lapin), 366.
Chauffage discontinu vers 56° (stérilisation par), 103.
Chauveau (théorie de), 43.
Chenil pour animaux de laboratoire, 188.
Cheval (influenza ou fièvre typhoïde du), 598.
Cheval (streptocoque de l'anasarque du), 282.
— (streptocoque de la gourme du), 282.
— veau, poule etc. (bouillon de), 116.
Chiens (maladie du jeune âge et typhus des), 598.
Choléra (diagnostic bactériologique du), 561.
— expérimental, 557.
— des poules, 191, 590.
— — (coccobacille du), 592.
— (séro-diagnostic du), 567.
Cholérique (toxine), 558.
— (vibrion), 544.
Cils (coloration des), 244.
Cladothrix, 3.
Claudius (coloration des coupes par la méthode de), 255.
— (méthode de) pour la coloration des microbes sur frottis, 241.
Claveau, 841.
Clavelée (virus de la), 841.
Clinique (analyses bactériologiques appliquées à la), 846.
Cloche à vide, 177.
Coagglutinations, 312.
Coagglutinine, 60, 63.
Cobayes (maladies des), 190.
— (préhension et contention du), 192.
Cocci (schéma de la division des), 9.
Coccidiose, 191.
Coccobacille de Bordet et Gengou, 534.
— du choléra des poules, 592.
— — — (Voir *Pasteurella aviaire*).
— de la coqueluche, 534.
— — (cultures), 535.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 538.
— — (morphologie), 534.
— de Pfeiffer (recherche du), 532.
— (propriétés biologiques), 536.
— de la pseudo-tuberculose zoogléique, 695.
Coccus de la fièvre de malte, 341.
Cœur (ponction du) pour prélèvement du sang, 214.
Cohn (liquide de), 119.
Colibacille, 14, 489.
— (action pathogène), 494.
— (anomalies), 493.
— (cultures), 490.
— (diagnostic bactériologique de l'infection, par le), 497.
— (morphologie), 490.
— (propriétés biologiques), 492.
— (réactions du) à l'égard des sérums, 492.
— (recherche et numération du) dans les eaux, 883.
— (siège), 496.
— (tableau indiquant les caractères essentiels du), 440, 441.
— (toxines), 495.
— (vaccination), 497.
— (vitalité), 492.
Colilysine, 35, 496.
Collage des coupes, 251.
Colorant (choix du), 236.
— et solutions colorantes, 233.
Coloration des bacilles acido-résistants, 241.
— des capsules, 242.
— des cils, 244.
— d'une coupe bactériologique, 253.
— par l'éosine-bleu, 242.
— à l'état frais, 235.
— — sec sur lames, 236.
— par la méthode de Gram, 239.
— des microbes, 232.
— — sur frottis, 238, 241.
— des spores, 243.
Complément, 47, 69.
— (déviation du), 70.
— (fixation du), 343, 347, 374, 419, 428, 539, 552, 703, 705, 712, 717, 756.
— (mise en évidence de la sensibilisatrice par la réaction de fixation du), 69.
Conjonctivite aiguë contagieuse (bacille de la), 533.
Conradi-Drigalski (milieu de), 459.
Conradi-Kayser (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 868.

Conradi-Kayser (milieu de), 459.
— (toxine typhique de), 450.
Conservation des pièces, 249.
— des semences, 162.
Contention des animaux, 192.
— (appareil à) de Latapie, 193.
Coprécipitations, 312.
Coqueluche (coccobacille de la), 534, 535.
— (examen bactériologique de la), 534.
— (sérothérapie de la), 539.
— (vaccinothérapie de la), 539.
Cornevin, Arloing et Thomas (procédé de) pour l'immunisation contre le *Bacillus Chauvæi*, 632.
Corpuscules métachromatiques de Neisser, 391.
Corps réducteurs (éviction de l'oxygène par l'emploi de), 175.
Cotoni (milieux de culture de), 291.
Coupes bactériologiques, 248.
— (collage des), 251.
— (coloration des), 253.
— (débitage des), 251.
Courmont (procédé de J.) pour l'ensemencement du sang, 868.
Crachats (analyse bactériologique des), 849.
— tuberculeux, 652.
Cramer (milieux de culture de), 291.
Culex fasciatus, 833.
Cultures d'*Actinomyces bovis*, 701.
— des anaérobies (procédés de), 176.
— d'*Aspergillus fumigatus*, 723.
— de bacille du chancre mou, 541.
— du bacille diphtérique, 390.
— — dysentérique du type Flexner, 513.
— — — Shiga, 502.
— — fusiforme, 645.
— — de la lèpre, 686.
— — morveux, 416, 423.
— — paratyphique A, 476.
Cultures du bacille paratyphique B, 480.
— — de la peste, 574.
— — de Pfeiffer, 528.
— — pyocyanique, 349.
— — du tétanos, 602.
— — tuberculeux, 656.
— — typhique, 434.
— de *Bacillus Chauvæi*, 629.
— de la bactéridie charbonneuse, 368.
— à basses températures (étuves pour), 150.
— de charbon, 371.
— de colibacille, 490.
— (coloration des microbes en), 237, 239.
— (conservation des milieux de), 137.
— et ensemencement des microbes aérobies (procédés de), 151.
— d'*Entamœba histolytica*, 777.
— (Examen des microbes en), 232.
— en flacon (dispositif de Würtz), 179.
— de gonocoques, 330.
— impures de Scheres-chewsky, 741.
— de *Leishmania Donovani*, 805.
— des microbes anaérobies, 171.
— de *Micrococcus melitensis*, 342.
— (milieux de) albumineux composés, 136.
— (—) de Hiss, 290.
— (—) au sang, 291.
— (—) spéciaux, 169.
— (—) de Truche, Cramer et Cotoni, 291.
— de *Pasteurella* aviaire, 593.
— de pneumobacille, 360.
— sur pommes de terre (dispositif pour), 183.
— (procédés de) exceptionnels, 161.
— de *Proteus vulgaris*, 524.
— pures de Mühlens, 741.
— — de Noguchi, 742.
— (récipients de), 151.
— de rouget du porc, 426, 427.
— de *Saccharomyces albicans*, 720.
Cultures sous l'huile de vaseline, 180.
— sous le microscope, 161.
— de spirilles de la fièvre récurrente, 768.
— de spirochète de la syphilis, 740.
— de *Sporotrichum Beurmanni*, 711.
— de staphylocoque, 258.
— de *Streptothrix Maduræ*, 707.
— à températures dysgénésiques, 169.
— totales stérilisées de bacilles typhiques (vaccination par), 470.
— (transvasement des milieux de), 138.
— de trypanosomes, 813.
— en tube cacheté sous lanoline, 180.
— de vibrion cholérique, 547.
— — septique, 620.
— dans le vide (étuves pour), 149.
Cuti-réaction, 677, 763.
Cyanophycées, 2.
Cytase, 47, 50, 51, 69.
Cytorrhyctes luis, 739.
Danysz (virus), 488.
D'Arsonval (étuve), 145.
Débitage des coupes, 251.
Debove (seringue de), 196.
De Christmas (procédé de) pour l'obtention de la toxine gonococcique, 336.
Deneke (vibrion de), 561.
Denier et Brau (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 560.
Dénitrification, 30.
Dermatoses des pays chauds (parasites des), 738.
Desmoulières (antigène de), 756.
Dessiccation des bactéries, 22.
Déviation du complément, 70.
— — (diagnostic de l'infection tuberculeuse par la), 679.
Diastases, 26.
Dieudonné (gélose de), 564.
Diphtérie aviaire, 397.
— (diagnostic de la), 406.
— (strepto-), 397.

Diphtérique (bacille), 4, 386.
— (—) et bacille pseudo-diphtérique, 404.
— (toxine), 400.
Diplobacilles, 9.
Diplococcus crassus, 307, 312, 321.
— *intracellularis meningitidis*, 306.
— *pharyngis flavus I*, 320.
— *pharyngis flavus II*, 320.
— *pharingis flavus III*, 311, 320.
— *pharyngis siccus*, 320.
— *pneumoniæ*, 288.
— *reniformis*, 642.
Diplocoques, 2, 9.
— de Talamon Frænkel, 288.
Dispositif pour le transport des échantillons d'eaux, 878.
Dourine (trypanosome de la), 820.
Drigalski-Conradi (milieu de), 457.
Du Cazal et Vaillard (bacille de), 697.
Ducrey (bacille de), 540.
Dutton (trypanosome de), 814.
Dysenterie amibienne expérimentale, 780.
— bacillaire, 501.
— — (diagnostic bactériologique de la), 514.
— — humaine (propriétés du sérum antidysentérique sur la), 519.
— — (sérum des sujets atteints de), 506.
— expérimentale, 508.
Dysentérique (amibe), 773.
— (bacille), 501.
— (hépatite), 779.
— (toxine), 510.
Eaux (analyse bactériologique des), 876.
— (— qualitative de l'), 883.
— (— quantitative des), 880.
— (dispositif pour le transport des échantillons d'), 878.
— (épuration biologique des), 30.
— (feuilles de renseignements pour l'analyse bactériologique de l'), 878.
— (filtration de l'), 111.
Eaux (flore bactérienne des), 888.
— (interprétation des résultats dans les analyses des), 886.
— de levure, 119.
— de malt, 118.
— (prélèvement des), 876.
— (principes généraux pour l'analyse bactériologique des), 879.
Eberth (bacille d'), 432.
Ébullition (procédé d'éviction de l'oxygène), 171.
— (stérilisation par), 104.
Écouvillons coudé et droit, 213.
Ectoplasme, 774.
Ehrlich (méthode d') pour la coloration des bacilles acido-résistants, 241.
— (procédé d') pour la coloration du bacille de Koch, 656.
— (—) pour le titrage du sérum antidiphtérique, 413.
— (théorie des « chaînes latérales » d'), 55.
Eijkman (procédé de) pour la recherche et la numération du colibacille, 885.
Éléments figurés (résorption des), 46.
Empoisonnements alimentaires (bacilles des), 480.
Émulsion bacillaire, 674.
Encombrement (influence de l') sur la réceptivité, 39.
Endo (milieu d'), 456.
Endomyces albicans, 719.
Endoplasme, 774.
Endospores, 11.
— (formation d') dans un bacille, 11, 12.
Endotoxines, 34.
— de Besredka, 451.
Ensemencements, 153.
— par étalement, 159.
— au fil de platine, 156.
— en gélatine en boîtes de Petri, 164.
— en gélose fondue, en boîtes de Petri, 166.
— des microbes aérobies (procédé d'), 151.
— des milieux de culture solides en strie (dispositif pour), 182.
Ensemencement des milieux solides par piqûre (dispositifs pour), 181.
— à la pipette, 158.
Entamœba coli, 782.
— *histolytica*, 773.
— — (cultures), 777.
— — (manifestations pathologiques), 779.
— — (morphologie), 773.
— — (propriétés biologiques), 777.
— — (recherche et diagnostic), 780.
— — ou *africana*, 782.
Entérocoque, 301.
— (action pathogène), 303.
— (cultures), 302.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 304.
— (morphologie), 301.
— (propriétés biologiques) 303.
— (siège), 303.
— (toxines), 303.
Entonnoir à filtration chaude, 125.
Enzymes, 26.
Éosine-bleu (coloration pour l'), 242.
Épidermophytose inguinale, 734.
Épreuve de Castellani, 65.
— du péritoine avec sérum antiméningococcique et le méningocoque, 313.
— — avec sérum antiméningococcique et paraméningocoque, 315.
Épuisement du milieu, (théorie de l'), 43.
Épuration biologique des eaux, 30.
Équine (*Pasteurella*), 598.
Erlenmeyer (fiole d'), 151.
Érythrasma (parasites de l'), 737.
Escherich (bacille d'), 489.
Esmarch (gélatine en tube d'), 166.
Étalement (ensemencement par), 159.
Étuve (appareil improvisé pour remplacer l'), 148.
— d'Arsonval, 145.
— chauffées à l'électricité, 147.
— — au pétrole, 148.

Étuve à coagulation de sérum 132.
— pour cultures dans le vide, 149.
— à destinations spéciales, 149.
— Hearson, 148.
— — pour cultures à basse température, 149.
— opsonique de Hearson, 79.
— et régulateurs, 141.
— de Roux, 142.
Examen des microbes sans coloration à l'état humide, 232.
— microscopique et coloration des microbes, 232.
Examens ultra-microscopiques (technique des), 229.
Excreta (recherche du bacille typhique dans les), 468.
Expectoration (procédé pour recueillir les crachats), 214.
Exsudats des muqueuses (prélèvement des), 213.
— purulents (analyse des), 862.
— séro-fibrineux (analyse des), 862.
Extraction de l'air par le vide (dispositif pour l'), 174.
— de l'oxygène par le vide, 173.
Extraits de viande (bouillons aux), 116.
Favus, 736.
Fausse membrane diphtérique (coupe de), 397.
— — (frottis de), 409.
Fermentations, 27.
— acétique, 29.
— alcoolique, 28.
— ammoniacale, 29.
— butyrique, 28.
— lactique, 28.
— des sucres par le pneumocoque, 292.
Ferran (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 568.
— (vaccin anticholérique de), 570.
Ficker et Hoffmann (procédé de) d'enrichissement dans un milieu électif, 462.
Ficker (procédé de) pour la concentration par précipitation, 461.
Fièvre aphteuse (virus de la), 842.
— charbonneuse, 375.
— jaune (virus de la), 832.
— de Malte (coccus de la), 341.
— quarte (parasite de la), 792, 793.
— récurrente (diagnostic bactériologique), 771.
— — (sérothérapie de la), 772.
— — (spirille de la), 766.
— du texas, 801.
— tierce maligne (parasite de la), 793.
— (parasite de la), 790, 791.
— de trois jours ou fièvre à pappataci, 828.
— tropicale (parasite de la), 793.
— typhoïde du cheval, 598.
— — (reproduction expérimentale de la) par ingestion, 448.
— — (séropronostic de la), 468.
— — (sérothérapie de la), 473.
— — (vaccinothérapie de la), 473.
Fil de platine (ensemencement au), 156.
— — pour ensemencements, 153.
Filtrantes (bougies), 106.
Filtrants (microbes), 825.
— (virus) divers, 844.
Filtration (appareils de), 108.
— (appareil improvisé pour), 108.
— chaude (entonnoir à), 125.
— par compression (appareil Chamberland pour), 112.
— (dispositif à double usage pour), 109.
— de l'eau, 111.
— de petites quantités de liquide, 110.
— (séparation des microbes par), 169.
Filtration sous pression, 111.
— (stérilisation par), 105.
Filtrats (dispositif pour recueillir les), 112.
Filtre à bourre de Miquel, 897.
— dit pour essais de Martin, 111.
— de Kitasato, 110.
Finkler-Prior (vibrion de), 560.
Fiole d'Erlenmeyer, 151.
— de Gayon, 151.
— plate de Roux, 152.
— de Vivien, 152.
Fixateur, 69.
— spécifique, 51.
Fixation du complément, 69, 72, 343, 347, 374, 419, 428, 539, 552, 703, 705, 712, 717, 756.
— des pièces, 248.
Flacherie des vers à soie, 11.
Flacon compte-gouttes, 234.
— pour recueillir le sang, 130.
— répartiteur, 139.
Flambage au four, 95.
Flexner (bacilles dysentériques du type), 512.
Flore bactérienne des eaux, 888.
Foa (pneumocoque hémorragique de), 296.
— (pneumocoque œdématogène de), 296.
Foin (infusion de), 118.
Follicules tuberculeux, 669.
Four Pasteur, 95.
Frænkel (procédé de) pour la coloration du Bacille de Koch, 656.
— (tube de), 185.
— et Voges (liquide de), 120.
Frankland (procédé de) pour la filtration de l'air, 897.
Friedländer (pneumobacille de), 357.
Friedmann (bacille de), 684.
Froid (action du) sur les bactéries, 20.
— (influence du) sur la réceptivité, 39.
Gablet (procédé de) pour la coloration du Bacille tuberculeux, 656.
Gaethgens (milieu de), 457.

Gaillard, Lannelongue et Achard (sérum antituberculeux de), 683.
Gale des lapins, 190.
Galeotti et Lustig (procédé de) pour la préparation de la toxine pesteuse, 577.
Galziekte, 823.
Garros (bougie), 106.
Gartner (bacille de), 488.
Gaveurs de pigeons (affection des), 724.
Gayon (fiole de), 151.
Gaz inertes (éviction de l'oxygène par substitution de), 172.
Gélatine agar (milieu de culture), 126.
— (ensemencement en boites de Petri), 164.
— (milieu de culture), 121.
— en tube d'Esmarch, 166.
Gélose de Dieudonné, 564.
— fondue, en boites de Petri (ensemencement en), 166.
— glucosée glycérinée (milieu de culture), 126.
— glycérinée (milieu de culture), 126.
— (milieu de culture), 123.
— sanglante, 137.
— -sérum, 136.
— sucrées (milieux de culture), 126.
Gengou et Bordet (coccobacille de), 534.
Germes d'association secondaire dans la diphtérie (recherche des), 409.
— (porteurs de), 396.
Giemsa (méthode de) pour la recherche du tréponème, 751.
— (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 788.
Glycériné (bouillon), 117.
Glycérinée (gélose), milieu de culture, 126.
Gonocoque, 329.
— (action pathogène), 334.
— (aspect microscopique), 329.
— (coloration), 330.
— (cultures), 330.
— (examen microscopique direct), 338.
Gonocoque (identification), 339.
— (morphologie), 329.
— dans le pus blennorragique, 329.
— (propriétés biologiques), 332.
— (réactions biochimiques), 333.
— (réactions vis-à-vis de l'antisérum), 333.
— (recherche du). Interprétation des résultats, 339.
— (séro-diagnostic), 339.
— (sérothérapie), 340.
— (toxine), 336.
— (vitalité du), 332.
Gourme du cheval (Streptocoque de la), 282.
Gram (coloration des coupes par la méthode de), 254.
— (méthode de) pour la coloration des microbes, 239.
Granulie sporotrichosique généralisée du rat, 713.
Gypseums, 733.
Haffkine (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 568.
— (vaccin anticholérique de), 570.
Hansen (bacille de), 685.
Haricots (bouillon de), 119.
Hauser (procédé de) pour la coloration du Bacille de Koch, 655.
Hearson (étuve), 148.
— (étuve) pour cultures à basse température, 149.
— (— oposonique de), 79.
Hecht (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 761.
Hématozoaire du paludisme, 786.
— — (action pathogène expérimentale), 795.
— — (évolution de l'), 791.
— — (morphologie), 786.
— — (recherche de l'), 797.
Hémoculture, 867.
Hémoglobinophilie, 529.
Hémoglobinurie du bœuf, 801.
Hémolysines, 35, 264, 550, 604.
Hémorragiques (septicémies), 590.
Hépatite dysentérique, 779.
Hérédo-syphilis, 743.
Hesse (Tube de), 896.
Hétéro-agglutinines, 63.
Hiss (Bacilles dysentériques du type Y de), 514.
— (milieu de culture de), 290.
Hoffmann et Ficker (procédé de) d'enrichissement dans un milieu électif, 462.
Hog-choléra, 597.
— (Bacille du), 487.
— — (virus du), 843.
Homogénéisation des crachats, 852.
Horse-sickness, 845.
Huile de vaseline (culture sous l'), 180.
Humeurs (théorie bactéricide des), 43.
— (théorie du pouvoir atténuant des), 44.
Humorale (théorie) de l'immunité, 43.
Hydrogène (appareil générateur d'), 173.
— (— de Roux pour produire l'), 172.
— (vide avec lavage à l'), 175.
Hygiène (analyses bactériologiques appliquées à l'), 876.
Identification du gonocoque 339.
— du méningocoque, 325.
— — (interprétation des résultats), 326.
— des microbes, 76.
— du *Micrococcus melitensis*, 364.
— du Pneumobacille, 363
Immunité, 39, 41.
— acquise, 42, 50.
— dans les maladies infectieuses, 48.
— naturelle, 41, 48.
— (notions sommaires sur le mécanisme de l'), 42.
— (théorie cellulaire de l'), 46.
—(—)des « chaînes latérales » d'Ehrlich, 55.
— (— humorale de l'), 43.
— (— de M. Nicolle), 58.

Immunité (théories physico-chimiques de l'), 55.
— contre les toxines, 53.
Immun-protéidine-pyocyanase, 355.
Immun-sérum (réactions du Coccobacille de la coqueluche vis-à-vis de l'), 536.
Inclusion à la paraffine, 249.
— — (technique de l'), 250.
— en sacs de collodion, 204.
Incubation et observation ultérieure, 159.
Indice opsonique (applications pratiques de la détermination de l'), 82.
— — (détermination de l'), 81.
Indiella Mansoni, 708.
— *Reynieri*, 708.
Indol (recherche de l'), 442.
Infection (l'), 36.
— par l'*Aspergillus fumigatus*, 724.
— par le Bacille du chancre mou (diagnostic bactériologique de l'), 543.
— paratyphique A (diagnostic bactériologique de l'), 478.
— — paratyphique B (diagnostic bactériologique de l'), 486.
— — de la peste (diagnostic bactériologique de l'), 582.
— — du rouget du porc (diagnostic bactériologique de l'), 428.
— charbonneuse (diagnostic de l'), 380.
— — (nature de l'), 379.
— par le Coccobacille de la coqueluche (diagnostic bactériologique de l'), 538.
— par le Colibacille (diagnostic bactériologique de l'), 497.
— (conditions relevant du microbe), 37.
— entérococcique (diagnostic bactériologique de l'), 304.
— gonococcique (diagnostic bactériologique de l'), 337.
— (influence du terrain sur l'), 39.
— lépreuse (diagnostic bactériologique de l'), 689.
Infection mélitococcique (diagnostic bactériologique de l'), 345.
— méningococcique (diagnostic de l'), 321.
— morveuse expérimentale, 420.
— naturelle (conditions de l') par la *Micrococcus melitensis*, 343.
— par le *Phlebotomus papataci*, 829.
— par le pneumobacille (diagnostic bactériologique de l'), 362.
— pneumococcique (diagnostic bactériologique de l'), 297.
— par le *Proteus vulgaris* (diagnostic de), 526.
— pyocyanique (diagnostic bactériologique de l'), 356.
— (rôle de la porte d'entrée des microbes), 38.
— staphylococcique (diagnostic de l'), 264.
— streptococcique (diagnostic de l'), 279.
— tétanique (diagnostic de l'), 613.
— — (mécanisme de l'), dans les conditions naturelles, 610.
— à tétragènes (diagnostic bactériologique de l'), 286.
— trichophytique (évolution générale de l'), 730.
— tuberculeuse (diagnostic bactériologique de l'), 674.
— typhoïdes humaines (application de la séro-réaction au diagnostic des), 464.
— typhoïdique (diagnostic bactériologique de l'), 463.
— par le vibrion septique dans les conditions naturelles, 624.
Influenza du cheval, 598.
Infusion de foin et de paille, 118.
— de pommes de terre ou de carottes, 118.
— de touraillons, 118.
Inhalation, 207.
Injection intra-artérielle, 202.
Injection intracérébrale, 203.
— intramusculaire, 200.
— intrapleurale, 203.
— intratrachéale, 206.
— de maléine, 418.
— dans le rectum, 208.
— de sérum et anaphylaxie, 87.
— sous-cutanée, 200.
— sous-durale, 202.
— dans le tube digestif, 208.
Inoculations, 195.
— aux animaux, 170, 187.
— (appareil pour), 197.
— dans les centres nerveux et leurs enveloppes, 202.
— (choix de l'espèce à inoculer et mode d'), 209.
— (choix du mode d'), 210.
— expérimentale de staphylocoque, 261.
— intra-oculaire, 202.
— intraveineuse, 201.
— (matériel pour les), 195.
— superficielles, 200.
— (technique des), 199.
— dans les tissus cellulaires et musculaire, 200.
— dans la vésicule biliaire, 208.
— dans les voies biliaires, 208.
— — circulatoires, 200.
— — digestives, 207.
— — respiratoires, 206.
Insertion sous la peau, 200.
Insuffisance alimentaire (influence de l') sur la réceptivité, 39.
Intestinal (charbon), 380.
Intra-artérielle (injection), 202.
Intracérébrale (injection), 203.
Intramusculaire (injection), 200.
Intraoculaire (inoculation), 202.
Intrapleurale (injection), 203.
Intratrachéale (injection), 206.
Invisibles (microbes filtrants dits), 825.
Isolement à l'aide des milieux solides préalablement liquéfiés, 164.

Isolement des anaérobies, 183.
— des microbes aérobies, 163, 171.
— — — (artifices de séparation), 168.
— — — (méthodes générales), 163.
— — — (— spéciales), 168.
— — — (séparation par filtration), 169.
— (Procédé de Veillon pour), 168.
— à la surface des milieux solides par dilution, 167.
— — des milieux solides par épuisement, 167.
Jacobson (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 852.
Jæger (pseudo-méningocoque de), 307, 321.
Jungano (Staphylocoque), de 643.
Kala-azar indien, 804.
Kindborg (milieu de), 459.
Kitasato (filtre de), 110.
Kitt et Norgaard (procédé de) pour l'immunisation contre le *Bacillus Chauvæi*, 633.
Klaussner (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 763.
Klebs-Löffler (bacille de), 386.
Koch (bacille de), 650.
— (boîte de), 131.
— (cellule de), 161.
— (plaques de), 166.
— (expériences de) relatives à l'action pathogène du vibrion cholérique, 557.
— (tuberculine ancienne de), 672.
Kolle (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 568.
Kraus (réaction de), 66.
— et Biedl (théorie de) de l'anaphylaxie, 92.
Kühne (procédé de) pour la coloration du bacille de Koch, 655.
Kyste hydatique (anaphylaxie au liquide de), 89.
Lacomme (procédé de) pour la recherche et la numération du colibacille, 885.
— (tube de), 179.
Lactique (fermentation), 28.
Lafforgue (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 869.
Lagriffoul et Rodet (sérum antityphique de), 474.
— Rodet et Wahly (toxine typhique de), 450.
Lait (milieu de culture), 120.
Lames et lamelles, 231.
Lannelongue, Achard et Gaillard (sérum antituberculeux de), 683.
Lanoline (culture en tube cacheté sous), 180.
Lapins (maladies des), 190.
— (préhension et contention du), 192.
Latapie (appareil à contention de), 193.
— (—) pour récolte du sang, 216.
— (—) pour récolte du sérum, 130.
— et Levaditi (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 762.
Laveran (hématozoaire de), 786.
— (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 788.
— (procédé de) pour la filtration de l'air, 898.
Laverania malariæ, 793.
Leclainche et Vallée (procédé de) pour l'immunisation contre le *Bacillus Chauvæi*, 633.
Leishmania, 804.
— *Donovani*, 804.
— — (cultures), 805.
— — (habitat dans l'organisme), 806.
— — (mode d'infection ; hôte intermédiaire), 807.
— — (morphologie), 804.
— — (recherche du parasite), 807.
— *furonculosa*, 810.
— *infantum*, 808.
Leishman (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme, 788.
Lentz et Tietz (milieu de), 460.
Lepidophyton, 738.
Lèpre (bacille de la), 685.
— (diagnostic bactériologique de la), 689.
— des rats, 191.
— (thérapeutique bactériologique), 691.
Léproïde (maladie) des rats, 691.
Leucocidines, 36, 264.
Levaditi et Latapie (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 762.
— (technique de) pour la recherche et la coloration du Tréponème, 754.
Levures, 24.
Lipochromes, 25.
Liquide céphalo-rachidien (analyse bactériologique du), 858.
— — (recherche du Méningocoque dans le), 321.
— de Cohn, 119.
— de Frænkel et Voges, 120.
— de kyste hydatique (anaphylaxie ou), 89.
— non stériles (dispositif pour répartition des), 139.
— d'Ouchinsky, 119.
— de Pasteur, 119.
— de Raulin, 16.
Liverpoolvirus, 488.
Löffler (Bacille de), 386.
— (milieu de), 460.
— (procédé de) pour la recherche du tréponème, 752.
— (recherche du bacille de), 406.
— (sérum peptoné de), 391.
Luciférine, 24.
Luétine-réaction, 763.
Lumière (action de la) sur les bactéries, 21.
— (appareil) pour récolte du sérum, 217.
— (production de), 23.
Lustig et Galeotti (procédé de) pour la préparation de la toxine pesteuse, 577.
Lymphe, 672.

Macération de viande, 118.
— — (préparation de la) 118.
Mac-Fadyen et Rowland (toxine typhique de), 450.
Macrocytase, 51.
Madurella mycetomi, 708.
Mal de Caderas (Trypanosome du), 821.
Maladies des animaux de laboratoire, 190.
— de Bollinger, 597.
— infectieuses (diagnostic des) par la réaction de fixation de Bordet-Gengou, 76.
— — (Immunité dans les), 48.
— (influence de l'état de) sur la réceptivité, 39.
— du jeune âge des chiens, 598.
— léproïde des rats, 691.
— perlée, 662.
— pyocyanique expérimentale, 348.
— du sérum, 88.
Malassez (plateau grillagé avec mors de), 194.
Mallié (bougie), 106.
Maléine, 35.
— (anaphylaxie à la tuberculine et à la), 89.
— (formation de la), 418.
— (injection de) à l'animal, 418.
— (préparation de la), 418.
— (réactions du bacille morveux à la), 423.
Mammite streptococcique de la vache (streptocoque de la), 282.
Mancha, 630.
Maragliano (sérum antituberculeux de), 683.
Marchoux (sérum anticharbonneux de), 384.
Marino (procédé de) pour la coloration de l'hématozoaire du paludisme. 789.
— (méthode de) pour la recherche du tréponème, 751.
— (procédé de) pour l'isolement des anaérobies, 183.
Marmier (procédé de) pour l'obtention de toxine charbonneuse, 373.
Marmorek (sérum de), 280, 281.
— (sérum antituberculeux de), 683.
Martin (appareil à filtration de), 110.
— (bouillon), 117.
— (filtre dit pour essais de), 111.
— (procédé de) pour la préparation de la toxine diphtérique, 401.
Matras Pasteur, 151.
Mélanogène (bacille), 353.
Mélitococcie (diagnostic bactériologique de la), 345.
— (recherche du germe spécifique de la), 345.
— (séro-diagnostic de la), 346.
Méningite aseptique, 860.
— cérébro-spinale épidémique (liquide céphalo-rachidien dans la), 305.
— — expérimentale, 315.
— — paraméningococcique (liquide céphalo-rachidien de), 319.
— sérique, 88.
— tuberculeuse, 860.
Méningocoque, 305.
— (action pathogène expérimentale), 314.
— (agglutination des), 311.
— (caractères distinctifs des germes similaires), 318.
— (cultures), 307.
— (épreuve du péritoine avec sérum antiméningococcique et le), 313.
— (identification), 325.
— (morphologie), 306.
— dans le mucus rhino-pharyngé, 317.
— (propriétés biologiques), 309.
— (Pseudo-), 319.
— (—) de Jæger, 321.
— (recherche du), 321.
— (siège du) dans l'organisme humain, 316.
— (toxines), 316.
Mensuration des microbes, 225.
Méthode de Claudius (coloration des coupes par la), 255.
Méthode pour la coloration des microbes sur frottis, 241.
— d'Ehrlich pour la coloration des bacilles acido-résistants, 241.
— de Gram (coloration des coupes par la), 254.
— — (— par la), 239.
Metchnikoff (expériences de) relatives à l'action pathogène du vibrion cholérique, 557.
— Roux et Salimbeni (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 559.
— (vibrion de), 561.
Microbes aérobies, 13.
— — (isolement des), 163.
— — (fixation d'oxygène par un), 181.
— — (procédés de culture et ensemencement des), 151.
— anaérobies, 14.
— — (culture et isolement des), 171.
— — des processus fétides et gangreneux, 636.
— — (procédés de cultures des), 176.
— (caractères généraux des), 1.
— en cultures (examen des), 232.
— — (coloration des), 237, 239.
— (examen des) sans coloration à l'état humide, 232.
— (microscopique et coloration des), 232.
— filtrants dits « invisibles », 825.
— (identification des), 76.
— (influence de la quantité de) dans le déterminisme des infections, 38.
— (mensuration des), 225.
— (notions sommaires sur la physiologie des), 9.
— pathogènes (recherche des) dans les eaux, 885.
— (place des) parmi les êtres vivants, 1.
— (reproduction des), 9.

Microbes (résistance des) à la chaleur, 168.
— (rôle sur la porte d'entrée des) sur l'infection, 38.
— de la péripneumonie des bovidés, 826.
— sur frottis (coloration des), 238, 241.
Microbiennes (associations), 23, 38.
Microbacillus prodigiosus, 611.
Micrococcus catarrhalis, 319.
— *fœtidus*, 643.
— *lanceolatus*, 288.
— *melitensis*, 341.
— — (action pathogène expérimentale), 344.
— — (conditions de l'infection naturelle par le), 343.
— — (cultures), 342.
— — (morphologie), 342.
— — (propriétés biologiques du), 342.
— — (siège dans l'organisme), 343.
— — (vitalité et résistance du), 342.
— *paramelitensis*, 347.
— *Pasteuri*, 288.
— *pharyngis cinereus*, 320.
— *tetragenes*, 282.
— *tetragenes albus*, 284.
Microcoques, 2.
Microcytase, 51.
Microphages, 50.
Microscope (constitution du), 221.
— (cultures sous le), 161.
— (entretien du), 226.
— (examen avec l'objectif à immersion), 223.
— (examen avec l'objectif à sec), 224.
— (grossissement), 224, 225.
— (mensuration), 224.
— (mode d'emploi du), 223.
— et ultramicroscope, 221.
Microsporons, 734.
— *Audouini*, 734, 736.
— du chien, 734, 736.
— *equinum*, 734, 736.
— *fulvum*, 736.
— *lanosum*, 734, 736.
— *tardum*, 734, 736.
— du type animal, 734.
Microsporons du type humain, 734.
Microsporum furfur, 737.
— *munitissimum*, 738.
Microtome de Minot, 252.
Milieux artificiels, 16.
— de culture, 16, 114.
— — albumineux composés, 136.
— — — purs, 127.
— — non albumineux liquides, 115.
— — — solides, 121.
— — animaux, 115.
— — artificiels, 115, 121.
— — de Barsiekov, 436.
— — (classification), 114.
— — chimiquement définis, 119.
— — (conservation des), 137.
— — de Hiss, 290.
— — liquide (dispositifs pour), 178,
— — naturels, 120.
— — (préparation des), 115.
— — au sang, 291.
— — solides animaux, 121.
— — — et milieux liquides (dispositifs applicables indifféremment aux), 177.
— — — (dispositif pour ensemencements des) par piqûre, 181.
— — solides (dispositifs pour ensemencement des) en strie, 182.
— — solides naturels, 126.
— — de Tarozzi, 181.
— — (transvasement des), 138.
— — Truche, Cramer et Cotoni, 291.
— — végétaux, 118.
— d'enrichissement du bacille typhique, 455, 460.
— d'isolement du bacille typhique, 455.
— naturels, 15.
Minot (microtome de), 252.
Miquel (appareil de) pour prélever les eaux en profondeur, 877.
— (ballon diluteur de), 897.
— (filtre à bourre de), 897.
— (procédé de) pour la filtration de l'air, 897.
Mistbacillus, 692.
Mœller (procédé de) pour la coloration des spores, 243.
Moreschi (toxine typhique de), 450.
Morve (bacille de la), 415.
— (diagnostic bactériologique de la), 423.
— (sérodiagnostic de la), 424.
Morveuse (infection) expérimentale, 420.
Moule à paraffine, 251.
Mouton (bradsot du), 630.
— (pneumo-entérite du), 597.
Much (procédé de) pour la coloration du bacille de Koch, 655.
Mucus rhino-pharyngé (méningocoques dans le), 317.
— — (prélèvement de) dans le rhino-pharynx, 323.
Muguet, 719.
Mühlens (cultures de), 741.
Müller (procédé de) pour la concentration par précipitation, 462.
Mycétome, 707.
Mycobacterium putricolens, 694.
Nagana (trypanosome du), 819.
Nastine, 691.
Neisser (corpuscules métachromatiques de), 391.
— (procédé de) pour la coloration du bacille de Löffler, 389.
Neufeld (phénomène de), 292.
Neutuberkulin, 674.
Nicolaïer (Bacille de), 600.
Nicolaysen (procédé de) pour l'obtention de la toxine gonococcique, 336.
Nicolle (théorie de) de l'anaphylaxie, 91.
— (théorie de M.) de l'immunité, 58.
— et Morax (procédé de M.) pour la coloration des cils, 246.
Nitrières artificielles, 30.
Nitrification, 29.
Niveums, 733.
Nocard-Preisz (Bacille de), 697.

Noguchi (cultures de), 742.
— (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 763.
Norgaard et Kitt (procédé de) pour l'immunisation contre le *Bacillus Chauvæi*, 633.
Obermeier (spirille d'), 748, 766.
Œuf (milieu de culture), 136.
Oïdium albicans, 719.
Oiseaux (maladies des), 191.
— (trypanosomes des), 823.
Oospora (les) dans le milieu extérieur, 727.
— *asteroïdes*, 726, 727.
— *aurea*, 726.
— *buccalis*, 726.
— *destructor*, 727.
— *japonica*, 726.
— *lacertæ*, 727.
— *lingualis*, 726.
— *luteola*, 726.
— *maduræ*, 707.
— — (Voy. *Streptothrix maduræ*).
— *pulmonalis*, 726.
Oosporoses, 726.
— animales, 727.
— buccale, 726.
— humaines, 726.
— oculaire, 726.
— œsophagienne, 726.
— pulmonaire, 726.
— suppuratives, 726.
Ophtalmo-réaction, 677.
Opsonines, 55, 76, 445.
— (nature des), 77.
— (recherche des), 78.
— — normales, 78.
— — spécifiques, 78.
Opsonique (applications pratiques de la détermination de l'indice), 82.
— (détermination de l'indice), 81.
Opsonisant (pouvoir), 76.
Orszag (procédé d') pour la coloration des spores, 245.
Ose, 153.
Ouchinsky (liquide de), 119.
Ovine (*Pasteurella*), 597.
Oxygène (Éviction de l') par l'emploi de corps réducteurs, 175.
— (extraction de l') par le vide, 173.
Oxygène (fixation d') par un microbe aérobie, 181.
— (procédés d'éviction de l'), 171.
Padlewsky (milieu de), 460.
Paille (infusion de), 118.
Paludisme (hématozoaire du), 786.
Pappataci (fièvre à), 828.
Paracolibacilles, 490, 493.
Paraffine (enlèvement de la), 253.
— (inclusion à la), 249.
— (moule à), 251.
Paramélitococcie, 347.
Paraméningocoques, 318.
— (épreuve du péritoine avec sérum antiméningococcique et), 315.
Parasites des caratès, 738.
— des dermatoses des pays chauds, 738.
— facultatifs, 37.
— de la fièvre tropicale, 793.
— de la fièvre quarte, 793.
— de la fièvre tierce, 791.
— du kala-azar indien (recherche du), 807.
— obligés, 37.
— de la peau et du système pileux (champignons), 728.
— de la piedra, 738.
— de la pinta, 738.
— du pityriasis versicolor et de l'érythrasma, 737.
— de la tierce, 790.
— du tokelau, 738.
— de la trypanosomiase humaine (recherche du), 817.
Paratétragène zoogléique, 287.
Paratuberculeux (bacilles), 692.
Paratyphiques (bacilles), 475.
— A (bacille), 475.
— B (bacille), 479.
Pasteur (four), 95.
— (liquide de), 119.
— (matras), 151.
— (pipettes), 155.
— (tube double de), 179.
Pasteurella des animaux sauvages, 597.
— aviaire, 592.
— — (action pathogène), 595.
Pasteurella aviaire (cultures), 593.
— — (morphologie), 593.
— — (propriétés biologiques), 593.
— — (toxines), 596.
— — (virulence. Atténuation et exaltation du virus), 594.
— — (vitalité), 593.
— bovine, 597.
— du buffle, 597.
— canine, 598.
— caprine, 598.
— équine, 598.
— ovine, 597.
— porcine, 596.
Pasteurellæ, 590.
— des animaux de laboratoire, 599.
— (caractères généraux des), 592.
Pasteurellose, 190, 191, 590.
— (autres), 596.
— (rapports des) entre elles, 590.
— (vaccination et sérothérapie dans les), 599.
Peau (champignons parasites de la) et du système pileux, 728.
— (insertion sous la), 200.
Peigneurs de cheveux (affection des), 724.
Peptone (préparation de la solution de), 117.
Peptoné salé (bouillon), 115.
Péripneumonie des bovidés (microbe de la), 826.
Perlsucht, 662.
Perquis et Sacquépée (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 868.
Peste (bacille de la), 572.
— bovine (virus de la), 844.
— expérimentale (effets du sérum antipesteux sur la), 587.
— des oiseaux (virus de la), 844.
— pneumonique, 583.
— pulmonaire, 582.
Petit-lait (milieu de culture), 121.
Petri (boîte de), 152.
— (procédé de) pour la filtration de l'air, 896.
Pfeiffer (bacille de), 527.
— (phénomène de), 51, 68, 552, 566.

Pfeiffer (recherche du coccobacille de), 532.
Phagocytes, 46.
Phagocytose, 80, 81.
Phénomène de Neufeld, 292.
— de Pfeiffer, 51, 68, 552, 566.
— de Theobald Smith, 86.
Philibert et Bezançon (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 853.
Philocytase, 48.
Phlebotomus pappataci, 829.
Phlegmon gazeux (bacille du), 636.
Phlogosine, 263.
Phosphorescence, 23.
Phtisie, 662.
Phycochromacées, 2.
Physalix (tuteur de), 205.
Pièces chirurgicales (manière de recueillir les), 214.
Pied de Madura (champignons du), 707.
Piedra (parasite de la), 738.
Pigment (conditions de la production du), 25.
— jaune verdâtre, 352.
— (production de), 24.
— vert fluorescent, 352.
Pince de Debrand, 237.
— à mors ajourés, 193.
Pinta (parasite de la), 738.
Pipette à boules, 156.
— (ensemencement à la), 158.
— Pasteur (préparation des), 155.
— pour ponction artérielle, 216.
— de Roux pour anaérobie, 178.
— de Wright, 79.
Piqûre de la peau pour prélèvement de sang, 211.
Piroplasma bigeminum, 801.
— *canis*, 802.
— *equi*, 802.
— *ovis*, 802.
— *parvum*, 802.
Piroplasmes, 800.
— (caractères généraux), 800.
Piroplasmose des bovidés, 801.
— des chevaux, 802.
— des chiens, 802.
— du mouton, 802.
Pirquet (von) et Schick (théorie de) de l'anaphylaxie, 90.
Pisciaire (bacille), 684.
Pissette à eau, 236.
Pityriasis versicolor (parasites du), 737.
Plaques de Koch, 166.
Plasmodium malariæ, 793.
— *vivax*, 791.
Plateau grillagé avec mors de Malassez, 194.
— en zinc, 194.
Platine chauffante, 237.
— — de Vignal, 162.
Pneumobacille, 357, 358.
— (action pathogène), 361.
— (cultures), 360.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 362.
— (morphologie), 359.
— (propriétés biologiques), 361.
— (siège), 362.
Pneumocoque, 288.
— (action pathogène), 293.
— (cultures), 290.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 297.
— hémorragique de Foa, 296.
— (morphologie), 289.
— œdématogène de Foa, 296.
— (propriétés biologiques), 291.
— (sang de souris infectée par le), 295.
— (sérothérapie), 299.
— (siège), 297.
— (toxines), 296.
— (vaccination), 298.
Pneumo-entérite du mouton, 597.
Pneumonie contagieuse du porc, 596.
— (coupe de poumon atteint de), 294.
— à pneumobacilles (crachats de), 357.
Pneumonique (peste), 583.
— (sérum de) convalescent, 299.
Pneumotoxine, 296.
Poisons de Vaughan, 91.
Poliomyélite épidémique (virus de la), 833.
Pommelière, 662.
Pomme de terre, 126.
Pommes de terre glycérinées, 127.
— (infusion de), 118.
— (purée de), 127.
Pompe à mercure, 175.
Ponction lombaire (technique de la), 858.
Porc (bacille du rouget du), 426.
— (pneumonie contagieuse, du), 596.
Porcine (*pasteurella*), 596.
Porgès (procédé de) pour la simplification de la réaction de Wassermann, 763.
Porteurs de bacilles, 453.
— de germes, 396, 554.
Poules (choléra des), 191, 590.
Poumon atteint de pneumonie (coupe de), 294.
Pourriture d'hôpital, 646.
Poussières (analyse des), 899.
Pouvoir antitoxique des sérums, 83.
— bactéricide des sérums, 68.
— opsonisant, 76.
— précipitant des sérums, 66.
— préventif et pouvoir curatif des sérums, 84.
Précipitation, 66.
Précipitines, 57, 66.
— (caractères généraux des), 67.
— (rapports entre les agglutinines et les), 68.
— (saturation des), 312.
Précipito - réaction (diagnostic de l'infection tuberculeuse par la), 679.
— (recherche du méningocoque par la), 322.
Preisz- Nocard (bacille de), 697.
Préhension des animaux, 192.
Prélèvements chez les animaux de laboratoire, 214.
— cadavériques, 219.
— pour examens sur coupes, 220.
— pour investigations complètes, 219.
— des pièces, 248.
— des produits pathologiques, 211.

Prélèvement du sang dans la veine de l'oreille du lapin, 216.
— pour simple examen direct, 220.
— (technique du) pour la recherche du bacille de Löffler, 407.
Préparation de la toxine diphtérique (dispositif pour la), 401.
Proca et Vasilescu (méthode de) pour la recherche du tréponème, 752.
Processus fétides et gangreneux (microbes anaérobies des), 636.
Produits pathologiques (examen des), 233.
— — (pélèvement des), 211.
Proteus mirabilis, 524, 526.
— *vulgaris*, 524.
— — (cultures), 524.
— — (morphologie), 524.
Pseudo-diphtériques (bacilles) et bacille diphtérique, 404.
Pseudo-méningocoques, 319.
— de Jæger, 307, 321.
Pseudo-tétanique (bacille) de Tavel, 641.
Pseudo-tuberculoses, 695.
— des lapins, 191.
— microbiennes, 695.
— des oiseaux, 192.
— zoogléique (coccobacille de la), 695.
— — (importance pratique de la), 696.
Psittacose, 191.
— (bacille de la), 487.
Pulmonaire (charbon), 380.
— (peste), 582.
Purée de pommes de terre, 127.
Purulents (analyse des exsudats), 862.
Pus (analyse bactériologique du), 846.
— ano-rectal, conjonctival, etc. (recherche du gonocoque dans le), 338.
— des arthrites (recherche du méningocoque dans le), 325.
— blennorragique, 334.
— (gonocoque dans le), 329.
— bleu (bacille du), 348.
Pus cérébro-méningé, 316.
— génital chez la femme (recherche du gonocoque dans le), 338.
— méningé (recherche du gonocoque dans le), 338.
— (prélèvement de), 213.
— à staphylocoque, 256.
— à streptocoque, 269.
— de testicule morveux, 421.
— urétral chez l'homme (recherche du gonocoque dans le), 337.
Pustule maligne, 379, 380.
Putréfaction, 31.
Pyocyanase, 355.
Pyocyanine, 352.
Pyocyanique (Bacille), 348.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 356.
— (maladie) expérimentale, 348.
Pyocyanolysine, 35, 355.
Pyoxanthose, 352.
Radium (action du) sur les bactéries, 21.
Rage (virus de la), 836.
Ramond (milieu de), 438.
Ranvier (chambre humide de), 161.
Rappin (sérum antituberculeux de), 684.
Rats (maladies des), 191.
— (maladie léproïde des), 691.
— (trypanosome du), 822.
Rate (recherche du bacille typhique dans la), 469.
Ratinbacillus, 488.
Raulin (liquide de), 16.
Ravaut (méthode de) pour la recherche du tréponème, 753.
Rayons ultra-violets (action des) sur les bactéries, 21.
Réaction de fixation de Bordet-Gengou (diagnostic des maladies infectieuses par la), 76.
— — de Bordet - Gengou (technique de la), 72.
— de Kraus, 66.
— de Wassermann par fixation du complément, 756.
— — par fixation du complément (influence du traitement sur la), 760.
— — (procédés de simplification de la), 761.
Réaction de Widal, ou application de la séroréaction au diagnostic des infections typhoïdes humaines, 464.
— — (interprétation des résultats de la), 467.
Récepteurs d'Ehrlich, 57.
Réceptivité des animaux, 209.
Récipients de cultures, 151.
Rectum (injection dans le), 208.
Régulateur à action directe, 144, 145.
— bimétallique droit, 144.
— — en U, 143.
— de Chancel, 147.
— et étuves, 141.
— à membrane, 146.
— de Roux, 143.
Rémy et Sugg (procédé de) pour la coloration des cils, 247.
Repères opératoires chez le cobaye (principaux), 215.
Résorption des bactéries, 48.
Rhinosclérome (bacille du), 357, 364.
Rhumatisme articulaire, aigu (bacille du), 638.
Ribbert (procédé de) pour la coloration des capsules, 242.
Richet (procédé de) pour l'analyse de l'air, 899.
— (théorie de Ch.) de l'anaphylaxie, 90.
— et Portier (expériences de MM.) sur l'actino-congestine, 85.
Rikmann et Ruppel (sérum antituberculeux de), 683.
Robin (milieu de), 438.
Rodet et Lagriffoul (sérum antityphique de), 474.
— Lagriffoul et Wahly (toxine de), 450.
Romanowski (procédé de) pour la coloration de l'Hématozoaire du paludisme, 788.
Rongeurs (virus des), 488.
Roseaux (sacs de), 206.
Rosenow (procédé de) pour la coloration des capsules, 243.
Rosenthal et Todd (pro-

cédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 511.
Rothe (milieu de), 394.
Rougeole, 831.
Rouget du porc (bacille du), 426.
Roux (appareil de) pour produire l'hydrogène, 172.
— (étuve de), 142.
— (fiole plate de), 152.
— (pipette de) pour anaérobies, 178.
— (procédé de) pour le développement de la bactéridie charbonneuse, 368.
— (procédé de) pour la préparation de la toxine pesteuse, 577.
— (procédé de) pour le titrage du sérum antidiphtérique, 413.
— (régulateur de), 143.
— (seringue de), 196.
— (tube de) pour anaérobies, 182.
— (tube droit de), 185.
— (tube en U de), 184.
— Metchnikoff et Salimbeni (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 559.
— Nocard (trocart de), 128.
— et Yersin (procédé de) pour la préparation de la toxine diphtérique, 400.
Rowland et Mac Fadyen (toxine typhique de), 450.
Ruppel et Rikmann (sérum antituberculeux de), 683.
Sabouraud (gélose glucosée de), 711.
Saccharides, 28.
Saccharomyces albicans, 719.
— — (cultures), 720.
— — (diagnostic bactériologique), 721.
— — (habitat et pouvoir pathogène), 721.
— — (inoculation expérimentale), 721.
— — (morphologie), 719.
— — (propriétés biologiques), 720.
Sacquépée et Perquis (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 868.
Sacs de collodion, 205, 206.
— — (inclusion en), 204.
Sacs de roseaux, 206.
Salimbeni, Metchnikoff et Roux (procédé de) pour la préparation de la toxine cholérique, 559.
Salmonelloses, 475, 479.
Sanarelli (toxine typhique de), 449.
San Felice (sérum anticharbonneux de), 384.
Sang (analyse bactériologique du), 865.
— (Ensemencement du), 867.
— (Flacon pour recueillir le), 130.
— gélosé, 137.
— (incorporation du) à d'autres milieux, 136.
— du lapin charbonneux, 366.
— (Milieux de culture au), 291.
— (prélèvement de), 135, 211, 214.
— de rate, 375.
— (recherche du gonocoque dans le), 338.
— (recherche du méningocoque dans le), 321.
— de souris infectée par le pneumocoque, 295.
Saprophytes (bactéries), 36.
Sarcines, 2.
— (schéma de la production des), 10.
Saturation des agglutinines, 312.
— des précipitines, 312.
Savage (procédé de) pour la recherche et la numération du colibacille, 885.
Scarlatine, 831.
— (streptocoques de la), 274.
Schaudinn (fixateur de) pour la coloration de l'*Entamœba histolytica*, 776.
Schereschewsky (cultures de), 741.
Schik (théorie de von Pirquet et) de l'anaphylaxie, 90.
Schizonte, 791.
Schottmüller (procédé de) pour l'ensemencement du sang, 869.
Schueder (procédé de) pour la concentration par précipitation, 461.
Schweinepest, 597.
Schweineseuche, 597.
Scissiparité, 9.
Sclavo (sérum anticharbonneux de), 384.
Selles (analyse bactériologique des), 874.
— (prélèvement des), 213.
Semences (conservation des), 162.
Sensibilisation du sérum antigonococcique, 333.
Sensibilisatrice, 48, 69, 445.
— des bacilles dysentériques du type Flexner, 513.
— du bacille paratyphique A, 477.
— — — B, 483.
— — de Shiga, 507.
— (mise en évidence de la) par la réaction de fixation du complément, 69.
— du sérum antiméningococcique, 312.
— spécifique, 51.
— — du bacille de Löffler, 395.
Sensibilisine, 91.
Sensibilisinogène, 91.
Septicémies, 191.
— hémorragiques, 590.
— à pseudo-pneumocoques, 190.
— vibrionienne, 556.
Septique (vibrion), 617.
Séraphtine (séro-vaccination par la), 843.
Seringue en cristal, 197.
— de Debove, 196.
— de Roux, 196.
Seringues (stérilisation des), 212.
Sériques (accidents), 87.
Sérique (anaphylaxie), 87.
— (méningite), 88.
Séro-agglutination du coccobacille de la coqueluche, 539.
Séro-diagnostic de l'actinomycose, 705.
— —du choléra, 567.
— — de la dysenterie bacillaire, 517.
— — de l'infection par le bacille paratyphique B, 486.
— — — gonococcique, 339.
— — — tuberculeuse, 678.

Séro-diagnostic des infections thyphoïdes (réaction de Widal), 464.
— — de la lèpre, 691.
— — de la mélitococcie, 346.
— — de la morve, 424, 691.
— — de la peste, 585.
— — (recherche du méningocoque par le), 322.
— — de la sporotrichose, 716.
— — de la syphilis, 756.
Séro-fibrineux (analyse des exsudats), 862.
Séro-pronostic de la fièvre typhoïde, 468.
Sérosités albumineuses, 134.
— articulaires (recherche du gonocoque dans les), 338.
— (prélèvement de), 212.
Sérothérapie anticharbonneuse, 384.
— antidiphtérique, 410.
— antidysentérique, 519.
— antigonococcique, 340.
— antimélitococcique, 347.
— antiméningococcique, 326.
— antipesteuse, 586.
— antipneumococcique, 299.
— antistreptococcique, 280.
— antisyphilitique, 765.
— antitétanique, 615.
— du charbon symptomatique, 633.
— de la coqueluche, 539.
— de la fièvre récurrente, 772.
— — typhoïde, 473.
— dans les pasteurelloses, 599.
— contre le rouget du porc, 431.
— staphylococcique, 265.
— de la tuberculose, 682.
— du typhus exanthématique, 831.
— du vibrion septique, 627.
Séro-vaccination du *Bacillus Chauvæi*, 633.
— — par la séraphtine, 843.
Sérum anticharbonneux, (agglutination du), 381.
— — de Marchoux, 384.
— — (préparation du), 384.
— — (recherche des anticorps dans le), 381.
— — de San Felice, 384.
— — de Sclavo, 384.
Sérum anticholérique, 570.
— — (réactions du vibrion cholérique au), 551.
— anticoquelucheux, 539.
— antidiphtérique, 410.
— — (agglutination du bacille de Löffler par le), 395.
— — (applications thérapeutiques du), 412, 413.
— — antimicrobien, 413.
— — antitoxique, 410.
— — (essai du), 412.
— — (préparation du), 410.
— — (propriétés du), 411.
— antidysentérique, 519.
— — (action du) sur les différents types du bacille dysentérique, 520.
— antiméningococcique (agglutination du), 325.
— (mode d'emploi du), 328.
— — (pouvoir curatif du), 328.
— — (préparation du), 326.
— — (réactions vis-à-vis du), 311.
— — (sensibilisatrice du), 312.
— antipesteux (effets du) sur la peste expérimentale, 587.
— antipneumococciques expérimentaux, 299.
— — thérapeutiques (préparation des), 299.
— antirabique, 840.
— antiscarlatineux, 281.
— antitétanique, 614.
— antituberculeux, 683.
— antityphique de Besredka, 474.
— — de Chantemesse, 474.
— — de Rodet et Lagriffoul, 474.
— (appareil Latapie pour récolte du), 130.
— (— Lumière pour récolte du), 217.
— (bain-marie à stérilisation de), 104.
— de Besredka, 281.
— charbonneux (agglutination du), 374.
— coagulé (réparation du), 132.
— (dosage des), 76.
— (emploi du) à l'état liquide, 132.
Sérum (étuve à coagulation de), 132.
— expérimentaux agglutinants (préparation des), 445.
Sérums frais provenant d'animaux normaux (pouvoir opsonisant des), 77.
— glycériné, 137.
— liquide de lapin jeune, 290.
— — (préparation du), 127.
— (maladie du), 88.
— de Marmorek, 280, 281.
— (mensuration du taux agglutinatif d'un), 65.
— normaux (agglutinines des), 62.
— — (opsonines des), 78.
— peptoné de Löffler, 391.
— (plateau pour coaguler les tubes de), 134.
— de pneumonique convalescent, 299.
— (pouvoir agglutinant du), 59.
— antitoxique des), 83.
— (— bactéricide des), 8.
— (— opsonisant des), 76.
— (— précipitant des), 66.
— (— préventif et pouvoir curatif des), 84.
— (réaction aux) du bacille dysentérique, 513.
— (— du bacille de la lèpre à l'égard des), 687.
— (— paratyphique A à l'égard des), 477.
— (— — — B à l'égard des), 482.
— (— — pyocyanique à l'égard des), 353.
— (— du *Bacillus Chauvæi* à l'égard des), 630.
— (— du colibacille à l'égard des), 492.
— (— du pneumobacille à l'égard des), 361.
— (— du pneumocoque à l'égard des), 292.
— (— du *Sporotrichum Beurmanni* à l'égard des), 712.
— (— du *Proteus vulgaris* à l'action des), 525.
— (— du staphylocoque vis-à-vis des), 260.
— (— des trypanosomes

vis-à-vis des) des sujets infectés, 813.
Sérum (récolte du), 212, 217.
— (réaction du bacille tuberculeux aux), 661.
— sanguin, 127.
— spécifiques (opsonines des), 78.
— — (pouvoir opsonisant des), 77.
— — (réactions du streptocoque à l'égard des), 274.
— des sujets atteints de dysenterie bacillaire, 506.
— — — de mycoses (réactions de l'*Actinomyces bovis* à l'égard des), 703.
— — immunisés (propriétés du), 59.
— des typhiques, 493.
Sérum-virus (vaccination anticharbonneuse par), 383.
— (vaccination antipesteuse par), 588.
Sexe (Influence du) sur la réceptivité, 39.
Shaw (toxine typhique de), 450.
Shiga (bacille dysentérique du type), 501.
Signe de Straus, 422.
Smegma (bacilles du), 693.
Smith (phénomène de Theobald), 86.
Souma, 823.
Sous-cutanée (injection), 200.
— (inoculation) du charbon expérimental, 376.
Sous-durale (injection), 202.
Spatule et baguette d'étalement, 154.
Spengler (procédé de) pour la coloration du bacille tuberculeux, 656.
— (procédé de) pour l'homogénéisation des crachats, 852.
Spirales, 3.
Spirille de la balanite érosive, 748.
— de la fièvre récurrente, 766.
— — (action pathogène expérimentale), 769.
— — (cultures), 768.
— — (immunité, sérothérapie), 772.
Spirille de la fièvre récurrente (mode d'infection, rôle des ectoparasites), 770.
— — (morphologie), 767.
— — (propriétés biologiques), 769.
— d'Obermeier, 748, 766.
Spirillum giganteum, 7.
— *nigrum*, 642.
Spirochètes, 3.
— des cancers ulcérés, 748.
— de la syphilis, 739.
— — (action pathogène expérimentale), 743.
— — (cultures), 740.
— — (morphologie), 739.
— — (siège et topographie), 742.
— *voisins de Treponema pallidum* (caractères différentiels des), 747.
Spirochæta buccalis, 748.
— *dentium*, 747.
— *pallida*, 739.
— *pallidula* ou *pertenuis*, 748.
— *plicatilis*, 748.
— *refringens*, 747.
— *Vincenti*, 748.
Spores (coloration des), 243.
— (signification du mot), 730.
Sporo-agglutination, 716.
Sporotrichose, 709.
— (diagnostic bactériologique de la), 714.
— (séro-diagnostic de la), 716.
Sporotrichosine, 712.
Sporotrichosique (granulie) généralisée du rat, 712.
Sporotrichum Beurmanni, 709.
— — (cultures), 711.
— — (diagnostic bactériologique de l'infection par le), 714.
— — (morphologie), 709.
— — (pouvoir pathogène), 712.
— — (propriétés biologiques), 712.
— — (recherche du), 714.
Sporulation, 10.
Staphylococcus parvulus, 642.
— *pyogenes albus* (cultures de), 258.
— — *aureus*, 256.
Staphylococcus pyogenes aureus (cultures de), 258.
— — *citreus* (cultures de), 258.
Staphylocoque, 256.
— (cultures), 258.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 264.
— (morphologie), 257.
— (pouvoir pathogène), 261.
— (propriétés biologiques), 260.
— (siège), 264.
— (toxines), 263.
— (vaccination et sérothérapie), 265.
— Jungano (anaérobie), 643.
Staphylolysine, 35, 264.
Stegomyia fasciata, 833.
Stephens (procédé de) pour la coloration des cils, 246.
Sterigmatocystis nidulans, 703.
Stérilisateur à air de Chantemesse, 97.
— à vapeur à 100°, 102.
Stérilisation, 94.
— par les antiseptiques, 113.
— des bougies, 108.
— par chauffage dans la vapeur d'eau à 100°, 101.
— par la chaleur humide, 98.
— par la chaleur sèche, 94.
— par chauffage discontinu dans la vapeur d'eau à 100°, 102.
— — discontinu vers 56°, 103.
— (contrôle de la), 101.
— par ébullition, 104.
— par filtration, 105.
— (préparation des objets pour la), 95, 99.
— des seringues et aiguilles, 212.
— de sérum (bain-marie à), 104.
— par la vapeur d'eau sous pression, 98.
Stimulines, 52.
Stomatites ulcéro-membraneuses, 647.
Straus (signe de), 422.
— (procédé de) pour la coloration des cils, 244.
— et Wurtz (procédé de) pour la filtration de l'air, 898.

Streptobacilles, 10.
Streptococcus anaerobius micros, 643.
— *equi*, 282.
— *mucosus*, 300.
Streptocolysine, 36, 278.
Streptocoques, 2, 10, 267.
— anaérobies, 643.
— de l'anasarque du cheval, 282.
— de Bonome, 304.
— (cultures), 270.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 279.
— de la gourme du cheval, 282.
— de la mammite streptococcique de la vache, 282.
— (morphologie), 268.
— d'origine animale, 282.
— — humaine, 268.
— (pouvoir pathogène), 274.
— (propriétés biologiques), 273.
— de la scarlatine, 274.
— (siège), 278.
— (toxines), 277.
Strepto-diphtérie, 397.
Streptothrix, 3.
— *Fœrsteri*, 726.
— *leproïdes*, 686, 691.
— *maduræ*, 707.
— — (cultures), 707.
— — (morphologie), 707.
— ou *Oospora maduræ*, 707.
Strong (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 569.
Substance intermédiaire, 48.
— toxiques (formation de), 32.
Substitution de gaz inertes (procédé d'éviction de l'oxygène), 172.
Sucres (action du méningocoque sur les), 309.
— (fermentation des) par le pneumocoque, 292.
Surra (trypanosome du), 820.
Surmenage (influence du) sur la réceptivité, 39.
Syphiline, 764.
Syphilis acquise, 742.
— (diagnostic bactériologique de la), 749.
— expérimentale du chimpanzé, 744.
Syphilis expérimentale chez le lapin, 746.
— — de l'orang-outang, 745.
— — des singes inférieurs, 745.
— (sérodiagnostic de la), 756.
— (spirochète de la), 739.
Syphilitique (préparation de l'antigène), 756.
Swine-plaque, 597.
Table refroidissante et chauffante, 165.
Talamon-Frænkel (diplocoque de), 288.
Tarozzi (milieux de), 181.
Tavel (bacille pseudo-tétanique de), 641.
Teignes (champignons parasites des), 728.
Température (action de la) sur les bactéries, 19.
Tétanolysine, 35, 604, 608.
Tétanos (bacille du), 600.
Tétanospasmine, 608.
Tetracoccus buccalis, 287.
Tétrades (schéma de la production des), 10.
Tétragène, 2, 283.
— (action pathogène), 285.
— (morphologie), 284.
— (propriétés biologiques), 285.
— (siège), 286.
— *subflavus*, 285.
— (toxine), 286.
— *septicus*, 283.
— *ruber*, 285.
— (cultures), 284.
— (diagnostic bactériologique de l'infection), 286.
Tetragenes aureus, 285.
— *mobilis ventriculi*, 285.
Theiler (trypanosome de), 823.
Thermophiles (bactéries), 19.
Thesing (procédé de) pour la coloration des spores, 244.
Thiel (milieu de), 394.
Thomas, Arloing et Cornevin (procédé de) pour l'immunisation contre le *Bacillus Chauvæi*, 632.
Tick-fever, 766.
Tietz et Lentz (milieu de), 460.
Timotheebacillus, 692.
Tinea imbricata, 738.
Tissus cellulaire et musculaire (inoculations dans les), 200.
Touraillons (infusion de), 118.
Todd et Rosenthal (procédé de) pour la préparation de la toxine dysentérique, 511.
Tokelau, 738.
— (parasite du), 738.
Toxines des bacilles dysentériques du type Flexner, 514.
— — paratyphique A, 478.
— — B, 484.
— — de Pfeiffer, 530.
— de *Bacillus Chauvæi*, 632.
— charbonneuse, 373.
— — (procédé de Boidin pour l'obtention de), 374.
— — (procédé de Marmier pour l'obtention de), 373.
— — (vaccination par la), 383.
— cholérique, 558.
— de Coccobacille de la coqueluche, 537.
— du Colibacille, 495.
— diphtérique, 400.
— — (dispositif pour la préparation de la), 401.
— — (effets expérimentaux de la), 401.
— — (propriétés de la), 402.
— dysentérique, 510.
— — (préparation de la), 510.
— — (propriétés de la), 511.
— (immunité contre les), 53.
— entérococciques, 303.
— gonococciques, 336.
— méningococciques, 316.
— de *Pasteurella* aviaire, 596.
— pesteuse, 577.
— pneumococciques, 296.
— de *Proteus vulgaris*, 526.
— pyocyaniques, 354.
— solubles, 32.
— du *Sporotrichum Beurmanni*, 712.
— streptococcique, 277.
— tétanique, 608.

Toxines tuberculeuses, 670.
— typhiques, 448.
— — de M. et Mme Al-Werner, 450.
— — de Balthazard, 450.
— — de Chantemesse, 449.
— — de Conradi, 450.
des corps microbiens, 450.
— — de Mac Fadyen et Rowland, 450.
— — de Moreschi, 450.
— — de Rodet, Lagriffoul et Wahly, 450.
— — de Sanarelli, 449.
— — de Shaw, 450.
— — solubles, 448.
— vaccinantes et toxines prédisposantes, 264.
— de Vibrion septique, 625.
Toxiques (formation de substances), 32.
Traumatismes (influence des) sur la réceptivité, 40.
Treponema pallidum, 739.
Tréponème (agglutination du), 763.
— (recherche du), 749.
— (siège et topographie), 742.
Trichophytons, 730.
— *acuminatum*, 732.
— chez les animaux, 734.
— *asteroïdes*, 733.
— cérébriforme, 732.
— (classification des), 730.
— cratériforme, 732.
— à culture duveteuse, 733.
— ectothrix faviforme, 734.
— — mégaspores, 733.
— — *microïdes*, 732.
— *effractum*, 732.
— *endothrix*, 731.
— *equinum*, 733.
— *exsiccatum*, 732.
— *neo-endothrix*, 732.
— *ochraceum*, 734.
— *polygonum*, 732.
— *radians*, 733.
— *rosaceum*, 733.
— *violaceum*, 732.
Tripanolytique (action), 813.
Tristeza des bovidés, 801.
Trocart de Roux-Nocard, 128.
Trois jours (fièvre de), 828.
Trompe à eau, 174.
Trypanosoma avium, 823.
Trypanosomes *Brucei*, 819.
— *Cazalboni*, 823.
— *congolense*, 823.
— *dimorphon*, 823.
— *equinum*, 821.
— *equiperdum*, 820.
— *Evansi*, 820.
— *gambiense*, 814.
— — (habitat et pouvoir pathogène chez l'homme), 815.
— — (mode d'infection), 816.
— — (morphologie), 814.
— — (pouvoir pathogène expérimental), 816.
— *Lewisi*, 822.
— *Pecaudi*, 823.
— *Rougeti*, 820.
— *Theileri*, 823.
Trypanosomes, 811.
— (caractères généraux des), 811.
— (cultures), 813.
— divers, 823.
— de la dourine, 820.
— du mal de caderas, 821.
— du nagana, 819.
— des oiseaux, 823.
— des rats, 191.
— du surra, 820.
— (tableau des principaux), 824.
— de Theiler, 823.
— des vertébrés à sang froid, 828.
Trypanosomiase humaine (diagnostic bactériologique de la), 817.
Truche (milieux de culture de), 291.
Tube de Buchner, 177.
— pour cultures anaérobies sur pomme de terre, 183.
— en strie, 183.
— digestif (injection dans le), 208.
— double de Pasteur, 179.
— droit de Roux, 185.
— à essai profond (procédé du), 181.
— de Frænkel, 185.
— de Hesse, 896.
— de Roux pour anaérobies, 182.
— de Lacomme, 179.
— de Straus et Wurtz, 898.
— de Vignal pour isolement des anaérobies, 184.
— en U de Roux, 184.
Tube de Veillon, 181, 185.
Tuberculeux (bacille), 650.
— (crachats), 652.
Tuberculines, 35, 672.
— (anaphylaxie à la) et à la maléine, 89.
— ancienne de Koch, 672.
— de Beraneck, 674.
— brute, 672.
— (diagnostic de l'infection tuberculeuse par la), 676.
— diverses, 673.
— précipitée, 673.
— TA, 674.
— TR et TO, 674.
Tuberculinothérapie, 682.
Tuberculoïdes (bacilles), 692.
Tuberculose, 661.
— (pseudo-) microbiennes 695.
— (—), 695.
— (recherche de la) par l'analyse du liquide céphalo-rachidien, 862.
— (sérothérapie de la), 682.
— type Villemin, 663.
— — Yersin, 664.
Tuteur de Physalix, 205.
Typhique (bacille), 14, 432.
— guéris (persistance du bacille typhique chez les), 453.
— (sérum des), 493.
Typhoïne, 473.
Typholysine, 35, 451.
Typhus des chiens, 598.
— exanthématique, 829.
— — (sérothérapie du), 831.
Ultramicroscope, 227.
— (marche des rayons dans l'), 228.
— (microscope et), 221.
— (recherche du Tréponème à l'état frais par l'), 750.
— de Stiassnie, 229.
— (utilisation bactériologique de l'), 227.
Ultramicroscopie (dispositifs d'), 227.
Ultramicroscopique (aspect normal du champ), 230.
— (technique) des examens, 229.
Uréase, 29.
Urinaire (bactérie), 494.
Urine (analyse bactériologique de l'), 871.
— (milieu de culture), 121.

Urines (prélèvement des), 213, 217.
— (recherche du bacille typique dans les), 468.
Vaccination des animaux pour la préparation du sérum antidiphtérique, 410.
— anticharbonneuse, 382.
— — par sérum-virus, 383.
— (symptômes et accidents dus à la), 382.
— anticholérique, 568.
— anticlaveleuse, 842.
— antidysentérique, 517.
— antimélitococcique, 347.
— antimorveuse, 424.
— antipesteuse, 588.
— — par sérum-virus, 588.
— antirabique, 838.
— antistreptococcique, 279.
— antisyphilitique, 765.
— antituberculeuse, 679.
— — des bovidés, 680.
— antityphique, 469.
— — (résultats pratiques des), 472.
— contre le *Bacillus Chauvæi*, 632.
— contre le bacille paratyphique B, 486.
— — — du rouget du porc, 430.
— — le colibacille, 497.
— antipneumococcique, 298.
— dans les pasteurelloses, 599.
— staphylococcique, 265.
— subintrantes, 93.
— par la toxine charbonneuse, 383.
Vaccin anticholérique de Ferran, 570.
— — de Haffkine, 570.
— (bovo-) de Behring, 681.
— sensibilisés antigonococciques, 340.
Vaccine (virus de la), 840.
Vaccinothérapie antigonococcique, 340.
— de la coqueluche, 539.
— de la fièvre typhoïde, 473.
— staphylococcique, 266.
Vache (streptocoque de la mammite streptococcique de la), 282.
Vaillard et Du Cazal (bacille de), 697.
Vallée et Leclainche (procédé de) pour l'immunisation contre le *Bacillus Chauvæi*, 633.
— (sérum antituberculeux de), 683.
Vallet (procédé de) pour la concentration par précipitation, 461.
Van Ermengem (procédé de) pour la coloration des cils, 245.
Vannod (procédé de) pour l'obtention de la toxine gonococcique, 336.
Vapeur d'eau sous pression (stérilisation par la), 98.
— — à 100° (stérilisation par chauffage dans la), 101.
— — à 100° (stérilisation par chauffage discontinu dans la), 102.
Vasilescu et Proca (méthode de) pour la recherche du tréponème, 752.
Vaughan (poisons de), 91.
— (théorie de) de l'anaphylaxie, 91.
Veillon (procédé de) pour isolement, 168.
— (tube de), 181, 185.
Veine (ponction de) pour prélèvement de sang, 211, 215.
Ventouse scarifiée (emploi de la) pour prélèvement de sang, 211.
Vers à soie (flacherie des), 11.
Vertébrés à sang froid (trypanosomes des), 823.
Vessie (bactérie pyogène de la), 494.
Vésicule biliaire (inoculation dans la), 208.
Vibrio Metchnikovi, 44, 561.
Vibriolysines, 36.
Vibrions (caractères distinctifs des races vibrioniennes voisines), 560.
— cholérique, 544.
— — (action pathogène expérimentale), 556.
— — (cultures), 547.
— — (morphologique), 544.
— — (persistance du) chez les convalescents et les porteurs, 554.
Vibrion (pouvoir pathogène spécifique chez l'homme), 556.
— — (propriétés biologiques), 549.
— — (recherche et identification des) dans les eaux, 567.
— — (siège du) dans l'organisme, 553.
— — (toxine), 558.
— — (vitalité dans les milieux extérieurs), 549.
— de Deneke, 561.
— de Finkler-Prior, 560.
— de Metchnikoff, 561.
— septique, 617.
— — (action pathogène expérimentale), 622.
— — (cultures), 620.
— — (habitat normal de), 623.
— — (immunisation), 626.
— — (infection par le) dans les conditions naturelles, 624.
— — (morphologie), 618.
— — (propriétés biologiques), 621.
— — (sérothérapie), 627.
— — (toxine), 625.
— — (virulence), 621.
— — (vitalité), 621.
Vibrionienne (septicémie), 556.
Vide (dispositif pour l'extraction de l'air par le), 174.
— avec lavage à l'hydrogène, 175.
— (production du), 174.
Vignal (platine chauffante de), 162.
— (tube de) pour isolement des anaérobies, 184.
Villemin (tuberculose type), 663.
Vincent (angine de), 644, 646.
— (procédé de H.) pour la recherche et la numération du Colibacille, 883.
Virulence des germes, 37.
Virus de la clavelée, 841.
— Danysz, 488.
— de la fièvre aphteuse, 842.
— — jaune, 832.
— filtrants divers, 844.

Virus du hog-choléra, 843.
— à inoculer (préparation et dosage des), 198.
— de la peste bovine, 844.
— — des oiseaux, 844.
— de la poliomyélite épidémique, 833.
— de la rage, 836.
— des rongeurs, 488.
— de la rougeole, 831.
— de la scarlatine, 831.
— de la vaccine, 840.
Viscères (bouillon de), 116.
Vivien (fiole de), 152.
Voges et Frænkel (liquide de), 120.
Voies biliaires (inoculation dans les), 208.
— circulatoires (inoculation dans les), 200.
— digestives (inoculations dans les), 207.
— — (— par les) du charbon expérimental, 377, 378.
Wadsworth (procédé de) pour la coloration des capsules, 243.
Wahly, Rodet et Lagriffoul (toxine typhique de), 450.
Wassermann (procédé de) pour la vaccination anticholérique, 568.
— (réaction de) par fixation du complément, 756.
Weeks (bacille de), 533.
Weichselbaum (méningocoque de), 305.
Werbitzki (milieu de), 460.
Werner (toxine typhique de M. et Mme Al.), 450.
Widal (interprétation des résultats de la réaction de), 467.
— (réaction de) ou application de la séro-réaction au diagnostic des infections typhoïdes humaines, 464.
Wildseuche, 597.
Wright (pipette de), 79.
Wurtz (dispositif de) pour la culture en flacon, 179.
— et Straus (procédé de) pour la filtration de l'air, 898.
Yersin (bacille de), 572.
— et Roux (procédé de) pour la préparation de la toxine diphtérique, 400.
— (tuberculose type), 664.
Zabolotny (expériences de) relatives à l'action pathogène du Vibrion cholérique, 558.
Zettnov (procédé de) pour la coloration des cils, 246.
Ziehl-Neelsen (procédé de) pour la coloration du bacille de Koch, 655.

PRESENTED BY THE EDITOR OF B. M. J. BRITISH MEDICAL ASSOCIATION

TABLE DES MATIÈRES

CHAPITRE PREMIER. — **CARACTÈRES GÉNÉRAUX DES MICROBES** 1

Place des microbes parmi les êtres vivants 1
Formes et dimensions des bactéries 2
Pléomorphisme des bactéries 3
Structure 5
Mobilité 7

CHAPITRE II. — **NOTIONS SOMMAIRES SUR LA PHYSIOLOGIE DES MICROBES** 9

Reproduction 9
Respiration. — Aérobies et anaérobies 13
Nutrition 15
Assimilation 17
Désassimilation 18
Action des agents extérieurs sur les bactéries 19
Production de chaleur 23
Production de lumière. — Phosphorescence 23
Production de pigments 24
Sécrétion de diastase 26
Actions fermentatives. — Fermentations 27
Formations de substances toxiques 32
Vie saprophytique et rôle pathogène des bactéries. — L'infection. 36

CHAPITRE III. — **IMMUNITÉ** 41

Notions sommaires sur le mécanisme de l'immunité 42
Théories physico-chimiques 55

CHAPITRE IV. — **PROPRIÉTÉS DU SÉRUM DES SUJETS IMMUNISÉS** 59

Pouvoir agglutinant. — Agglutination 59
Pouvoir précipitant. — Précipitation 66
Pouvoir bactéricide. — Bactériolyse 68
Pouvoir opsonisant, opsonines, bactériotropines 76
Pouvoir antitoxique 83
Pouvoir préventif et pouvoir curatif 84

CHAPITRE V. — **ANAPHYLAXIE** 85

CHAPITRE VI. — **STÉRILISATION** 94

I. — Stérilisation par la chaleur sèche 94
II. — Stérilisation par la vapeur humide 98
III. — Stérilisation par filtration 105
IV. — Stérilisation par les antiseptiques 113

CHAPITRE VII. — **MILIEUX DE CULTURE**..... 114

Préparation. — I. — Milieux non albumineux liquides..... 115
II. — Milieux non albumineux solides..... 121
III. — Milieux albumineux purs..... 127
IV. — Milieux albumineux composés..... 136
Conservation et transvasement des milieux..... 137

CHAPITRE VIII. — **ÉTUVES ET RÉGULATEURS**..... 141

CHAPITRE IX. — **PROCÉDÉS DE CULTURE ET ENSEMENCEMENT DES MICROBES AÉROBIES**..... 151

I. — Procédés de culture habituels..... 151
II. — Ensemencements..... 153
III. — Incubation et observation ultérieure..... 159
IV. — Procédés de culture exceptionnels..... 161

CHAPITRE X. — **ISOLEMENT DES MICROBES AÉROBIES**.. 163

I. — Méthodes générales..... 163
II. — Méthodes spéciales..... 168

CHAPITRE XI. — **CULTURE ET ISOLEMENT DES ANAÉROBIES**..... 171

I. — Procédés d'éviction de l'oxygène..... 171
A. — Ébullition..... 171
B. — Substitution de gaz inertes..... 172
C. — Extraction par le vide..... 173
D. — Emploi de corps réducteurs..... 175
II. — Procédés de culture des anaérobies..... 176
A. — Dispositifs applicables indifféremment aux milieux solides et aux milieux liquides..... 177
B. — Dispositif pour milieux liquides..... 178
C. — Dispositifs pour ensemencement des milieux solides par piqûre..... 181
D. — Dispositif pour ensemencement des milieux solides en strie..... 182
III. — Isolement des anaérobies..... 183

CHAPITRE XII. — **INOCULATION DES ANIMAUX**..... 187

I. — Animaux de laboratoire..... 187
Maladies des animaux de laboratoire..... 190
Préhension, contention et anesthésie des animaux..... 192
II. — Les inoculations..... 195
Technique des inoculations..... 199
Observation des animaux inoculés..... 208
Choix de l'espèce animale à inoculer et mode d'inoculation.. 209

CHAPITRE XIII. — **PRÉLÈVEMENT DES PRODUITS PATHOLOGIQUES**..... 211

I. — Prélèvements sur le vivant..... 211
II. — Autopsies..... 217
III. — Prélèvements cadavériques..... 219

CHAPITRE XIV. — **MICROSCOPE ET ULTRA-MICROSCOPE.** 221

I. — Microscope 221
II. — Ultra-microscope 227
III. — Lames et lamelles 231

CHAPITRE XV. — **EXAMEN MICROSCOPIQUE ET COLORATION DES MICROBES** 232

I. — Examen sans coloration à l'état humide 232
II. — Colorants et matières colorantes 233
III. — Coloration à l'état frais 235
IV. — Coloration à l'état sec sur lames 236
Coloration simple 236
Coloration par la méthode de Gram 239
Méthodes spéciales 241
Coloration des capsules 242
Coloration des spores 243
Coloration des cils 244

CHAPITRE XVI. — **COUPES BACTÉRIOLOGIQUES** 248

CHAPITRE XVII. — **STAPHYLOCOQUE** 256

Morphologie 257
Cultures 258
Propriétés biologiques 260
Pouvoir pathogène 261
Toxine 263
Siège 264
Diagnostic bactériologique de l'infection 264
Vaccination et sérothérapie 265

CHAPITRE XVIII. — **STREPTOCOQUE** 267

STREPTOCOQUE D'ORIGINE HUMAINE 268
Morphologie 268
Cultures 270
Propriétés biologiques 273
Pouvoir pathogène 274
Toxine 277
Siège 278
Diagnostic bactériologique de l'infection 279
Vaccination 279
Sérothérapie 280
STREPTOCOQUE D'ORIGINE ANIMALE 272

CHAPITRE XIX. — **TÉTRAGÈNE** 283

Morphologie 284
Cultures 284
Propriétés biologiques 285
Action pathogène 285
Toxine 286
Siège 286
Diagnostic bactériologique de l'infection 286
PARATÉTRAGÈNE ZOOGLÉIQUE 287

Chapitre XX. — **PNEUMOCOQUE** 288

Morphologie 289
Cultures 290
Propriétés biologiques 291
Action pathogène 293
Toxine 296
Siège 297
Diagnostic bactériologique de l'infection 297
Vaccination 298
Sérothérapie 299
Streptococcus mucosus 300

Chapitre XXI. — **ENTÉROCOQUE** 301

Morphologie 301
Cultures 302
Propriétés biologiques. — Toxine. — Siège 303
Agent pathogène 303
Diagnostic bactériologique de l'infection 304
Streptocoque de Bonome 304

Chapitre XXII. — **MÉNINGOCOQUE** 305

Morphologie 306
Cultures 307
Propriétés biologiques 309
Action pathogène expérimentale 314
Toxine 316
Siège du méningocoque dans l'organisme humain 317
Caractères distinctifs des germes similaires 318
Paraméningocoques 318
Pseudo-méningocoques 319
Diagnostic bactériologique de l'infection 321
Sérothérapie 326

Chapitre XXIII. — **GONOCOQUE** 329

Morphologie 329
Cultures 330
Propriétés biologiques 332
Action pathogène 334
Toxine 336
Diagnostic bactériologique de l'infection 337
Sérothérapie 340
Vaccinothérapie 340

Chapitre XXIV. — **MICROCOCCUS MELITENSIS** 341

Morphologie 342
Cultures 342
Propriétés biologiques 342
Conditions de l'infection naturelle 343
Action pathogène expérimentale 344
Diagnostic bactériologique de la mélitococcie 345
Vaccination. — Sérothérapie 347

CHAPITRE XXV. — **BACILLE PYOCYANIQUE**..... 348
Morphologie..... 349
Cultures..... 349
Propriétés biologiques..... 350
Action pathogène..... 353
Toxine..... 354
Siège..... 355
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 356
Vaccination. — Sérothérapie..... 356

CHAPITRE XXVI. — **BACILLES ENCAPSULÉS. — PNEUMOBACILLE**..... 357
PNEUMOBACILLE..... 357
Morphologie..... 359
Cultures..... 360
Propriétés biologiques..... 361
Action pathogène..... 361
Siège..... 362
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 362
BACILLUS LACTIS AEROGENES..... 363
BACILLE DU RHINOSCLÉROME..... 364
BACILLUS CAPSULATUS MUCOSUS..... 364

CHAPITRE XXVII. — **BACTÉRIDIE CHARBONNEUSE**..... 365
Morphologie..... 365
Cultures..... 368
Propriétés biologiques..... 370
Pouvoir pathogène..... 374
Répartition de la bactéridie charbonneuse dans l'organisme..... 379
Nature de l'infection charbonneuse..... 379
Diagnostic de l'infection charbonneuse..... 380
Recherche de la bactéridie charbonneuse dans les milieux extérieurs..... 381
Immunité. — Vaccination..... 382
Sérothérapie..... 384

CHAPITRE XXVIII. — **BACILLE DIPHTÉRIQUE**..... 386
Morphologie..... 387
Cultures..... 390
Propriétés biologiques..... 392
Habitat. — Persistance. — Associations secondaires..... 396
Action pathogène expérimentale..... 398
Toxine diphtérique..... 400
Bacille diphtérique et bacilles pseudo-diphtériques..... 404
Recherche du bacille de Löffler. — Diagnostic de la diphtérie..... 406
Sérum antidiphtérique..... 410
Sérum antitoxique..... 410
Sérum antimicrobien..... 413

CHAPITRE XXIX. — **BACILLE DE LA MORVE**..... 414
Morphologie..... 416
Cultures..... 416

Caractères biologiques 417
Habitat et manifestations pathologiques 419
Infection morveuse expérimentale 420
Diagnostic bactériologique de la morve 423
Immunité. — Vaccination 424

CHAPITRE XXX. — **BACILLE DU ROUGET DU PORC** 426

Morphologie 427
Cultures 427
Propriétés biologiques 428
Action pathogène expérimentale 428
Diagnostic bactériologique de l'infection 429
Vaccination 430
Sérothérapie 431

CHAPITRE XXXI. — **BACILLE TYPHIQUE** 432

Morphologie 432
Cultures 434
Propriétés biologiques 438
Pouvoir pathogène 446
Toxines 448
Siège. — Habitat 451
Procédés de recherche du bacille typhique 454
Diagnostic bactériologique de l'infection 463
Vaccination 469
Vaccinothérapie 473
Sérothérapie 473

CHAPITRE XXXII. — **BACILLES PARATYPHIQUES ET SALMONELLOSES** 475

BACILLE PARATYPHIQUE A 475
Morphologie 475
Cultures 476
Propriétés biologiques 477
Pouvoir pathogène 478
Siège 478
Toxines 478
SALMONELLOSES. — BACILLE PARATYPHIQUE B 479
Morphologie 480
Cultures 480
Propriétés biologiques 481
Action pathogène 483
Toxines 484
Siège 485
Diagnostic bactériologique de l'infection 486
Bacille de la psittacose 487
Bacille du hog-choléra 487
Virus des rongeurs 488
Bacille de Gartner 488

CHAPITRE XXXIII. — **COLIBACILLE** 489

Morphologie 490

Cultures 490
Propriétés biologiques 492
Anomalies du colibacille. — Paracolibacilles 493
Action pathogène 494
Toxines 495
Siège 496
Vaccination 497
Diagnostic bactériologique de l'infection 497

CHAPITRE XXXIV. — **BACILLUS FÆCALIS ALCALIGENES** .. 498

CHAPITRE XXXV. — **BACILLE DYSENTÉRIQUE** 501

BACILLE DYSENTÉRIQUE DU TYPE SHIGA 501
Morphologie. — Aspect microscopique 501
Cultures 502
Propriétés biologiques 504
Action pathogène. — Dysenterie expérimentale 508
Toxine dysentérique 510
BACILLES DYSENTÉRIQUES DU TYPE FLEXNER 512
BACILLES DYSENTÉRIQUES DU TYPE Y DE HISS 514
Diagnostic bactériologique de la dysenterie bacillaire 514
Vaccination 517
Sérothérapie 519

CHAPITRE XXXVI. — **PROTEUS VULGARIS** 524

CHAPITRE XXXVII. — **BACILLE DE PFEIFFER** 527
Morphologie 527
Cultures 528
Propriétés biologiques 530
Action pathogène 530
Recherche du coccobacille de Pfeiffer 532

CHAPITRE XXXVIII. — **BACILLE DE WEEKS** 533

CHAPITRE XXXIX. — **COCCOBACILLE DE LA COQUELUCHE.** 534
Morphologie 534
Cultures 535
Propriétés biologiques 536
Diagnostic bactériologique de l'infection 538
Sérothérapie et vaccinothérapie 539

CHAPITRE XL. — **BACILLE DU CHANCRE MOU** 540
Morphologie 540
Siège du bacille de Ducrey 541
Action pathogène expérimentale 542
Diagnostic bactériologique de l'infection 543

CHAPITRE XLI. — **VIBRION CHOLÉRIQUE** 544
Morphologie 544
Cultures 547
Propriétés biologiques 549
Siège du vibrion cholérique dans l'organisme 553
Pouvoir pathogène spécifique chez l'homme 556

Action pathogène expérimentale..... 556
Toxine cholérique..... 558
Caractères distinctifs des races vibrioniennes voisines..... 560
Diagnostic bactériologique du choléra..... 561
Recherche et identification du vibrion cholérique dans les eaux... 567
Vaccination..... 568
Sérum anticholérique..... 570

CHAPITRE XLII. — **BACILLE DE LA PESTE**..... 572

Morphologie..... 572
Cultures..... 574
Propriétés biologiques..... 575
Divers habitats du Bacille pesteux..... 578
Action pathogène expérimentale. — Voies d'infection..... 580
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 582
Sérothérapie..... 586
Vaccination préventive humaine..... 588

CHAPITRE XLIII. — **PASTEURELLOSES.**..... 590

Caractères généraux des « Pasteurella »..... 592
COCCOBACILLE DU CHOLÉRA DES POULES (PASTEURELLA AVIAIRE)..... 592
Morphologie..... 593
Cultures..... 593
Propriétés biologiques..... 593
Virulence. — Atténuation et exaltation du virus..... 594
Action pathogène..... 595
Toxines..... 596
AUTRES PASTEURELLOSES..... 596
Vaccination et sérothérapie dans les pasteurelloses..... 599

CHAPITRE XLIV. — **BACILLE DU TÉTANOS**..... 600

Morphologie..... 601
Cultures..... 602
Propriétés biologiques..... 603
Habitat du bacille tétanique..... 605
Pouvoir pathogène..... 605
Action pathogène expérimentale..... 606
Toxine tétanique..... 608
Mécanisme de l'infection tétanique dans les conditions naturelles. 610
Diagnostic de l'infection tétanique..... 613
Sérum antitétanique..... 614

CHAPITRE XLV. — **VIBRION SEPTIQUE.**..... 617

Morphologie..... 618
Cultures..... 620
Propriétés biologiques..... 621
Action pathogène expérimentale..... 622
Habitat normal du vibrion septique..... 623
Infection dans les conditions naturelles..... 624
Toxine..... 625
Immunisation. — Sérothérapie..... 626

Chapitre XLVI. — **CHARBON SYMPTOMATIQUE. — BOTULISME. — BACILLUS BIFIDUS** 625

Bacillus Chauvæi (Charbon symptomatique) 628
Morphologie 629
Cultures 629
Propriétés biologiques 630
Action pathogène 630
Toxine 632
Vaccination 632
Sérothérapie 633
Bacillus botulinus 634
Bacillus bifidus 635

Chapitre XLVII. — **MICROBES ANAÉROBIES DES PROCESSUS FÉTIDES ET GANGRENEUX** 636

Bacillus perfringens 636
Bacille du rhumatisme articulaire aigu 638
Bacillus ramosus 639
Bacillus funduliformis 639
Bacillus fragilis 640
Bacillus serpens 640
Bacillus putrificus 640
Bacille neigeux 641
Bacillus nebulosus 641
Bacillus radiiformis 641
Spirillum nigrum 642
Diplococcus reniformis 642
Staphylococcus parvulus 642
Staphylocoque de Jungano 643
Micrococcus fœtidus 643
Streptocoques anaérories 643

Chapitre XLVIII. — **BACILLE FUSIFORME** 644

Morphologie 644
Cultures 644
Action pathogène 646
Recherche et diagnostic 649

Chapitre XLIX. — **BACILLE TUBERCULEUX** 650

Morphologie 652
Cultures 656
Propriétés biologiques 660
Action pathogène 661
Siège 669
Toxines 670
Diagnostic bactériologique de l'infection 674
Vaccination 679
Thérapeutique bactériologique 682
Bacille pisciaire 684

Chapitre L. — **BACILLE DE LA LÈPRE** 685

Morphologie 685

Cultures..... 686
Réactions à l'égard des sérums..... 687
Pouvoir pathogène..... 687
Siège..... 689
Diagnostic bactériologique de l'infection..... 689
Thérapeutique bactériologique..... 691
Maladie léproïde des rats..... 691

Chapitre LI. — **BACILLES ACIDO-RÉSISTANTS. — PSEUDO-TUBERCULOSES**..... 692

Bacilles acido-résistants..... 692
Pseudo-tuberculoses..... 695
Pseudo-tuberculoses microbiennes..... 695

Chapitre LII. — **ACTINOMYCES BOVIS**..... 699

Morphologie..... 699
Cultures..... 701
Propriétés biologiques..... 702
Habitat. — Action pathogène..... 703
Action pathogène expérimentale..... 704
Diagnostic bactériologique de l'actinomycose..... 705
Actinobacillose..... 706

Chapitre LIII. — **CHAMPIGNONS DU PIED DE MADURA**..... 707

« Streptothrix » ou « Oospora Maduræ »..... 707

Autres parasites..... 708

Chapitre LIV. — **SPOROTRICHUM BEURMANNI**..... 709

Morphologie..... 709
Cultures..... 711
Propriétés biologiques..... 712
Pouvoir pathogène..... 712
Diagnostic bactériologique de la sporotrichose..... 714

Chapitre LV. — **SACCHAROMYCES ALBICANS**..... 719

Morphologie..... 719
Cultures..... 719
Propriétés biologiques..... 719
Habitat et pouvoir pathogène..... 721
Inoculation expérimentale..... 721
Diagnostic bactériologique..... 721

Chapitre LVI. — **ASPERGILLUS FUMIGATUS**..... 722

Morphologie..... 722
Cultures..... 723
Propriétés biologiques..... 723
Habitat. — Mode d'infection chez l'homme..... 724
Action pathogène expérimentale..... 724
Diagnostic bactériologique..... 725

Chapitre LVII. — **AUTRES OOSPOROSES**..... 726

Chapitre LVIII. — **CHAMPIGNONS PARASITES DE LA PEAU ET DU SYSTÈME PILEUX**..... 728

I. — Champignons parasites des teignes..... 728
Technique générale..... 728
A. — Trichophytons..... 730
B. — Microsporons..... 734
C. — Achorions..... 736
II. — Parasites du pityriasis versicolor et de l'érythrasma..... 737
III. — Parasites des dermatoses des pays chauds..... 738

Chapitre LIX. — **SPIROCHÈTE DE LA SYPHILIS**..... 739

Morphologie..... 739
Cultures..... 740
Siège et topographie du tréponème..... 742
Action pathogène expérimentale..... 743
Caractères différentiels des spirochètes voisins..... 747
Diagnostic bactériologique de la syphilis..... 749
Recherche du tréponème..... 749
Inoculation à l'animal..... 755
Sérodiagnostic..... 756
Cuti-réaction..... 763
Essais de vaccination..... 765
Essais de sérothérapie..... 765

Chapitre LX. — **SPIRILLE DE LA FIÈVRE RÉCURRENTE.** 766

Morphologie..... 766
Cultures..... 768
Propriétés biologiques..... 769
Action pathogène expérimentale..... 769
Mode d'infection; rôle des ectoparasites..... 770
Diagnostic bactériologique..... 771
Immunité. — Sérothérapie..... 772

Chapitre LXI. — **AMIBES**..... 773

Amibe dysentérique..... 773
Entamœba histolytica..... 773

Morphologie..... 773
Cultures..... 777
Propriétés biologiques..... 777
Pouvoir pathogène de l'amibe dysentérique..... 779
Manifestations pathologiques..... 779
Dysenterie amibienne expérimentale..... 780
Recherche et diagnostic..... 780

Entamœba tetragena..... 782
Amibe vulgaire du côlon (Entamœba coli)..... 782

Autres amibes..... 783

Chapitre LXII. — **HÉMATOZOAIRES DU PALUDISME**..... 785

Morphologie..... 785

Évolution de l'hématozoaire..... 791
Action pathogène expérimentale..... 795
Recherche de l'hématozoaire..... 797

CHAPITRE LXIII. — **PIROPLASMES**..... 800

Piroplasma bigeminum..... 801
Piroplasma parvum..... 802
Piroplasma ovis..... 802
Piroplasma equi..... 802
Piroplasma canis..... 802

CHAPITRE LXIV. — **LEISHMANIA**..... 804

Leishmania Donovani..... 804

Morphologie..... 804
Cultures..... 805
Habitat dans l'organisme..... 806
Mode d'infection. — Hôte intermédiaire..... 807
Recherche du parasite..... 807

Leishmania infantum..... 808
Leishmania furonculosa..... 810

CHAPITRE LXV. — **TRYPANOSOMES**..... 811

Caractères généraux des trypanosomes..... 811
Trypanosome gambiense..... 814

Morphologie..... 814
Habitat et pouvoir pathogène chez l'homme..... 815
Mode d'infection..... 816
Pouvoir pathogène expérimental..... 816
Diagnostic bactériologique de la trypanosomiase humaine..... 817

Trypanosoma Brucei (Tr. du nagana)..... 819
Trypanasoma Rougeti ou equiperdum (dourine)..... 820
Tripanosoma du surra (Tr. Evansi)..... 820
Trypanosome du mal de Caderas (Tr. equinum)..... 821
Trypanosome du rat (Tr. Lewisi)..... 822
Autres trypanosomes..... 823

CHAPITRE LXVI. — **MICROBES FILTRANTS, DITS (INVISIBLES)**..... 825

Microbe de la péripneumonie des bovidés..... 826
Fièvre de trois jours ou fièvre à pappatacis..... 828
Typhus exanthématique..... 829
Scarlatine..... 831
Rougeole..... 831
Virus de la fièvre jaune..... 832
Virus de la poliomyélite épidémique..... 833
Virus de la rage..... 836
Virus de la vaccine..... 840
Virus de la clavelée..... 841

Virus de la fièvre aphteuse..... 842
Virus du hog-choléra..... 843
Autres virus filtrants..... 844

CHAPITRE LXVII. — **ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A LA CLINIQUE**..... 846

Analyse bactériologique du pus..... 846
Analyse bactériologique des crachats..... 849
Analyse bactériologique des angines..... 854
Analyse bactériologique du liquide céphalo-rachidien..... 858
Analyse des exsudats séro-fibrineux..... 862
Analyse bactériologique du sang..... 865
Analyse bactériologique de l'urine..... 871
Analyse bactériologique des selles..... 874

CHAPITRE LXVIII. — **ANALYSES BACTÉRIOLOGIQUES APPLIQUÉES A L'HYGIÈNE**..... 876

Analyse bactériologique des eaux..... 876
Principes généraux de l'analyse bactériologique des eaux... 879
I. — Analyse quantitative. Numération des germes..... 880
II. — Analyse qualitative..... 883
III. — Interprétation des résultats..... 886
IV. — Flore bactérienne des eaux..... 888
Analyse bactériologique de l'air..... 896
Appareils pour l'analyse de l'air..... 896
Analyse quantitative..... 899
Analyse qualitative..... 899
Analyse des poussières..... 899

LIBRARY OF THE BRITISH MEDICAL ASSOCIATION
PRESENTED BY THE EDITOR OF B. M. J.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE

3295-12. — CORBEIL. Imprimerie CRÉTÉ.

PRÉCIS DE PARASITOLOGIE

Par J. GUIART

Professeur à la Faculté de médecine de Lyon.

1910, 1 vol. in-8 de 628 pages, avec 549 figures noires et coloriées. Cart .... 12 fr.

C'est un livre original, que le professeur GUIART a su mettre à la portée des étudiants avec toute l'autorité que lui donnent douze années d'enseignement théorique et pratique dans les Facultés de médecine de Paris et de Lyon.

PRÉCIS DE BACTÉRIOLOGIE

PAR LES DOCTEURS

DOPTER et **SACQUÉPÉE**

Professeur à l'École du Val-de-Grâce. — Professeur agrégé à l'École du Val-de-Grâce.

1914. 1 vol. in-8 de 900 pages avec 300 figures noires et coloriées, cartonné. 18 fr.

MANUEL DE BACTÉRIOLOGIE

par les professeurs **LEHMANN et NEUMANN**

et le Dr **PHILIBERT,** ancien interne lauréat des hôpitaux de Paris.

1914, 1 vol. in-16 de 752 pages ..... 14 fr.

Atlas de Bactériologie et de diagnostic Bactériologique, par les professeurs LEHMANN et NEUMANN et le Dr V. GRIFFON, médecin des hôpitaux de Paris, 1906, 1 vol. in-16, avec 500 fig. col., relié maroquin souple, tête dorée. 20 fr.

Technique Microbiologique et Sérothérapique

Par le Dr BESSON

Directeur du Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Péan.

6e *édition.* 1914, 1 vol. gr. in-8 de 886 p., avec 393 fig. noires et coloriées. 18 fr.

La *Technique microbiologique* du Dr BESSON est destinée à guider le médecin dans les travaux du laboratoire : c'est un véritable vade-mecum que le débutant pourra suivre pas à pas et où l'observateur exercé trouvera les renseignements de nature à le diriger dans ses recherches: La cinquième édition a été soigneusement mise au courant des progrès de la science. Le nombre des figures a été multiplié et des figures coloriées représentent les cultures des principaux microbes.

TRAITÉ PRATIQUE DE BACTÉRIOLOGIE

Par E. MACÉ

Professeur à la Faculté de médecine de Nancy.

6e *édition.* 1912-1913, 2 vol. gr. in-8 de 1825 pages, avec 456 fig. noires et col.
Broché..... 40 fr. | Relié maroquin souple..... 44 fr.

Cette nouvelle édition comporte le double de pages de la précédente et constitue en réalité un ouvrage nouveau. Les additions portent sur toutes les parties du livre. Il fallait naturellement indiquer les nouvelles méthodes d'observation et les perfectionnements d'anciennes ; il fallait surtout insister sur les actions biologiques si importantes et si complexes, donner une large place à l'étude de ces curieuses substances que produisent les bactéries dans les milieux où elles vivent, milieux de culture ou organismes vivants, et à l'application de certaines d'entre elles au diagnostic et à la thérapeutique humaine ou animale ; voir aussi tout ce qui peut être mis en œuvre par l'organisme pour se défendre contre l'atteinte du microbe, cette question de terrain tendant à gagner une grande importance ; étudier enfin un grand nombre d'espèces décrites par les chercheurs de tous pays. Ceci a été fait en s'efforçant de conserver le caractère pratique qui a fait le succès de ce *Traité de Bactériologie.*

Aide-mémoire de Bactériologie, par le professeur P. LEFERT. 1910, 1 vol. in-18 de 275 pages, cartonné ..... 3 fr.

Tableaux synoptiques de Bactériologie médicale, par DUPONT, 1901, 1 vol. in-16 de 80 pages, cartonné..... 1 fr. 50

Précis de Pathologie générale

PAR LES DOCTEURS

H. CLAUDE et L. CAMUS

Professeurs agrégés à la Faculté de médecine de Paris.

1909, 1 vol. petit in-8 de 682 p., avec 147 fig. noires et coloriées, cartonné.. 12 fr.

Élèves du professeur Bouchard, MM. H. Claude et J. Camus, le lecteur sera heureux de trouver dans ces pages le reflet de l'enseignement de ce maître éminent.

Le but des auteurs a été avant tout de faire un ouvrage pratique et utile pour les étudiants et les médecins praticiens, écartant le plus possible ce qui n'est pas assis et solide, sans toutefois cependant repousser entièrement les vues nouvelles qui seront peut-être la science de demain.

Précis de Pathologie interne

Par les Drs GILBERT, WIDAL, DOPTER

Professeurs à la Faculté de médecine de Paris et au Val-de-Grâce.

CASTAIGNE, CLAUDE, LŒPER, RATHERY, RIBIERRE

Professeurs agrégés à la Faculté de médecine de Paris.

GARNIER, JOSUÉ, JOMIER, PAILLARD, PAISSEAU

Médecins des hôpitaux de Paris et anciens internes.

1912-1914, 4 vol. in-8 de 500 pages chacun avec figures, cartonnés.

Chaque volume se vend séparément.

I. **Maladies infectieuses et diathésiques, Intoxications, Maladies du Sang,** par les Drs DOPTER, professeur au Val-de-Grâce, RATHERY et RIBIERRE, agrégés des hôpitaux de Paris. 1912, 1 vol. in-8 de 907 p., avec 92 fig. noires et coloriées, cartonné..... 14 fr.

II. **Maladies du Cœur et des Poumons,** par les Drs LŒPER, professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris, JOSUÉ, médecin des hôpitaux de Paris, PAISSEAU, chef de clinique à la Faculté de Paris, et PAILLARD. 1914, 1 vol. in-8 avec fig. noires et col., cartonné..... 12 fr.

III. **Maladies de l'Appareil digestif et de l'Appareil urinaire,** par les Drs GILBERT et WIDAL, professeurs à la Faculté de médecine de Paris, CASTAIGNE, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, JOMIER, chef de clinique à la Faculté de médecine. 1 vol. in-8, avec figures, cartonné.

IV. **Maladies du Système nerveux,** par les Drs CLAUDE, professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris, et GARNIER, médecin des hôpitaux de Paris. 1 vol. in-8, avec figures, cartonné.

Tableaux synoptiques de Pathologie générale, par le Dr COUTANCE. 1899, 1 vol. gr. in-8 de 200 pages..... 3 fr. 50

AIDE-MÉMOIRE DE PATHOLOGIE INTERNE

Par le Professeur Paul LEFERT

8e *édition*, 1913, 1 vol. in-18 de 858 pages, relié maroquin souple..... 10 fr.

Éléments de Pathologie médicale, par MM. A. LAVERAN, membre de l'Institut et de l'Académie de médecine, et J. TEISSIER, professeur à la Faculté de médecine de Lyon, médecin des hôpitaux. 4e *édition*, 1894, 2 vol. in-8 de 1866 pages, avec 125 figures..... 22 fr.

Histoire des Sciences médicales, par CH. DAREMBERG. 1870, 2 vol. in-8. 20 fr.

Précis de l'Histoire de la Médecine, par le Dr BOUILLET, Introduction par le professeur LABOULBÈNE. 1888, 1 vol. in-8 de 366 pages..... 6 fr.

Manuel de Sémiologie médicale

Par le Dr PALASNE DE CHAMPEAUX

Ancien professeur à l'École de médecine de Toulon.

3e *édition*. 1912, 1 vol. in-8 de 384 pages, avec 99 fig. noires et col., cart..... 5 fr.

Traité de Diagnostic Médical et de Sémiologie

Par F.-O. MAYET

Professeur à la Faculté de médecine de Lyon, Médecin des hôpitaux de Paris.

1898-1899, 2 vol. gr. in-8 de 1623 pages, avec 191 figures..... 24 fr.

Atlas-Manuel de Diagnostic Clinique

Technique médicale, indications thérapeutiques

Par le Dr C. JAKOB

et le Dr A. Létienne, ancien interne des hôpitaux de Paris.

3e *édition*, 1901, 1 vol. in-16 de 396 pages, avec 68 planches coloriées, relié maroquinsouple..... 15 fr.

Sémiologie de l'appareil respiratoire, par le Dr H. Barth, médecin de l'hôpital Necker. 2e tirage, 1914, 1 vol. gr. in-8 de 180 pages, avec 109 fig. noires et coloriées. Broché, 5 fr. Cartonné ..... 6 fr. 50

Sémiologie nerveuse, par les Drs Achard, Pierre Marie, Gilbert Ballet, professeurs à la Faculté de médecine de Paris, L. Lévi, Léri et Laignel-Lavastine. 1911, 1 vol. in-8 de 622 pages avec 122 figures..... 12 fr.

PRÉCIS D'AUSCULTATION

Par le Dr COIFFIER

6e *édition*. 1911, 1 vol. in-18 de 208 p., avec 95 figures coloriées, cart..... 5 fr.

Tableaux synoptiques de Diagnostic, par le Dr Coutance. 1899, 1 vol. gr. in-8 de 200 pages, cartonné ..... 5 fr.

Tableaux synoptiques d'Exploration médicale, par le Dr Champeaux. 1902, 1 vol. gr. in-8 de 184 pages ..... 3 fr. 50

Tableaux synoptiques de Symptomatologie, par le Dr M. Gautier. 1901, 1 vol. gr. in-8 de 180 pages ..... 3 fr. 50

Atlas de Radiographie de l'Homme normal, par le Dr R. Grashey, Béclère, médecin de l'Hôpital Saint-Antoine, Jaugeas, chef de laboratoire à l'hôpital Saint-Antoine. 1908, 1 vol. gr. in-8 de 108 pages, avec 97 planches, cart. 20 fr.

Atlas de Radiographie chirurgicale, par Grashey et Nogier, professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Lyon. 1910, 1 vol. gr. in-8 de 142 pages avec 64 schémas et 80 planches comprenant 240 figures. Cartonné..... 20 fr.

Précis de Coprologie clinique

GUIDE PRATIQUE POUR L'EXAMEN DES FÈCES

Par le Dr R. GAULTIER

Chef de clinique à la Faculté de médecine de Paris.

Preface du professeur A. Robin

2e *édition*, 1914, 1 vol. in-8 de 450 pages, avec 65 microphotographies et 4 planches coloriées..... 10 fr.

Diagnostic des Maladies simulées dans les accidents du travail et devant les conseils de révision, par le Dr P. Chavigny, professeur agrégé à l'École du service de santé militaire du Val-de-Grâce. Préface de M. le professeur A. Pierret. 1906, 1 vol. in-8 de 512 pages, avec 28 figures..... 10 fr.

PRÉCIS D'HISTOLOGIE

Par le Dr BRANCA

Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris.

2e *édition*. 1910, 1 volume in-8 de 755 pages, avec 390 figures, cart..... 15 fr.

Ce volume répond vraiment à son but, et constitue certainement le meilleur guide que l'étudiant puisse trouver pour commencer l'étude de l'histologie. Le médecin, plus avancé dans la science, trouvera lui-même dans sa lecture beaucoup de choses à apprendre. Dr E. APERT.

Nous ne pouvons que louer la méthode d'exposition et la clarté des descriptions élémentaires, il est vrai, mais suffisantes pour donner une notion essentielle de l'objet complet de l'histologie, la cellule, les tissus, les organes.

Dr F. VIAULT, *professeur à la Faculté de médecine de Bordeaux.*

Technique Histologique et Cytologique

Par le Dr G. RUBENTHALER

Préface par M. PRENANT

Professeur d'histologie à la Faculté de médecine de Paris.

1908, 1 vol. in-18 de 395 pages, avec 60 figures..... 5 fr.

ATLAS-MANUEL D'HISTOLOGIE

ET D'ANATOMIE MICROSCOPIQUE

Par le Professeur SOBOTTA et le Dr P. MULON

Professeur agrégé à la Faculté de médecine de Paris.

1903, 1 vol. in-16 avec 80 pl. coloriées, relié maroquin souple, tête dorée.. 20 fr.

Guide de l'Étudiant en Médecine aux

TRAVAUX PRATIQUES D'HISTOLOGIE

Par les Drs AIMÉ et BOBEAU
Préparateurs d'histologie
à la Faculté de médecine de Paris.

Préface par M. PRENANT
Professeur d'histologie
à la Faculté de médecine de Paris.

1912, 1 vol. in-18 de 172 pages avec 77 figures en photomicrographie.... 4 fr.

Guide pratique d'Histologie, normale et pathologique, technique et diagnostic, par L. ALQUIERET E. LEFAS, anciens internes des hôpitaux de Paris. Préface du professeur CORNIL. 1902, 1 vol. in-8 de 423 pages, avec 151 figures noires et coloriées..... 12 fr.

TRAITÉ ÉLÉMENTAIRE

DE PHYSIOLOGIE

Par E. GLEY

Professeur au Collège de France. Membre de l'Académie de médecine.

3e *édition*. 1912, 1 vol. gr. in-8 de 1220 pages, avec 305 figures ..... 22 fr.

Ce traité de Physiologie est l'ouvrage classique adopté par tous les étudiants. Il résout au delà de toute espérance le problème le plus ardu qui se soit peut-être jamais imposé à un auteur : Rester simple dans l'exposition des choses les plus compliquées ; être complet tout en bannissant les théories encore sur la balance.

C'est un livre entièrement nouveau par le plan général, la distribution des matières et la façon dont elles sont traitées et l'esprit qui l'a dirigé.

Cette nouvelle édition a été soigneusement revue et corrigée.

Tableaux synoptiques de Physiologie

Par le Dr BLAINCOURT. 1904, 1 vol. gr. in-8 de 171 pages ..... 3 fr. 50

Nouveaux éléments de Physiologie Humaine par H. BEAUNIS, professeur de physiologie à la Faculté de médecine de Nancy. 3e *édition*, 1888, 2 vol. gr. in-8 de 1626 pages, avec 672 fig., cart..... 25 fr.

Manipulations de Physiologie, par le Dr Léon FRÉDÉRICQ, professeur à l'Université de Liége. 1892, 1 vol. gr. in-8 de 283 p., avec 191 fig., cart ..... 10 fr.

CLINIQUE MÉDICALE
DE L'HOTEL-DIEU DE PARIS

Par le Professeur A. GILBERT

1913, 1 vol. gr. in-8 de 312 pages, avec figures noires et coloriées ..... 12 fr.

De l'évolution, qui est en train de transformer la médecine, M. Gilbert a été un des meilleurs ouvriers. La plupart de ses leçons ont pour substratum des recherches personnelles. C'est cette évolution qui imprime son caractère dominant à la nouvelle clinique de l'Hôtel-Dieu, et la différencie des précédentes.

CONSULTATIONS MEDICALES

Par H. HUCHARD

Médecin de l'hôpital Necker, membre de l'Académie de médecine.

Nouvelle Édition

MALADIES DU CŒUR
ARTÉRIOSCLÉROSE

1910, 1 vol. in-8 de 608 pages ..... 12 fr.

MALADIES DE L'APPAREIL DIGESTIF
ET DE L'APPAREIL RESPIRATOIRE

1911, 1 vol. in-8 de 600 pages ..... 12 fr

Guide du Médecin Praticien
Aide-Mémoire de MÉDECINE, de CHIRURGIE et d'OBSTÉTRIQUE

Par le Dr JACOULET

Ancien interne des hôpitaux de Paris.

1913, 1 vol. in-18 de 827 pages, avec 373 figures, cartonné ..... 10 fr.

Guide Clinique et Thérapeutique du Praticien

Par le Dr PALASNE DE CHAMPEAUX

Médecin principal de la marine.

1909, 1 vol. in-8 de 334 pages, cartonné ..... 5 fr.

Clinique médicale de l'Hôtel-Dieu de Paris, par A. Trousseau, professeur à la Faculté de Médecine de Paris. 12e *édition*, avec une préface nouvelle du professeur Gilbert. 1913, 3 vol. in-8 ..... 32 fr.

Aide-mémoire de Clinique médicale et de Diagnostic, par le professeur P. Lefert, 1895, 1 vol. in-18 de 314 pages, cartonné ..... 3 fr.

Traité des Maladies des Vieillards, par le Dr Rauzier, professeur à la Faculté de médecine de Montpellier. *Préface du professeur* Grasset. 1909, 1 vol. in-8 de 708 pages ..... 12 fr.

Thérapeutique des Maladies Infectieuses

PAR LES DOCTEURS

M. GARNIER, NOBÉCOURT, NOC, P. LEREBOULLET

1913, 1 vol. in-8 de 625 pages avec figures, cartonné ..... 12 fr

---

TRAITÉ DU SANG

Publié sous la direction du Pr GILBERT
et du Docteur WEINBERG, de l'Institut Pasteur.

Avec la collaboration de MM. Achard, Aubertin, Aynaud, Baudouin, Billet, Boidin, Bordet, Breton, Calmette, Chabrol, Chauffard, Dopter, Fiessinger, Foix, Gengou, Gilbert, Herscher, Jeantet, Jonesco-Michaiesti, de Jong, Jouan, Lebeuf, Léger, Mesnil, Mouton, Nicloux, Nicolle, Noguchi, Nolf, Pappenheim, Parturier, Philibert, Pinot, Ribierre. Ch. et Ch. Richet, Rubens Duval, Sabrazès, Sacquépée, Sicard, Tarassewitch, Thoinot, Tiffeneau, Tixier, J. Troisier, Villaret, Vincent, Weidenreich, Weil, Weinberg, Widal. — Secrétaire : M. le Dr Boidin.

1913-1914, 2 vol. gr. in-8 de 1400 pages avec planches coloriées et figures . . 45 fr

NOUVEAU

TRAITÉ DE MÉDECINE

et de Thérapeutique

Publié en fascicules sous la direction de

A. GILBERT
Prof. à la Faculté de médecine de Paris,
Membre de l'Académie de médecine.

L. THOINOT
Prof. à la Faculté de médecine de Paris,
Membre de l'Académie de médecine.

Avec la collaboration de MM.

Achard, Apert, Aubertin, Auché, Aviragnet, Babonneix, Ballet, Balzer, Barbier, Barth, Baudouin, L. Bernard, de Beurmann, Bezançon, Boinet, Boulloche, P. Carnot, Cartaz, Castex, Chauffard, P. Claisse, Claude, Courmont, Cruchet, Dejerine, Deschamps, Dupré, L. Fournier, Galliard, Gallois, M. Garnier, Gaucher, Gilbert, Gougerot, Gouget, Grasset, Guiart, Hallé, Hallopeau, Hayem, Herscher, Hudelo, Hutinel, Jacquet, Jeanselme, Klippel, M. Labbé, Laederich, Laignel-Lavastine, Lancereaux, L. Landouzy, Lannois, Laveran, Le Fur, Le Noir, Lereboullet, Léry, Letulle, L. Levi, Lion, Marfan, Marie, Marinesco, Ménétrier, Méry, Milian, Mosny, Netter, Parmentier, Pitres, Rauzier Rénon, Richardière, Roger, Roque, Sainton, Sérieux, Sicard, A. Siredey, Surmont, J. Teissier, Thiercelin, Thoinot, A. Thomas, Triboulet, Vaillard, Vaquez, Villaret, E. Weil, Widal, R. Wurtz.

CHAQUE FASCICULE SE VEND SÉPARÉMENT

1.	*Maladies microbiennes en général*, 8e tirage (272 p., 75 fig. noires et coloriées)	6 »
2.	*Fièvres éruptives*, 7e tirage (258 p., 8 fig.)	5 »
3.	*Fièvre typhoïde*, 7e tirage (312 p., 32 fig.)	6 »
4.	*Maladies parasitaires communes à l'Homme et aux animaux* (Tuberculose, morve, charbon, rage, etc.). 4e *tirage* (566 p., 81 fig.)	10 »
5.	*Paludisme et Trypanosomiase*, 7e tirage (150 p., 20 fig.)	3 »
6.	*Maladies exotiques*, 5e tirage (440 p., 29 fig.)	8 »
7.	*Maladies vénériennes*, 7e tirage (330 p., 20 fig.)	6 »
8.	*Rhumatismes et Pseudo-Rhumatismes*, 7e tirage (164 p., 18 fig.)	3 50
9.	*Grippe, Coqueluche, Oreillons, Diphtérie*, 6e tirage (172 p., 6 fig.)	3 50
10.	*Streptococcie, Staphylococcie, Pneumococcie, Colibacillose*, etc., 5e tirage	3 50
11.	*Intoxications*, 3e tirage (356 p., 6 fig.)	6 »
12.	*Mal. de la nutrition* (diabète, goutte, obésité) 3e tir. (400 p., 19 fig.)	7 »
13.	*Cancer* (662 p., 114 fig.)	12 »
14.	*Maladies de la Peau* (516 p., 178 fig.)	10 »
15.	*Maladies de la Bouche, du Pharynx* etc. 3e tirage (284 p., avec fig.)	5 »
16.	*Maladies de l'Estomac* (688 p., 91 fig.)	12 »
17.	*Maladies de l'Intestin*, 4e tirage (525 p., 96 fig.)	9 »
18.	*Maladies du Péritoine* (324 p., fig.)	5 »
19.	*Maladies du Foie et de la Rate.*	
20.	*Maladies des Glandes salivaires et du Pancréas* (342 p., avec 60 fig.)	7 »
21.	*Maladies des Reins* (462 p., 76 fig.)	9 »
22.	*Maladies des Organes génito-urinaires*, 5e tirage (464 p., 67 fig.)	8 »
23.	*Maladies du Cœur*	
24.	*Maladies des Artères et de l'Aorte*, 2e tirage (480 p., 63 fig.)	8 »
25.	*Maladies des Veines et des Lymphatiques* (169 p., 32 fig.)	4 »
26.	*Maladies du Sang.*	
27.	*Maladies du Nez et du Larynx* 2e tirage (277 p., 65 fig.)	5 »
28.	*Sémiologie de l'Appareil respiratoire*. 2e tirage (180 p., 109 fig.)	5 »
29.	*Maladies des Poumons et des Bronches* (860 p., 50 fig.)	16 »
30.	*Maladies des Plèvres et du Médiastin.*	
31.	*Sémiologie nerveuse* (629 pages, 129 fig.)	12 »
32.	*Maladies de l'Encéphale..*	
33.	*Maladies mentales.*	
34.	*Maladies de la Moelle épinière* (839 p., 420 fig.)	16 »
35.	*Maladies des Méninges*	8 »
36.	*Maladies des Nerfs périphériques.*	
37.	*Névroses.*	
38.	*Maladies d. Muscles* (170 p.)	5 »
39.	*Maladies des Os* (755 p. fig.)	15 »
40.	*Maladies du Corps thyroïde et des Capsules surrénales.*	

Chaque fascicule se vend également **cartonné** avec une augmentation de 1 fr. 50 par fascicule