

blimé, 7 grammes; acide acétique cristallisé, 1 gramme; eau distillée, 100 grammes), puis colorer avec le violet de gentiane. Il y a décoloration par la méthode de Gram.

La coloration, dans les coupes de tissus, du microbe découvert par Unna et regardé comme identique à celui de Ducrey, est un peu plus compliquée (V. Nicolle, Thèse inaug. Paris, 1895, et Wurtz, *Bactériologie clinique*, 1895). Unna se sert de bleu de méthyle alcalin et décolore avec mélange d'éther et de glycérine.

Ni Ducrey, ni Unna, ni Nicolle ne sont parvenus à cultiver le microbe du chancre mou; seul, dans ces derniers temps, Petersen aurait réussi, mais ceci mérite confirmation.

Rôle pathologique. — Bien que le bacille de Ducrey ne soit pas ordinaire la seule bactérie qui se rencontre dans les sécrétions purulentes du chancre mou et que plusieurs autres microbes coexistent avec lui, la grande majorité des auteurs le reconnaissent comme seul pathogène dans ce cas particulier, et bien qu'il n'ait pas réussi à le cultiver et à l'inoculer avec succès aux animaux, Unna n'hésite pas à regarder ce micro-organisme comme l'agent pathogène du chancre mou, et voici les raisons qu'il invoque :

- 1° Ce microbe s'est rencontré en abondance dans tous les cas de chancres mous purs qui ont été examinés;
- 2° Il a été trouvé à l'état de culture pure dans l'intimité des tissus; les quelques autres microbes qui ont été rencontrés ne se trouvaient qu'à la surface;
- 3° Sa distribution au milieu des éléments anatomiques explique bien la pathologie du chancre mou, tant au point de vue clinique qu'au point de vue histologique;
- 4° Sa disposition en chaînettes ne permet pas de le confondre avec les autres micro-organismes connus;
- 5° Jusqu'à présent, il n'a pas été trouvé dans les autres ulcérations (chancre infectant, ulcère de jambe, œthyma).

§ III. — SPIRILLES

Certains spirilles peuvent être nettement séparés du groupe *Bacillus* et constituer une famille assez naturelle dont le caractère morphologique le plus important et le plus facilement constatable est la forme spiralée à tours plus ou moins nombreux et plus ou moins serrés de leurs éléments microbiens qui, suivant les cas, ont aussi reçu les noms de *vibrions*, *spirochètes*, *spirilles*.

Mais il en est d'autres qui servent en quelque sorte de trait d'union entre les bacilles et les spirilles et ont même été attribués tantôt aux premiers et tantôt aux seconds.

De ce nombre est le *Spirillum cholerae* de Koch, ou *bacille-virgule*, que nous plaçons pour cette raison immédiatement à la suite des bacilles exclusivement pathogènes pour l'homme.

Spirillum cholerae, Koch (1884). — « La *microbie du choléra*, dit Metschnikoff⁽¹⁾, au début de ses leçons sur ce sujet faites à l'Institut Pasteur en 1895, est certainement un des *chapitres les plus compliqués et les plus difficiles de toute l'histoire naturelle des microbes pathogènes*. »

Sanarelli, d'autre part, écrit en tête d'un article tout récent sur les *Vibrions intestinaux et la Pathogénie du choléra*⁽²⁾ la phrase suivante : « Les récents progrès de la technique bactériologique ont ébranlé la doctrine étiologique du choléra au lieu de lui fournir, comme on aurait pu s'y attendre, un appui de plus en plus ferme ».

Cette double constatation, émanant de savants aussi compétents en la question et aussi dignes de créance, n'a rien qui nous puisse surprendre, après les si multipliés et si importants travaux dont le *spirille du choléra* de Koch a été l'objet dans ces derniers temps. On peut hardiment affirmer que l'histoire rénovée et toute contemporaine de ce micro-organisme est absolument analogue, quant aux faits inattendus qu'elle a mis en lumière, à celle que nous venons de longuement exposer du *bacille d'Eberth* et du *coli-bacille*, avec cette différence toutefois que, pour le *bacille-virgule*, les conséquences des nouvelles découvertes ont été plus hardiment acceptées par la majorité et que bien peu, en ce qui concerne cette bactérie, ont songé à s'étonner de la publication de faits en absolue discordance avec les anciennes théories et la primitive doctrine pastorienne, alors qu'on témoigne tant d'hésitation et une quasi-répugnance à enregistrer des constatations tout à fait semblables, souvent même beaucoup moins extraordinaires, touchant à la biologie et au rôle pathologique des deux bacilles dont les noms sont intimement liés aujourd'hui à l'histoire de la fièvre typhoïde.

Et cependant, si la place ne nous faisait point défaut, que d'analogies n'y aurait-il pas à signaler, au point de vue de leur *microbie*, entre le *choléra* et la *fièvre typhoïde*, et combien de concordances expérimentales, tirées de l'étude du *bacille-virgule*, pourrions-nous invoquer en faveur de la théorie de l'unité spécifique des bacilles d'Eberth et d'Escherich et de la production autochtone, en certains cas, de la dothiéntérie !

Quoi qu'il en soit, les mêmes difficultés, l'impossibilité même parfois de diagnostiquer sûrement l'identité du *bacille d'Eberth-Gaffky* et de démontrer son existence dans certains milieux, nous les allons retrouver, comme on va voir, à propos du *spirille du choléra* de Koch, et les assertions émanant d'auteurs connus que nous avons cru devoir placer en tête de cet article ne seront que trop justifiées et soulignées par les détails morphologiques et biologiques que nous allons brièvement exposer.

⁽¹⁾ Voy. *Bulletin médical*, 22 mai 1895, p. 479.

⁽²⁾ *Ann. de l'Inst. Pasteur*, mars 1895, p. 129.

SPIRILLUM CHOLERÆ, Koch (1884). — *Synonymes*. — Bacille du choléra de Koch; bacille-virgule; *kommabacillus*; vibriion cholérique; microbe du choléra asiatique; spirille du choléra.

Découverte. — Trouvé pour la première fois et bien mis en évidence par Koch dans l'intestin des cholériques, lors de sa mission en Égypte et aux Indes en 1883-1884; isolé par le même auteur (1884) de l'eau d'un étang aux Indes, puis par Nicati et Rietsch (1885) de l'eau du vieux port à Marseille. Rencontré dans ces dernières années dans des eaux de localités indemnes du choléra (Dunbar, Sanarelli, Metschnikoff, etc.), dans des selles d'individus bien portants (Rumpel, Metschnikoff, Vogler, Ivanoff, Sanarelli, etc.), ou de certains animaux (cobayes).

Caractères morphologiques et de coloration. — Bâtonnets ordinairement courts et relativement assez épais, ayant de 1,5 μ à 5 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large, rarement rectilignes, le plus généralement courbés et affectant, lorsqu'ils sont isolés, la forme de virgule, d'accent grave, de cédille, de demi-cercle, et, lorsqu'ils sont accouplés, celle d'un accent circonflexe, d'un S, d'un ω (oméga grec), d'une spire plus ou moins allongée, et à tours plus ou moins serrés et nombreux.

Mais, à côté de ces formes ordinaires, normales, s'en rencontrent souvent d'autres très différentes, tantôt très courtes et ramassées en quelque sorte sur elles-mêmes, donnant l'apparence de *cocci* (cultures de trois semaines dans alcali-albumine de Sidney-Martin), tantôt rectilignes et ressemblant à des bacilles (bacilles de Courbevoie, choléra de Paris 1884), tantôt plus ou moins allongées et amincies et affectant le type filamenteux, ce dernier pouvant être ou rectiligne ou spiralé à plusieurs tours (Sanarelli, Metschnikoff, etc.).

Il nous faut enfin signaler les formes d'involution assez fréquentes dans les cultures âgées et qui sont représentées par des masses parfois irrégulièrement renflées ou par des sphères relativement volumineuses (4 à 5 μ de diamètre), lesquelles, mal interprétées quant à leur signification morphologique, ont été cause de nombreuses erreurs; c'est très probablement à ces formes qu'il faut rattacher les organismes décrits par Dowdeswell (1890), Ferran (1885), etc.

Le vibriion cholérique de Koch est extrêmement mobile, tout au moins aux températures de 30° à 37° C.; cette mobilité, allant en s'atténuant au fur et à mesure que la température s'abaisse, cesserait presque totalement vers 15° C.

Les organes locomoteurs sont ici représentés par deux longs *cils* vibratiles, ondulés, plus minces que le corps du bacille et placés chacun à l'une de ses extrémités (Neuhauss, 1889; Dowdeswell, 1890, etc.).

On les colore assez facilement avec la fuchsine phéniquée de Ziehl étendue de trois fois son volume d'eau (Straus) ou par les procédés de Löffler, etc.

Il se produirait, dans certaines circonstances, d'après Hueppe (1885),

des sortes d'*arthrospores* immobiles, plus résistantes que la forme végétative du spirille aux causes de destruction.

Aérobic strict suivant certains auteurs, le bacille-virgule serait, d'après d'autres (Hueppe, Wood, etc.), un *anaérobic facultatif*, et ce serait même en état d'*anaérobiose* qu'il serait le plus nocif et fabriquerait dans l'organisme de l'homme ses si énergiques et dangereuses *toxines*.

Le bacille du choléra de Koch se colore avec la plus grande facilité et très intensément avec toutes les couleurs basiques d'aniline et notamment avec la solution hydro-alcoolique de fuchsine ou le bleu de Löffler; il se décolore par la méthode de Gram.

Caractères de culture. — Le bacille-virgule est, parmi les bactéries pathogènes, une de celles qui se cultivent le plus facilement et sur les milieux nutritifs les plus nombreux et les plus habituels; sa température eugénétique de développement est entre 30° et 40° C., mais celle de 18° à 20° C. lui convient encore très bien et permet l'emploi des milieux gélatinés qui rendent de si grands services pour la dissociation et l'isolement de la plupart des micro-organismes. Assez sensible à l'acidité des substrata nutritifs, le bacille du choléra exige, par contre, une neutralité absolue ou un très léger degré d'alcalinité des milieux sur lesquels on veut le faire pulluler.

Sur gélatine-plaques. — A 18°-20° C., sur celle surtout préparée d'après la formule de Karlinski avec un bouillon de *pancréas* additionné de

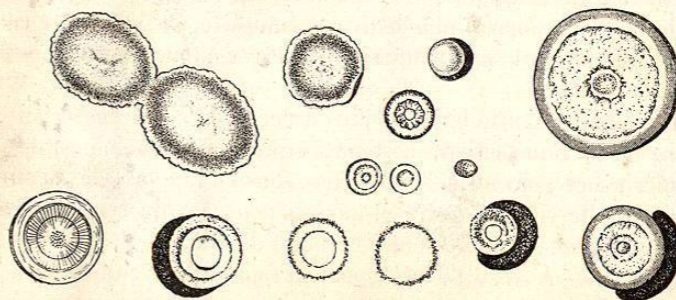


Fig. 17. — Colonies du choléra sur gélatine.

peptone (50 pour 1000) et de sel marin (5 pour 1000), apparition très hâtive, au bout de vingt-quatre heures environ, de petites colonies discoïdes, blanchâtres ou jaunâtres, à contours très irréguliers, déchiquetés ou ondulés, à surface bosselée, rappelant une agglomération de petites boules de verre hyalin ou un globule blanc, granuleux (Van Ermengem) qui, en s'élargissant les jours suivants, montrent, lorsqu'on les examine à un faible grossissement: un centre granuleux, un premier cercle granuleux aussi mais sinueux à la périphérie et enfin un deuxième cercle clair, non granuleux; c'est dans l'espace inclus dans le premier cercle qu'apparaît, d'assez bonne heure, la liquéfaction de la

gélatine qui va en s'accroissant de plus en plus et assez rapidement, donnant ainsi naissance à une petite capsule en forme d'entonnoir au centre de laquelle persiste seul le noyau blanchâtre de la colonie initiale; en quelques jours la liquéfaction a envahi toute la gélatine et l'on perçoit à ce moment une odeur fétide (urine de souris).

Sur gélatine-piqûre (dans les mêmes conditions). — L'aspect caractéristique de la culture, considéré autrefois comme un des meilleurs signes de diagnose, apparaît vers le troisième jour après l'ensemencement; on observe alors à la surface de la gélatine une véritable excavation presque sphérique remplie de gélatine liquéfiée et donnant, à un examen pratiqué latéralement, la sensation d'une *bulle d'air* emprisonnée dans le liquide; au-dessous et tout le long de la piqûre d'ensemencement est une traînée assez longue et peu large, de couleur blanchâtre qui n'est autre que la colonie microbienne; à ce moment l'ensemble de la culture ressemble un peu à un jeune têtard de batracien encore muni de sa queue; pendant assez longtemps on a regardé cet aspect comme caractéristique du komma-bacille; la liquéfaction de la gélatine allant en progressant toujours, vers le cinquième jour on n'a plus qu'un vaste *infundibulum* plein d'un liquide trouble et surmonté assez souvent d'une légère pellicule myco-dermique.

Dans les cultures de *Spirillum Finckleri* (Finckler et Prior, 1884), que l'on pourrait parfois et assez aisément confondre avec le spirille de Koch, la liquéfaction de la gélatine — c'est là un des signes de diagnose différentielle — est beaucoup plus hâtive et complète, et d'un autre côté les colonies développées sur plaques ont des contours beaucoup moins sinueux.

On a tendance aujourd'hui à ne plus accorder la même importance à ce caractère de la liquéfaction, certaines espèces vibronniennes des eaux non cholérigènes pouvant se comporter, sous ce rapport, de façon identique au bacille-*virgule*, qui, lui-même, peut, en de certaines circonstances, varier considérablement à ce point de vue.

Sur gélose. — A 57° C., développement rapide d'une culture blanchâtre ou grisâtre, épaisse, sans caractère spécial; nombreuses formes d'involutions dans les vieilles cultures.

Sur sérum sanguin. — A 57° C., pullulation très rapide des spirilles qui liquéfient (caractère assez important en raison de sa rareté) le substratum nutritif en même temps qu'ils le colorent en brun et donnent un *deliquium* épais, visqueux, fourmillant de bacilles.

Sur pomme de terre. — A 57° C., formation d'une couche brunâtre, mince, ressemblant à celle que donne dans les mêmes conditions le bacille de la morve.

Dans le bouillon peptonisé et surtout dans l'eau peptonisée à 1 pour 100 additionnée de 0,5 à 1 pour 100 de chlorure de sodium et de 2 pour 100 de gélatine, on obtient, même à une température peu élevée (22° à 25° C.), une abondante culture qui se manifeste, indépendamment

du trouble général du liquide, lequel peut disparaître de très bonne heure, par la constitution à la surface d'une mince pellicule blanchâtre ou grisâtre très fragile et formée de myriades de spirilles groupés en zooglées. (Schottelius a basé une méthode de dissociation des bacilles virgules dans les selles de cholériques sur l'apparition très hâtive à 50°-52° C. de ce voile dans du jus de viande stérilisé.)

C'est grâce à l'emploi de l'eau peptonisée gélatinée que l'on a pu, dans ces derniers temps, mettre en évidence nombre de vibrions de l'intestin ou des eaux ayant avec le bacille-*virgule* de très grandes analogies, si même ils ne lui sont pas identiques.

Dans la décoction de touraillons. — Le bacille du choléra de Koch, dans un grand nombre de cas, et alors même que la décoction des germes d'orge a été neutralisée, non seulement ne pullule pas mais encore périt avec une très grande rapidité (G. Roux, 1890).

Je dois dire que, depuis l'époque de ma première communication et sans que je puisse invoquer d'autres raisons que la nature et l'origine des touraillons employés ou l'ancienneté des cultures de bacilles utilisées, j'ai observé des exceptions à la règle ci-dessus formulée; il m'a été pourtant communiqué nombre d'observations cliniques dans lesquelles la décoction de touraillon, administrée à de vrais cholériques très gravement atteints, a donné d'excellents résultats thérapeutiques.

Dans le lait. — Pullulation active du bacille-*virgule*, sans changement de coloration ni coagulation du lait, bien qu'il y ait attaque de la lactose et formation d'acide lactique; mais ce dernier, comme dans les cultures du bacille d'Eberth, est en trop petite quantité pour amener la formation d'un coagulum; on a cru un moment pouvoir distinguer les uns des autres et du bacille-*virgule* les divers vibrions qui ont beaucoup de points de ressemblance, grâce aux propriétés optiques de l'acide lactique produit ou à sa quantité. On sait aujourd'hui qu'il est constamment lévogyre (Kouprjanow) et toujours dans des proportions très semblables (Gosio).

Indépendamment de ces milieux en quelque sorte normaux et classiques de culture, il en a été préconisé un certain nombre d'autres (alcali-albumine de Sidney-Martin, 1889 à 1890; œufs, Hueppe, 1888; asparaginate de sodium d'Uschinsky, 1895; etc.), sur lesquels nous donnerons quelques brèves indications lorsque nous parlerons des produits de sécrétion du bacille du choléra.

Les bactériologues, à la suite des premières recherches de Koch (1883-1884), ont cru posséder dans la forme, les dimensions, les apparences morphologiques du komma-bacille comme dans l'aspect et le mode de développement de ses cultures sur certains milieux nutritifs (la gélatine notamment et l'eau peptonisée) des caractères suffisants pour distinguer sûrement ce micro-organisme de la plupart de ses congénères pouvant être confondus avec lui, soit en raison de leur provenance, soit à cause de leurs caractères morphologiques. Il a fallu bientôt, au fur et à mesure des progrès de la technique bactérioscopique et lorsqu'on s'est mis à recher-

cher systématiquement le spirille du choléra dans les eaux suspectes ou non, renoncer à ce critère d'ordre morphologique et se mettre en quête de nouveaux moyens de diagnose, le microbe du choléra présentant, comme la plupart des bactéries, un *pléomorphisme* beaucoup plus grand qu'on ne croyait et ses cultures ressemblant assez souvent à celles d'autres spirilles voisins mais distincts. Ce sont ces moyens que nous allons très rapidement passer en revue à l'occasion des produits de sécrétion et du rôle pathologique du bacille-virgule.

Produits de sécrétion. — Poelh (1886), puis Brieger et Bujwid (1887) ont montré les premiers qu'en traitant les cultures pures de *Spirillum cholerae* de Koch avec de l'acide chlorhydrique pur (5-10 pour 100), de l'acide sulfurique ou de l'acide azotique, on obtenait, même quelques heures après l'ensemencement, une coloration rose violet ou rouge brunissant à la lumière, et ils ont attribué à cette réaction, dite du choléra Roth, une grande importance de diagnose; or, cette réaction colorante étant due à une combinaison d'indol et d'acide azoteux, on n'a pas tardé à l'obtenir avec les cultures de la plupart des bactéries qui forment de l'indol, lorsqu'on traite les cultures par un acide minéral impur renfermant de l'acide azoteux (bacille du choléra des poules, bacille du choléra du porc, bacille du tétanos, bacille du charbon symptomatique, vibron septique, *Bacterium coli*, bacille lactique, etc.), alors même que dans ces différentes cultures l'acide azoteux ne prend pas naturellement naissance. Cette constatation, due à Ali-Cohen (1887), enleva de suite à la réaction du choléra Roth toute sa valeur, et ce n'est qu'à l'époque où l'eau peptonisée fut substituée au bouillon ordinaire comme milieu de culture qu'elle se trouva remise en honneur (Dunham et Jadassohn) et fortement préconisée par Koch lui-même (1895); on reconnut, en effet, que si les acides minéraux impurs, souillés de produits nitreux, étaient indispensables pour produire la réaction du choléra Roth dans les cultures des bactéries (dont la plupart énumérées ci-dessus) qui formaient de l'indol mais pas d'acide nitreux, il n'en était plus de même pour celles dans lesquelles, grâce à la réduction, par les microbes, des nitrates du substratum nutritif en nitrites en présence de l'indol préformé (Salkowsky), les deux éléments indispensables à l'apparition de la coloration rouge se trouvaient constitués; en ce dernier cas, en effet, les acides absolument purs: chlorhydrique, sulfurique, bromhydrique, phosphorique, tartrique, lactique, oxalique, font apparaître la réaction, surtout en présence de la peptone; or il n'y a guère que le bacille-virgule de Koch et le spirille de Finkler Prior qui réalisent ces conditions, et comme la teinte rouge est obtenue dans les cultures du premier dans les premières heures qui suivent l'ensemencement, tandis qu'elle ne se montre que tardivement dans celles du second, on avait ainsi, du moins le croyait-on, un caractère de diagnose presque infaillible.

Malheureusement, ici encore, les contradictions, les variations, les similitudes entre organismes absolument distincts ne tardèrent pas à

s'accumuler et, outre que le choléra Roth n'apparaît que très faiblement, pour le komma-bacille authentique, dans les milieux non peptonisés, ou même pas du tout dans les cultures anaérobies, on fut obligé de reconnaître que d'autres bacilles courbes, ayant parfois de grandes analogies morphologiques avec le spirille de Koch, comme par exemple le *Vibrio Metschnikowii* (Gamaleïa) donnaient la même réaction avec des acides purs.

On s'adressa alors à d'autres caractères d'ordre chimique, ceux, par exemple, résultant de la quantité ou de la nature de l'acide lactique produit dans les solutions lactosées; nous avons vu plus haut que les résultats, en ce qui concerne la diagnose microbique, ont été nuls, l'acide lactique des divers vibrions litigieux (*Sp. cholerae* de Koch; *Sp. cholerae* de Finckler et Prior; *B. Metschnikowii*, etc.) ou autres plus ou moins voisins déviant toujours le plan de polarisation à gauche, et étant fabriqués en quantité sensiblement équivalente.

C'est aux caractères d'ordre pathologique (virulence, propriétés vaccinales, action du sérum des animaux immunisés) qu'on a dû, en dernier lieu, recourir pour chercher à fixer les conditions d'une diagnose sûre, mais, avant d'exposer le résumé de ces dernières tentatives, il nous faut, au préalable, passer rapidement en revue les recherches concernant les sécrétions directes du bacille du choléra de Koch, ses produits solubles: toxines ou antitoxines.

On n'a pas de peine à comprendre que le bacille-virgule soit un de ceux dont on ait cherché, du jour même où il fut connu, à découvrir les produits toxiques de sécrétion, étant donné le rôle important qu'il était tout naturel d'attribuer à ces derniers dans l'empoisonnement cholérique, si foudroyant parfois, et la localisation des bactéries cholérigènes dans l'intestin.

Aussi l'histoire de ces sécrétions toxiques date-t-elle de l'année même où fut découvert le bacille de Koch. Pouchet (1884) isole des selles cholériques un alcaloïde liquide et volatil très toxique; il en est de même de Villiers (1885), qui trouve aussi dans les selles un alcaloïde liquide à odeur d'aubépine, de Klebs (1887) qui réussit à obtenir cristallisée la ptomaine qu'il retire de cultures faites dans du poisson cuit; Nicati et Rietsch, Brieger, Winter et Lesage (1890) isolent de cultures soit un extrait alcoolique, soit une ptomaine, très toxiques aussi; Brieger et Fränkel (1890) montrent que la substance nocive est une toxalbumine; Gamaleïa croit mettre en évidence deux sortes de poison et Scholl (1890), dans des cultures pratiquées dans des œufs frais suivant le procédé de Hueppe (1888), obtient une *toxo-globuline* et une *toxo-peptone*, tandis que Buchner (1895) et Uschinsky (1895), opérant dans des solutions d'asparaginate de soude ne renfermant pas d'albumine, découvrent des principes toxiques ne donnant pas la réaction des albumoses et à peine celle des albumines, et qu'ils dénomment: diastases ou substances albuminoïdes.