

dose mortelle, c'est-à-dire en injectant, dans chaque point, seulement  $1/4$  à  $1/8$  de la dose, donc, pour chacun d'eux, une dose insuffisante à elle seule, on produit un tétanos généralisé d'emblée et une mort plus rapide que si la dose est injectée massive. On peut même tuer avec une dose non mortelle, en fractionnant et disséminant celle-ci. Ce fait est curieux, rapproché de la moindre action de la dissémination par la voie sanguine (voy. p. 599). Il a été confirmé par BINOT. La *toxine pyocyanique* et le *venin de vipère* se comportent de même; l'effet est inverse avec la *toxine diphtérique*.

E. PÉRIODE D'INCUBATION. — L'injection de toxine ne produit pas immédiatement les contractures, comme l'injection de strychnine par exemple. Il y a toujours une période d'incubation entre l'injection et l'apparition de la première contracture. J. COURMONT et DOYON (1893-1898) ont établi: 1° que cette période d'incubation est *fatale*, elle ne peut être supprimée; 2° que l'augmentation des doses injectées la raccourcit jusqu'à une certaine durée, qu'on ne peut plus abréger. Une dose très faible de toxine peut donner une incubation assez longue; une dose suffisante donne l'incubation minima; à partir de celle-ci, on peut centupler la quantité, on ne raccourcira plus l'incubation. Ainsi l'incubation minima pour le *cobaye* est de douze heures avec 100, 30 000 ou 90 000 doses mortelles.

Elle n'est, en outre, pas supprimée par l'inoculation dans le sang, dans les nerfs, même dans le cerveau. Quel que soit le point de l'économie où la toxine est déposée, il n'y a *jamais de contracture immédiate*.

Voici la longueur moyenne de la période d'incubation :

Souris blanche . . . . .	8 à 12 heures
Cobaye . . . . .	13 à 18 —
Lapin . . . . .	18 à 36 —
Chien . . . . .	36 à 48 —
Homme (cas de NICOLAS) . . . . .	4 jours
Poule . . . . .	4 à 9 —
Ane . . . . .	4 —
Cheval . . . . .	5 —
Grenouille . . . . .	4 à 6 —

Pendant cette période d'incubation, la *méthode graphique* ne décèle aucun trouble de la circulation ou de la respiration, chez le *chien* (J. COURMONT et DOYON). C. BRUNNER (1898) a noté une augmentation de l'activité des échanges gazeux. D'ARSONVAL et CHARRIN ont vu de petites oscillations de la température, au calorimètre, à partir de la quatrième heure de l'incubation. C'est l'indice des actes chimiques qui occupent cette période.

F. INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE AMBIANTE. — Voy. plus haut (p. 598), les expériences de J. COURMONT et DOYON sur la *grenouille chauffée*.

G. SORT DE LA TOXINE DANS L'ORGANISME. — On s'attendrait à trouver dans le corps de l'homme ou des animaux tétaniques une quantité de toxine progressivement croissante jusqu'à la mort. Il n'en est rien. La présence du bacille était déjà éphémère dans la plaie; celle de la toxine l'est également, au moins dans l'état où nous sommes habitués à la reconnaître. Il en est de même chez les animaux injectés expérimentalement.

Pour déceler la présence de la toxine dans un liquide, dans un organe, on inocule ceux-ci à un animal très sensible, la *souris blanche*. Lorsqu'un lapin a reçu, par exemple, 2 ou 3 centimètres cubes de toxine, chaque parcelle de son corps devrait tétaniser la souris (1/1 000 000 de centimètre cube étant suffisant pour cela), si la toxine était régulièrement diffusée et n'avait pas été transformée.

PESTANA (1891) étudiant le sort de la toxine, chez le *cobaye*, pensait qu'elle était retenue par le foie. Contrairement à BRUSCHETTINI (1892), qui avait retrouvé la toxine dans les urines, KARTULIS (1893), F. BLUMENTHAL (1896), JACOB (1897), KNORR (1897) nient cette élimination. J. COURMONT et DOYON (1894) n'ont pas vu la toxine s'éliminer chez le *chien* tétanique.

A. MARIE (1897) a recherché, d'heure en heure, le sort de la toxine, chez le *lapin*, injecté avec 10 centimètres cubes de toxine dans le sang. Le sang du lapin ne tétanise plus la souris à partir de la dix-septième heure, les contractures ne devant apparaître



que vers la quarante-huitième heure. A la dix-septième heure, on saigne le lapin, on émulsionne tous ses organes ; aucune émulsion ne tétanise la souris. La toxine ne s'est pas éliminée, pourtant elle a disparu. F. BLUMENTHAL (1898) a montré que la toxine disparaît bien moins vite chez le *cobaye*. Il ne faut pas généraliser les conclusions.

RANSOM (1898) retrouve la toxine dans les organes du *pigeon*, sauf dans le système nerveux central. TAUBER (1898) ne la retrouve pas chez l'homme. METCHNIKOFF (1897) a vu que la toxine se conserve longtemps chez les animaux à sang froid et finit par s'éliminer sans faire d'antitoxine (sauf chez les caïmans dont le sérum devient antitoxique).

J. COURMONT et DOYON (1898) ont étudié la *grenouille* à ce point de vue. La toxine est plus abondante dans le sang que dans les organes ; elle disparaît plus vite chez la grenouille chauffée ; elle disparaît d'autant plus lentement de la grenouille froide que la dose injectée est plus forte ; elle existe toujours dans le sang au moment où éclatent les contractures, mais disparaît toujours avant la mort ; elle n'existe, à aucune période, dans le système nerveux, si la dose est suffisamment faible.

Chez la *poule* injectée avec une dose non efficace, la toxine se conserve longtemps (VAILLARD) ; elle disparaît sans s'éliminer (ASAKAWA). Chez le *chien* la toxine peut exister dans le sang, à la période des contractures (J. COURMONT et DOYON).

On ne peut tirer de tous ces faits que trois conclusions : 1° la toxine peut avoir disparu de l'organisme de certains animaux avant l'apparition des contractures ; 2° la toxine peut se conserver longtemps intacte chez des animaux réfractaires ou peu sensibles ; 3° lorsque la toxine disparaît, ce n'est pas par élimination, mais par transformation.

La diffusion de la toxine est très rapide ; injectée sous la queue du rat, elle produit le tétanos, même si on ampute la queue au bout de trois quarts d'heure.

Sa fixation doit aussi être très rapide. On injecte une seule dose mortelle de toxine dans le sang du lapin ; on le saigne au bout de dix heures, on retire une quantité de toxine supérieure

à la moitié de celle injectée ; on transfuse du sang neuf ; le lapin devient cependant tétanique, et meurt, n'ayant conservé qu'une dose non mortelle.

#### H. NEUTRALISATION DE LA TOXINE PAR LA SUBSTANCE NERVEUSE.

— WASSERMANN et TAKAKI (1898) ont découvert que si on mélange, *in vitro*, dix doses mortelles de toxine avec 1 centimètre cube d'une émulsion de cerveau de *cobaye* (1 cerveau dans 10 centimètres cubes d'eau salée), le mélange, inoculé, ne donne pas le tétanos. Le retentissement de cette expérience fut immense et exagéré. On crut avoir trouvé la raison d'être : 1° de la période *fatale* d'incubation, 2° de la disparition de la toxine dans l'organisme. La toxine, fixée sur les centres nerveux et retenue par les cellules nerveuses, ne pourrait plus diffuser ; ainsi s'expliquaient les inoculations négatives de substance nerveuse des tétaniques. WASSERMANN et TAKAKI crurent, à tort, avoir trouvé une méthode curative et préventive (injection de substance nerveuse). Les cerveaux d'homme, de lapin, de cheval, jouissent des mêmes propriétés.

Tout se borne à une action de contact *in vitro* ; il faut que les substances soient bien broyées et mélangées ; c'est une expérience absolument artificielle. L'inoculation de toxine et d'émulsion de cerveau, en deux points différents du corps, est toujours suivie de tétanos.

METCHNIKOFF (1898) a montré qu'il n'y a aucun rapport entre la sensibilité d'un animal au tétanos et l'aptitude de son cerveau à fixer la toxine ; bien plus, le cerveau du *cobaye* tétanique peut encore neutraliser la toxine. J. COURMONT et DOYON (1898) ont ruiné complètement la portée de l'expérience de WASSERMANN et TAKAKI, en montrant que les centres nerveux de la *grenouille* chauffée (sensible) ou non (réfractaire) étaient, dans les deux cas, incapables de neutraliser la toxine *in vitro*. L'expérience qui réussit avec le *cobaye*, ne réussit pas avec la *grenouille* chauffée. Elle n'a donc aucun rapport avec la pathogénie du tétanos. D'ailleurs, la névrine, le chlorhydrate de bêtaïne neutralisent la toxine (ROGER et JOSUÉ).

I. LÉSIONS NERVEUSES CHEZ LES TÉTANQUES. — On ne trouve



aucune lésion notable chez l'homme et les animaux ayant succombé au tétanos. Cependant, on a cru, il y a quelques années, avoir découvert une lésion spécifique des centres nerveux, qui aurait expliqué la période d'incubation, par le temps nécessaire à sa production. MARINESCO (1896) a prétendu que la méthode de Nissl décelait des lésions caractéristiques du tétanos : hémorragies diffuses, chromatolyse des cellules nerveuses. J. COURMONT, DOYON et PAVIOT (1897; 1898) ont fait justice de ces soi-disant lésions spécifiques. Il n'existe pas de lésions pouvant être considérées comme l'origine des contractures; *la contracture n'est pas fonction d'une lésion des cellules nerveuses médullaires appréciable par les méthodes actuelles*. Ces lésions existent chez le *cobaye*, mais n'ont pas la même topographie que les contractures; elles n'existent pas chez le *chien* tétanique. En somme, ces lésions sont *banales*, elles se rencontrent dans une foule d'intoxications; *elles peuvent exister sans tétanos, et le tétanos sans elles*. Nos conclusions ont été confirmées par tous : GOLDSCHREIDER et FLATAU (1898), F. BLUMENTHAL (1898), NAGEOTTE et ETLINGER (1898), DONETTI (1898), PECHOUTRE (1898), DE BUCK et DE MOOR (1899), JOUKOWSKI (1900), etc.

Une autre lésion, également *non spécifique*, est la phagocytose des cellules nerveuses par des cellules migratrices, dans les cas subaigus de l'homme, du *cobaye* (JOUKOWSKI), aigus du *cheval* (J. COURMONT, DOYON et PAVIOT).

J. SUBSTANCES IMMÉDIATEMENT STRYCHNISANTES DANS L'ORGANISME DES TÉTANIQUES. — L'extrait aqueux des muscles tétaniques injecté à la *grenouille* est parfois immédiatement strychnisant (J. COURMONT et DOYON). Ce fait a été confirmé par BUSCHKE et OERGEL (1893), par F. BLUMENTHAL (1897), par TAUBER (1898); par contre, C. BRUNNER, OUCHINSKY, A. MARIE, G. BRUNNER ont échoué. En réalité, l'existence d'une substance immédiatement strychnisante dans le sang et les muscles tétaniques est *inconstante*, et nous ne connaissons pas le déterminisme de son apparition. Les urines du *chien* tétanique sont hypertoxiques et convulsivantes avant l'apparition des contractures (J. COURMONT et DOYON).

K. LOCALISATION DES EFFETS DU POISON TÉTANIQUE SUR L'APPAREIL NEURO-MUSCULAIRE. — Sur quel point de l'arc sensitivo-moteur agit le poison tétanique? J. COURMONT et DOYON (1892) ont conclu, de nombreuses expériences physiologiques, que « le poison tétanique ne modifie pas l'excitabilité des nerfs moteurs. Il agit comme s'il s'adressait au système sensitif. » Ce serait un *poison sensitif*.

Telles sont les propriétés qui font du poison tétanique une toxine si particulière et si curieuse à étudier.

### E) TOXINES

NICOLAÏER avait déjà supposé que le bacille qu'il venait de découvrir agissait par ses toxines. C'est KNUD FABER qui isola la toxine tétanique, en 1890. Son expérience est classique : on filtre une culture de *B. tétanique* et le produit de filtration, injecté, à doses infinitésimales, à l'animal, reproduit tous les symptômes du tétanos mortel, sans l'aide d'aucun élément figuré. KNUD FABER crut qu'un chauffage de cinq minutes à +65° détruisait la toxine et admit sa nature albuminoïde. TIZZONI et CATTANI (1890), VAILLARD et VINCENT (1891) etc., confirment cette découverte.

La préparation de la toxine est simple. Onensemence un grand flacon (fig. 300) de bouillon de bœuf additionné de 1 p. 100 de gélatine avec une culture pure de *B. de Nicolaïer*. On fait le vide (voy. *Première partie, chap. VI*), on met à l'étuve. Au bout de vingt jours, on retire de l'étuve, on laisse à la température du laboratoire en agitant chaque jour. On filtre sur bougie Chamberland F, et on recueille dans un flacon, stérilisé avec une couche de 1 centimètre cube d'huile de vaseline, qui surnagera sur le liquide et le préservera de l'air (fig. 301). Cette conserve est mise à l'abri de la chaleur et de la lumière.

On peut aussi utiliser les récipients que j'ai décrits (p. 201, fig. 133 et 134), mais ils sont très fragiles.

On augmente beaucoup la toxicité des cultures en bouillon



en cultivant le bacille deux ou trois fois de suite dans de la culture filtrée. On filtre et on réensemence ; le bacille pousse bien.

DEBRAND (1902) a utilisé, pour la préparation de la toxine tétanique, la propriété, découverte



Fig. 300.

*B. tétanique*. Culture dans le vide pour préparation de la toxine.

*a*, tampon d'ouate. — *b*, bouchon de caoutchouc. — *c*, tampon d'ouate, dans le tube d'aspiration (peut être supprimé).

par J. COURMONT et NICOLAS, en 1894 (voy. p. 190) de faire végéter un anaérobie mélangé à un aérobie, sans être obligé de faire le vide. Il cultive le *B. de Nicolaïer* à l'air, en présence du *B. subtilis*. La toxine obtenue est immunisante et peut être employée pour la préparation du sérum. On conserve cette semence mixte en mettant en tubes scellés une culture de 6 jours chauffée deux minutes à + 100°.

La toxine est parfois conservée à l'état sec ; elle est alors comptée par milligrammes ou fractions de milligramme. On la dessèche dans le vide, dans de larges vases, à +30°. Aussitôt l'évaporation terminée, le résidu est pulvérisé et conservé dans

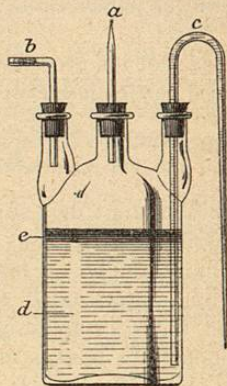


Fig. 301.

*Toxine tétanique*. Conserve.

*a*, tube d'arrivée (scellé). — *b*, tube pour souffler. — *c*, tube de sortie de la toxine. — *d*, toxine. — *e*, couche d'huile de vaseline.

un récipient où le vide est maintenu et placé à l'abri de la chaleur et de la lumière. On refait le vide après chaque prise.

Je préfère conserver la toxine à l'état liquide. Elle s'atténue très lentement, sous l'huile. Au bout d'un an, elle a perdu, au plus, un quart de sa puissance. Je ne comprends pas les auteurs qui déclarent ne pouvoir conserver une toxine liquide active.

L'action pathogène de cette toxine (contractures après incubation) a été étudiée (p. 596). En général, la toxine tétanique liquide tue le cobaye à 1/500 de centimètre cube ; certaines cultures filtrées (préparées cependant de façon en apparence identique) sont bien plus actives et tuent le cobaye à 1/10 000 centimètre cube.

La toxicité de la culture du *B. de Nicolaïer* est un des exemples les plus saisissants de la puissance des produits solubles microbiens. Il y a bien peu de substance réellement active dans 1 centimètre cube de culture filtrée ; ce centimètre cube peut cependant tétaniser 1 000 000 de souris ou 10 000 cobayes.

La substance active, tétanisante des cultures filtrées du *B. de Nicolaïer* est une *toxalbumine* qu'il faut rapprocher de la toxine diphtérique, des venins, etc. (voy. p. 341). Elle est atténuée par la chaleur, l'oxygène.

Il faut un chauffage de 80° pendant 30 minutes pour la rendre inoffensive. Sèche (précipitée par le sulfate d'ammoniaque) elle supporte (comme les diastases, HUFNER, SALKOWSKI) des températures bien supérieures. 135° pendant 20 minutes ne l'altèrent pas ; il faut 154° pendant 15 minutes pour l'atténuer légèrement et 159° pour l'atténuer sérieusement, sans toutefois la détruire. Elle est donc, à l'état sec, plus résistante que les spores qui sont tuées en 20 minutes à + 155° (MORAX et A. MARIE; 1902).

Elle est précipitable par l'alcool (10 à 15 volumes maintenus vingt-quatre heures en contact), ne dialyse pas, adhère à certains précipités (phosphate de chaux ou d'alumine). Elle liquéfie la gélatine. Tous ces caractères sont ceux des toxines albuminoïdes, voisines des diastases.

Certains auteurs (OUCHINSKY, voy. p. 343) ont affirmé avoir produit la toxine tétanique en cultivant le bacille dans un milieu non albumineux. FERMI et PERNOSI (1894) le nient avec raison.



Nous signalons pour mémoire les premières recherches de BRIEGER (1886) qui avait cru, à tort, isoler des alcaloïdes strychnisants des produits tétaniques (*tétanine*, *tétanotoxine*, *spasmotoxine*).

La toxine tétanique jouit de propriétés chimiotaxiques négatives énergiques.

### F) IMMUNISATION

La culture filtrée, dont nous venons d'étudier les propriétés toxiques, est également immunisante.

KNUD FABER avait échoué. BEHRING et KITASATO (1890) ont vacciné des lapins, en leur inoculant des cultures complètes avec du trichlorure d'iode. Cette méthode, peu pratique (60 p. 100 des lapins succombaient), a cependant suffi à la découverte des sérums antitoxiques. VAILLARD (1891) montre qu'il vaut mieux utiliser la culture filtrée, en injectant d'abord des doses massives de toxine chauffée à + 60°, + 55°, + 50°, puis des doses progressives de toxine active. ROUX, VAILLARD (1892) remplacent le chauffage par l'addition d'iode. De l'eau iodée à 1/500, mélangée à son volume de toxine, neutralise celle-ci pour le cobaye. BRIEGER, KITASATO et WASSERMANN (1892) vaccinent avec des cultures complètes mélangées à de l'extrait de thymus. VAILLARD a pu immuniser le lapin en lui inoculant à plusieurs reprises des spores privées de toxine et additionnées d'acide lactique (le sérum du lapin ne devient pas antitoxique).

On peut immuniser tous les animaux. On opère surtout sur le *cheval* pour la production du sérum antitétanique (voy. p. 848). On choisit un cheval assez jeune, sain (on le *malleine*, voy. p. 541), de caractère facile. On fait les injections sous la peau du flanc ou de l'encolure, avec toute l'asepsie désirable. On commence par des doses faibles (1/10, 1/6 de centimètre cube) de toxine, mélangées avec quelques gouttes de solution iodée. On prend, matin et soir, la température de l'animal. Les premières injections produisent une légère réaction locale et fébrile. On recommence au bout de cinq ou six jours, en augmentant légèrement la dose de toxine et en diminuant celle

de solution iodée. Au bout de trois ou quatre injections, on supprime définitivement l'iode. On augmente, chaque fois (être très prudent), la dose de toxine. Il ne doit se produire aucune contracture. On arrive ainsi à pouvoir injecter au cheval, en une seule séance, 250 centimètres cubes, et plus, de toxine sans aucune réaction. Il faut parfois douze ou quinze mois pour arriver à ce résultat; cela dépend des chevaux. L'immunisation est acquise, mais il faut la continuer encore pour avoir le maximum du *pouvoir antitoxique du sérum* (voy. p. 841). L'immunisation ne doit jamais être cessée, sous peine de voir l'état vaccinal disparaître assez rapidement. On continuera donc d'injecter le cheval, au moins tous les mois, avec 250 à 400 centimètres cubes de toxine.

### G) DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

Le diagnostic bactériologique du tétanos est, en général, inutile, le diagnostic clinique étant facile. Le premier est d'ailleurs souvent presque impossible. La culture, l'inoculation du pus de la plaie peuvent très bien ne plus contenir de bacilles, au moment de l'apparition des contractures (voy. p. 594). On inoculera le pus ou les produits suspects sous la peau de la *souris* ou du *cobaye*. On fera des préparations directes avec le pus, et on les colorera par le Gram, pour chercher les formes en épingle.

Le *Séro-diagnostic* est impossible (voy. *Agglutination*, p. 593).

### H) SÉROTHÉRAPIE

Il n'existe pas de traitement efficace du tétanos confirmé. Le traitement de BACCELLI (injections sous-cutanées d'a. phénique) a échoué contre le tétanos expérimental entre les mains de J. COURMONT et DOYON, JOSIAS, GUILLERMIN.

Le seul traitement est le traitement *préventif* par les injections de *sérum antitétanique*.

En 1890, BEHRING et KITASATO avaient annoncé que le sérum des animaux immunisés était *préventif et curateur*, c'est-à-dire



qu'il prévenait le tétanos, injecté avant la toxine, et qu'il guérissait les souris déjà en proie aux contractures. TIZZONI et CATTANI (1891), VAILLARD confirmèrent la propriété antitoxique, préventive du sérum, mais ne peuvent guérir le tétanos confirmé. VAILLARD (1892) montre que le sérum est *antitoxique* mais *non bactéricide*; le *B. végète* et sécrète sa toxine dans le sérum des animaux réfractaires. ROUX et VAILLARD (1893) reprennent la question. Ils voient que le sérum est plus actif mélangé *in vitro* qu'injecté préventivement; 15 000 doses mortelles de toxine mélangées *in vitro* à un volume égal de sérum sont neutralisées, tandis que la même quantité de sérum, injectée préventivement, ne préservait pas le cobaye contre 15 000 doses de toxine. L'immunisation est acquise immédiatement, mais ne dure que quelques jours. Le sérum *esi préventif et n'est pas curateur*; injecté avant la toxine ou dans les premières heures suivantes il préserve; injecté à la fin de la période d'incubation ou après les premières contractures, il est sans action. Ces conclusions sont classiques.

Le sérum antitétanique a servi à toutes les expériences sur les antitoxines, la mesure de l'activité des sérums, etc., que nous ne pouvons relater ici (voy. p. 819).

Voyez page 849, son mode d'emploi.

## CHAPITRE IX

### LE BACILLE DIPHTÉRIQUE

#### LES ANGINES A FAUSSES MEMBRANES LE BACILLE PSEUDO-DIPHTÉRIQUE

Le *B. diphtérique* a été vu par KLEBS (1883), et cultivé par LÖFFLER (1884) (*B. de Löffler*). Mais, l'incertitude sur son rôle spécifique dans la diphtérie a régné jusqu'aux travaux de ROUX et YERSIN (1888).

C'est un des microbes pathogènes les plus intéressants à bien connaître, tant en raison de l'importance de la diphtérie qu'en raison des nombreuses publications concernant la toxine diphtérique et le sérum anti-diphtérique.

#### A) ISOLEMENT, CULTURES

**1° Isolement.** — On cultive le produit suspect sur sérum gélatiné (voy. plus loin p. 634) et on ensemence rapidement (16<sup>e</sup> à 20<sup>e</sup> heure) les premières colonies, avant l'envahissement du tube par les impuretés. On recommence deux et trois fois s'il le faut.

**2° Caractères généraux des cultures.** — Surtoùt aérobique; se développe plus rapidement en présence d'un courant d'air: donne cependant des cultures (grêles et éphémères) à l'abri de l'air. Végète de + 20° à + 42° T. optima = 35° à 37°. Il faut réensemencer fréquemment (tous les huit jours) les cultures liquides pour les conserver avec une virulence *fixe*, bien que leur vitalité et un certain degré de virulence se conservent plusieurs mois.