

— et pourtant on voit déjà que le *Vibrio Metchnikovi* est plus court, plus épais, plus courbé que le vibrion de Koch, que sa croissance en gélatine est ordinairement plus rapide, et se rapproche plus du mode de culture du bacille de Finkler que le vibrion de Koch — les réactions expérimentales sur l'animal font aisément la distinction. Le choléra asiatique est sans action sur le pigeon, qui est un bon terrain pour la septicémie vibrionienne; le cobaye, qui ne subit l'inoculation du vibrion de Koch avec succès que dans les circonstances spéciales que nous avons dites, est éminemment sensible à toute tentative faite par les modes les plus variés avec le *Vibrio Metchnikovi*. Enfin les cobayes vaccinés contre la septicémie vibrionienne meurent quand ils sont inoculés convenablement avec les vibrions cholériques.

---

 II

## DIPHTHÉRIE.

## I. — Définition. — Historique.

La diphtérie humaine se caractérise anatomiquement et cliniquement par une fausse membrane qui siège le plus souvent sur les amygdales et la luette (*diphtérie pharyngée, angine diphtéritique*). La fausse membrane peut occuper encore les diverses sections des voies respiratoires : larynx (*croup ou diphtérie laryngée*); fosses nasales (*coryza diphtérique*); trachée, bronches et bronchioles (*trachéite, bronchite et broncho-pneumonie diphtériques*); on la rencontre encore sur les muqueuses de

la bouche, du vagin, sur la conjonctive, et sur les surfaces dénudées de la peau (*diphtérie cutanée*). Affection des plus graves, la diphtérie peut tuer *mécaniquement* (c'est le cas dans la diphtérie laryngée ou croup), mais elle tue plus souvent par *intoxication* : le malade est comme empoisonné par l'affection. Enfin une des caractéristiques majeures de la diphtérie, c'est, quelle qu'ait été sa forme clinique, grave ou bénigne, quelle qu'ait été sa localisation, d'être souvent suivie de *phénomènes paralytiques* dont l'ensemble est bien connu sous le nom de *paralyse diphtéritique*. Cette paralysie, parfois localisée au voile du palais, peut s'étendre, se diffuser, atteindre les membres inférieurs, supérieurs, les muscles respirateurs, le cœur, tuant alors par asphyxie et syncope.

Klebs, en 1883, « a le premier signalé un bacille spécial à la diphtérie: il a décrit sa disposition dans les fausses membranes, à la surface des muqueuses malades ». M. Löffler, en 1884, étudiant vingt-cinq cas de diphtérie, retrouvait le bacille de Klebs à l'examen microscopique dans la plupart de ces cas : « Dans six cas il a isolé et cultivé ce bacille à l'état de pureté. Il a pu reproduire sur les pigeons, les poules, les lapins et les cobayes, la fausse membrane diphtéritique en badigeonnant avec des cultures pures la muqueuse excoriée de la conjonctive, de la trachée, du pharynx et du vagin. Il a étudié, en outre, sur un certain nombre d'espèces animales, les effets de l'inoculation sous-cutanée ou intraveineuse de ce bacille. » Mais M. Löffler ne se crut pas autorisé à conclure de ses travaux à l'action spécifique du bacille de Klebs : il faisait valoir, entre autres arguments, l'absence de paralysie chez les animaux qui ont résisté aux inoculations, et surtout la présence d'un *bacille*

identique à celui de la diphthérie dans la bouche d'un enfant sain.

En 1887, Löffler revenait sur son travail de 1884 et rapportait que, dans dix nouveaux cas de diphthérie, il avait trouvé le bacille de Klebs. Il avançait en outre que « dans les fausses membranes il existe un microbe très voisin de celui de Klebs, mais qui en diffère surtout en ce qu'il n'a aucune action nocive sur les animaux ».

En 1886, d'Espine (de Genève), dans un intéressant travail, montrait qu'à côté des angines diphthéritiques vraies à bacille de Löffler il existe des angines à *enduit blanc* non diphthéritiques, sans bacille de Löffler.

En 1888, Hoffmann (de Vienne) confirmait les résultats de Löffler, mais doutait, lui aussi, de la spécificité du bacille de Klebs, car dans les fausses membranes de diphthérie, à côté du bacille de Klebs, il trouvait — comme aussi d'ailleurs dans les angines scarlatineuses et rubéoliques — un bacille analogue mais sans virulence.

M. Zarniko, en 1889, donnait aussi un intéressant travail sur le bacille de Klebs.

C'est à MM. Roux et Yersin qu'il était réservé de fournir une démonstration nette et saisissante du rôle du bacille de Klebs, et d'éclairer vivement par leur beau mémoire (*Annales Pasteur*, 1888) la pathogénie jusqu'à eux si obscure de la diphthérie.

Comme M. Löffler ils ont trouvé le bacille dans la fausse membrane, l'ont isolé en cultures pures, et comme lui ont reproduit la fausse membrane chez les animaux; mais, plus habiles expérimentateurs, ils ont donné aux sujets d'expérience les *paralysies caractéristiques*; enfin ils ont mis en évidence le poison diphthéritique, et ont montré que ce poison injecté aux animaux, seul et sans l'intervention de microbes vivants, ou les tue rapidement

par intoxication, ou leur confère des *paralysies*.

Dans deux mémoires suivants, en 1889 et 1890, ils sont revenus sur leur premier travail, sont entrés plus avant encore dans l'étude du poison diphthéritique, ont étudié le bacille pseudo-diphthéritique, fixé divers points de la biologie du bacille de Klebs et posé les règles du diagnostic de la diphthérie par les procédés de la bactériologie.

L'histoire microbienne de la diphthérie est donc contenue presque tout entière dans les trois mémoires de MM. Roux et Yersin.

Nous citerons encore en France la thèse de M. Morel, les études de M. Martin, les travaux de MM. Würtz et Bourges sur l'angine scarlatineuse diphthéritique et le pseudo-diphthéritique, le mémoire de M. Barbier sur les associations microbiennes de la diphthérie, etc., etc. A l'étranger, mentionnons les travaux de MM. Escherich (1890), Babès (1890), Klein, Prudden et Norttorup (*Am. Journal of med. Sc.*, 1889) qui ne croient pas à la spécificité du bacille de Löffler, la diphthérie étant pour eux fonction d'un streptocoque.

Le poison diphthéritique enfin a été, après MM. Roux et Yersin, l'objet des études de Brieger et Fränkel. Wassermann et Proskauer, et tout récemment de M. Guinochet.

L'histoire de la diphthérie se complète enfin par la belle découverte de Behring qui a servi de base à la *sérothérapie* de cette affection, sérothérapie qui fait aujourd'hui ses preuves dans le monde entier, et dont M. Roux a su faire une si belle application en France.

Le cadre actuel de ce précis ne nous permet pas d'insister sur ce sujet.

## II. — Cultures et morphologie du bacille de Klebs.

Le bacille de Klebs est aérobie et aussi anaérobie. Il se développe sur les divers milieux de culture à la température d'étuve 33-37°. Au-dessus de 40°, au-dessous de 20°, il ne pousse pas. Dans le bouillon peptone ou simple légèrement alcalin, à la température de l'étuve, le bacille se développe rapidement : en vingt-quatre heures la culture est déjà apparente, elle se fait « sous forme de petits grumeaux qui se fixent sur la paroi du vase ». Bientôt se forme un léger voile, puis les microbes se rassemblent en une couche blanche très épaisse au fond du vase. Le bouillon qui surnage reste limpide.

La culture en milieu liquide donne lieu à un intéressant changement dans la réaction de ce milieu. « Après quelques jours de culture le bouillon primitivement alcalin est devenu *acide* ; cette acidité persiste assez longtemps, puis elle est remplacée par une réaction alcaline si l'air a libre accès dans la culture. A l'abri de l'air, *dans le vide*, le bacille se cultive facilement, mais moins énergiquement cependant qu'à l'air. Dans ce cas, le bouillon devient également acide, et *conserve cette réaction*. »

Les bouillons glycinés — et en règle générale les milieux glycinés — sont peu favorables au bacille de Klebs. Le milieu prend une acidité exagérée et le microorganisme perd rapidement sa vitalité.

La *gélatine* n'entre pas beaucoup dans la pratique usuelle des cultures de diphthérie. Si le bacille de Klebs s'y développe, ainsi que Klein l'a démontré, il ne se développe qu'avec une extrême lenteur à 20-22° (Löffler) : les colonies se présentent sous forme de points blanchâtres, arrondis.

Sur *gélose* les colonies de diphthérie prennent un aspect caractéristique. Au bout de trente à quarante-huit heures à 33° il se forme « de petites taches blanches, plus épaisses au centre ».

De tous les milieux, le *sérum* gélatinisé est celui qui donne les résultats les plus nets. Le développement est plus rapide et plus caractéristique que

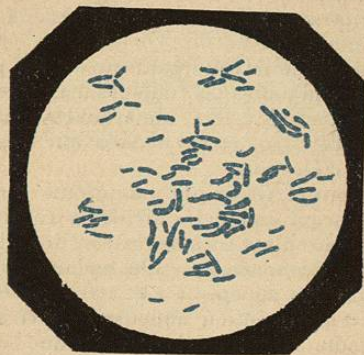


Fig. 84. — Bacille de la diphthérie.

sur *gélose*. Le long de la strie d'ensemencement apparaissent rapidement à la température de 33-37°, — avant la fin même du premier jour — des colonies « sous forme de petites taches arrondies, blanc grisâtre, dont le centre est plus épais que la périphérie. Elles poussent énergiquement et forment bientôt de petites plaques rondes, grisâtres et sailantes, là où elles restent isolées. »

Aucun des autres microorganismes variés qu'on trouve dans les fausses membranes diphthéritiques ne se développe avec pareille rapidité, et c'est sur cette propriété, mise en lumière par Löffler, puis

par MM. Roux et Yersin, que se base la méthode du diagnostic de la diphthérie par la bactériologie au lit du malade, méthode sur laquelle nous reviendrons longuement ci-dessous.

Sur le *sérum glycéiné* le microbe perd rapidement sa vitalité, le milieu devenant acide.

Sur *pomme de terre* le bacille de Klebs ne donne pas de culture.

Examiné sans coloration le bacille de la diphthérie est immobile.

La coloration de cet organisme est des plus simples. Il prend toutes les couleurs d'aniline, le bleu de Löffler, et se colore remarquablement par la méthode de Gram et ses dérivés qui sont ici des procédés d'élection.

MM. Roux et Yersin ont indiqué une méthode de coloration qui donne les meilleurs résultats. Ces auteurs conseillent un *bleu composé* de violet dahlia et de vert de méthyle. « On mélange une partie d'une solution aqueuse à 1 p. 100 de violet à trois parties d'une solution aqueuse de vert à 1 p. 100 et on ajoute assez d'eau pour avoir une belle teinte bleue, pas trop foncée. Cette liqueur se conserve limpide pendant très longtemps; elle ne donne pas de précipité. »

Le bacille de Klebs en provenance d'une culture *jeune* sur *sérum* apparaît sous la forme d'un bâtonnet à extrémités un peu effilées et arrondies, de longueur égale à celle du bacille de Koch, mais environ deux fois plus épais. Quelle que soit la méthode employée pour colorer le bacille de Klebs jeune, cultivé sur *sérum*, il se colore pleinement et uniformément. On voit très souvent au microscope les bacilles se disposer en groupes, en *broussailles*, d'un aspect assez spécial.

Dans les cultures plus anciennes la coloration du bacille n'est plus uniforme : quelques parties

prenant la couleur et d'autres non : il devient d'aspect granuleux à la façon du bacille de Koch et du bacille de la morve.

Il semble que dans le *bouillon* les formes bacillaires soient plus grosses et moins régulières ; les extrémités surtout se renflent (spores de Klebs, qui sont en réalité de *fausses spores*).

« Dans les cultures anciennes, soit sur milieu solide, soit dans un milieu liquide, les bacilles ont presque tous perdu la propriété de prendre les matières colorantes. Quelques-uns, qui présentent des formes renflées, arrondies ou en poire, se teignent encore fortement. » (Roux et Yersin.) La méthode de Gram et ses dérivées sont ici méthodes d'élection.

Nous décrivons ailleurs l'aspect du bacille dans les fausses membranes.

### III. — Diphthérie expérimentale.

On peut, avec les cultures de diphthérie, faire, ainsi que l'ont montré MM. Roux et Yersin, trois séries d'expériences démonstratives :

A) En portant les cultures pures au contact des muqueuses excoriées chez certains animaux on produit la fausse membrane diphthéritique ;

B) L'inoculation sous-cutanée, l'injection intraveineuse, l'injection intrapéritonéale de cultures pures tue les sujets d'expérience ;

C) Les inoculations expérimentales de cultures pures peuvent reproduire la paralysie diphthéritique.

A) En *excoriant*, avec un fil de platine chargé de la culture, soit la muqueuse du pharynx, soit la conjonctive chez les lapins, les cobayes, les pigeons, les poules, on reproduit la fausse membrane diphthéritique.

Une curieuse expérience consiste à trachéoto-

miser un lapin, et à porter un fil de platine, chargé de la culture, sur la muqueuse trachéale. La fausse membrane se développe en cette région, et l'issue fatale est la règle avec des symptômes mécaniques qui rappellent le croup chez l'homme.

« On produit de très belles fausses membranes chez le lapin en appliquant un petit vésicatoire à la face interne de l'oreille, et en ensemençant sur la surface dépouillée d'épiderme un peu de bacille diphthéritique; en quelques heures les fausses membranes sont bien développées. Il faut empêcher la plaie de devenir sèche et pour cela enfermer l'oreille dans un petit sac de caoutchouc sans comprimer les vaisseaux de la base. Le tissu de l'oreille devient rapidement œdémateux. On peut arrêter le développement de la membrane croupale en découvrant l'oreille; la plaie se dessèche alors rapidement à l'air libre. »

B) « L'introduction dans le muscle pectoral et le tissu sous-cutané de pigeons de un centimètre cube d'une culture » tue l'animal en moins de soixante heures. Inoculé avec un cinquième de centimètre cube et avec des doses inférieures, le pigeon résiste ordinairement.

A l'autopsie des pigeons qui ont succombé on trouve « au point d'inoculation, sous la peau et dans le muscle, un petit enduit grisâtre et un œdème gélatineux. Le muscle qui a reçu une partie du liquide est gonflé et ses fibres ont une teinte jaune. On ne rencontre aucune lésion apparente des organes internes, si ce n'est de la congestion. Les vaisseaux sont dilatés et contiennent un sang noir coagulé ».

Le *cobaye* est, de tous les sujets de laboratoire, le meilleur réactif expérimental de la diphthérie : il succombe à l'inoculation *sous-cutanée* de petites doses, et présente à l'autopsie les lésions suivantes :

enduit membraneux grisâtre limité au point d'inoculation, œdème gélatineux plus ou moins étendu, congestion des ganglions et des organes internes, surtout des capsules surrénales, épanchement séreux dans les plèvres, splénisation pulmonaire.

Dans les cas où le cobaye ne succombe pas à l'inoculation sous-cutanée il se fait un œdème marqué, puis une eschare au point inoculé.

Chez l'homme succombant à la diphthérie le bacille ne peut être retrouvé que dans les fausses membranes, qui seules peuvent donner des cultures : le sang et les organes ne contiennent jamais l'agent pathogène; le même fait, si intéressant et si important, se retrouve dans la diphthérie expérimentale.

Chez les cobayes inoculés sous la peau, le bacille ne pullule qu'au point d'inoculation, dans l'œdème gélatineux qui se développe en cet endroit. « Après quatre heures, l'œdème est manifeste au point d'inoculation : les bacilles augmentent dans cet œdème local jusqu'à la sixième ou huitième heure; un certain nombre sont enfermés dans les cellules: mais bientôt leur nombre va en décroissant, et au moment de la mort de l'animal, il y a moins de microbes au lieu de l'injection qu'il n'y en avait six ou huit heures après qu'elle venait d'être faite. Le sang et les pulpes organiques ne contiennent pas le bacille ou le contiennent exceptionnellement, et restent absolument stériles à l'ensemencement.

Ainsi donc développement du bacille au point seul d'inoculation, et encore même semble-t-il qu'en ce point son développement soit bientôt entravé. Aussi les passages de cobaye à cobaye sont-ils très difficiles, et ne peuvent aller au delà du deuxième passage.

Le cobaye succombe aussi à l'inoculation *périto-*

*néale*, mais moins rapidement qu'à l'inoculation sous-cutanée. Le liquide péritonéal et lui seul contient le bacille.

Les *lapins* inoculés sous la peau avec une dose suffisante de virus (plus de un centimètre cube de culture) meurent d'autant plus vite que la dose a été plus forte. « Après l'introduction du bacille de la diphthérie sous la peau d'un lapin, on observe bientôt un œdème considérable : l'animal devient triste, ne mange plus et meurt sans convulsions dans l'attitude où il se trouve. L'autopsie montre au point d'inoculation un œdème étendu, infiltrant un tissu induré, avec piqueté hémorragique; un gonflement des ganglions de l'aîne et de l'aisselle; une congestion de l'épiploon et du mésentère avec petites ecchymoses le long des vaisseaux. Le foie friable présente une teinte jaune, et il est le siège d'une dégénérescence grasseuse. L'épanchement pleurétique est exceptionnel et les poumons sont presque toujours sains. »

Chez les *lapins* inoculés dans les veines avec le virus de culture pure, la mort est la règle en moins de soixante heures.

« Les lésions que l'on trouve à l'autopsie sont une congestion générale des organes abdominaux, une dilatation des vaisseaux, le gonflement des ganglions, une néphrite aiguë, et très souvent une dégénérescence grasseuse du foie qui présente cette teinte jaune dont nous avons déjà parlé. »

A l'examen microscopique du sang et des organes des lapins qui succombent à l'injection intraveineuse on ne trouve pas de microbes. « Il faut semer de grandes quantités de sang ou de pulpe de rate pour obtenir de temps en temps une culture. A aucun moment, avant la mort de l'animal, on ne peut surprendre une culture notable dans le sang ou les organes. »

Le *chien* est sensible à l'inoculation des cultures de diphthérie (Roux et Yersin).

« Un chien vigoureux, de 8 kilogrammes, succomba en trois jours à la suite de l'inoculation faite sous la peau du thorax d'une culture récente sur sérum. Il se produisit un gonflement œdémateux au point de l'injection; l'animal tomba bientôt dans la stupeur, devint incapable de faire un mouvement et mourut après une *paralysie complète*. Un autre chien, inoculé avec la même culture dans la trachée, n'éprouva aucune difficulté à respirer, mais il eut un gonflement du cou suivi d'une prostration complète. A l'autopsie on ne trouve pas de fausses membranes dans la trachée. Ces deux animaux *présentèrent avant leur mort un ictere très intense*. Les bacilles étaient peu abondants dans l'œdème rouge qui existait chez le premier chien au point d'inoculation; il n'y en avait pas dans le sang. »

Le *chat*, d'après Klein, prend facilement la diphthérie. Les vaches aussi, d'après le même auteur, seraient sensibles à l'action du virus de la diphthérie. Après l'inoculation il apparaîtrait sur le pis des pustules contenant le bacille; celui-ci peut passer dans le lait, d'où contagion possible — plutôt théorique, semble-t-il d'ailleurs, — par le lait.

Les *petits oiseaux* sont extrêmement sensibles à l'action du microbe de la diphthérie (Roux et Yersin).

Les *rats* et les *souris* sont réfractaires et résistent à l'inoculation de doses même considérables de culture diphthéritique.

C) La reproduction expérimentale de la paralysie diphthéritique par l'inoculation de cultures pures est un fait d'un intérêt capital.

M. Löffler n'avait pu constater ces paralysies chez les sujets auxquels il inoculait le bacille qu'il

avait cultivé. MM. Roux et Yersin ont été plus heureux. « Des paralysies, écrivent-ils, s'observent chez les animaux inoculés de la diphthérie, soit dans la trachée, soit sous la peau. C'est même un phénomène très fréquent lorsque les animaux ne succombent pas à une intoxication trop rapide ».

Le premier cas de paralysie diphthéritique expérimentale fut observé par eux sur un pigeon qui, inoculé dans le pharynx, avait eu de belles fausses membranes et paraissait guéri.

Les lapins qui résistent aux accidents immédiats de la diphthérie inoculée dans la trachée présentent le plus souvent ces symptômes paralytiques, auxquels ils finissent par succomber.

La terminaison ordinaire chez le lapin inoculé dans les veines avec un centimètre cube de culture pure est la mort dans un délai de quatre jours, ainsi que nous l'avons dit plus haut, et l'accident terminal est une paralysie généralisée.

« Lorsque la mort ne survient pas dans un délai aussi court, la paralysie est plus facile à observer. »

Elle débute d'ordinaire par le train postérieur, et parfois elle est si rapidement progressive qu'en un ou deux jours elle a envahi tout le corps, et que l'animal meurt par arrêt de la respiration et du cœur. « D'autres fois la paralysie reste limitée pendant un certain temps aux pattes postérieures; elle commence par une faiblesse des muscles qui donne à la démarche une allure particulière, puis elle devient plus complète, et les mouvements du train antérieur sont seuls conservés. La maladie est presque toujours envahissante; la paralysie gagne le cou et les membres antérieurs. Il n'est pas rare de voir la mort survenir subitement sans convulsions, surprenant l'animal dans l'attitude où on venait de le voir quelques instants auparavant. Un groupe de muscles peut être frappé tout

d'abord; ainsi on voit des lapins dont les pattes de derrière sont écartées du corps, comme si l'action des abducteurs était supprimée. Quand ils marchent, leurs membres postérieurs ne se détendent plus, ils avancent l'un après l'autre sans se détacher du sol. Lorsque les pattes du devant sont atteintes à leur tour, l'allure devient comme rampante. Bien que la paraplégie soit le début le plus fréquent, la paralysie peut aussi porter sur les muscles du cou, de façon que la tête ne peut se soulever du sol, et aussi sur les muscles du larynx, ce qui donne la raucité à la voix. »

Nous avons vu ci-dessus que les chiens inoculés avec des cultures de diphthérie sous la peau ou dans la trachée mouraient avec des phénomènes de paralysie très marquée.

#### IV. — Caractères biologiques du bacille diphthéritique.

- Vitalité dans les cultures et les fausses membranes.
- Virulence, vitalité et atténuation. — Bacille pseudo-diphthéritique.

1. *Vitalité dans les milieux de culture.* — « Le bacille diphthéritique se conserve très longtemps vivant dans les cultures; il n'est pas rare de trouver des colonies actives sur des tubes de sérum restés pendant plus de six mois à la température de la chambre. Des cultures en bouillon pourraient encore être rajeunies après un séjour de cinq mois à 37° et de deux mois à 39°. Enfermées en tubes clos, sans air et à l'abri de la lumière, elles conservent plus longtemps encore leur vitalité et leur virulence. Les bacilles contenus dans de semblables tubes, datant de treize mois, nous ont donné des cultures actives. Il ne se forme pas cependant de germes dans ces vieilles cultures; les microbes ont des formes renflées ou allongées; ils se colorent mal ou ne se colorent plus, mais ils périssent