

Exceptionnellement, certaines affections (gourme, emphysème pulmonaire, mélanose) peuvent entraîner la réaction. *Il faudra donc associer l'injection de la malléine et l'inoculation au cobaye, suivie d'examen microscopique, pour avoir un diagnostic absolument certain.* Un seul de ces deux signes restant négatif suffit à éliminer la morve : il faut les associer, en cas de résultat positif de l'un d'eux.

Nous ne savons pas qu'on ait jamais injecté la malléine à l'homme.

4° Sérodiagnostic par l'agglutination. — Le sérum des chevaux sains agglutine déjà le B. des cultures à 1/100 et 1/300. Le sérum des animaux morveux agglutine à 1/500 et 1/1000 (BOURGES et MERY, 1900). Il faut attendre dix-huit à trente-six heures pour se prononcer. Il faut regarder au microscope. L'injection préalable de malléine ne modifie pas le pouvoir agglutinant.

Ce sérodiagnostic est très recommandé par RABIEUX (1902), surtout dans les cas hyperthermiques (où la malléinisation ne peut donner aucun résultat) et sur le cadavre (inspection des viandes de boucherie).

Dans un cas de *morve humaine*, P. COURMONT a constaté que le sérum du malade agglutinait mieux et plus vite que d'autres sérums humains ; mais la différence est faible.

En somme : pratique délicate.

CHAPITRE V

BACILLE DU CHARBON

Le *Bacille du charbon*, ou *Bactéridie charbonneuse*, ou *Bacillus anthracis* a été découvert par DAVAINÉ et RAYER (1850 ; 1863) ; mais, c'est PASTEUR, (1877), KOCH (1876). TOUSSAINT, CHAUVEAU (1880), qui en ont fait une étude systématique. En raison de sa découverte à l'aurore de la Bactériologie, en raison de la facilité avec laquelle il se prête à l'expérimentation, en raison aussi du grand intérêt économique qui s'attachait à la connaissance du charbon, le *B. anthracis* a été, pendant longtemps, le microbe d'étude favori dans les laboratoires, avant que les *B. diphtérique* et *tétanique* l'aient supplanté, lorsque les efforts des expérimentateurs se sont tournés du côté des toxines.

A) ISOLEMENT, CULTURES

1° Isolement. — A) On peut ensemercer directement en bouillon le sang ou les parties non ulcérées des lésions ; il est préférable d'inoculer un *cobaye* sous la peau de la cuisse, et de cultiver le sang du cœur. — B) PASTEUR a isolé le *B. anthracis* du sol des *champs maudits* en inoculant au *cobaye* la terre broyée, diluée, décantée et chauffée, quinze à vingt minutes, à + 85°. Le chauffage détruisait les microbes pyogènes et respectait les spores charbonneuses. On peut éliminer les anaérobies, tels que le *V. septique* et le *B. tétanique* en faisant des cultures aérobies d'isolement sur gélatine avec la terre ; on inocule au *cobaye* les colonies qui ressemblent au *B. anthracis*.



Fig. 275.

B. anthracis.
Culture sur
gélatine au
8^e jour.

2° Caractères généraux des cultures. — Très aérobie. Végète entre +14° et +43°. Tempér. optima = 35°. Les milieux de culture neutres ou légèrement alcalins sont plus favorables. La végétation est très rapide sur tous les milieux.

3° Cultures sur milieux solides. — A. SÉRUM. Colonies blanc mat, tournant au gris, et liquéfiant légèrement le sérum.

B. GÉLOSE. — Culture blanchâtre, à bords dentelés.

C. GÉLATINE. — Liquéfiée lentement.

a. *Piqûre.* — Trait blanchâtre avec nombreux filaments très délicats, plantés à angle droit (sapin renversé) (fig. 156,4). Ces arborisations peuvent manquer. Au bout de cinq ou six jours, la gélatine se

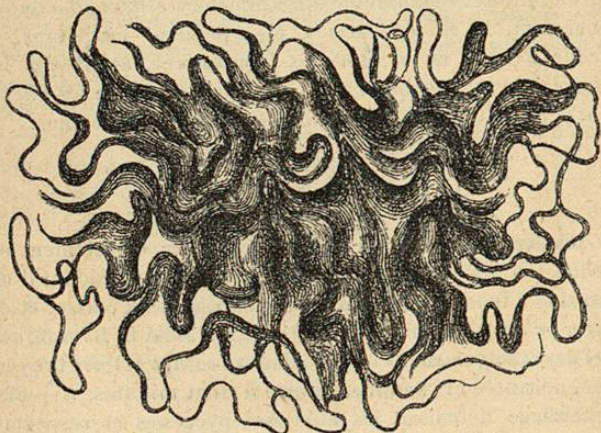


Fig. 276.

B. anthracis. Colonie sur gélatine. Préparation par impression. liquéfiée à la partie supérieure (fig. 275); vers le douzième ou

quinzième jour la liquéfaction est totale. De gros flocons blancs finissent par tomber au fond de la gélatine liquide.

b. *Plaques.* — Petites colonies blanches, qui deviennent ensuite brunâtres, sinueuses. Au microscope, elles ressemblent à des cheveux enchevêtrés, les filaments étant groupés en torsades élégantes (fig. 276). Cette disposition est caractéristique. Il suffit de faire une *préparation par impression*, en laissant tomber sur la colonie une lamelle légèrement chauffée; on l'enlève, on fixe et on colore.

La gélatine se liquéfie à partir du cinquième ou du sixième jour.

D. GÉLATINE LACTOSÉE ET TOURNESOLÉE. — Rougit faiblement.

E. POMME DE TERRE. — Colonies blanchâtres, brunissant ensuite.

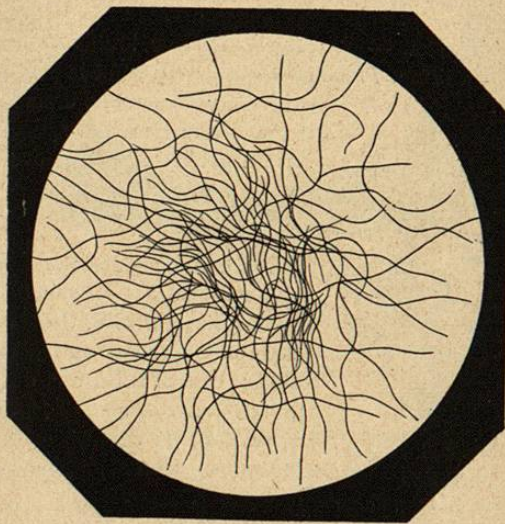


Fig. 277.

B. anthracis. Culture en humeur aqueuse datant de 48 heures.

4° Cultures en milieux liquides. — A. BOUILLON. — Culture en flocons, le bouillon restant à peu près clair. Parfois le

bouillon est uniformément trouble, avec flocons au fond.

Les albuminoïdes sont transformés en ammoniacque, en même temps que se forment des acides volatils, tels que l'acide formique, l'acide acétique, etc. Les substances ternaires sont transformées en acides lactique et acétique qui finissent, eux-mêmes, par disparaître (M^{lle} NAPIAS).

B. SÉRUM. — Flocons nuageux.

C. LAIT. — Coagulation vers le troisième ou quatrième jour. Redissolution du coagulum vers le huitième jour. Cultiver en tube et non en ballon.

D. HUMEUR AQUEUSE. — Culture rapide (fig. 277).

B) COLORATION, CARACTÈRES MICROSCOPIQUES

1° **Coloration.** — Se colore bien par toutes les couleurs basiques d'aniline. Prend le Gram, ce qui rend la double coloration très commode dans les frot-tis ou les coupes. Les spores se colorent par les méthodes ordinaires.

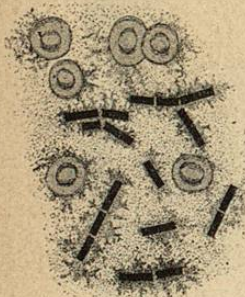


Fig. 278.

B. anthracis.

Préparation du sang d'une souris charbonneuse.

2° **Mobilité.** — Immobile.

3° **Forme.** — Dans le sang : bâtonnets de 5 à 10 μ sur 1 à 1,5 μ , homogènes, droits, isolés ou en chaînettes de deux ou trois articles placés très près les uns des autres (fig. 278). Les extrémités sont coupées carrément ; la cassure est un peu festonnée, si on l'examine à un très fort grossissement.

Dans l'œdème : bacilles un peu plus longs.

Dans les cultures liquides : filaments longs, flexueux, parfois enchevêtrés comme des paquets de fil. Il ne sont jamais ramifiés. Les extrémités sont coupées carrément. Ils sont constitués

par une gaine hyaline, contenant les articles homogènes, placés bout à bout, dont chacun est un bacille. Ce sont des *streptobacilles* enfermés dans une gaine.

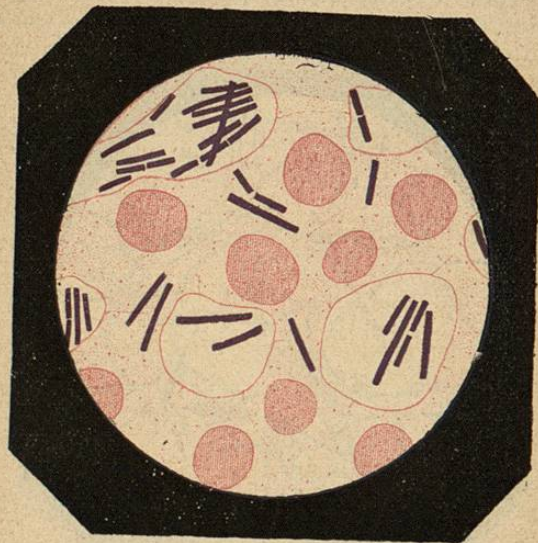


Fig. 279.

B. anthracis.

Coupe du foie d'un cobaye charbonneux.

Les filaments sont très longs, avec spores, dans l'humeur aqueuse (fig. 277).

Dans les cultures solides : beaucoup de bacilles courts (fig. 280).

4° **Spores.** — Découvertes par Koch, en 1876. N'existent jamais dans le corps vivant de l'animal charbonneux. Elles sont au contraire très rapidement abondantes dans les cultures. Chaque article des filaments donnera naissance à une (rarement à plusieurs) spore (fig. 281).

Koch a étudié la formation et l'évolution des spores charbonneuses dans une goutte suspendue (voy. p. 457) d'humeur

aqueuse, ensemencée avec du sang, et maintenue à $+ 33^{\circ}$. Au bout de quelques heures, apparaît dans le protoplasme microbien un point réfringent qui grossit rapidement : c'est la spore. Bientôt le protoplasma se désagrège, la spore est mise en liberté. Celle-ci grossit, perd sa réfringence, son enveloppe

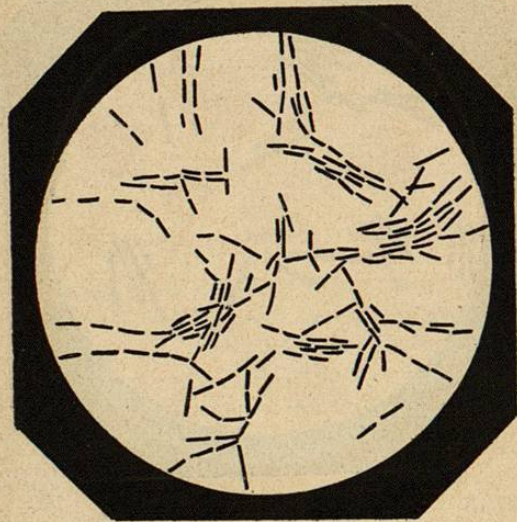


Fig. 280.

B. anthracis.

Culture sur gélose, âgée de 24 heures (d'après THOINOT et MASSELIN).

se résorbe, son protoplasma bourgeoine et forme un nouveau bacille. Pour la formation des spores, l'oxygène et une température de $+ 18^{\circ}$ à $+ 41^{\circ},5$ sont indispensables. Pour WEIL, les spores pourraient se former à l'abri de l'air. Chaque article ne produit en général qu'une spore; quelques-uns restent stériles.

On obtient, en vingt-quatre heures, des spores en cultivant sur agar pauvre (sans peptone).

Variétés asporogènes. — Nous venons de voir que les cultures

en bouillon ne contiennent pas de spores, si elles ont végété au-dessus de $+ 41^{\circ},5$; mais, ces cultures, réensemencées à $+ 33^{\circ}$, donnent des bacilles sporogènes. On peut arriver à fixer une race de *B. définitivement asporogènes* (LEHMANN (1887), BEHRING

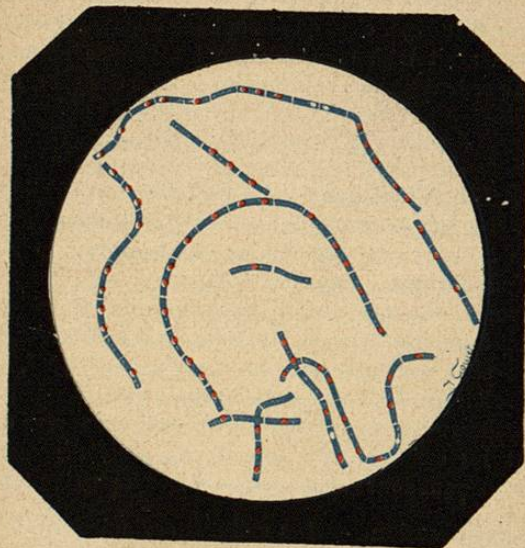


Fig. 281.

B. anthracis

Préparation d'une vieille culture en bouillon, avec spores.

Gr. = 1000 D.

(1889), PASTEUR, CHAMBERLAND, ROUX, CHAUVEAU, PHISALIX).

On a employé pour cela divers artifices : la culture en bouillon additionnée de bichromate de potasse à 1/2000 (CHAMBERLAND et ROUX), d'acide phénique à 1/10 000 environ (ROUX), d'acide chlorhydrique (BEHRING), les cultures successives à $42^{\circ},5$ (PHISALIX), etc. Tous ces procédés sont bons mais inconstants; on ne peut prédire les résultats; il arrive souvent que la faculté sporogène reparait; certains échantillons deviennent plus facilement asporogènes que d'autres, etc. En tous cas, la possibilité

de créer une race asporogène est un fait acquis. Pour savoir si une culture renferme ou non des spores, il ne faut pas se contenter de l'examen microscopique (fausses spores de CHAUVEAU), il faut la chauffer pendant quinze minutes à + 65°-70°, dans une pipette scellée, et réensemencer. Si la végétabilité a résisté au chauffage, c'est que la culture était sporulée.

PASTEUR avait déjà constaté que les vieilles cultures sur gélatine perdent parfois la propriété de faire des spores.

C) CARACTÈRES BIOLOGIQUES

1° Vitalité, Virulence. — La Bactéridie est fragile quand elle n'a pas encore formé de spores; un chauffage de trente minutes à + 51° stérilise le sang charbonneux; le manque d'oxygène, l'oxygène comprimé la tuent.

Les spores sont, au contraire, très résistantes. Humides, elles survivent à un chauffage de cinq minutes à + 85°. Desséchées, elles ne sont pas tuées par un chauffage à + 100°, par les rayons solaires, par l'oxygène comprimé, etc.

La virulence des spores se conserve très longtemps dans la terre et les cadavres. On connaît les *champs maudits*. Le *B. anthracis* peut donc exister dans le sol (voy. plus haut, p. 543).

2° Agglutination. — Les cultures ordinaires ne sont pas homogènes; elles ne se prêtent donc pas à l'agglutination. Les cultures atténuées sont homogènes; elles sont agglutinées de 1/10 à 1/50 par le sérum de certains animaux sains, tels que *cobaye, lapin, bœuf, cheval*, et à 1/200 ou même à 1/500 par le sérum de l'homme sain.

GENGOU (1899) a étudié, à propos du charbon, les rapports qui existent entre les lysines et les agglutinines. Il conclut à la différenciation.

D) ACTION PATHOGÈNE

1° Action naturelle. — Le charbon est une maladie commune à l'homme et à un grand nombre d'animaux, spécialement les *bovidés* et le *mouton*, également le *cheval*.

Chez l'homme, il revêt le plus souvent la forme de *pustule maligne* à la suite d'une inoculation cutanée (bouchers, mégisiers, bergers, etc.); la forme pulmonaire s'observe aussi (trieurs de laine); la forme intestinale (ingestion de viandes charbonneuses) est plus rare. L'homme n'est pas très sensible au charbon. Les cas de guérison de la pustule maligne sont fréquents. L'apparition du B. dans le sang est d'un pronostic à peu près fatal.

Les animaux s'infectent presque toujours par la voie digestive, les spores pénétrant facilement la muqueuse intestinale à la faveur des érosions produites par les corps durs mêlés au fourrage. Ces spores ont été ramenées des cadavres charbonneux à la surface du sol et sur les herbes par les vers de terre (PASTEUR). Les champs où ont été enfouis les cadavres charbonneux sont, pour cette raison, les *champs maudits*. Le charbon du mouton a été longtemps appelé « *sang de rate* »; celui du cheval: « *fièvre charbonneuse* »; celui de la vache: « *maladie du sang* ». En raison de la voie d'introduction, l'accident local (pustule maligne) n'existe presque jamais; l'infection est d'emblée générale; la mort est la règle. Le sang est noir et poisseux; la rate est grosse. Le sang et la pulpe des organes fourmillent de bacilles. Il peut cependant arriver que le sang de la vache ne contienne pas de bacilles au moment de la mort.

Les ravages du charbon sur les troupeaux de certaines régions étaient considérables, avant les découvertes pastoriennes (mortalité de 40 p. 100 et plus).

2° Action expérimentale. — A. MOUTON. — Le mouton français est ultrasensible à l'inoculation sous-cutanée et à l'ingestion. La marche est foudroyante. Les lésions sont identiques à celles du charbon spontané. L'hématurie est fréquente. Le mouton algérien est beaucoup plus résistant (CHAUVEAU). Pour réussir l'inoculation par ingestion, il faut arroser, avec une culture sporulée, du fourrage mêlé d'épines (PASTEUR et CHAMBERLAND). Les cultures sont surtout virulentes à l'âge de deux ou trois jours.

B. BOVIDÉS — Très sensibles à l'ingestion, moins à l'inocu-

lation sous-cutanée. Diarrhée sanguinolente, coliques. Mort subite ou dans des convulsions. Mort très rapide, quelques heures après le début des symptômes.

C. EQUIDÉS. — Plus résistants à l'ingestion, plus sensibles à l'inoculation sous-cutanée.

D. COBAYE. — Réactif au charbon dans les laboratoires. Très sensible à l'inoculation sous-cutanée; très peu sensible à l'ingestion.

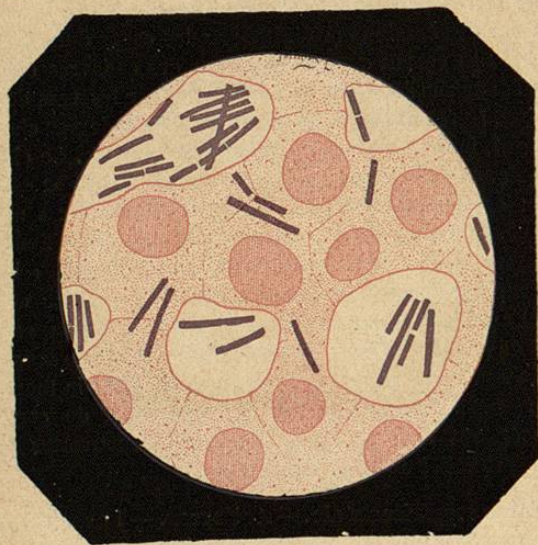


Fig. 282.

Bacillus anthracis.

Coupe du foie d'un cobaye charbonneux.

Au bout de douze à quinze heures : gonflement œdémateux local; tuméfaction des ganglions voisins, fièvre. L'œdème augmente rapidement. Vers la vingt-quatrième ou trentième heure, l'état général s'aggrave : dyspnée, hypothermie (34°, 32°, 28°), coma, mort.

Autopsie : œdème gélatineux local, légèrement rosé, s'étendant parfois jusqu'au milieu du ventre et fourmillant de bacilles; ganglions voisins tuméfiés, ecchymotiques, fourmillant de bacilles, entourés d'œdème; sang asphyxique, noir, poisseux (sang dissous), avec globules rouges déformés et



Fig. 283.

Bacillus anthracis.

Frottis de rate coloré à l'hématoxyline, au Gram et à l'éosine.

agglutinés, avec hyperleucocytose, contenant un nombre inouï de bacilles (fig. 278); rate turgescence, molle, friable; congestion de tous les organes; vessie pleine d'une urine marc de café. Les bacilles apparaissent dans le sang vers la quinzième heure; ils ne sortent pas des vaisseaux dans les parenchymes, mais pullulent surtout dans les capillaires, aussi les viscères sont-ils gorgés de bacilles (fig. 282).

Les préparations d'épiploon sont très instructives à ce sujet, car elles montrent les bacilles en place dans les vaisseaux, et

n'en sortant pas (plus commodes à faire avec le lapin). La rate contient plus de bacilles que de cellules (fig. 283). Les muscles, le tissu nerveux en contiennent peu. Les cellules épithéliales des parenchymes sont saines, non dégénérées; la lésion paraît exclusivement sanguine.

Les bacilles passent exceptionnellement, *par effraction*, dans le lait, dans l'urine, chez le fœtus (TOUSSAINT, STRAUS et CHAMBERLAND).

L'emploi du jeune cobaye sert à mesurer la virulence des cultures. On dit qu'une culture tue le cobaye d'un jour, ou de deux jours, etc., (voy. p. 314).

E. LAPIN. — Mêmes symptômes que chez le cobaye. Le lapin est moins sensible. L'œdème est moins considérable. Les symptômes généraux n'apparaissent qu'au bout de quarante-huit heures; la mort est plus lente.

F. SOURIS — Très sensible. Mêmes symptômes. Voyez la figure 278.

G. RAT. — Le rat ordinaire adulte est assez résistant. Le rat blanc est presque toujours réfractaire (BEHRING). METCHNIKOFF a obtenu, par passages chez le rat blanc jeune, des cultures tuant le rat adulte. Les rats *surmenés* sont sensibles (CHARRIN et ROGER). Le sérum des rats blancs contient une substance lysante qui dissout *in vitro* le *B. anthracis* (BEHRING, METCHNIKOFF, etc.).

H. CHIEN. — Comme tous les carnassiers, est à peu près réfractaire. L'inoculation intrapleurale tue cependant le jeune chien (NOCARD). Le jeune chien serait d'ailleurs aussi sensible que le cobaye (STRAUS). Le chien adulte peut être infecté par des injections intraveineuses de culture ou très abondantes (MALM) ou mélangées à des poudres; l'ablation de la rate, d'autres infections (rage) favorisent la réussite. Le virus, ayant réussi à forcer la résistance du chien, est exalté pour le chien (MARTEL).

I. CHAT. — Est réfractaire adulte; jeune il est sensible.

J. PORC. — Presque complètement réfractaire.

K. OISEAUX. — Le *pigeon* est réceptif quand il est jeune; le pigeon adulte ne succombe qu'à l'inoculation dans la chambre antérieure. Les bacilles, ayant passé par le pigeon ou le chien, sont exaltés et tuent alors facilement le pigeon par inoculation sous-cutanée. L'immunité du pigeon serait due à une phagocytose active (METCHNIKOFF, THILTGES).

La *poule* est encore plus réfractaire, à moins d'être refroidie, par immersion des pattes dans l'eau froide (PASTEUR), ou par injections répétées d'antipyrine (WAGNER). Cette immunité tient aux propriétés bactéricides de son sérum, d'après THILTGES.

L. VERTÉBRÉS A SANG FROID. — Les Batraciens sont réfractaires. L'hippocampe est réceptif (SABRAZÈS et COLOMBOT).

E) TOXINES

Les cultures ordinaires en bouillon, filtrées ou tuées par la chaleur, sont peu ou pas toxiques. Normalement, le microbe sécrète peu de toxines extraprotoplasmiques.

TOUSSAINT (1878) avait signalé une substance phlogogène dans les cultures du *B. anthracis*.

BRIEGER et FRANKEL (1890) ont isolé des cadavres charbonneux une toxalbumine assez active. HANKIN (1889) aurait extrait des cultures une albumose qui serait très toxique pour les réfractaires et très peu pour les sensibles; elle conférerait une certaine immunité à la souris.

MARMIER (1892) a serré le problème de plus près. Il purifie avec soin la peptone du commerce et fait le liquide suivant :

Eau	1 000 centimètres cubes
Peptone	40 grammes
Chlorure de sodium	15 —
Phosphate de soude	0 gr. 50
— de potasse	0 gr. 20
Glycérine pure	40 grammes

On filtre. On stérilise à + 115°. On enseme avec une culture virulente, et on met deux jours à + 37°. On retire de

l'étuve, et on laisse à la température du laboratoire. On filtre. On sature de sulfate d'ammoniaque pendant quinze heures. On filtre sur papier, et on lave le filtre avec une solution saturée de sulfate d'ammoniaque. On recueille le précipité sur le filtre, et on le traite par une très petite quantité de glycérine. On décante au bout de deux jours, on remplace la glycérine, on décante de nouveau. On réunit les liqueurs glycélinées; on les précipite par quatre fois leur poids d'alcool fort. Le précipité est lavé à l'alcool absolu, à l'éther et desséché dans le vide. On obtient une substance amorphe, brune, soluble dans l'eau distillée, qui *n'est pas albuminoïde*.

Cette substance est toxique. Le *lapin* succombe à des doses variant de 25 à 200 milligrammes. La mort survient en hypothermie, avec de la diarrhée, de la paraplégie, du deuxième au vingtième jour. Les *cobayes*, les *souris* sont sensibles. Les animaux réfractaires ou immunisés ne sont pas sensibles.

La toxine n'est qu'atténuée par un chauffage à + 110°.

MARMIER a extrait la même toxine active des cultures jeunes sur gélose.

Cette substance est intraprotoplasmique.

F) IMMUNISATION, CULTURES ATTÉNUÉES

Le problème de la vaccination anticharbonneuse s'est posé à l'aurore de la bactériologie. Il avait à la fois un intérêt économique (vacciner les troupeaux) et un intérêt scientifique de premier ordre (on ne connaissait encore que les cultures atténuées du choléra des poules).

On savait que le charbon ne récidive pas chez l'homme; PASTEUR avait remarqué que les vaches ayant guéri du charbon étaient devenues réfractaires, que des moutons ayant résisté à une première inoculation étaient également réfractaires. La possibilité de la vaccination s'imposait.

C'est au lyonnais TOUSSAINT, que revient l'honneur d'avoir, le premier, réalisé la vaccination charbonneuse (12 juillet 1880). Il filtrait du sang charbonneux, sur plusieurs doubles de papier, le chauffait à + 55° et obtenait ainsi un liquide vaccinal.

Que les microbes aient été ou non détruits par ces opérations, que la vaccination ait été le fait de microbes atténués ou de produits solubles, peu importe au point de vue spécial de l'histoire de la vaccination charbonneuse. La même année, CHAUVEAU montrait qu'on pouvait obtenir la vaccination par inoculation d'un *petit nombre* de bacilles, et que les agneaux, nés de mères charbonneuses, étaient réfractaires au *B. anthracis*. En 1881, PASTEUR, CHAMBERLAND et ROUX (28 février et 21 mars) publiaient la découverte d'un vaccin charbonneux constitué par des cultures ayant une atténuation permanente, transmissible, qu'on pouvait donc manier comme des vaccins. En 1882 et 1883, CHAUVEAU faisait connaître ses vaccins obtenus soit par le chauffage, soit par l'emploi de l'oxygène comprimé. La valeur de la vaccination par cultures atténuées a été consacrée par la fameuse expérience de Pouilly-le-Fort, où 25 moutons vaccinés résistèrent à l'inoculation qui tua les 25 témoins.

Ajoutons que WOLDRIDGE aurait vacciné avec des cultures filtrées obtenues en bouillon de thymus et de testicule de veau. Rappelons que l'albumose de MARMIER peut immuniser. HANKIN disait aussi avoir immunisé avec sa toxine. Ce sont là les seuls exemples (après l'expérience de TOUSSAINT) de vaccinations chimiques.

1° Vaccins obtenus par cultures à des températures dysgénésiques. — Ce sont les vaccins PASTEUR. (Voy. p. 363.) Le principe est d'avoir des cultures sans spores. Nous avons vu (p. 348) que les spores ne se formaient pas au-dessus de 41°,5. Il suffit donc de cultiver à + 42°,5. Cette culture atténuée, inoculée au mouton, lui donne une maladie légère qui lui confère l'immunité. Cette culture, réensemencée à + 37°, donne une culture à spores, mais ces spores donnent naissance à une race de même virulence, c'est-à-dire atténuée. La race est fixée. On peut rendre au bacille sa virulence, en se basant sur ce fait que les *jeunes animaux* sont plus sensibles que les adultes. Tel vaccin qui est inoffensif pour le cobaye adulte, tuera le cobaye d'un jour ou de deux jours, etc.; si bien que

l'action pathogène sur le cobaye de un, deux, trois ou quatre jours est une véritable mesure de virulence. On inoculera donc des cobayes ou des souris très jeunes, et, avec leur sang, des animaux un peu plus âgés, et ainsi de suite. On arrivera ainsi à rendre la virulence aux vaccins.

En pratique, on opère sur les moutons de la façon suivante. On a deux vaccins (délivrés à l'Institut Pasteur en tubes de 100 doses). Le premier est très faible : il tue la souris, mais ne tue ni le lapin, ni le mouton. Le second est plus fort, il peut tuer la souris, le cobaye et même parfois le lapin. On inocule, à la face interne d'une cuisse, le premier vaccin (vache = 1/4 de cc. ; mouton = 1/8 de cc.). On attend douze jours. On inocule le second vaccin, aux mêmes doses, à l'autre cuisse. L'opération est faite avec du vaccin pur et frais et avec une seringue stérilisée. L'immunité est acquise douze jours après la seconde inoculation. Cette pratique a presque supprimé le charbon dans des contrées où il était endémique. On vaccine, chaque année, en France, plus de 300 000 moutons et de 50 000 bovidés.

La vaccination des petits animaux de laboratoire (cobaye, lapin) est difficile à obtenir, en raison de leur sensibilité ; ils sont presque toujours tués par les vaccins. Il faut commencer par un troisième vaccin, encore plus atténué que le second. MARCHOUX est arrivé à vacciner le lapin avec les vaccins ordinaires, en injectant d'abord des doses faibles de premier vaccin cultivé et âgé de vingt-quatre heures.

2° Vaccins obtenus par le chauffage. — Ce sont les vaccins de TOUSSAINT, puis de CHAUVEAU. (Voy. les vaccins Chauveau, p. 364). Il chauffe à + 47° des cultures sans spores obtenues à + 42°,5. Pour obtenir des races définitivement atténuées, il opère de la façon suivante : 1° cultiver à + 42°,5 pendant vingt-quatre heures ; 2° chauffer trois heures à + 47° ; 3° semer et placer cinq à sept jours à + 37° (culture sporulée) ; 4° chauffer pendant une heure à une heure et demie, à + 84° ou + 82°. Ces spores fournissent un vaccin à virulence fixe, qui ne peut tuer le mouton. Le premier vaccin a été chauffé à + 84° ; le second à + 82°.

Ces vaccins conservent leur virulence atténuée plus longtemps que les vaccins Pasteur ; par contre leur activité disparaît en quelques mois.

Pour CHAUVEAU l'influence de l'oxygène est nulle, dans son procédé.

On peut employer ces vaccins comme ceux de l'Institut Pasteur.

3° Autres vaccins. — TOUSSAINT avait atténué le sang charbonneux avec des antiseptiques (voy. p. 366). CHAMBERLAND et ROUX l'ont imité. CHAUVEAU a fabriqué d'excellents vaccins en employant l'oxygène comprimé (voy. p. 365). ARLOING a utilisé la lumière solaire (voy. p. 366).

G) DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

Il est facile à faire avec les données précédentes. On se rappellera que le B. ne passe dans le sang, chez l'homme, qu'à la dernière période, tandis qu'il existe presque constamment dans le sang des vaches ou des moutons. Il faudra donc, pour le diagnostic de la pustule humaine, rechercher le bacille dans la sérosité des vésicules ou dans un morceau excisé de la pustule. Pour les animaux, on s'adressera au sang périphérique (pendant la vie) ou au sang du cœur, ou mieux aux ganglions (autopsie).

1° Examen microscopique. — Il suffit souvent ; les allures du B. anthracis étant bien spéciales et son abondance dans le sang étant considérable.

2° Culture. — Elle peut être tentée avec la sérosité ou le sang. Mais comme on sera toujours obligé d'inoculer les cultures, il vaut mieux inoculer de suite.

3° Inoculation. — Sous la peau de la cuisse du cobaye, c'est le procédé de choix (Voyez plus haut p. 552) les résultats. Si on utilisait le lapin, on inoculerait, autant que possible, dans le sang, le V. septique étant inoffensif par cette voie. Il va sans dire que l'inoculation d'un parenchyme quelconque (sauf pro-

venant de l'homme) doit donner le charbon au cobaye. L'œdème souscutané du cobaye est *blanc*, tandis que celui du *V. septique* est sanguinolent, *rouge*.

En été, les cadavres des herbivores sont envahis en quelques heures par le *V. septique* qui tue rapidement les animaux inoculés; voilà pourquoi nous avons insisté sur les moyens de ne pas confondre ce microbe et le *B. anthracis*. Le *V. septique* est d'ailleurs très rare dans le sang.

4° **Sérodiagnostic.** — Il n'a pas donné de résultats (voy. plus haut, p. 550).

H) SÉROTHÉRAPIE

BEHRING avait montré que le sérum des rats blancs jouit de propriétés bactéricides vis-à-vis du *B. anthracis*. Ce sérum n'est cependant ni préventif ni curateur. Il faut qu'il soit mélangé à la culture pour en atténuer les effets. Injecté séparément, il ne préserve pas (METCHNIKOFF et ROUX).

MARCOUX (1895) aurait obtenu un sérum thérapeutique en vaccinant des animaux comme il a été dit plus haut (v. p. 558). Les *moutons* reçoivent progressivement des doses énormes de cultures virulentes et à de nombreuses reprises. On saigne quinze et vingt jours après la dernière inoculation.

Ce sérum est actif à 1/2000; il préserve le *lapin*, si on l'injecte vingt-quatre heures avant la culture virulente (un centimètre cube pour un lapin de deux kilogrammes contre 1/4 de centimètre cube de culture virulente inoculée sous la peau). Il faut des doses vingt fois plus fortes de sérum si l'inoculation virulente est intraveineuse. Ce sérum ne préserve pas le cobaye.

Injecté en même temps que la culture, il préserve inconstamment le *lapin*, même à de fortes doses. Injecté après l'inoculation, il peut encore guérir le *lapin*, si l'œdème n'a pas encore apparu.

Ce sérum n'a jamais été appliqué en médecine ni en vétérinaire.

SCLAVO (1895) a préconisé un sérum anticharbonneux, qui a

été recommandé par nombre d'auteurs contre la pustule maligne de l'homme.

MENDEZ, (1900) aurait obtenu un sérum assez actif pour guérir le mouton et le bœuf à la dose de 1/2 à 1 centimètre cube, et l'aurait appliqué au traitement de l'homme et des animaux.