

typiques en déposant dans l'urèthre une petite quantité de pus à gonocoques.

CHAMERON, WYSSOKOWITSCH, BELLELI vinrent encore fortifier par leurs études les nouvelles théories. BELLELI, entre autres, entreprit ses recherches sur des prostituées. AUBERT trouva le gonocoque dans plus de deux cents cas de blennorrhées et considéra ce parasite comme l'agent pathogène produisant le plus souvent la chaudepisse. Dans quelques cas, compliqués d'épididymite et de cystite il vit, non pas le gonocoque, mais une autre espèce de bactérie; aussi, à côté des vrais gonocoques virulents, facteurs de la blennorrhagie, distinguait-il d'autres microorganismes pathogènes plus rares. STERNBERG (1884) déniait au gonocoque tout pouvoir spécifique; il se basait sur les tentatives négatives de culture pure de ce microbe, culture très difficiles à obtenir du reste. GAMA PINTO vit constamment le gonocoque dans les suppurations uréthrales, mais il le considéra comme un hôte accidentel, secondaire et non comme l'agent spécifique de la maladie, car, disait-il, ce n'est qu'au troisième ou quatrième jour de celle-ci que le gonocoque apparaît dans le pus.

KRONER distinguait deux espèces de blennorrhée des nouveau-nés dont la plus fréquente était selon lui produite par le gonocoque; dans la sécrétion de la seconde, il n'y avait pas de gonocoque. La première était de nature blennorrhagique et dans la plupart des cas on pouvait aussi constater la présence du microbe pathogène, le gonocoque, dans les organes génitaux de la mère; la seconde répondait à la conjonctivite non blennorrhagique qu'admettaient d'ailleurs les cliniciens.

SÄNGER et FRANKEL contestèrent la valeur diagnostique des gonocoques parce que l'absence de ces derniers ne permettait pas d'exclure la nature blennorrhagique de l'affection.

OPPENHEIMER étudia l'influence de différents antigonorrhéiques sur des cultures pures de gonocoques, et les mêmes essais furent renouvelés par LUNDSTRÖM et KREIS, en 1885. LUNDSTRÖM eut l'occasion de retrouver le gonocoque dans cinquante cas d'urétrites aiguës et chroniques. MARTINEAU, FERRARI, PEZZER, SINETY et HENNEGUY affermièrent encore par leurs travaux l'opinion de la virulence du gonocoque. En 1886, BOCHART publia le résultat de ses recherches sur quinze cas « d'urétrites pseudo-gonorrhéiques » (dont deux compliqués d'épididymite) qui n'étaient pas produites par le gonocoque, mais par d'autres microorganismes, ainsi que des cultures et des inoculations l'avaient démontré. PODRES, PETERSEN, CRIVELLI, s'appuyant sur de

nombreuses recherches, apportèrent leur contribution à la cause du gonocoque à laquelle ne se rallièrent cependant pas GIOVANNINI et M. V. ZEISSL. SCHWARTZ (1886) se prononça pour la spécificité du gonocoque. Enfin, le travail de BUMM (en 1887) fournit par le grand nombre d'observations qu'il contenait la preuve irrécusable de la virulence de ce micro-parasite. SCHUURMANN-STEKHOVEN (1888) ne fut pas convaincu, ce qui résultait de l'insuccès de ses tentatives de culture; mais ces oppositions devinrent de plus en plus rares.

LEGRAIN (1888), POUEY (1888), STEINSCHNEIDER et GALEWSKY (1889), PETIT et WASSERMANN (1891), étudièrent, ainsi que LUSTGARTEN et MANNABERG (1887), l'avaient fait déjà, les microbes de l'urèthre normal et ceux du pus blennorrhagique. Il est beaucoup plus facile aujourd'hui d'obtenir des cultures de gonocoques, depuis surtout que WERTHEIM (1891) a fait connaître la méthode qu'il employait pour les obtenir, méthode sur laquelle nous reviendrons. Ces cultures ont été entreprises tant de fois, et on les a inoculées si souvent avec succès qu'il n'est plus permis de douter du rôle pathogène du gonocoque. Celui-ci est, en fait, reconnu comme l'agent infectieux de la blennorrhagie par l'immense majorité des auteurs, un petit groupe d'auteurs excepté (ERAUD). Nous nous occuperons plus tard encore des recherches dont nous venons de parler.

Après cette longue digression historique, il convient de revenir au gonocoque et de fournir la preuve de son action pathogène.

Le gonocoque de NEISSER est un diplocoque. A un grossissement faible et sans coloration, il apparaît sous la forme d'un ovoïde, de 1,25 μ . de longueur, de 0,7 μ . de largeur. Au fort grossissement et après avoir subi la coloration, on voit ces micro-parasites nettement séparés en deux parties égales par une ligne claire, par une fente.

Chaque moitié a une face externe convexe et une face interne droite ou légèrement creusée; ces deux moitiés se regardent par leurs bords concaves; chacune d'elles offre donc l'aspect d'une fève de café. Ces propriétés morphologiques sont néanmoins communes à beaucoup de diplocoques. Un autre caractère réside dans le groupement des microbes. Les gonocoques, en effet, ne se réunissent jamais en chaînes; le plus souvent ils forment de petits groupes, des amas et le nombre d'individus que contiennent ces constellations microbiennes représente non seulement un chiffre pair, mais encore ce nombre est-il généralement divisible par quatre.

Ce groupement dépend du mode spécial de division des éléments qui a été décrit par NEISSER. Chaque diplocoque se divise dans une

direction perpendiculaire à la fente médiane (pl. III, fig. 4). De la division d'un diplocoque résultent donc deux paires microbiennes qui restent rapprochées et qui se disposent à la façon des sarcines. Tandis que chaque paire de diplocoques se subdivise en nouvelles tétrades analogues à des sarcines, celles-ci se déplacent en restant dans le voisinage les unes des autres ; il en résulte des amas de gonocoques au milieu desquels on voit souvent encore des paires de coccus rapprochées. Mais, encore une fois, on observe ce mode de division pour d'autres diplocoques. Comme d'autres microbes encore le gonocoque possède une grande affinité pour les couleurs basiques d'aniline ; il se colore facilement par le violet de méthyle, le dahlia, le violet de gentiane, la fuchsine et le bleu de méthyle, mais se décolore très rapidement aussi par l'alcool, les acides, la méthode de GRAM.

Cette décoloration facile est, il est vrai, un caractère négatif. C'est là cependant un signe diagnostique important ; il permet de différencier le microc. gonorrhoeae des autres microcoques, qui, une fois colorés, gardent bien leur coloration, même si on les soumet à l'action des acides, de l'alcool ou encore et surtout à la méthode de GRAM. ROUX (1886) a préconisé particulièrement celle-ci pour le diagnostic différentiel. ALLEN (1887) le premier a contesté cette valeur à la méthode de GRAM, ainsi que BUMM qui alléguait que d'autres diplocoques du pus blennorrhagique perdaient leur coloration dans les mêmes conditions. STEINSCHNEIDER et GALEWSKY (1889), en se fondant sur des recherches précises accordèrent de nouveau à cette méthode toute sa signification diagnostique. Dans leurs conclusions ces auteurs disent qu'il existe dans l'urèthre normal, aussi bien que dans la sécrétion blennorrhagique, quatre espèces de diplocoques ; les deux formes les plus fréquentes, le microcoque blanc laiteux et le microcoque jaune orangé, traités par la méthode de GRAM, conservent leur coloration tandis que les deux formes, plus rares, les diplocoques blanc grisâtre et jaune citrin (lesquels se rencontrent avec une fréquence de 4,6 à 4,8 p. 100) se décolorent quand on les soumet à la même épreuve. La méthode de GRAM donne donc au point de vue du diagnostic bactériologique du gonocoque des résultats certains dans 95 p. 100 des cas.

STEINSCHNEIDER et GALEWSKY coloraient leurs préparations en les laissant pendant vingt-cinq à trente minutes dans le bain colorant (solution de violet de gentiane dans l'eau d'aniline), les lavaient ensuite à l'eau, puis les plongeaient cinq minutes dans le bain iodo-ioduré. Après un nouveau lavage à l'eau, ces préparations étaient soumises à

l'alcool absolu jusqu'à ce qu'elles fussent complètement décolorées. La recoloration se faisait avec le brun de Bismarck. Les gonocoques paraissaient alors bruns et les autres diplocoques noirs par la combinaison du brun de Bismarck avec le violet de gentiane. Mais il faut être prudent quand on emploie le brun de Bismarck pour la recoloration, sinon la double coloration n'apparaît pas. Le meilleur procédé de coloration est, selon nous, le suivant : Après avoir étendu le pus sur le couvre-objet, comme cela se fait communément, on le laisse se dessécher, puis on le fixe en passant la lamelle plusieurs fois dans la flamme. On fait nager ensuite la préparation dans un bain de bleu de méthyle, la face chargée de la lamelle étant dirigée en bas. La solution colorante est préparée en laissant tomber goutte à goutte la solution alcoolique concentrée de bleu de méthyle dans un verre de montre rempli d'eau ou de solution potassique à 1 p. 10000 jusqu'à ce que le liquide prenne une teinte bleue foncée. La préparation reste dans ce bain deux minutes environ, elle est ensuite lavée à l'eau puis séchée et enfin examinée dans le baume de Canada. Par ce moyen les gonocoques apparaissent en bleu foncé ; on les distingue nettement des noyaux colorés en gris bleu, et du protoplasme qui est à peine teinté.

Un procédé de coloration rapide et facile a été recommandé par BUMM.

La goutte de pus est portée à l'aide d'une lame de couteau sur un *porte-objet* sur lequel on l'étend en fine couche ; dessiccation à la flamme, immersion d'une demi-minute dans une solution aqueuse concentrée de violet de gentiane, lavage à l'eau, nouvelle dessiccation à la flamme, puis examen direct dans l'huile avec la lentille à immersion homogène, sans interposition de couvre-objet.

SCHUTZ (1889) conseille pour la coloration des gonocoques le moyen suivant : la lamelle chargée reste pendant cinq à dix minutes dans une solution de bleu de méthyle phéniquée ; elle est lavée ensuite à l'eau distillée, puis avec une solution aqueuse d'acide acétique (1 goutte d'acide acétique pour 50 grammes d'eau) et enfin recolorée par la solution aqueuse de safranine. Les gonocoques apparaissent en bleu, les cellules épithéliales en bleu pâle, les noyaux de ces cellules ainsi que les cellules de pus en saumon. Toutefois cette méthode est incertaine et ne se prête pas au diagnostic différentiel.

On obtient, par contre, de très belles préparations par un procédé de double coloration (éosine, bleu de méthyle) que nous avons vu employer par KLEIN à l'institut du professeur WECHSELBAUM. Les lamelles

chargées de pus, au lieu de passer dans la flamme, sont plongées dans un mélange d'alcool et d'éther (parties égales), dans lequel on les laisse pendant 40 minutes environ, puis on les soumet 10 ou 15 minutes à la solution d'éosine et de bleu de méthyle (0^{sr},5 d'éosine dans 100 grammes de solution aqueuse concentrée de bleu de méthylène). Elles sont alors lavées à l'eau, séchées et enfin examinées dans le baume de Canada. Les gonocoques et les noyaux cellulaires apparaissent en bleu, le protoplasme prend une teinte saumon. On juge surtout bien ainsi de la situation intracellulaire des gonocoques dans les corpuscules de pus.

Une préparation de pus blennorrhagique, faite de l'une ou l'autre des manières que nous venons d'indiquer, montre, à supposer qu'il s'agisse d'une blennorrhagie non traitée, des amas de gonocoques, le plus souvent nombreux. Ces groupes se trouvent en partie entre les cellules, mais aussi, et c'est là un caractère du gonocoque, dans les cellules de pus. Il y a des cellules dans le protoplasme desquelles il existe, généralement près du noyau, un ou quelques groupes de gonocoques. Dans d'autres cellules le nombre de ceux-ci est plus considérable, ils atteignent en l'un ou l'autre point le bord de la cellule, mais ne dépassent jamais cette limite, ce qui démontre leur présence à l'intérieur même du corps cellulaire et exclut l'idée qu'ils seraient simplement superposés à ces éléments.

Enfin, certaines cellules sont à ce point remplies de microbes que le noyau lui-même en est recouvert.

Il n'est pas rare de voir se rompre des cellules bourrées de gonocoques, lesquels peuvent alors se répandre au dehors.

On voit aussi çà et là des groupes de microcoques disposés autour de deux ou de trois noyaux, sans qu'il existe de contour cellulaire bien marqué; ces groupes sont généralement mieux fournis au centre qu'à la périphérie.

On trouve parfois, surtout quand il s'agit de blennorrhagies quelque peu anciennes, de nombreuses cellules épithéliales plates recouvertes de gonocoques en amas. Le fait que les microbes dépassent la limite cellulaire prouve qu'ils ne sont pas situés à l'intérieur du protoplasme même, mais simplement superposés à l'élément épithélial.

Pour démontrer la spécificité du gonocoque, outre la présence constante de ce microbe dans la sécrétion blennorrhagique, il fallait encore reproduire une blennorrhagie par inoculation de culture pure. Passant sous silence les recherches d'observateurs qui dirent avoir obtenu des cultures pures sans que celles-ci aient été soumises à la

sanction de l'inoculation, sans parler davantage de celles qui aboutirent à des résultats négatifs, disons que seules les cultures pures de BUMM sont à l'abri de tout reproche. Après plusieurs tentatives vaines, cet auteur utilisa comme milieu de culture le sang humain qu'il retirait du placenta et qu'il stérilisait. Une goutte de pus urétral, prélevée des parties profondes du canal, étaitensemencée sur du sérum sanguin; l'éprouvette était laissée à la température de 37° C. à l'étuve. En un jour, les gonocoques s'étaient déjà considérablement multipliés et la goutte déposée sur le sérum avait augmenté de volume. Une goutte de cette sécrétion cultivée et ainsi repeuplée de gonocoques était réensemencée sur une fine couche de sérum sur lequel une nouvelle culture poussait. Après deux, trois jours, tout développement cessait; aussi fallait-il renouveler souvent les ensemencements.

Sur la surface du sérum la culture se présentait sous la forme d'une couche mince, presque incolore, vernissée, unie, ayant la tendance caractéristique de s'accroître par prolongements déchiquetés nombreux, à bords raides, tombant à pic. Le réensemencement de la culture sur bouillon pepto-gélatiné, sur agar, fournit toujours des résultats négatifs. Le gonocoque ne pousse donc pas sur ces milieux.

Le transport d'une seconde et d'une vingtième culture pure de gonocoques sur la muqueuse urétrale provoqua (BUMM), dans les deux cas, l'écllosion d'une uréthrite aiguë, typique, dont le pus charriait de nombreux gonocoques.

AUFUSO (1891) cultiva alors le gonocoque dans du liquide d'hydrocèle et obtint des résultats positifs de ses inoculations dans l'urèthre humain. Mais ce fut WERTHEIM (1892) qui indiqua le procédé le plus sûr pour cultiver le gonocoque et qui parvint le mieux à démontrer son pouvoir pathogène.

Il revint à la méthode de culture sur plaque préconisée déjà par BOCKART (1886): il ensemença du sérum de sang humain avec du pus blennorrhagique dont il faisait deux dilutions, puis, il ajouta aux éprouvettes renfermant 3 centimètres cubes environ de sérum ainsi ensemencé, la même quantité d'agar nutritive liquéfiée (2 p. 100 agar, 1 p. 100 peptone, 0,5 de chlorure sodique); il répandait alors le contenu de ces éprouvettes sur des plaques.

Sur celles-ci (à la température de l'étuve) se développaient très rapidement (ordinairement, déjà après 24 heures) des colonies qui apparaissaient sous forme de points gris, blanchâtres, solides. Les colonies profondes (à contours irréguliers) étaient jaunâtres, grossièrement

bosselées, tandis que les colonies superficielles montraient, autour d'un point central compact, une mince pellicule.

L'ensemencement ultérieur de ces colonies dans des tubes de sérum inclinés donna lieu au développement de nouvelles colonies minces, grises, punctiformes ou à contours irréguliers, dentelés, semblables à celles décrites par BUMM. L'inoculation de cette culture dans l'urèthre humain fut suivie cinq fois de résultats positifs (après une incubation de deux ou trois jours, il survint une urétrite aiguë, à gonocoques, de quatre à cinq semaines). L'examen microscopique, les caractères de forme, de décoloration facile, montraient à n'en pas douter qu'il s'agissait bien là de cultures de gonocoques. Mais les cultures ainsi obtenues ne poussent pas seulement sur le sérum sanguin; elles végètent bien aussi sur l'agar nutritive avec ou sans addition de glycérine. On obtient sur le sérum gélosé (1 partie de sérum de sang humain, 2 parties de bouillon peptogélosé) d'abondantes colonies blanchâtres, minces, échancrées sur les bords. Les gonocoques végètent encore parfaitement sur un mélange d'une partie de sérum humain et de deux parties de bouillon peptonisé; la végétation, au fond de l'éprouvette, forme une mince couche écaillée à peu près transparente, tandis que la surface du bouillon se recouvre d'une pellicule grisâtre, délicate. Il n'y a pas que le sérum de sang humain qui convienne au gonocoque; celui de sang de bœuf constitue aussi pour ce microorganisme un excellent milieu nutritif.

GHON et SCHLAGENHAUFER, de l'institut du professeur WECHSELBAUM, ont enfin considérablement simplifié les procédés de culture du gonocoque. Comme leurs expériences ne sont pas terminées, nous ne pouvons qu'en rapporter une partie. WERTHEIM avait pu obtenir des cultures pures de gonocoques par inoculation en strie sur gélose solidifiée. GHON et SCHLAGENHAUFER inoculèrent directement sur l'agar de PFEIFFER (glycérine et agar) recouverte d'une couche de sang humain (provenant du bout de l'oreille) le pus urétral après nettoyage et désinfection du méat; ou bien, ils ensemencèrent avec ce pus de petites plaques de PÉTRI contenant le même milieu nutritif. La même aiguille servait à des ensemencements successifs, ce qui permettait l'isolement des cultures de gonocoques dans le cas où il se serait produit une infection accidentelle des cultures. C'est surtout à l'aide des plaques de PÉTRI préparées avec le sérum de bœuf et inoculées de cette façon qu'ils obtinrent de belles cultures. Huit inoculations que nous fîmes avec GHON dans un but curatif, à des individus dont certains d'entre eux souffraient de blennorrhagies chroniques, nous don-

nèrent des résultats absolument positifs. L'aspect des colonies, la façon dont elles se comportaient, vis-à-vis de la méthode de GRAM, montraient que ces cultures répondaient en tous points à celles décrites par BUMM et WERTHEIM.

Si nous résumons les travaux que nous venons de passer en revue, les conclusions suivantes en ressortent, solidement établies :

1). Dans toutes les suppurations dites de nature blennorrhagique et décrites comme telles (les suppurations des muqueuses génitale et conjonctivale notamment), le gonocoque se retrouve sans exception;

2). Ce microorganisme fait défaut dans tous les processus de nature non blennorrhagique;

3). Le pus qui ne contient pas de gonocoque est incapable de reproduire (par inoculation) la blennorrhagie (ZWEIFEL, WELANDER);

4). Le pus qui en contient est en état de transmettre la blennorrhagie (WELANDER);

5). La culture de microorganismes autres que les gonocoques ne produit pas, par inoculation, la blennorrhagie (STERNBERG, LUNDTROM, CHAMERON);

6). L'inoculation des cultures de gonocoques reproduit la blennorrhagie à la suite d'une abondante multiplication des microbes inoculés (BUMM, AUFUSO, WERTHEIM, GHON, SCHLAGENHAUFER et FINGER).

On peut donc dire que l'étiologie de la blennorrhagie est bien élucidée, que la virulence de cette affection est démontrée et que son virus nous est parfaitement connu. Nous parlerons encore dans la partie spéciale de ce livre de la signification diagnostique des gonocoques.