

DEUXIÈME LEÇON

SOMMAIRE. — Influence de la découverte de Villemin. — Microbe et bactérie. — Microbes pathogènes et saprogènes. — Classification de Cohn. — Polymorphisme. — Trois classes de microbes. — Microbes de la Lèpre et de la Tuberculose, de l'Erysipèle. — Bacille de la Mammite contagieuse. — Tétragène. — Diplocoque de Fränkel. — Bactéridie charbonneuse.

Bacille de Koch. — Ses caractères morphologiques. — Conditions nécessaires à sa recherche clinique. — Méthodes colorantes de Koch, d'Ehrlich modifiées par Koch, de Ziehl.

Après avoir suivi les diverses phases par lesquelles a passé l'histoire de la tuberculose nous avons vu quelle influence la découverte de Villemin avait exercée sur la marche de cette question et l'impulsion qu'elle avait donnée à de nouvelles recherches sur la nature intime de la maladie.

Cette notion nouvelle qui bouleversait complètement les idées admises fut accueillie par de nombreuses objections. Elles ne devaient tomber qu'avec la description que Robert Koch allait donner de l'agent animé de la maladie tuberculeuse dont il prouvait du même coup la virulence et l'unité : à partir de ce jour, et malgré quelques objections victorieusement repoussées, la tuberculose prit définitivement son rang parmi les affections microbiennes au

point que le terme de bacillose ne tardait pas à devenir son synonyme ordinaire.

Nous venons de prononcer le mot de microbe : et comme désormais microbe, bactérie et bacille sont des expressions que nous emploierons couramment et presque indifféremment il est nécessaire de préciser l'idée qu'il faut s'en faire et de marquer leur place dans la pathologie générale de la question qui nous occupe.

Peut-être allons-nous trop loin en disant que nous emploierons indistinctement les mots de microbe et de bactérie, ce dernier ayant un caractère moins compréhensif puisque primitivement il servit à désigner un genre particulier de microbes : c'est là d'ailleurs une question de mots dont l'importance est secondaire.

Le microbe, comme l'ont montré les recherches histochimiques de Charles Robin, présente tous les caractères inhérents aux organismes végétaux, mais à une classe particulière de ceux-ci, ayant une nutrition spéciale, exigeant, pour se développer, se nourrir et se reproduire, la présence de carbone, carbone qu'ils empruntent aux matières organiques en dehors desquelles ils ne sauraient vivre.

Il y aurait encore matière à discussion pour savoir auxquels des deux groupes Algues ou Champignons le microbe doit être rapporté : pour les uns ce seraient des Champignons ou des Schyzomycètes, pour les autres des Algues ou Schyzophycètes, distinction basée sur l'absence ou la présence de chlorophyle. Cherchant à concilier les deux par-

tis, Sachs a réuni les deux groupes en un seul et lui a imposé le nom de Tallophytes. Algues ou Champignons peu importe au médecin : pour lui la question principale est de savoir si ce microorganisme est ou n'est point pathogène. On dit qu'il est pathogène lorsqu'à son développement, sa reproduction et quelquefois sa mort sont liées l'apparition, la persistance ou la disparition d'un état morbide : inversement il n'est point pathogène quand son évolution est indépendante d'un état morbide et qu'il n'entraîne aucun trouble, ne détermine aucune lésion spéciale de l'organisme. On a également dénommé ces derniers microbes saprogènes, liant ainsi l'idée de leur existence à celle d'un travail de décomposition organique.

Mais est-ce là une propriété persistante de chaque espèce de bactérie? Un microbe est-il toujours pathogène ou toujours saprogène? Existe-t-il en définitive une barrière infranchissable entre ces deux classes, ou au contraire la transformation de l'une à l'autre est-elle possible?

Bien que la question soit encore discutée et qu'il n'existe pas de démonstration irréfutable, bien qu'il ne soit pas prouvé qu'un microbe pathogène puisse se développer hors de certaines conditions le fait ne paraît pas impossible et c'est là un point qui reste encore en discussion.

Une foule de classifications, dont les dernières surtout fort compliquées, ont été proposées par les bactériologistes : nous pouvons nous borner à l'une des plus simples, la

première que formula Cohn en 1872; elle est d'ailleurs suffisante pour le médecin.

Cohn distingue quatre classes ou tribus : la première celle des sphéro-bactéries comprend les organismes arrondis, sphériques, parfois même très légèrement allongés et ne renferme qu'un genre, celui des microcoques : c'est celui-là qu'on retrouve dans l'érysipèle, c'est à ce genre qu'appartiennent tous les microbes de la suppuration, qu'ils soient placés bout à bout ou en chaînette (ce sont les streptocoques, ou que réunis en grappe ils prennent le nom de staphylocoques), quelle que soit d'ailleurs l'épithète : *aureus*, *albus*, etc., qui leur soit accolée.

En réalité, considérés isolément ils se rapprochent toujours plus ou moins de la forme sphérique.

La seconde tribu, celle des micro-bactéries ne renferme également qu'un seul genre, le genre bactérium ; ici le microbe n'a plus la forme arrondie, il s'allonge et l'une de ses dimensions l'emporte très notablement sur l'autre.

Dans la troisième classe celle des desmo-bactéries comprenant deux genres, bacilles et vibrions, les dimensions longitudinales augmentent encore et ces microorganismes se présentent souvent sous forme de chaînettes.

Enfin dans la quatrième classe se rangent les microbes également allongés mais disposés en tire-bouchon, ce sont les spiro-bactéries, avec les deux genres spirilles et spirochètes.

Nous n'insisterons pas sur les autres classifications dues plus tard à nombre d'auteurs, entre autres à M. Van Tieghem. Mais il est un point sur lequel je dois vous donner quelques détails :

La discussion est encore ouverte pour savoir si ces divisions sont naturelles et si la forme attribuée à chacune de ces espèces est bien permanente, en un mot s'il y a monomorphisme ou polymorphisme. Un microbe arrondi peut-il passer à l'état de bactérium, un bacille peut-il devenir spirille? Nous sommes loin de l'époque où Gaffky, selon l'expression de M. Bouchard, affirmait d'une manière hautaine, l'impossibilité absolue de cette transformation. Lisez les pages consacrées à cette question par M. le professeur Bouchard dans son remarquable ouvrage sur l'antisepsie médicale et vous y verrez que si la question n'est point jugée la balance semble cependant pencher en faveur du polymorphisme.

Plus que partout ailleurs nous en trouvons la preuve dans les travaux de M. Guinard et de M. Charrin sur le bacille pyocyanique.

En effet ces auteurs, en modifiant les conditions de milieu, de température, du terrain de culture, en y ajoutant certains produits, ont observé que sous ces influences diverses l'aspect du microbe changeait et que le bacille se transformait en microcoques. De même, en étudiant la pseudo-tuberculose zoogléique, Malassez et Vignal constatant des altérations anatomiques identiques à celle de la tuberculose

proprement dite, ont cru devoir se demander si de l'identité des lésions on ne devait pas conclure à l'identité de la cause, et à une modification morphologique du bacille de Koch.

Quoi qu'il en soit la classification de Cohn nous suffit, nous pouvons même nous contenter de trois classes : 1° les microbes plus ou moins sphériques, parmi lesquels nous citerons le gonococcus de Neisser, pour ne pas revenir sur les microcoques de l'érysipèle et de la suppuration dont nous avons parlé plus haut; 2° les bactéries allongées, bactérium, bacille, parmi lesquels nous trouvons le *subtilis*, ou microbe de l'infusion du foin, les bacilles de la lèpre et de la tuberculose, ces deux derniers présentant de telles ressemblances que quelques auteurs les ont regardés comme identiques, opinion que cependant nous ne croyons pas devoir partager; 3° enfin les spirilles tels que ceux de la salive déjà découverts par Leuwenhœck, les spirochètes du tartre dentaire, les spirilles de la fièvre récurrente, et, pour parler d'un autre que vous connaissez certainement tous, le bacille coma ou bacille virgule découvert et cultivé par Koch dans les selles des cholériques.

Étudions de plus près quelques-uns de ces microbes. L'érysipèle en culture par exemple nous présente des grains arrondis, placés les uns à côté des autres et que nous retrouvons d'ailleurs dans les tissus ou les lymphatiques des sujets atteints de cette maladie. Vus à un plus

fort grossissement ils se montrent sous l'aspect de grains de raisin.

Voyez le résultat d'une découverte d'un intérêt non seulement scientifique mais encore réel, le bacille décrit par Nocart comme agent de la mammite contagieuse. Vu à un faible grossissement il se présente sous la forme de filaments.

Mais ces filaments, si vous vous servez d'un objectif plus puissant, vous les apercevez constitués par de petits grains arrondis, réalisant ainsi les caractères du genre streptocoque. Une bactérie d'un plus grand intérêt pour nous est le tetragenus qui joue un rôle d'une certaine importance dans les cavernes pulmonaires. Ici nous trouvons une nouvelle disposition variable du reste suivant les conditions dans lesquelles il se développe. Examiné sur des tissus vivants il se montre formé de quatre grains accouplés et entourés d'une capsule; nous ne retrouvons pas cette capsule si nous étudions ce microbe provenant non plus directement d'un animal mais développé en culture.

La forme se modifie encore chez le microcoque de Fränkel: sa disposition plus allongée, lancéolée, rappelle l'aspect d'un grain de blé ou d'un grain d'orge. La bactériodie charbonneuse étudiée à des moments différents de son évolution a pu servir d'appui à la théorie du polymorphisme. Au bout de vingt-quatre heures de culture ce sont des filaments formant de véritables faisceaux enchevêtrés qui se voient sous le microscope. Sur une culture un peu plus déve-

loppée, les filaments s'allongent, ils présentent une augmentation marquée dans toutes leurs dimensions. Avec un fort grossissement vous les voyez constitués par des articles disposés bout à bout, et que vous retrouverez d'ailleurs isolés dans le sang des animaux charbonneux. Vous constaterez de plus au centre de ces articles des taches arrondies et brillantes; ce sont là les spores, premier stade de l'évolution de nouvelles bactéries.

Voici encore un autre bacille; celui de l'infusion du foin fermenté, avec une longueur beaucoup plus considérable.

En voilà d'autres maintenant, à l'aspect sinueux: ce sont les spirilles, mais s'ils apparaissent simplement sinueux sur les préparations sèches, c'est là le résultat des diverses manipulations qu'ils ont subies et en réalité ils sont tordus en vrille sur leur axe, ils présentent nettement l'aspect hélicoïde.

Mais il est temps de nous occuper du bacille de la tuberculose, de celui que Koch fit connaître le 24 mars 1882 à la Société de médecine de Berlin, et dont l'étude se lie maintenant sans discussion possible à celle de toutes les altérations tuberculeuses. C'est lui que nous rencontrerons à chaque pas, constituant le caractère propre et indispensable de chacune de ces lésions. Son nom seul de bacille doit déjà nous en faire soupçonner la forme, il présentera donc une forte prédominance de ses dimensions longitudinales, dimensions d'ailleurs qu'il est utile de préciser. Sa longueur égale 15 ou 20 fois sa largeur, et elle atteint de 1 à 5 μ ,

parfois elle va jusqu'à 8 ; quant à la largeur elle mesure de 0,2 à 0,3 de μ ; quelques auteurs même lui donnent jusqu'à 0,5, dimension qui nous paraît exagérée. Vous voyez qu'il s'agit d'un organisme petit, extrêmement petit, et dont seuls des objectifs puissants vous permettront de déceler la présence. Pour les examiner il est nécessaire d'employer un objectif n° 8 de Véric, lorsqu'on fait l'examen à sec, ou mieux, en se servant de l'immersion homogène à l'huile de cèdre, d'un objectif de 1/12 par exemple. Vous ne devrez pas non plus oublier de vous munir d'un bon éclairage, tel que l'éclairage Abbe.

En négligeant ces conditions vous vous exposerez aux plus graves méprises, et par suite d'une technique insuffisante il vous arrivera de considérer comme des bacilles les objets les plus différents. Mais il ne suffit pas que vous en connaissiez les dimensions, il faut encore que les diverses formes vous soient familières, sous peine de le méconnaître lors même que vous vous seriez placés dans de bonnes conditions pour l'observer.

Tantôt rectilignes, surtout à l'état frais, tantôt incurvés, ou comme coudés à l'une de leurs extrémités, surtout lorsqu'ils auront été desséchés au préalable, vous les trouverez affectant les uns avec les autres les rapports les plus variables. Étudiés dans les organes, sur des coupes très minces, ou dans les sécrétions étendues et séchées sur les lamelles, tantôt ils peuvent être isolés, d'autres fois réunis à angles par une de leurs extrémités, ou se croisant en un

point quelconque de leur longueur, souvent réunis en groupes plus ou moins agglomérés, plus ou moins compacts.

Pour tirer de ces examens tout le profit possible, il faut savoir où chercher ce bacille. Il existe chez tout tuberculeux, à quelque titre qu'il le soit, mais c'est là où siège la lésion ou dans les liquides en contact avec l'organe atteint que, pour éclairer le diagnostic, il faudra le mettre en évidence. Si une lésion des voies respiratoires est soupçonnée, c'est aux crachats qu'on s'adressera ; si l'on craint une tuberculose génito-urinaire ou de l'intestin, ce seront l'urine et les liquides diarrhéiques qu'il faudra examiner. S'agit-il du pus d'un abcès froid, d'un ganglion suppuré, d'une de ces arthrites suspectes dont le chirurgien a besoin de connaître la nature, ce sera dans le liquide évacué par la ponction et mieux encore dans les parcelles enlevées des parois par le grattage qu'on retrouvera le microbe.

Et quand le malade aura succombé, on le verra dans tous les organes ayant subi les atteintes de la tuberculose.

Mais les caractères morphologiques ne sont pas caractéristiques et bien d'autres bacilles pourraient être confondus avec lui. Il est vrai que la mensuration pourrait servir de critérium, mais c'est là une manœuvre difficile nécessitant des instruments spéciaux et une grande habileté et ne répondant en rien aux besoins de la pratique. Or la recherche du bacille ne doit pas être seulement un travail de laboratoire entrepris dans un but de curiosité scientifique, c'est là

un moyen de diagnostic qu'il faudra utiliser dans tous les cas. Ce n'est pas seulement au niveau de lésions anciennes et quand le diagnostic clinique s'est imposé depuis longtemps, mais dès le début, dès les premiers jours même de l'affection que le bacille existe, et que la constatation de sa présence est d'un précieux secours.

Heureusement les méthodes colorantes, véritables réactions chimiques, ont rendu cet examen si facile qu'il est actuellement à la portée de tout le monde. La première de ces méthodes appartient à Robert Koch, et c'est grâce à elle qu'il put démontrer l'individualité de son bacille. Au début de ses recherches il employa le procédé suivant. Dans une solution faible de potasse caustique colorée au bleu de méthylène on plonge les coupes ou les lamelles pendant vingt-quatre heures, ou quatre heures en chauffant le liquide; puis de là les préparations sont laissées deux minutes dans une solution de vésuvine, matière colorante d'un jaune brunâtre. Sous l'influence de la solution alcaline de bleu de méthylène, la préparation tout entière prend une teinte bleue, cellules, globules, filaments de mucus, toutes les bactéries (et l'on sait que les micrographes ont décrit jusqu'à trente-quatre variétés de microbes dans les crachats). Rien ne distinguait donc le bacille pathogène des autres éléments, mais sous l'action de la vésuvine, une nouvelle coloration se produit, la préparation devient brunâtre sauf le bacille caractéristique qui conserve la coloration du bleu de méthylène. C'est là une

méthode lente, d'une certaine difficulté technique, dont le succès n'est pas constant, qui n'a plus maintenant d'ailleurs qu'une valeur historique.

Koch lui-même; reconnaissant la supériorité de la méthode d'Ehrlich, l'adopta en la modifiant de la manière suivante.

Versant dans un tube à expérience un demi-centimètre cube environ d'huile d'aniline, on remplit d'eau les deux tiers du tube, puis après avoir agité jusqu'à émulsion, on filtre sur du papier mouillé. A la solution limpide ainsi obtenue, on ajoute quelques gouttes de teinture alcoolique de violet de gentiane ou d'une solution alcoolique de fuchsine ou de rubine. Dans cette solution ainsi préparée les coupes baigneront à froid vingt-quatre heures ou vingt minutes si la liqueur a été portée à ébullition; puis les préparations sont lavées, décolorées à l'acide nitrique au tiers complètement pur d'acide nitreux. Tout se décolore sauf le bacille qui conserve la teinte rouge, qu'on peut faire apparaître plus vive encore en colorant le fond de la préparation au bleu de méthylène.

Ce procédé présente quelques inconvénients; les matières premières sont difficiles à obtenir à l'état de pureté; l'huile d'aniline se conserve difficilement et au bout de peu de temps la solution colorante est hors d'usage. De plus il n'est pas toujours facile de décolorer à point, cette méthode exigeant un tour de main qu'on n'acquiert qu'avec une certaine habitude.

Beaucoup plus pratique et plus commode est celle de Ziehl, la seule que j'emploie maintenant et que je vous conseille de préférer à toutes les autres. La solution colorante se compose d'eau, de fuchsine et d'acide phénique¹ et se conserve avec facilité pendant plusieurs mois. Les lamelles restent dans ce bain colorant pendant une dizaine de minutes au maximum, un quart d'heure au plus pour les coupes, sans qu'il soit nécessaire de chauffer. La décoloration se fait avec l'acide sulfurique au quart; les coupes décolorées sont montées dans l'eau ou séchées et montées au baume.

¹ Sol. de Ziehl: Alcool absolu 10 centimètres cubes, acide phénique 5 grammes, fuchsine 1 gramme, pour 125 grammes de solution.

TROISIÈME LEÇON

SOMMAIRE. — Tentatives de cultures. — Toussaint. — Bouillons et milieux solides. — Cultures dans le sérum. — Stérilisation par le chauffage discontinu. — Géluse. — Agar-agar. — Recherches de MM. Nocard, Gran-cher, Hippolyte Martin. — Technique de l'ensemencement. — Choix de la matière à ensemer. — Conditions de température et d'humidité nécessaires au développement des cultures. — Développement des bacilles. — Différences morphologiques suivant leur âge. — Tentatives d'inoculations aux animaux et à l'homme. — Hébréard, Lepelletier (de la Sarthe), Kortum, etc.

L'aspect sous lequel se présente le microbe, les colorations qui lui sont propres ne sont pas les seuls réactifs qui permettent la différenciation du bacille de Koch. Nous avons vu que, par des cultures, Villemin avait démontré la spécificité et la virulence du microbe de la tuberculose.

Recherchons maintenant les diverses tentatives qui ont précédé la découverte définitive de Robert Koch.

Un savant trop tôt enlevé à la science, Toussaint, élève de Pasteur, avait tenté en suivant les procédés indiqués par son maître, d'isoler et même plus, de cultiver l'agent tuberculeux. Dans ce but, conformément aux procédés pastoriens, il employa des bouillons obtenus par l'ébullition de la chair musculaire du bœuf. Ce liquide stérilisé et conservé dans des ballons servait à l'ensemencement des pro-