

des bacilles. Nous n'avons pas à revenir sur ce sujet qui a été déjà traité longuement : le lecteur se reportera aux pages précédentes; répétons seulement que, lorsque la double coloration est possible, il est toujours indiqué de donner la coloration du carmin à la masse du tissu avant de la soumettre au microtome.

On peut parfois opérer plus rapidement la fixation sur la lame, surtout lorsqu'il ne s'agit que d'un examen histologique de la coupe carminée. Sur la lame, on étend avec un pinceau une légère couche de la solution suivante (Schællibaum) :

Essence de girofle.....	3 vol.
Collodion.....	1 —

puis on dispose les coupes comme il a été dit. On les fixe avec le pinceau, on fond la paraffine, etc., comme il est dit ci-dessus.

## DEUXIÈME PARTIE

### CHAPITRE PREMIER

#### MALADIES MICROBIENNES COMMUNES A L'HOMME ET AUX ANIMAUX

##### I

#### CHARBON BACTÉRIDIIEN

(FIÈVRE CHARBONNEUSE. — SANG DE RATE, ETC.)

##### I. — Historique.

La découverte de la bactérie charbonneuse est due à Davaine et Rayer. Les points principaux de l'histoire de cette affection ont été établis par Davaine, Koch, Pasteur, Chamberland et Roux.

Le lecteur trouvera dans le livre de Straus : *Le charbon des animaux et de l'homme*, un exposé magistral de toute la question.

##### II. — Charbon bactérien spontané (1).

Le charbon bactérien est une maladie commune aux animaux et à l'homme.

(1) Il est bien entendu que ce terme *spontané* appliqué à une maladie microbienne quelconque indique l'affection contractée par contagion naturelle et non artificielle. Le terme « *spontané* » s'oppose ainsi au terme « *expérimental* ou *inoculé* ».

a) *Charbon spontané des animaux.* — La voie d'introduction naturelle du charbon chez l'animal est le tube digestif : c'est en ingérant avec leurs aliments des bactériidies sous la forme de spores que les animaux prennent le charbon.

Des animaux domestiques, les uns sont *doués de réceptivité* pour le charbon; les autres sont *réfractaires* à la maladie.

Les animaux de la première catégorie sont : le *mouton*, le *bœuf*, le *cheval*; le mouton et le bœuf offrent une réceptivité plus grande que le cheval.

Les animaux réfractaires sont le *chien*, le *chat*, le *porc*, les *oiseaux*, etc., etc.

L'immunité naturelle peut cependant être vaincue dans certaines circonstances rares et toutes spéciales. Il existe des faits authentiques de charbon chez des porcs et chez des chiens qui avaient mangé de la viande ou des viscères d'animaux charbonneux; dans la plupart de ces cas, la maladie affectait la forme d'*angine* ou de *glossanthrax*. M. Nocard a cité l'exemple d'un chat qui mourut d'une amygdalite bactériidienne.

b) *Charbon spontané de l'homme.* — L'organisme humain ne constitue pas un milieu très favorable au développement de la bactériidie; l'homme peut cependant contracter le charbon de trois façons différentes :

1° Par inoculation cutanée accidentelle : blessure, piqûre, excoriation de la peau chez les individus qui manient les cadavres charbonneux (vétérinaires, bergers, bouchers, équarisseurs) ou les peaux d'animaux morts de charbon (tanneurs, mégissiers).

L'accident initial dans cette forme, qui est la plus fréquente, est la *pustule maligne*.

2° Par les voies digestives : c'est le *charbon intestinal*, résultant de l'ingestion de substances souil-

lées de bactériidies ou de spores charbonneuses (viandes charbonneuses, etc., etc.).

3° Par les voies respiratoires : c'est le *charbon pulmonaire*, forme rare, décrite chez les chiffonniers de Vienne, et chez les trieurs de laine de Bradford en Angleterre (*Woolsorter's disease*), qui est évidemment le résultat de la pénétration dans les voies respiratoires de poussières chargées de spores charbonneuses.

Les lésions macroscopiques trouvées à l'autopsie d'un sujet charbonneux (homme, mouton, bœuf, cheval, etc.) sont identiques dans leurs traits principaux, ceux-ci étant d'ailleurs plus ou moins accusés suivant l'espèce : *sang* noir, poisseux, coagulable; veines gorgées de sang et congestions viscérales diverses; *rate* énorme, noire, diffuse; *muqueuses* de l'*intestin grêle*, du *gros intestin*, parfois de l'*estomac*, parsemées d'ecchymoses noirâtres et de saillies d'aspect furonculaire, noirâtres, brunâtres ou verdâtres, ulcérées ou non, en partie gangrenées; *poumon* présentant des foyers congestifs ou apoplectiques; *putréfaction* rapide du cadavre, etc., etc.

Le sang, les pulpes organiques et la rate au premier rang, la moelle osseuse, les ganglions, etc., sont virulents.

### III. — Charbon expérimental. — Charbon inoculé.

a) *Réceptivité des diverses espèces pour le charbon expérimental.* — Il y a divers moyens de conférer le charbon aux animaux d'expérience : l'*infection par les voies digestives*, l'*inoculation intravasculaire*, l'*inoculation sous-cutanée*.

L'infection par les voies digestives reproduit le mode de contagion naturelle; sauf pour certaines expériences, elle ne présente pas un grand intérêt.

Le véritable mode expérimental, le mode de pratique courante, est l'*inoculation sous-cutanée*.

Les animaux réagissent à son égard d'une façon très variable, qu'il est bon d'indiquer rapidement.

Le *mouton* prend le charbon inoculé avec la même facilité que le charbon spontané : le *bœuf*, si sensible au charbon spontané, oppose au charbon inoculé une grande résistance; le *cheval* prend mieux que le *bœuf* le charbon inoculé.

Le *porc adulte* résiste à l'inoculation charbonneuse, le *porcelet* succombe.

Le *chien* est en règle assez réfractaire à l'inoculation du charbon.

M. Malm a fait à l'Institut Pasteur une série d'expériences sur le charbon du chien, qui ont donné les résultats suivants. Vingt-quatre chiens furent soumis à l'inoculation : sept subirent l'inoculation sous-cutanée : un seul succomba. Dix-sept subirent l'inoculation intraveineuse : sept succombèrent (1).

M. Straus a montré que les chiens nouveau-nés pouvaient être facilement inoculés de charbon par injection sous-cutanée, et ne résistaient pas mieux que le *cobaye*.

Il faut retenir de tout ceci que le chien pourra d'autant plus facilement être rendu charbonneux qu'il sera plus jeune, et que l'inoculation intraveineuse triomphe plus aisément de sa résistance que l'inoculation sous-cutanée.

Le *chat adulte* est réfractaire au charbon : le jeune chat peut, au contraire, être infecté comme le *jeune chien*.

(1) M. Malm fait remarquer que sur les huit chiens qui ont succombé dans sa série expérimentale six étaient noirs, ce qui plaiderait en faveur d'une plus grande réceptivité chez les chiens de cette couleur.

Dans les conditions ordinaires, la *poule* résiste à toute tentative d'inoculation. Les inoculations sous-cutanées, dans les muscles, dans le péritoine, ont échoué en règle absolue entre les mains de Feser, Perroncito, Hess, Kitt, Koch, Gaffky, Löffler n'ont pas réussi davantage en mêlant à la nourriture de ces animaux des spores charbonneuses. Pasteur a montré, en 1878, que par un dispositif spécial, on pouvait triompher de la résistance de la poule. Pour cela, il suffit d'abaisser sa température en maintenant le tiers inférieur de son corps dans l'eau froide. Les poules, fixées verticalement sur des planchettes de bois et plongées dans des seaux remplis d'eau froide à 25°, succombent toutes quand on vient à les inoculer de charbon, tandis que les témoins inoculés, mais non réfrigérés, survivent.

M. Wagner, qui a, par le procédé de Pasteur, tué constamment ses poules en expérience, a indiqué un moyen original de triompher de la résistance de la poule : ce procédé consiste à maintenir leur température constamment au-dessous de la normale par des injections répétées d'antipyrine : six poules sur onze inoculées dans ces conditions succombèrent au charbon (*Annales de l'Institut Pasteur*, 1890).

Les *pigeons* ont également pour l'inoculation charbonneuse une faible réceptivité, mais dont on triomphe beaucoup plus facilement sans artifice que pour la poule.

Oemler, Stratus, Perroncito, Kitt, Czaplowski, Lubarsch ont pu conférer dans quelques cas le charbon à ces oiseaux. Kitt, sur une série de dix-sept, en a tué deux; Czaplowski, sur une série de onze, a deux inoculations positives. M. Metchnikoff a vu que, si dans les conditions ordinaires les pigeons supportent bien l'inoculation sous-cutanée

ou dans les muscles, ils succombent en grand nombre quand on introduit le virus dans l'œil.

L'inoculation sous-cutanée devient elle-même mortelle quand on inocule un virus qui a déjà passé plusieurs fois de pigeon à pigeon : sur vingt-huit pigeons, M. Metchnikoff en a tué vingt-trois avec un virus de passage.

Le passage de pigeon à pigeon renforce donc le virus pour le pigeon; il le renforce aussi pour les animaux sensibles (lapin, cobaye); il le renforce au point qu'avec un virus de long passage on arrive à tuer les poulets, animaux si réfractaires (Pasteur).

Les jeunes pigeons sont plus sensibles que les pigeons adultes.

Les véritables *réactifs expérimentaux* du charbon sont, en dehors du mouton : le *lapin*, la *souris*, et surtout le *cobaye* : ce seront là les animaux d'élection du laboratoire pour toute recherche *expérimentale* ou *diagnostique*, portant sur le charbon.

Assez résistants à l'infection par la voie intestinale, la *souris*, le *lapin* et surtout le *cobaye* prennent admirablement le charbon inoculé.

Parmi les animaux de laboratoire, le *rat blanc* mérite une mention spéciale, car la façon dont il se comporte devant l'inoculation charbonneuse a donné lieu à de nombreuses controverses et s'est trouvée avoir un intérêt doctrinal considérable.

Behring a érigé en axiome la non-réceptivité du rat pour le charbon : pour lui le rat blanc occupe le premier rang parmi les animaux à sang chaud réfractaires à la bactériémie. Les vieux rats en particulier possèdent une immunité presque absolue. Après injection de fortes doses de charbon virulent, ils n'éprouvent ni réaction locale, ni trouble quelconque.

G. Franck, sur vingt-deux rats, n'a eu qu'une

mort; les vingt et un autres ont eu une lésion locale des plus nettes (œdème charbonneux), mais ont guéri.

La vérité ne paraît pas être dans les opinions de ces auteurs.

Löffler, en 1881, avait soigneusement étudié cette question. De quarante-deux rats inoculés, vingt-deux seulement succombèrent à la première inoculation; mais les vingt autres n'avaient pas l'immunité à la suite de cette inoculation, car réinoculés ils succombèrent à la deuxième, troisième... et même sixième injection.

M. Straus dit : « Tous ceux qui ont expérimenté sur les rats, ont pu s'assurer du fait suivant, que j'ai été souvent à même de constater : c'est que l'on peut, un nombre variable de fois, leur inoculer sans résultat des matières charbonneuses; puis, un beau jour, une inoculation de la même matière, en même quantité, leur communique le charbon. »

M. Metchnikoff est, plus récemment, arrivé aux mêmes résultats que MM. Löffler et Straus.

Il a vu en outre que les jeunes rats sont beaucoup plus sensibles que les rats adultes. En commençant une série expérimentale par de tout jeunes rats, et en faisant passer le virus de rat à rat, en choisissant ces animaux de plus en plus âgés, on arrive à tuer du premier coup de vieux rats.

b) *Inoculation*. — L'inoculation sous-cutanée se pratique à l'aide de la seringue de Straus : on choisit de préférence pour lieu d'inoculation chez le mouton, le lapin, la souris, le cobaye, la face interne de la jambe.

La *matière d'inoculation* est très variable : culture virulente; sang charbonneux; pulpes de rate, de ganglions, de foie, moelle osseuse, etc., broyées

et délayées dans du bouillon ou de l'eau stérilisés, et passées sur le papier filtre.

c) *Symptômes et lésions du charbon expérimental.* —

Au bout de dix à quinze heures on voit, chez le lapin, la souris, le cobaye, « un empatement œdémateux assez prononcé, facile à sentir par la palpation, se développer au point d'inoculation; en même temps la température centrale de l'animal s'élèvera d'un ou deux degrés. Les autres symptômes accusés par les animaux sont insignifiants; ils continuent à manger et à se bien porter en apparence jusqu'à quelques heures avant la mort. Celle-ci survient ordinairement trente-six à quarante heures après l'inoculation chez le cobaye, quarante-huit à soixante heures chez le lapin. Elle est précédée d'une courte période pendant laquelle l'animal paraît inquiet, change souvent de place, urine fréquemment; la respiration s'accélère; l'animal devient comme indifférent et assoupi; il ne cherche plus à fuir, et quand il le fait c'est avec des mouvements incertains et mal coordonnés. Puis il tombe dans une sorte de coma; la respiration devient plus superficielle, et il meurt après quelques légères convulsions, et une température centrale fortement abaissée, à 34°, à 32°; quelquefois à 30°. » (Straus.)

C'est dans les dernières heures de la vie seulement que les bactériidies apparaissent dans le sang: il sera facile de s'assurer de leur présence en prenant de temps à autre quelques gouttes du sang de l'oreille et en examinant ce sang par les procédés que nous indiquerons ci-dessous.

« A l'autopsie on ne trouve plus à la peau de trace de la piqûre d'inoculation; mais à ce niveau, dans une étendue parfois fort grande, le tissu cellulaire sous-cutané est le siège d'une infiltration œdémateuse tout à fait caractéristique: c'est un

œdème gélatineux, tremblotant, transparent, à peine teinté de rouge, rappelant un peu la consistance du corps vitré de l'œil. » (Straus.)

Cet œdème est d'autant plus prononcé que la survie a été plus longue.

« Les ganglions lymphatiques correspondant à la région inoculée sont augmentés de volume, rouges, ecchymotiques, entourés d'une zone d'œdème. »

La rate est tuméfiée, diffluite; le foie est vivement congestionné; les poumons sont hyperhémisés ainsi que les reins, etc. Il est à remarquer, et c'est un point intéressant, que les lésions intestinales, qui sont de règle dans le charbon spontané, manquent le plus souvent dans le charbon inoculé.

IV. — La bactériidie charbonneuse (bactériidie de Davaine). — Sa recherche dans les liquides et les tissus organiques de l'animal charbonneux.

a) Le SANG. — Le sang doit être autant que possible pris dans le cœur, et examiné dans le plus bref délai après la mort; l'examen se fera sans coloration, et avec coloration.

*Examen sans coloration.* — Si l'on dépose sur une lamelle une goutte de sang charbonneux, et qu'on la porte sous le microscope (grossissement de 400 à 500 diamètres, sans éclairage Abbe), « on aura sous les yeux le spectacle saisissant si bien décrit en quelques mots par M. Pasteur :

« Les globules rouges, plus ou moins agglutinés, » coulant comme une gelée un peu fluide; des » globules blancs en nombre plus grand que dans » le sang normal et des bâtonnets qui nagent dans » le sérum limpide. » Ces bâtonnets sont droits, flexibles, cylindriques, immobiles, homogènes comme du verre. Les uns paraissent constituer

un bâtonnet unique, les autres sont formés de deux ou trois articles (rarement davantage) placés bout à bout, séparés par une scissure nette, l'adhérence des segments contigus ne se faisant plus que d'une façon lâche et souvent par un des angles seulement. L'épaisseur des bâtonnets est d'environ 1 à 25  $\mu$ ; la longueur est très variable, entre 5 et 20  $\mu$ . Tel est l'aspect que présente le *bacillus anthracis*, examiné dans le sang ou dans les autres produits charbonneux frais, sans autre mode de préparation. » (Straus.)

*Examen avec coloration.* — Le sang charbonneux se colore bien par les diverses méthodes de coloration simple exposées dans le chapitre vi. On pourra placer la lamelle sur laquelle le sang a été étalé dans une solution hydroalcoolique de violet de gentiane, de fuchsine, de rubine, de bleu de méthyle.

La solution bleue de Löffler donne aussi d'excellents résultats : les bactériidies apparaissent en bleu foncé, les globules en vert pâle.

La méthode de Gram et les divers procédés qui en dérivent (Gram-Kühne, Gram-Nicollé, etc.) donnent d'excellentes colorations; la coloration du fond, c'est-à-dire ici des globules, doit être faite à l'éosine : les bacilles teints en violet foncé tranchent bien sur les globules colorés en rose.

Les examens avec coloration de la bactériidie charbonneuse doivent se faire au grossissement de 4 à 500 diamètres avec l'éclairage Abbe.

b) OÈDÈME GÉLATINEUX DU CHARBON EXPÉRIMENTAL AU POINT D'INOCULATION. — On trouvera dans cet oedème, examiné avec ou sans coloration, des bactériidies en petite quantité, beaucoup plus longues que dans le sang.

c) PULPES ORGANIQUES. — Les pulpes de rate, de foie, de poumon, de ganglions, la moelle osseuse



Fig. 66. — Charbon.

Épiploon de cobaye. Verick, oc. 2, obj. 7 (Gram).

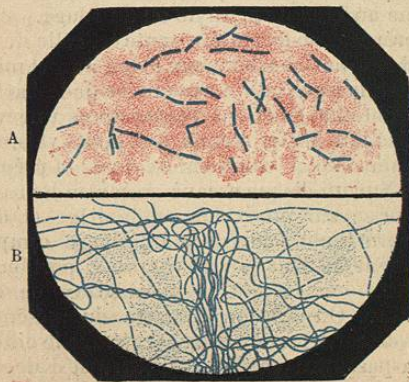


Fig. 67. — Charbon.

A, pulpe de la rate de cobaye. Verick, oc. 2, obj. 7. Procédé de Kühne.  
B, culture. Verick, oc. 1, obj. 6.

seront examinées sur lamelles par coloration *simple* ou *double*.

On traitera les lamelles par les solutions hydro-alcooliques de violet de gentiane, de fuchsine, de rubine, de bleu de méthyle, par le bleu de Löffler quand on voudra faire la coloration simple.

La coloration double se fera par la méthode de Gram et les procédés qui en dérivent : le fond sera coloré à l'éosine, au brun de Bismarck ou au carmin.

d) Les divers organes du sujet charbonneux seront examinés en *coupes histologiques* : les organes à choisir seront le foie, le poumon, le rein, la rate, l'intestin. Ces coupes seront traitées par les méthodes de double coloration de Gram. Les bactéries apparaissent en violet foncé au milieu du tissu coloré en rose par le carmin ou l'éosine ou en brun pâle par le brun de Bismarck.

On peut aussi traiter par les méthodes simples de Kühne au bleu de méthyle ou au rouge.

Une préparation fort intéressante est celle du *mésentère* des sujets charbonneux : rien ne met mieux en lumière la localisation vasculaire de la bactérie. On obtient dans ces préparations une véritable injection bactérienne des petits vaisseaux de l'organe. Voici comment se fera la préparation (1) : Sur un disque excavé en son milieu (une tranche prise sur un bouchon de liège et dont on excavera toute la surface intérieure remplira parfaitement le but), on charge une portion de mésentère, en évitant les vaisseaux de trop gros calibre. On détache du reste du mésentère la partie de cette membrane chargée sur le disque, et on la passe au mélange d'éther et d'alcool à

(1) Il est avantageux de choisir pour cette préparation un *sujet maigre*.

parties égales. On la plonge ensuite dans le bain colorant choisi (méthode de Gram et dérivées), pendant une demi-heure.

On détache alors la membrane, colorée en violet, du disque qui la supportait; on la divise en plusieurs fragments qu'on traite comme s'il s'agissait d'une coupe par les méthodes de Gram. On achève en colorant à l'éosine et on monte comme une coupe.

Lorsque la préparation est bien réussie, les vaisseaux se détachent en fines trainées violettes dans lesquelles on distingue une quantité innombrable de bactéries sur le fond rose de la membrane.

#### V. — Culture de la bactérie charbonneuse.

*Aérobie*, la bactérie se cultive en présence de l'air à toute température de 16 à 43°. La température la plus favorable est de 30 à 35 degrés.

La bactérie se développe dans les milieux liquides et sur les milieux solides transparents et opaques : gélatine, gélose, pomme de terre.

On choisira de préférence pour *semence* le sang, ou la pulpe de rate et de ganglion.

a) CULTURE DE LA BACTÉRIE CHARBONNEUSE DANS LES MILIEUX LIQUIDES. — *Urine*. — C'est dans l'urine neutre que M. Pasteur fit ses premières cultures de bactérie. Le bouillon doit être préféré.

*Bouillons*. — Tous les bouillons, qu'ils soient faits de viande de poule, de mouton, de veau, de bœuf, etc., se prêtent bien à la culture de la bactérie. — Le bouillon,ensemencé avec une goutte de sang ou de pulpe organique charbonneuse, est mis à l'étuve à la température convenable.

« Au bout de quelques heures, on voit des flocons tenus nager dans le liquide; ces flocons

grossissent et conservent une certaine cohésion, de sorte qu'ils résistent à une légère agitation imprimée au liquide qui reste limpide dans leur intervalle. Dans les heures suivantes ces flocons deviennent assez volumineux pour former comme un nuage au sein du liquide. Cet aspect floconneux de la culture de la bactériidie dans le bouillon est caractéristique. Après quelques jours de séjour à l'étuve, le bouillon dans lequel a poussé la bactériidie a légèrement bruni et est redevenu limpide, et sur le fond du vase s'est déposée une fine poussière qui se soulève quand on agite le liquide. » (Straus.)

b) CULTURE DE LA BACTÉRIDIE DANS LA GÉLATINE. — La bactériidie *liquéfie la gélatine*; la culture ne doit se faire qu'en piqûres ou en plaques : elle donne une apparence parfois assez caractéristique.

La gélatine étantensemencée par piqûre, et laissée à la température du laboratoire, « au bout d'un jour on la verra se fluidifier à la partie supérieure, et de haut en bas, en même temps qu'il s'y forme des flocons blancs, d'où partent presque toujours de fins filaments enchevêtrés et ramifiés qui donnent à la culture une apparence arborescente ». (Straus.)

Après un certain temps, la gélatine est fluidifiée dans toute sa hauteur, et les flocons blancs formés par les bactériidies tombent au fond.

« Cultivée sur la gélatine étalée en couche mince sur une plaque de verre (culture sur plaques de Koch), la bactériidie charbonneuse se développe sous forme de colonies arrondies qui, examinées à un faible grossissement, présentent au centre un aspect filamenteux enchevêtré; à la périphérie de la colonie, ces filaments sont assez régulièrement onduleux. » (Straus.)

c) CULTURE DE LA BACTÉRIDIE SUR LA GÉLOSE. — Sur la gélose en strie, à l'étuve, la bactériidie se développe bien en vingt-quatre à quarante-huit heures sans apparence caractéristique.

d) CULTURE DE LA BACTÉRIDIE SUR POMME DE TERRE. — La bactériidie donne sur la pomme de terre, à l'étuve, en vingt-quatre ou quarante-huit heures, des colonies sèches, blanches; lorsque les colonies sont assez rapprochées pour arriver à fusionner, la pomme de terre semble recouverte d'une couche crémeuse.

e) CULTURE DE LA BACTÉRIDIE DANS LE LAIT. — La bactériidie virulente coagule le lait du troisième au cinquième jour; vers le septième au dixième jour le coagulum se dissout.

Il est à noter que les bactériidies atténuées des vaccins ne coagulent pas le lait pendant les deux premières semaines; à ce moment elles dissolvent lentement la caséine (Gamaléia).

EXAMEN DES CULTURES DE CHARBON. MORPHOLOGIE ET COLORATION DE LA BACTÉRIDIE CULTIVÉE. — Dans l'organisme, la bactériidie n'a que la *forme bacillaire*. Dans les cultures elle prend deux nouvelles formes: la *forme filamenteuse*, et la *forme sporulée*.

Les cultures seront examinées *sans coloration* et *avec coloration*.

*Examen sans coloration.* — Dans une goutte de culture mise sur une lamelle (après dilution dans le bouillon stérilisé, s'il s'agit de culture sur gélose ou sur pomme de terre), et portée sous le microscope, on « aperçoit des *filaments* extrêmement longs, cylindriques, non ramifiés, ondulés, tordus quelquefois les uns sur les autres et enchevêtrés comme des paquets de cordes. Ces filaments paraissent homogènes dans toute leur longueur, sans trace de séparation transversale, sauf sur les points où il existe des ruptures. » (Straus.)



L'apparence filamenteuse de la bactériidie est très saisissante déjà au bout de vingt-quatre heures, dans les cultures en bouillon séjournant à l'étuve. Dès cette époque parfois les spores apparaissent, mais elles sont plus nettes et plus nombreuses au bout de quelques jours. A cette époque « beaucoup de filaments paraissent remplis de noyaux réfringents, un peu allongés : quelques-uns sont encore dans des filaments très nets, quelques autres forment des chaînes où on reconnaît la forme des filaments qui leur ont donné naissance, mais où le contour a disparu ; d'autres enfin sont tout à fait libres et flottent dans le liquide. Ces noyaux sont les germes, les spores ou graines de la bactériidie ». (Chamberland, *Charbon et vaccination charbonneuse*.)

*Examen avec coloration.* — Les cultures de bactériidie charbonneuse se colorent bien par les différents procédés de coloration simple exposés au chapitre vi ; les solutions hydroalcooliques de violet de gentiane, de fuchsine, de rubine, de bleu de méthyle donnent de belles colorations des lamelles chargées des produits de culture charbonneuse. Nous recommandons le bleu de Löffler et surtout la solution hydroalcoolique de bleu de méthylène très légère qui donne des préparations très fines.

Les méthodes de Gram réussissent bien, et surtout la méthode Gram-Kühne qui donne d'admirables préparations.

La constitution des filaments est bien mise en lumière par les couleurs. « On constate que les filaments sont formés par une gaine hyaline délicate, renfermant une rangée de masses protoplasmiques cubiques ou allongées ; celles-ci sont séparées les unes des autres par des cloisons transversales et chacune d'elles représente une cellule végétative. » (Straus.)

Les spores restent incolores dans les filaments

quelle que soit la méthode de coloration employée, coloration simple ou méthodes de Gram.

On a proposé de faire une double coloration des filaments sporifères, dans laquelle le corps de la bactériidie et la spore prendraient alors une couleur différente, de façon à mettre en évidence sur les préparations colorées le germe de la bactériidie.

Le procédé consiste à traiter les lamelles par la méthode d'Ehrlich : la lamelle passée six à sept fois dans la flamme est mise pendant vingt-quatre à quarante-huit heures dans la solution rouge d'Ehrlich (1) ; on décolore par le mélange d'alcool et d'acide nitrique au 1/10 ; on lave à l'eau et on colore à nouveau dans une solution hydroalcoolique de bleu de méthylène. Les filaments sont colorés en bleu, les spores apparaissent en rouge dans l'intérieur du filament.

Cette méthode est infidèle, et ne réussit que dans un petit nombre d'essais ; la meilleure manière d'observer les spores est la préparation fraîche, sans coloration.

#### VI. — Caractères biologiques de la bactériidie et de la spore. — Bactériidie asporogène.

La bactériidie charbonneuse ne donne des spores qu'en présence de l'air et dans les limites de température comprises entre 16° et 42°, 5.

Dans le sang de l'animal charbonneux il n'y a pas d'oxygène libre ; il ne se forme donc pas de spores, mais dans le sang qui vient au contact de l'air, sortant pas les naseaux, le rectum, les éraillures de la peau du cadavre charbonneux, la bactériidie peut naturellement se sporuler.

(1) Il est bon de placer le verre de montre qui contient le blanc colorant où plonge la lamelle à l'étuve à 30-35°.

On obtiendra une abondante formation de spores en étalant du sang charbonneux sur les parois d'un flacon flambé, fermé à la ouate et laissé quinze jours largement au contact de l'air dans une chambre *humide* à  $+30^{\circ}$ . Au contraire le sang desséché rapidement ne se prête pas à la formation des spores.

Dans les cultures de laboratoire mises à température convenable, la spore de la bactérie se forme bien. Il est à noter que l'humeur aqueuse est un milieu très favorable : déjà au bout de douze heures, la sporulation s'effectue. C'est dans des cultures cellulaires en humeur aqueuse que Koch étudia la formation des spores.

La spore a une résistance beaucoup plus grande que la bactérie non sporulée. Celle-ci (sang charbonneux, culture asporogène qui sera étudiée ci-dessous) périt en quinze minutes à  $65^{\circ}$ . La spore en milieu humide résiste à  $90^{\circ}$  pendant quinze minutes : elle périt à  $100^{\circ}$  en milieu humide en moins de cinq minutes. Le chauffage à  $65^{\circ}$  pendant quinze à vingt minutes est donc le critérium de l'existence ou de la non-existence de la spore charbonneuse.

M. Roux a montré que la spore charbonneuse en milieu humide et dans un tube scellé, c'est-à-dire complètement soustraite à l'action de l'air, pouvait résister à un chauffage à  $70^{\circ}$  pendant un temps considérable : cent soixante-cinq heures, dans quelques cas. Au contraire, la spore charbonneuse exposée à la même température, dans le même milieu humide, mais n'étant plus soustraite au contact de l'air, mourait beaucoup plus vite.

*Bactérie asporogène.* — MM. Pasteur, Chamberland et Roux ont les premiers obtenu une bactérie asporogène en culture. Ils exposaient les

bouillons de culture à  $42-43^{\circ}$  : la bactérie poussait, donnait des filaments, mais ces filaments étaient privés de spores : c'est par l'action atténuante de l'air sur le mycélium charbonneux de ces cultures privées de spores qu'ils obtinrent les vaccins charbonneux. Dans les filaments de la bactérie ainsi traités on voit des corpuscules brillants dits *microspores*, *fausses spores* de Chauveau : ces corpuscules n'ont aucune des propriétés biologiques de la véritable spore.

Vient-on, au cours de l'expérience, à prélever quelques-uns de ces filaments asporogènes et à les semer dans du bouillon exposé à  $30^{\circ}$ , la culture nouvelle donne des spores : la bactérie n'avait donc pas, dans le procédé de MM. Pasteur, Roux et Chamberland, perdu sa faculté sporogène : cette propriété, elle ne la perd définitivement, il ne peut se créer, en d'autres termes, une race de bactéries asporogènes que par la méthode des cultures en présence d'antiseptiques, méthode due à MM. Roux et Chamberland.

MM. Roux et Chamberland cultivent du sang charbonneux dans un bouillon contenant  $1/2000^{\circ}$  de bichromate de potasse. La bactérie n'y donne pas de germes, et à dater du huitième jour perd à jamais la faculté sporogène : elle pourra désormais passer de bouillon — non antiseptisé — en bouillon, elle pourra passer d'animal à animal — car elle n'a pas perdu sa virulence : — elle restera toujours asporogène.

Il en est de même dans la méthode plus récemment imaginée par M. Roux (1890) et dont voici le principe général : Dans une série de tubes de bouillon contenant 2, 4, 6...,  $20/10000^{\circ}$  d'acide phénique, onensemence la bactérie ; on met à l'étuve à  $+33^{\circ}$ , et on a soin de ne pas laisser de flocons se rassembler à la surface du tube. Le

tube contenant le bouillon phéniqué à 20/10000° reste stérile : les tubes, à partir le plus souvent du tube antiseptisé à 4/10000° donnent une culture sans spores : huit à dix jours sont nécessaires pour la réussite de l'expérience. A dater de ce moment, la bactériidie ainsi traitée a perdu sa faculté sporogène, qu'elle ne retrouve ni par les cultures en milieu ordinaire, ni par les inoculations en série. La race asporogène est virulente et contient des *microspores*.

Pour faire perdre à la bactériidie asporogène sa virulence, il faut la laisser en contact avec l'antiseptique un temps plus long : alors on obtient une bactériidie *asporogène et sans virulence*, qui n'a vraiment, au premier abord, aucun rapport avec la bactériidie virulente que nous sommes habitués à traiter dans le laboratoire.

Il n'est que juste d'ajouter que MM. Lehmann (1887) et Behring (1889) ont aussi rencontré la bactériidie asporogène, mais leurs travaux ne constituent pas une série de recherches voulues et à but bien déterminé, comme ceux de MM. Pasteur, Chamberland et Roux.

#### VII. — Résumé des caractères de la bactériidie charbonneuse.

La bactériidie charbonneuse est aérobie; elle est immobile dans les liquides organiques et dans les cultures. Dans l'organisme elle ne se présente que sous la forme bacillaire. Dans les cultures elle prend la forme filamenteuse et se sporule. Elle se cultive sur tous les milieux artificiels, et la température la plus favorable est de 30° à 35°. Elle fluidifie la gélatine, prend une apparence caractéristique dans le bouillon, moins caractéristique, mais encore assez spéciale, sur la gélatine

et la pomme de terre. Elle se colore par les méthodes de Gram.

## II

### SEPTICÉMIE DE PASTEUR

#### I

C'est dans une note lue à l'Académie des sciences, en juillet 1875, que M. Pasteur annonça la découverte du *vibron septique*.

La présence de cet organisme dans les cadavres charbonneux avait jeté, jusque-là, une grande confusion dans les résultats des inoculations faites avec le sang provenant des cadavres. M. Pasteur dissipa toutes les obscurités, remettant chaque chose à sa place, indiquant nettement le rôle de la *bactériidie* et celui du *vibron septique*.

Les affections que produit le vibron septique étaient connues depuis longtemps en pathologie humaine et vétérinaire, encore qu'elles n'eussent pu, jusqu'à M. Pasteur, être rapportées à leur cause véritable. Les expérimentations sur les maladies conférées aux animaux par l'inoculation des substances putrides avaient été nombreuses depuis les premiers essais de Barthélemy et Dupuis (d'Alfort) jusqu'aux expériences récentes de Coze et Feltz, et Davaine.

Chez l'homme l'affection produite par le vibron septique est connue depuis Pirougoff sous le nom d'*œdème malin*; c'est aussi le vibron septique qui provoque cette terrible complication des plaies