

hépatite nodulaire décrite par J. COURMONT, DOYON et PAVIOT (1895) et par J. TEISSIER et GUINARD, qui représente le foie infectieux des auteurs. Cette rapide altération du foie explique l'ictère si fréquent.

MOLLARD et REGAUD (1897) ont étudié les lésions aiguës et chroniques du myocarde, chez le chien, le lapin, le cobaye, injectés avec la toxine diphtérique. Ils ont également reproduit de l'athérome de l'aorte.

D. RUMINANTS. — Les chèvres, les vaches sont très sensibles ; le mouton est plus résistant.

E. SOLIPÈDES. — Voy. *Immunsation*, p. 625.

F. OISEAUX. — Très sensibles.

G. GRENOUILLE. — La grenouille, chauffée à + 38° (voy. p. 304). est sensible à la toxine diphtérique (J. COURMONT et DOYON). Vers le quarantième jour apparaissent des *paralysies généralisées* ; la mort survient en deux mois, avec névrites parenchymateuses périphériques.

H. RATS, SOURIS. — Presque insensibles. La souris résiste à 400 doses mortelles pour le cobaye, inoculées sous la peau. L'inoculation intra-cérébrale (ROUX et BORREL) tue le rat, à faible dose, avec des symptômes paralytiques.

En somme : poison vaso-dilatateur (ROUX et YERSIN), hypothermisant, s'éliminant en grande partie par l'intestin grêle (J. COURMONT et DOYON), produisant à la longue des paralysies (ROUX et YERSIN).

L'injection intraveineuse produit des effets immédiats, appréciables à la méthode graphique, puis une accalmie, et enfin, au bout de plusieurs heures (incubation) les effets définitifs (ENRIQUEZ et HALLION, J. COURMONT et DOYON, GUINARD et ARTAUD).

4° **Nature.** — La nature de la toxine diphtérique a donné lieu à de nombreuses recherches (ROUX et YERSIN (1888), BRIEGER et FRÄNKEL (1890), WASSERMANN et PROSKAUER (1891), etc.). Nous ne pouvons que répéter ce que nous avons dit pour la toxine

tétanique ; la substance active est une toxalbumine, voisine des diastases (sensibilité au chauffage à + 58° qui atténue considérablement, et à + 100° qui détruit, solubilité dans l'eau, précipitation par l'acool, adhérence aux précipités, dialyse difficile, etc.). Les ferments pepsiques détruisent la toxine, la précipitation par l'alcool l'atténue. Les oxydants (eau oxygénée, iode, etc.), l'affaiblissent considérablement.

Les principes toxiques sont multiples dans la toxine diphtérique. Sa composition a été très étudiée par EHRLICH (1898), au point de vue de ses effets biologiques, toute question de composition chimique mise à part. EHRLICH distingue : 1° la *toxine*, telle que nous sommes habitués à la considérer, neutralisée par une certaine quantité de sérum, immunisante, etc. ; 2° les *toxoides*, qui existent dans la culture filtrée alors que toute la toxine a disparu par vieillissement ou neutralisation par le sérum ; ce seraient des produits de transformation de la toxine véritable ; ils occasionneraient des symptômes spéciaux habituellement masqués (les animaux inoculés avec des cultures filtrées devenues inactives ou neutralisées par du sérum finissent par succomber) et pourraient immuniser ; 3° les *toxones*, qui ne seraient pas des produits de transformation des toxines mais bien fabriquées directement par le bacille, concurremment aux toxines et produiraient, par exemple, des paralysies post-diphtériques ; ces toxones sont rendues apparentes par la neutralisation de la toxine ; ils peuvent immuniser (voy. p. 338).

GUINCHET (1892) aurait obtenu une toxine diphtérique active en cultivant le *B. de Löffler* dans l'urine, *exempte de matières albuminoïdes*. D'autres tentatives, dans le même sens ont échoué.

F) IMMUNISATION

On a immunisé des animaux par différents procédés. L'immunisation des petits animaux de laboratoire est très difficile ; ils finissent par se cachectiser et mourir.

1° **Inoculation de cultures vivantes.** — HOFFMANN est le premier qui ait vacciné des *cobayes*. Il leur inoculait des cul-

tures atténuées par le vieillissement, puis des cultures virulentes. BEHRING a vacciné des *cobayes* et des *moutons* en leur inoculant des cultures âgées de trois semaines, atténuées par l'addition de 1/500 de trichlorure d'iode, puis, successivement, des mélanges de moins en moins riches en iode. Ce procédé échoue sur le lapin.

2° Inoculation de cultures tuées. — FRENKEL inoculait à des *cobayes* des cultures chauffées à + 65°-70° pendant une heure (10 à 20 centimètres cubes en plusieurs fois). Ils étaient vaccinés au bout d'une quinzaine de jours. BRIEGER, WASSERMANN et KITASATO ont immunisé le *cobaye* par des inoculations successives de quelques centimètres cubes de cultures en bouillon de thymus, chauffées quinze minutes à + 70°.

3° Injection de toxine. — Les méthodes précédentes sont délicates et inconstantes dans leur résultat. Le véritable procédé consiste à injecter des doses progressives de toxine, en atténuant les premières doses par quelques gouttes de solution iodée. BEHRING avait vacciné des *lapins* et des *cobayes* en leur injectant de la sérosité pleurale de cobayes morts d'intoxication diphtérique; c'était déjà l'emploi de la toxine. ROUX, NOCARD et MARTIN ont immunisé, avec la toxine, des *chevaux*, des *lapins*, des *moutons*, des *chèvres*, des *vaches*. C'est leur procédé qui est resté classique.

Voyez à la *Sérothérapie*, p. 825, l'immunisation type du cheval.

G) BACILLE PSEUDO-DIPHTÉRIQUE

Avant d'aborder le diagnostic bactériologique de la diphtérie, il faut vider la question du *B. pseudo-diphtérique*.

HOFFMANN (1888) a ainsi dénommé un bacille qui se rencontrerait assez fréquemment dans la gorge d'individus sains ou malades (angines rubéoliques, scarlatineuses, etc.), et qui aurait tous les caractères du *B. de Löffler*, sauf son pouvoir pathogène; il serait inoffensif. Il n'y aurait pas d'autre moyen de le distinguer que de tenter des inoculations, qui dans son cas, res-

seraient négatives. LÖFFLER avait déjà signalé ces bacilles non virulents, en 1887. On voit le parti tiré de cette découverte pour les adversaires du diagnostic bactériologique de la diphtérie.

ROUX et YERSIN (1890) étudient avec détails ce *B. pseudo-diphtérique*.

D'une façon générale, les Allemands considèrent le *B. d'Hoffmann* comme une espèce différente du *B. de Löffler*, les Français admettent que c'est un *B. diphtérique* atténué. La question se complique encore des *B. diphtériques courts* (p. 614) qui sont souvent peu ou pas virulents et que certains rapprochent des *B. d'Hoffmann*.

On a alors cherché des méthodes de différenciation rapide des vrais et des pseudo-bacilles.

NEISSER (1897) a pensé distinguer le vrai *B. de Löffler* du *pseudo-B.* par sa réaction (voy. p. 613). Le *B. Löffler* aurait ses pôles bleus (fig. 306), le *B. d'Hoffmann* se colorerait en brun uniforme (fig. 305). ESCHERICH (1890) a proposé de cultiver en milieux lactosés et tournesolés (p. 88); le *B. de Löffler* rougirait rapidement le bouillon (acides) tandis que le *B. d'Hoffmann* le laisserait bleu (pas d'acides). SPRONCK (1896) a cherché à utiliser les propriétés préventives du sérum antidiphtérique. On injecte 1 centimètre cube de sérum sous la peau d'un cobaye de 350 grammes, six heures avant l'inoculation de la culture virulente; le *B. de Löffler* ne produirait pas d'œdème, le *B. d'Hoffmann*, sans tuer le cobaye, ferait de l'œdème local. FROENKEL (1896) a voulu utiliser l'agglutination, etc.

Tous ces procédés ont eu leurs partisans et leurs détracteurs. CH. LESIEUR a repris la question, dans mon Laboratoire¹, avec 70 échantillons de *B. diphtériques* ou *pseudo-diphtériques*: 40 virulents pour le cobaye, 30 non virulents (ces derniers provenant pour la plupart de nez ou de gorges saines ou d'angines guéries). Tous ces bacilles ont été cultivés et inoculés; leurs toxines ont été étudiées; ils ont été soumis à l'épreuve de

¹ CH. LESIEUR, *Les bacilles dits « pseudo-diphtériques »*. Thèse de Lyon, 1901-1902, Baillière, Paris.

SPRONCK, de NEISSER, à l'agglutination; des tentatives d'exaltation de leur virulence, de vaccination avec eux contre le *B. de Löffler* ont été faites, etc. Voici les résultats obtenus par LESIEUR :

1° La *morphologie* n'a pas de rapports constants avec la viru-

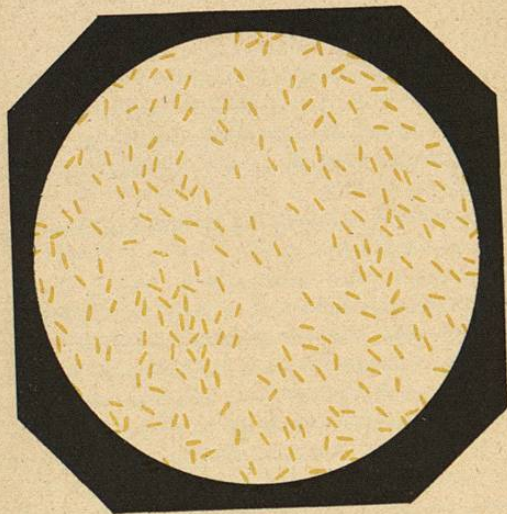


Fig. 305.

B. pseudo-diphthérique.
Réaction de Neisser négative (LESIEUR).

lence. Sur les 40 bacilles virulents, 22 seulement étaient longs; sur les 30 non virulents, 4 étaient longs; donc, les bacilles courts ou moyens sont souvent virulents, les longs ne le sont pas toujours.

2° La *réaction de Neisser* n'est pas spécifique. Sur les 40 bacilles virulents, 32 seulement prenaient le Neisser (80 p. 100); sur les 30 non virulents, 8 prenaient le Neisser (20 p. 100). La réaction de Neisser constitue donc cependant une présomption de virulence.

3° L'*acidification des bouillons lactosés (épreuve d'Escherich)*

est inconstante chez les virulents et peut se montrer chez les non virulents.

4° L'*épreuve de Spronck* ne donne des résultats positifs que dans 35 p. 100 de *B. de Löffler*, et ne donne des résultats négatifs



Fig. 306.

B. diphthérique.
Réaction de Neisser positive (LESIEUR).

que dans 40 p. 100 des *B. d'Hoffmann*: elle ne peut non plus servir à la diagnose.

5° La *virulence* du *B. de Löffler* n'est pas forcément en rapport avec la gravité de la diphthérie d'où il provient.

6° Les *B. d'Hoffmann* se rencontrent plus fréquemment dans le nez que dans la gorge, chez les diphthériques; c'est probablement l'effet du pouvoir bactéricide du mucus nasal.

7° Sur 120 gorges examinées, 21 contenaient du *B. d'Hoffmann* (il est vrai dans un milieu contaminé).

8° L'*agglutination* n'est pas un procédé de diagnose; 26 échan-

tillons sur 70 étaient agglutinables : 47 sur 40 virulents ; 9 sur 30 non virulents.

9° Certains *B.* non virulents (43 sur 30) ont fabriqué une *toxine active*, neutralisable par le sérum anti-diphthérique.

10° Certains *B.* non virulents font à la longue des *paralysies* sur le cobaye ;

11° On peut rendre à certains *B.* non virulents leur pouvoir pathogène par *cultures en sac de collodion*, dans le péritoine du lapin.

12° On peut arriver au même résultat par des *réensemencements fréquents en bouillon*.

13° On peut encore arriver au même résultat par l'*association avec le Staphylocoque pyogène*.

14° Les tentatives de vaccination de cobayes avec des *B.* non virulents contre le *B. de Löffler* ont échoué.

De tous ces faits, LESIEUR conclut au démembrement du groupe des *B. d'Hoffmann*. La plus grande partie, presque tous, ne sont que des *B. de Löffler* atténués ; sur 30 bacilles qu'on aurait classés : *B. d'Hoffmann*, en raison de leur manque de virulence, 18, soit 60 p. 100, ont pu être reconnus comme certainement diphthériques ; 6, soit 20 p. 100, l'étaient à peu près sûrement ; 6, soit 40 p. 100 seulement, étaient certainement des *B.* sans parenté avec le *B. de Löffler*. En somme 80 p. 100 des *B.* ayant tous les caractères du *B. de Löffler* mais non virulents, dits « pseudo-diphthériques » sont des *B.* diphthériques vrais. Les vrais « *B. pseudo-diphthériques* » sont donc très rares ; ils ont, en plus, souvent, des caractères de culture (bien que prenant le Gram) qui suffirait à les éliminer de suite.

En pratique, LESIEUR arrive à formuler ce principe : étant donnés : 1° la rareté des vrais *B. pseudo-diphthériques* ; 2° la possibilité pour des *B.* peu ou pas virulents de causer de véritables diphthéries ; 3° le défaut de concordance entre les formes longues ou courtes et la virulence : *il faut considérer comme diphthériques tous les bacilles végétant en quinze à vingt heures, à + 37°, sur sérum solidifié et prenant le Gram*. Les erreurs seront ainsi réduites au minimum.

Cette conclusion est capitale. Les *B.* soi-disant « pseudo-

diphthériques » ne seront plus un obstacle au diagnostic bactériologique de la diphthérie.

H) DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE DES ANGINES A FAUSSES MEMBRANES

Les méthodes cliniques sont impuissantes à faire le diagnostic certain de la diphthérie. Il existe des angines et des laryngites à fausses membranes qui simulent la diphthérie au point de ne pouvoir en être distinguées, et qui n'ont aucun rapport avec cette affection. Par contre, certaines diphthéries bénignes, mais pouvant devenir subitement graves, et capables en tout cas d'être l'origine d'une épidémie meurtrière, n'ont pas les allures classiques de la diphthérie ; il peut même exister des angines diphthériques sans fausses membranes. Enfin, la clinique est totalement incapable de nous donner le moindre renseignement sur l'époque à laquelle le *B. de Löffler* disparaît de la gorge des diphthériques, c'est-à-dire sur l'époque à laquelle un diphthérique n'est plus contagieux et ne doit plus être isolé. TEZENAS DU MONTCEL (1894) a attiré l'attention sur le coryza qui persiste souvent (11 cas sur 60) après la guérison de la diphthérie et contient du *B. de Löffler* virulent pendant deux mois et plus. La clinique ne peut indiquer le moment de cette disparition.

Le diagnostic de la diphthérie ne peut donc se faire que bactériologiquement, par la constatation du B. de Löffler. Cette constatation est relativement facile ; elle est à la portée de tous.

Le *B. de Löffler* se trouve dans les fausses membranes, dans une couche sous-jacente à la surface libre. On le verrait très bien dans des coupes de fausses membranes durcies. Lorsqu'il n'y a pas ou qu'il n'y a plus, de fausses membranes, dans l'écoulement nasal par exemple, il existe en abondance dans le mucus, à la surface des muqueuses. Pour prélever la fausse membrane ou le mucus, on procède, comme il a été dit (p. 327), avec un écouvillon ou une spatule de platine. Les fausses membranes sont séchées sur du papier buvard pour être débarrassées du mucus. Si on reçoit des fausses membranes desséchées, on les fait ramollir dans un peu d'eau pure et on opère comme ci-

dessus. Ces préliminaires terminés, on doit faire deux sortes d'épreuves.

1° Examen microscopique direct. — On frotte la fausse membrane ou l'aiguille de platine chargée d'enduit sur une ou plusieurs lamelles. On fixe en passant sur la flamme. On met sur la lame une goutte de bleu ainsi composé (Roux)

Solution aq. à 1 p. 100 de violet dahlia 1
 Solution aq. à 1 p. 100 de vert de méthyle 3
 Eau jusqu'au bleu clair.

et on applique dessus la lamelle préparée. On examine directement, avec un objectif à immersion homogène et l'éclairage Abbe. Le *bleu de Roux* se conserve limpide pendant longtemps, et ne forme pas de précipité. Les *B. de Löffler* se colorent, par ce procédé, plus vite et d'une façon plus intense que les autres.

A l'examen, on voit, le plus souvent mélangés à une grande quantité de microbes, d'autres fois presque à l'état de pureté, les *B. diphtériques* bien colorés et se présentant sous les différentes formes (longues, courtes, moyennes), décrites plus haut (p. 614). Les bacilles longs sont souvent recourbés, renflés aux deux extrémités en forme de double massue; ils sont groupés en amas de trois ou quatre éléments serrés parallèlement les uns contre les autres.

On fera ensuite une autre préparation par la méthode de Gram-Nicolle (p. 270); le *B. de Löffler* prenant bien le Gram, seront éliminés tous les bacilles qui se décolorent (fig. 307).

L'examen direct est très rapide, il ne demande que quelques minutes. On peut trouver des cas où le *B. de Löffler* existe presque à l'état de pureté et en grande abondance; d'autres fois on ne trouvera que quelques petits amas encore caractéristiques. Mais, il peut arriver qu'on observe seulement quelques bacilles isolés, ou qu'on n'en rencontre pas, même avec des fausses membranes diphtériques, puisqu'ils ne sont pas régulièrement disséminés dans toute la fausse membrane. On pourra donc *affirmer la diphtérie par l'examen direct*, on ne *devra jamais la nier* lors-

qu'on ne trouvera pas de bacilles. Il faudra alors passer à la seconde méthode, la plus sûre.

Voyez plus loin (*Pronostic*, p. 636) l'avantage de l'examen direct pour reconnaître les associations microbiennes.

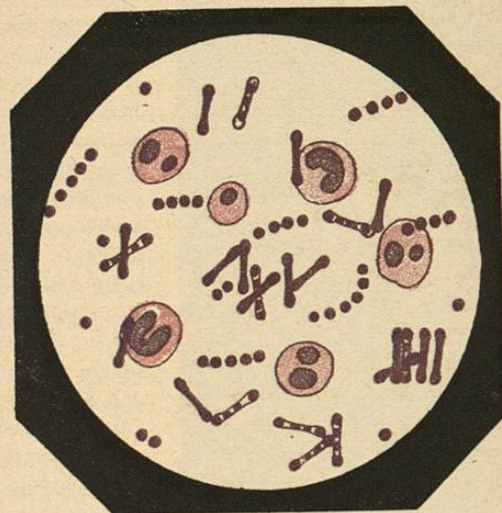


Fig. 307.

Frottis de fausse membrane diphtérique. Gram et éosine.

Bacilles diphtériques longs et streptocoques.

(Demi-schématique; Gr = 1400 D.)

2° Culture. — Nous avons vu que le *B. de Löffler* donne, sur sérum coagulé, des colonies très apparentes en moins de vingt-quatre heures, alors que l'immense majorité des microbes de la bouche ont à peine commencé à végéter. On opérera donc de la façon suivante. On gratte légèrement avec la spatule de platine la surface de la fausse membrane essuyée; on en fait de même sur la muqueuse malade. Avec cette spatule, et *sans la recharger*, on trace trois ou quatre stries longitudinales par tube successivement sur trois tubes de sérum coagulé, et on met

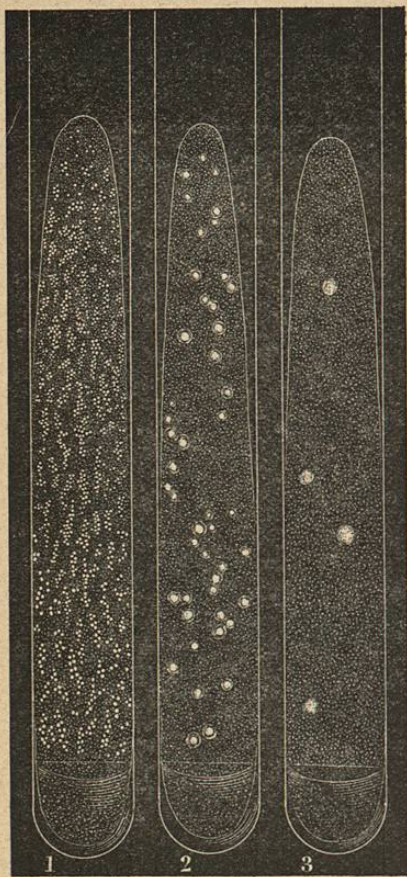


Fig. 308.

B. diphthérique.

Isolement sur 3 tubes de sérum solidifié ensemencés successivement (1, 2, 3) avec la même spatule (Schémas imités de THOINOT et MASSELIN).

ceux-ci à l'étuve à $+ 35^{\circ}$. On les examine au bout de seize heures, vingt-quatre heures au plus. S'il n'y a aucune colonie apparente, la diphtérie doit être éliminée. Dans les cas positifs on observe le long des stries un grand nombre des colonies que nous avons décrites plus haut. Elles sont petites sur les premiers tubes semés, parce qu'elles sont très nombreuses (fig. 308, 1, 2); elles s'étalent et grossissent sur les tubes ensemencés les derniers, surtout après quarante-huit heures (fig. 308, 3). On ne doit pas se contenter de constater ces colonies; il existe quelques microbes (un coccus spécialement), qui peuvent, vers la vingtième heure en imposer pour le *B. de Löffler*. Une préparation microscopique faite, comme il a été dit plus haut (p. 632), lèvera

tous les doutes. On retrouvera avec leurs mêmes caractères et leur même disposition un amas de colonies à longs bacilles granuleux et enchevêtrés (fig. 303) ou des colonies à courts bacilles homogènes (fig. 304), tous deux gardant le Gram, et presque toujours le Neisser (fig. 306). Les membranes desséchées peuvent aussi donner des cultures, car les bacilles secs résistent très longtemps aux causes de destruction.

Ce procédé de diagnostic, dû à LÖFFLER, préconisé par ROUX et YERSIN, est d'une certitude absolue.

Nous avons vu plus haut (p. 630) que l'existence du *B. pseudo-diphthérique* ne devait pas entraver le diagnostic bactériologique. Donc, en pratique : *Bacilles poussant en vingt heures sur sérum et prenant le Gram = Diphtérie*; les erreurs (les quelques rares cas à pseudo-diphthériques) seront très rares et offriront moins d'inconvénients que l'incertitude résultant des expériences compliquées destinées à s'assurer qu'on est bien en présence du véritable *B. de Löffler*.

Je rappelle encore que les *B. courts* sont de vrais *B. diphtériques* (voy. *Pronostic*, p. 636).

Les fausses membranes non diphtériques, celles qui ne contiennent pas de bacilles de Löffler, sont dues à différents microbes : Streptocoque pyogène, Staphylocoque pyogène, Pneumocoque, Cocci divers, B. de Friedländer, B. de Vincent, etc. (voy. ces Microbes). Sauf pour les streptocoques et les B. de Vincent, l'examen direct ne donnera pas beaucoup de renseignements. La culture fera le diagnostic. Il faudra surveiller les tubes de sérum et examiner les colonies à mesure qu'elles apparaissent. Les colonies de Streptocoque sont maigres, ponctiformes, ne ressemblent pas à celles du B. de Löffler. Une seule colonie d'un microbe ne suffit pas à faire considérer celui-ci comme l'auteur de la fausse membrane; il faut une prédominance marquée d'une espèce microbienne sur les autres. Si on attend trop longtemps pour examiner les colonies, la conclusion n'a aucune valeur, certaines espèces envahissant le tube au détriment des autres. On cultivera isolément chaque colonie pour mieux définir l'espèce. On se servira des caractères

que nous indiquons ailleurs pour chacun de ces microbes.

Toute fausse membrane diphtérique contient, à côté du *Bacille de Löffler*, une foule de microbes, hôtes habituels de la bouche; mais il est des cas où une de ces espèces est tellement abondante qu'elle paraît bien avoir joué un rôle dans la maladie; on dit alors qu'il y a *association microbienne*, que la fausse membrane est *mixte*. Souvent l'association se décèle dès l'examen microscopique direct, par exemple dans le cas d'association du *Bacille de Löffler* avec le *Streptocoque*; en général c'est l'examen des tubes de sérum, pendant la seconde journée qui suit l'ensemencement, qui imposera le diagnostic.

F) PRONOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

Le pronostic d'une angine à fausse membrane est fait par le diagnostic; les fausses membranes non diphtériques étant presque toujours bénignes.

Le pronostic de diphtérie elle-même tient à 3 facteurs principaux: la résistance individuelle, la virulence du *B.*, les associations microbiennes. Nous n'avons à nous occuper que des 2 derniers.

Il est certain de les *B.* longs, granuleux, enchevêtrés, se rencontrent plus fréquemment dans les diphtéries graves. Au contraire, les *B.* courts, homogènes, appartiennent plus souvent aux formes bénignes. Ce ne sont là que des remarques; mais, sachons bien qu'on peut mourir de diphtérie à bacilles courts et qu'une diphtérie bénigne à bacilles courts peut, par contagion, engendrer une diphtérie grave, à bacilles longs. La longueur et la forme des bacilles est donc un élément secondaire, mais néanmoins intéressant à connaître, de pronostic.

Ce qui est plus important, c'est le rôle des *associations microbiennes*. Plus on étudie la diphtérie, plus on se persuade que le *Streptocoque pyogène*, entre autres, est un microbe associé extrêmement dangereux; la plupart des diphtéries graves sont des diphtéries associées à la streptocoecie. Cela est vrai, surtout depuis l'usage du sérum. Celui-ci est efficace contre le *B. de Löffler*; il est naturellement sans action sur le *Streptocoque*. On

peut donc dire qu'actuellement toute diphtérie, traitée à temps, qui prend des allures malignes, est une diphtéro-streptocoecie. Les *Streptocoques* (le *pyogène* et d'autres qu'on commence à étudier) envahissent le sang, les parenchymes et tuent par septicémie.

Le médecin a donc le plus grand intérêt à être fixé sur cette redoutable association. Comme nous l'avons dit, les cultures l'indiquent. Nous avons, cependant, encore plus confiance pour la reconnaître dans l'examen direct. Certains streptocoques poussent mal; d'autres, hôtes sans importance de la gorge, envahissent les cultures. Ce qui est important c'est de constater directement dans la fausse membrane l'abondance des streptocoques. Quand un frottis montre un nombre inusité de streptocoques, la diphtérie est sûrement associée.

J) SÉROTHÉRAPIE

En raison de son importance, la sérothérapie antidiphtérique nous servira de type pour l'étude de la sérothérapie (p. 821).