

CHAPITRE XII
LE VIBRION CHOLÉRIQUE

Découvert par KOCH, en 1884.

Son étude est très complexe. Le *V. Cholérique* n'est pas une espèce bien délimitée. Nombreuses sont les variétés s'éloignant du type décrit par KOCH. En outre, on a rencontré dans les eaux, dans les fèces d'hommes sains, des vibrions voisins ou même identiques, en dehors de toute épidémie (*vibrions paracholériques*). L'espèce : *Vibrion cholérique*, bien qu'engendrant une maladie bien définie, le choléra asiatique, n'est pas, botaniquement, mieux défini que l'espèce : *Colibacille*. Aussi, dans un travail, portant sur le *V. Cholérique*, doit-on toujours indiquer la provenance de celui-ci : *V. de Massaouah, de Hambourg, etc.* Il n'y a pas un *Vibrion cholérique*, mais des *vibrions cholériques*.

On a nettement séparé du *V. Cholérique* : le *V. de Finkler-Prior* (choléra nostras), le *V. Metchnikowi* (maladie des poules, étudiée par GAMALEIA), le *V. de Dencke* (isolé d'un fromage), bien que leurs caractères soient très voisins.

On relira le chapitre des *Analyses d'eau* (p. 420).

A) ISOLEMENT. CULTURES

1° Isolement. — On ensemence en solution peptonée (voy. p. 89) le produit suspect. Dès la septième heure, on prend une parcelle du voile et on fait des stries sur une boîte de Petri chargée de gélose. On met à + 37°. Dès la sixième heure, on peut prélever les colonies. En quinze heures, l'isolement est effectué.

2° Caractères généraux des cultures. — Aérobie facultatif, bien que très avide d'oxygène; vit d'ailleurs en anaérobiose

dans l'intestin. Végète de + 12° à + 40°. T. optima = 37°. Cultive bien dans tous les milieux neutres ou légèrement alcalins.

METCHNIKOFF a montré que certains microbes favorisent les cultures sur plaques, et que d'autres (*B. pyocyanique*, certains *cocci*) les entravent. Un coccus blanc retarde le développement de plusieurs jours; les rares vibrions qui poussent ont des formes d'involution (double massue).

3° Cultures sur milieux solides. — A. GÉLOSE. — Rapidement, une strie blanchâtre sans caractères spéciaux.

B. SÉRUM. — Développement rapide. Liquéfaction avec teinte brune.

C. POMME DE TERRE. — Développement presque nul sur pomme de terre acide; culture abondante, épaisse, brune (café au lait), sur pomme de terre alcalinisée.

D. GÉLATINE. — Assez caractéristique.

Sur plaques : les colonies apparaissent vers la vingtième heure, sous forme de petits points blanchâtres, qui deviennent bientôt granuleux et à bords sinueux; la liquéfaction commence bientôt et se produit en cupule, la colonie granuleuse occupant le centre de la zone liquéfiée (fig. 317); la liquéfaction est bientôt complète, envahissant toute la plaque.

Par piqûre : les colonies apparaissent le long de la piqûre vers la vingtième heure. Une petite cupule, contenant habituellement une bulle d'air, se montre bientôt à la surface; la liquéfaction est rapide, en entonnoir (fig. 156,6), et envahit bientôt tout le tube.

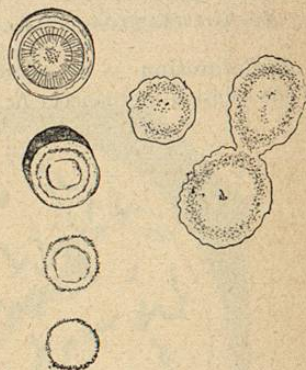


Fig. 317.
V. cholérique.
Colonies sur plaque de gélatine à différents stades de développement.

4° Cultures en milieux liquides. — A. EAU PEPTONÉE (meilleur milieu que le bouillon voyez plus loin, page 69). — A la surface, dès la douzième heure, *voile* mince, blanchâtre, fragile. Dans la suite : précipité floconneux. La rapidité de formation de ce voile est un caractère très précieux pour la diagnose.

B. BOUILLON. — Végète plus lentement.

C. LAIT. — Pas de coagulation. Utiliser du lait chauffé à $+ 100^{\circ}$ (Hess).

B) COLORATION, CARACTÈRES MICROSCOPIQUES

1° Coloration. — Se colore un peu difficilement ; se servir d'une solution mordancée. Ne prend ni le Gram, ni le Claudius.

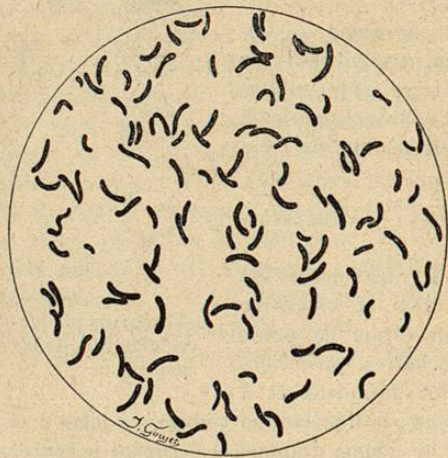


Fig. 318.
V. cholérique,
Culture de 24 heures, en eau peptonée.
Gr. = 1 000 D.

2° Forme. — Le *V. Cholérique* est extrêmement *polymorphe*.
Forme type : bâtonnet trapu ($1,5$ à 3μ sur $0,5$ à $0,6 \mu$), légère-

ment incurvé (*Bacille virgule*). C'est celle qu'on observe dans les selles et dans le voile de la culture en eau peptonée (fig. 318). Quelques éléments peuvent être bout à bout et simuler un *spirille* (*Spirillum cholerae asiaticæ*) parfois fort long.

D'autres échantillons sont minces et en S (*V. de Massaouah*, *V. de Courbevoie*), ou rectilignes (*V. de Shangai*), ou très petits, cocciformes (*V. de Malte*). METCHNIKOFF a vu le passage d'une forme courte à la forme allongée.

Dans les cultures âgées : formes d'involution (renflements, éléments arrondis, etc.), prises par HUEPPE pour des spores. Ce sont des pseudo-spores. Ces formes d'involution apparaissent quelquefois en quarante-huit heures.

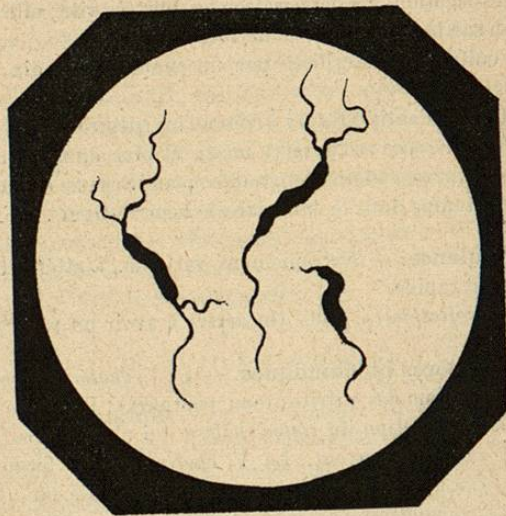


Fig. 319.
V. cholérique (différents types).
Cils vibratiles.

3° Mobilité. — Très mobile. *Cils* de nombre et de disposition variables (NEUHAUSS) (fig. 319). Le type ne possède qu'un cil à

chaque extrémité; il peut y avoir un bouquet de 3 ou 4 cils à chaque extrémité (NICOLLE et MORAX); les cils peuvent manquer. Les rechercher en jeune culture sur gélose.

4° **Spores.** — Pas de spores.

C) CARACTÈRES BIOLOGIQUES

1° **Habitat.** — Hors des déjections cholériques, il peut exister dans les eaux et les boues.

2° **Vitalité.** — Les cultures sur gélose conservent leur vitalité plusieurs mois, si on les maintient à l'abri de la lumière et de la dessiccation. La dessiccation les tue très vite; elle a moins d'action sur les déjections cholériques.

Une culture est stérilisée par un chauffage de dix minutes à + 60°.

Des traces d'antiseptiques arrêtent les cultures.

Le *V. cholérique* se conserve un an et plus dans l'eau stérilisée (HOCHSTETER), moins longtemps pour STRAUS et DUBARRY; il vit longtemps dans le lait, dans le beurre (HEIM).

3° **Virulence.** — Extrêmement variable. L'atténuation des cultures est rapide.

Voy. : *exaltation* (p. 689). On arrive à avoir un *virus fixe*.

4° **Caractères biochimiques.** — Le *V. cholérique* réduit les nitrates et forme des nitrites (eau peptonée); il fait de l'indol. Voy. 240, la réaction du *rouge choléra* qui n'est pas caractéristique et manque souvent. Le *V. cholérique* fait fermenter le glucose, et, à moindre degré, la maltose, la lactose, etc. (KUPRIANOW), avec formation d'acides lactique, acétique, butyrique.

5° **Agglutination.** — L'agglutination avait été vue, en 1889, par CHARRIN et ROGER, dans des cultures de *B. pyocyanique* en sérum de vacciné, mais c'est à propos du *V. cholérique* que cette curieuse et si importante propriété des microbes a été mise en lumière.

PFEIFFER et ISSAËFF (1894) ont d'abord vu le phénomène *in vivo* (*phénomène de Pfeiffer*). Si on injecte de la culture dans le péritoine d'un cobaye hypervacciné, ou, dans le péritoine d'un cobaye neuf, 1 centimètre cube d'une émulsion de *V. cholérique* mélangée avec quelques gouttes de *sérum préventif* (anticholérique ou de convalescent), le liquide péritonéal, examiné au bout de dix à trente minutes, montre des microbes immobiles, granuleux, en forme de boules, en voie de destruction. C'est l'agglutination suivie de la dissolution des vibrions. Cette expérience a donné lieu à de nombreuses controverses. En tous cas, le *phénomène de Pfeiffer* n'est pas spécifique; on peut réussir avec du sérum neuf, avec du bouillon. D'autres vibrions peuvent être agglutinés et détruits dans les mêmes conditions. Il ne peut donc servir à la diagnose de l'espèce.

BORDET (1895), GRÜBER et DURHAM (1896) obtiennent la réaction *in vitro*. Une émulsion de culture gélosée, additionnée de 1/20 de sérum préventif, est rapidement agglutinée. Donc : *les sérums d'immunisés agglutinent le V. cholérique*. Peut-on utiliser cette propriété pour la diagnose de l'espèce vibrionienne? Non. L'agglutination de *V. authentiques* peut manquer; des *Vibrions paracholériques* peuvent agglutiner.

Certaines substances chimiques agglutinent le *V. cholérique* (chrysoïdine, formaline, etc.).

Voyez page 692, le *Sérodiagnostic*.

D) ACTION PATHOGÈNE

1° **Action naturelle.** — Le *V. cholérique* est l'agent du *choléra asiatique* de l'homme. Il n'est pas naturellement pathogène pour les animaux (le choléra des poules, etc., n'ont de commun que le nom). Il reste *cantoné dans l'intestin* et sécrète une toxine, qui engendre les symptômes. *Le choléra est une intoxication*. Il existe dans les matières fécales et rarement dans les vomissements. Il peut persister assez longtemps dans les fèces après la guérison.

On avait souvent essayé, sans succès, de faire ingérer à l'homme des matières fécales de cholériques (BOCHEFONTAINE,

KLEIN) ou des cultures de *V. cholérique* (PETTENKOFFER et EMMERICH, HASTERLICK et STRICKER, FERRAN), en y ajoutant des purgatifs et en réalisant les meilleures conditions alimentaires. Une simple diarrhée était le seul résultat. METCHNIKOFF (1893), après plusieurs succès, finit par donner à l'homme, par l'ingestion d'une culture, un véritable choléra asiatique avec diarrhée rhiziforme, hypothermie, vomissements, crampes, vibrions dans les selles, etc. ; le cas ne fut pas mortel. Il chercha les causes qui peuvent ainsi faire varier les résultats de l'ingestion, et étudia la flore stomacale et intestinale de l'homme. Telle fut l'origine de ses travaux sur les microbes favorisants ou empêchants. En somme : le choléra (comme le tétanos, p. 594, comme la gangrène gazeuse, p. 580) a besoin d'associations microbiennes pour se développer. Le *V. cholérique*, en présence d'une muqueuse intestinale saine et privée des microbes favorisants, est inoffensif ; il l'est encore bien mieux s'il rencontre des microbes empêchants. Ainsi s'expliquent l'immunité de certains individus et surtout de certaines villes (Lyon, Versailles) vis-à-vis du choléra. Ce qui manque, dans ces cas, c'est la flore intestinale favorisante.

2° Action expérimentale. — A. COBAYE. — a. *Inoculation sous-cutanée*. — Il faut de fortes doses de vibrions très virulents. Septicémie avec vibrions dans le sang. Hypothermie. Convulsions. Collapsus.

b. *Inoculation intramusculaire*. — Réussit mieux.

c. *Inoculation intrapéritonéale* (méthode de choix). — Péritonite rapidement mortelle (PFEIFFER) avec hypothermie, convulsions, collapsus. A l'autopsie : exsudat péritonéal avec quelques vibrions ; intestin congestionné ; pas de lésions des viscères ; vibrions dans le sang. La réussite de l'inoculation intrapéritonéale n'est pas un signe diagnostique du *V. cholérique*. Des vibrions, récemment isolés de selles cholériques, peuvent ne pas produire de péritonite, alors que des vibrions, ne provenant pas de cholériques, sont très virulents.

On inoculera de préférence une culture sur gélose.

Les passages successifs exaltent : virulence fixe au 20^e passage (HAFFKINE).

d. *Ingestion*. — L'ingestion simple est sans effets. NICATI et RIETSCH obtiennent, le premier, du choléra intestinal, en inoculant directement le *V.* dans le duodénum. KOCH introduit dans l'estomac, avec une sonde, un peu de carbonate de soude et, ensuite, la culture ; il injecte, en même temps, 1^{cc},5 de teinture d'opium dans le péritoine. Le choléra survient vers la 12^e heure : hypothermie, collapsus, selles diarrhéiques. Mort vers le 3^e jour. Autopsie : intestin congestionné avec liquide séreux et flocons crémeux, contenant des vibrions en grande quantité et à l'état presque pur. DOYEN remplace l'opium par 1^{cc},8 d'alcool à 40° par 100 grammes de cobaye et obtient les mêmes résultats. METCHNIKOFF a essayé l'action des microbes favorisants chez le jeune cobaye ; le choléra obtenu est moins caractéristique que chez le jeune lapin.

B. SPERMOPHILE. — Plus sensible que le cobaye (ZABOLOTNY). L'inoculation sous-cutanée réussit bien. L'ingestion de quelques gouttes de culture, sans aucun artifice, donne un choléra intestinal à la moitié des animaux : hypothermie, diarrhée, cyanose. Autopsie : intestin congestionné avec liquide riche en vibrions ; sang fertile.

C. LAPIN. — C'est sur le jeune lapin que METCHNIKOFF (1894) est arrivé à reproduire, à coup sûr, le choléra intestinal.

Le jeune lapin, encore nourri au lait, a une flore intestinale peu riche. Il succombe vers le 6^e jour au choléra intestinal, une fois sur deux, si on lui introduit de la culture par la bouche. Les lésions sont celles du choléra.

Si on ajoute au *V. cholérique* une culture de trois microbes (une *torula*, une *sarcine* blanche et un *Colibacille*), isolés de l'estomac de l'homme, 90 p. 100 des lapins meurent du choléra (*microbes favorisants*). Mort en hypothermie, après une longue agonie. Diarrhée séreuse avec grumeaux. Autopsie : uniquement de la congestion de l'intestin grêle (teinte hortensia) qui est distendu par un liquide glaireux, alcalin, avec flocons de mucus. Les microbes favorisants ont disparu. Une fois sur quatre, le vibron passe dans le sang.

Le choléra des jeunes lapins est contagieux par les mamelles des mères.

Dès que les lapins sont sevrés, ils deviennent plus résistants; les microbes favorisants ne suffisent plus à leur donner le choléra. Adultes, ils sont réfractaires.

D. CHIEN. — KARLINSKI, GAMALEÏA ont reproduit le choléra intestinal chez le jeune chien.

E. CHAT. — KARLINSKI, WIENER ont reproduit le choléra intestinal chez le jeune chat.

E) TOXINES.

Le choléra est une *intoxication*. Jusqu'en 1896, la plus grande incertitude a régné sur l'existence de cette toxine dans les cultures.

BEHRING et RANSOM (1895) soutenaient l'existence d'une toxine diffusible dans les bouillons, résistant à + 100°, très active pour le cobaye. Au contraire, OUCHINSKY, PFEIFFER pensaient que la toxine étant intraprotoplasmique, ne diffusait pas.

HUEPPE et SCHOLL pensaient que, pour avoir une toxine active, il faut cultiver dans des œufs, à l'abri de l'air. Le contenu de l'œuf, précipité par l'alcool, est très toxique. Mais GRÜBER et WIENER montrèrent que cet empoisonnement (qui est subit) est produit par l'hydrogène sulfuré et l'alcool.

GAMALEÏA croyait à la pluralité des toxines. BRIEGER et FROENKEL parlaient d'une toxalbumine, mais OUCHINSKY montrait que la toxine peut être secrétée dans un milieu exclusivement minéral.

PETRI avait choisi des cultures stérilisées à + 120° et avait admis l'existence d'une *toxopeptone* qui tuait le cobaye, après une période d'incubation précédant la période morbide.

En 1896, METCHNIKOFF, ROUX et TAURELLI-SALIMBENI confirment les travaux de BEHRING et de RANSOM. Le *V. cholérique* sécrète, de son vivant, dans les cultures, une toxine qui passe à travers les filtres de porcelaine, est modifiée par l'ébullition, est rapi-

dement altérée par l'air et la lumière, est précipitée par l'alcool fort et le sulfate d'ammoniaque. La semence employée tuait le cobaye à 1/160 de centimètre cube en quelques heures (exaltation par cultures en sac de collodion dans le péritoine, alternées avec des inoculations directes dans le péritoine du cobaye). La culture était faite en solution de peptone à 20 p. 1000, gélatinée à 20 p. 1000. La filtration avait été opérée le quatrième jour. La culture filtrée tue le *cobaye* en quelques minutes à trente heures, avec tous les symptômes du choléra; le *lapin* est trois fois moins sensible, la *souris* encore moins.

La même année, J. COURMONT et DOYON ont confirmé ces résultats. Leurs cultures filtrées (anaérobies, mais surtout aérobies) ont tué le cobaye avec tous les symptômes classiques. Certains *cobayes* ont présenté une véritable maladie curable avec hypothermie. Certains *lapins* ont eu une *paraplégie flasque avec anesthésie, due à des névrites périphériques* (PAVIOT). Les cultures tuées à + 53° étaient plus toxiques que les cultures filtrées.

F) IMMUNISATION

1° **Inoculation de cultures vivantes.** — FERRAN (1885) vaccine le *cobaye* et l'*homme* (50 000 vaccinations humaines) en inoculant de petites doses de cultures virulentes. Le cobaye est ainsi devenu réfractaire aux doses mortelles. L'homme, après deux inoculations sous-cutanées, serait vacciné.

HAFFKINE (1892) inocule des vibrions à virulence fixe, atténués par la culture à + 39° en présence d'un courant d'air (plusieurs cultures successives, de deux en deux jours) au *cobaye* et à l'*homme*. Le cobaye est vacciné contre l'inoculation intrapéritonéale; il ne paraît pas l'être contre le choléra intestinal. L'homme reçoit un vaccin, puis, huit jours après, une culture virulente: l'efficacité est douteuse.

2° **Inoculation de cultures tuées.** — KLEMPERER, VINCENZI, PFEIFFER vaccinent avec des cultures tuées par la chaleur, injectées dans le péritoine du *cobaye*, contre la péritonite cholérique. Mais, on démontre bientôt que ce n'est pas une vaccination

spécifique. Les injections de cultures chauffées de *Micrococcus prodigiosus* (KLEIN), de bouillon neuf (ISRAËL), de sérum humain, de solution salée (METCHNIKOFF) agissent de même, en excitant la défense phagocytaire, qui a raison des vibrions injectés. BOSSAERT (1898) a immunisé la chèvre avec des cultures tuées à + 60° ou par le chloroforme.

3° Injection de toxine. — METCHNIKOFF, ROUX et TAURELLI-SALIMBENI ont vacciné avec leur toxine soluble (voy. p. 688). Les cobayes, les lapins, les chevaux, les chèvres s'y accoutument vite et sont faciles à immuniser. Au bout de six mois, les chevaux reçoivent, sans réagir, une injection de 200 centimètres cubes de toxine, alors qu'ils étaient, au début, très malades à la suite d'une injection de 10 centimètres cubes.

G) DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

Le diagnostic bactériologique du choléra est très utile au clinicien et à l'hygiéniste, surtout au début des épidémies. Les premiers cas ne sont pas toujours typiques; les médecins n'ont pas l'expérience d'une maladie qu'ils n'ont en général jamais vue; cependant l'hygiéniste, les pouvoirs publics exigent un prompt diagnostic. Il s'est produit, en outre, en Europe, pendant ces dernières années, des épidémies locales, des cas isolés qu'on hésite à classer dans le choléra asiatique.

1° Constatation du vibrion cholérique dans les selles. — C'est le procédé de choix. Isoler les vibrions est chose très facile, mais les identifier est un des problèmes les plus difficiles à résoudre de la bactériologie.

A. RECHERCHE DU VIBRION. — a. *Examen microscopique.* — On prend un grain riziforme, on l'écrase entre deux lamelles, on colore à la fuchsine de Ziehl diluée. Dans quelques cas, on verra des amas de vibrions, en culture pure, tous orientés dans le même sens; cela suffit au diagnostic. Bien plus souvent, les résultats de l'examen seront incertains.

b. *Cultures.* — 1° On ensemence un peu de matière cholérique dans plusieurs ballons de la solution de METCHNIKOFF :

Eau	1 000 grammes
Peptone	40 —
Sel marin	5 —
Gélatine	20 —

Alcaliniser.

Le trouble se manifeste en trois heures, le voile apparaît vers la septième heure. Ce voile est composé de *bacilles virgules* (voy. fig. 318).

CHANTEMESSE (1902) a proposé son *gélo-diagnostic* (voy. p. 421). On opérera comme pour la fièvre typhoïde, mais en employant du sérum anticholérique à la place du sérum antityphique. On essuiera le bouchon de carafe sur deux plaques de gélatine ordinaire. Nous préférons le premier procédé.

B. IDENTIFICATION DU VIBRION. — Nous l'avons dit, c'est là le point difficile. A vrai dire nous ne possédons aucun signe distinctif certain pour affirmer qu'un vibrion est bien *celui de Koch*. En temps d'épidémie, la différenciation n'est pas nécessaire, l'existence d'une culture abondante de vibrions provenant des selles est jugée comme suffisante. Mais, au début d'une épidémie, alors que du diagnostic différentiel dépendent les mesures hygiéniques les plus graves, ou pour une épidémie établie mais qui paraît très bénigne, pour conclure dans une analyse d'eau, etc., une identification certaine serait de toute utilité. Pendant la dernière épidémie parisienne, on a trouvé des vibrions dans certaines eaux, on les a retrouvés après la disparition de l'épidémie. Était-ce des *vibrions cholériques*? Les vibrions des eaux sont nombreux; SANARELLI en a trouvé trente-deux espèces dans les eaux de Paris. Nous le répétons, il n'existe pas un seul caractère pathognomonique, ou plutôt, il n'en existe qu'un seul, trop long et compliqué : *la reproduction du choléra chez le jeune lapin*. Ce qui manque, c'est un procédé rapide et commode.

On s'adressera aux caractères suivants :

- 1° L'aspect des cultures sur gélatine (p. 681).
- 2° La coloration des cils (p. 683).
- 3° La réaction du rouge-choléra (p. 240).
- 4° La non-coagulation du lait (p. 682).
- 5° L'inoculation intrapéritonéale au cobaye (p. 686).
- 6° Le phénomène de Pfeiffer (p. 685).
- 7° L'agglutination par le sérum anticholérique (p. 685).
- 8° L'inoculation au cobaye immunisé par le sérum (réaction d'immunité (p. 693).

On se reportera à la description de chacun de ces signes pour voir qu'il n'est pas pathognomonique, mais s'ils existent tous, cet ensemble aura une grande signification.

2° Sérodiagnostic. — Pour ACHARD et BENSAUDE (1897), le sang des cholériques (13 fois sur 14), dès le premier jour de la maladie, agglutinerait, en moins d'une heure, à 1/10 et 1/15 une émulsion de culture sur gélose de *V. cholérique*. Le sérodiagnostic serait possible. Si le fait se confirme, le sérodiagnostic rendra les plus grands services.

H) TRAITEMENT BACTÉRIOLOGIQUE

1° Inoculation de cultures. — Voir plus haut (p. 689) les tentatives de FERRAN et de HAFKINE.

2° Sérothérapie. — LAZARUS voit que le sang des convalescents du choléra peut immuniser le cobaye. Mais le sérum d'hommes n'ayant jamais eu le choléra peut agir de même (METCHNIKOFF, KLEMPERER). Le sang d'un homme venant de succomber peut être très préventif, tandis que celui d'un homme guéri peut être inactif (METCHNIKOFF).

KLEMPERER montre que le sérum des animaux vaccinés est préventif. PFEIFFER et ISSAËFF (1894) obtiennent un sérum qui préserve le cobaye à la dose de 1/15 de milligramme (très actif), et qui est très agglutinant. Pour METCHNIKOFF, ce sérum n'est ni bactéricide, ni antitoxique, puisqu'il est inefficace contre le

choléra intestinal; il agit en excitant les phagocytes du péritoine du cobaye.

PFEIFFER pensait qu'on pourrait différencier le *V. cholérique* par l'action immunisante de son sérum (*réaction d'immunité*). Serait cholérique tout vibrion qui, injecté dans le péritoine, tuerait le cobaye neuf et respecterait le cobaye vacciné; serait pseudo-cholérique tout vibrion qui ne serait pas influencé par l'immunisation. Mais, cette réaction peut manquer vis-à-vis de vibrions cholériques authentiques, retirés des selles, et elle peut exister pour des vibrions saprophytes.

METCHNIKOFF, ROUX et TAURELLI-SALIMBENI ont étudié le sérum de leurs chevaux immunisés (voy. p. 690). Il est *préventif* vis-à-vis de la péritonite du cobaye à 0^{cc} 005. Il est *antitoxique*; 2 centimètres cubes neutralisent quatre doses mortelles de toxine. Il est, conséquemment, préventif vis-à-vis du choléra intestinal du jeune lapin qui est une intoxication: 60 p. 100 des lapins ayant reçu 4 à 8 centimètres cubes sous la peau, résistent. Il n'est *pas curateur*, injecté vingt-quatre heures après l'ingestion du vibrion.

CHAPITRE XIII

BACILLE DE L'INFLUENZA

Il a été découvert par PFEIFFER (1892), dont les travaux ont été confirmés par WEICHELBAUM, KLEIN, etc. Est-il spécifique ? Beaucoup d'auteurs le nient. PFEIFFER lui-même ne l'a pas trouvé dans la grippe de 1895. BESSON, ACHALME, ROSENTHAL ont également échoué. C'est probablement, dans ces cas, qu'on observe le B. de TEISSIER, ROUX et PITTION.

ROSENTHAL conclut : « le coccobacille hémophile de PFEIFFER est un microbe vulgaire du poumon, il n'est pas le bacille de l'influenza. » Cette conclusion est prématurée. Le *B. de Pfeiffer* peut très bien vivre habituellement sur nous en saprophyte, en dehors des cas d'influenza tout en étant l'agent de celle-ci. Il est, en outre, possible que nous rangions sous l'étiquette « Influenza » des maladies diverses. Il est également, possible que le *B. de Pfeiffer* occasionne des affections pulmonaires, autres que celles de l'influenza. Nous admettons, en tout cas, que le *B. de Pfeiffer* est pathogène pour l'homme.

PFEIFFER avait décrit un *Pseudoinfluenza bacillus*. On est d'accord pour l'identifier avec le véritable, ainsi que les B. de GRASBERGER et d'ELMASSIAN.

A) ISOLEMENT, CULTURES

1° Isolement. — Faire gargariser le malade et le faire cracher dans de l'eau stérilisée; laver plusieurs fois la partie solide du crachat; prendre le centre; émulsionner dans de l'eau stérilisée; ensemercer par stries des tubes de gélose sanglante

2° Caractères généraux des cultures. — Exige de l'hémoglobine (?) dans les milieux nutritifs; ne végète pas sur les milieux ordinaires. Exclusivement aérobie. Végète de + 26° à + 42°; T° optima = 37°.

3° Cultures sur milieux solides. — Le seul milieu favorable est la *gélose sanglante*. On prend un tube de gélose (neutre ou légèrement alcaline), on le liquéfie; dès le refroidissement on étale sur la surface inclinée une goutte de sang (d'homme, de cheval, de lapin, de pigeon) en couche très mince. On peut aussi employer le *sang gélosé* de VOGES ou de BEZANÇON (voy. p. 412) qui donne des colonies un peu plus grosses. Le chauffage préalable du sang à + 50°, 60° fournit de meilleurs milieux.

L'ensemencement donne, en vingt-quatre ou quarante-huit heures, des colonies très fines, visibles seulement à la loupe, ressemblant à des gouttelettes d'eau. PFEIFFER a obtenu des passages successifs. Il faut garder les tubes *en milieu humide* (voy. *Vitalité*).

C'est l'*hémoglobine* qui favorise la culture (PFEIFFER); les milieux à l'hémoglobine de HUBER ne sont cependant guère favorables.

On peut réussir sur *gélose-ascite* (ELMASSIAN, ROSENTHAL), donc sans hémoglobine.

4° Cultures en milieux liquides. — Le sérum rouge de lapin (coloré par l'hémoglobine) est un bon milieu (ROSENTHAL). Il en est de même du bouillon additionné de sang de pigeon. Trouble uniforme qui augmente pendant trois jours, puis le bouillon s'éclaircit.

B) COLORATION, CARACTÈRES MICROSCOPIQUES

1° Coloration. — Se colore difficilement. Il faut employer une solution mordancée (fuchsine de Ziehl diluée à 1/20) pendant une dizaine de minutes et à chaud. *Ne prend pas le Gram*.

2° Forme. — Le *B. de l'influenza* est extrêmement petit,

aussi petit que le bacille de la septicémie des souris (1μ sur $1,2 \mu$).

Il a la forme d'un coccobacille, qu'on ne distingue qu'avec de forts grossissements.

Il est isolé, ou en chaînettes de trois ou quatre éléments. Dans les crachats il est spécialement petit et réuni en amas; on en

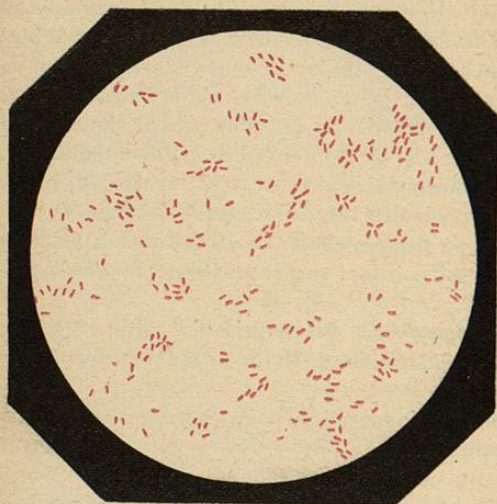


Fig. 320.

B. de l'influenza.

Culture de 24 heures sur sang gélosé. (Fort grossissement.)

trouve à l'intérieur des leucocytes. Dans les cultures (fig. 320) il est un peu plus gros, sous forme de petits bâtonnets à bouts arrondis (pendant quarante-huit heures) puis il s'allonge en filaments parfois fort longs (10μ et plus, GRASSBERGER); enfin, dans les cultures anciennes, les formes d'involution ne sont pas rares (bacilles à vacuole, formes sinueuses, formes monstres en coin ou en massue, etc.). Les formes longues se voient surtout dans les milieux peu favorables (DELIUS et KOLLE).

3° **Immobilité.** — Immobile.

4° **Spores.** — Pas de spores.

C) CARACTÈRES BIOLOGIQUES

1° **Habitat.** — En dehors des malades, le *B. de l'Influenza*, peut persister des semaines après la guérison dans les crachats, dans des lésions cavitaires tuberculeuses, etc. D'après ROSENTHAL, c'est un hôte habituel de nos poumons.

2° **Vitalité.** — Dans les crachats humides, il se conserve quatorze jours au moins. Quarante heures de dessiccation stérilisent les crachats. Les cultures sur sang gélosé meurent vers le douzième jour ou avant. La dessiccation tue une culture en deux heures à $+ 37^{\circ}$. La chaleur les tue facilement. En repiquant les cultures tous les quatre ou cinq jours, on peut avoir des passages positifs pendant plusieurs mois, mais on échoue souvent.

La grande sensibilité du microbe à la dessiccation est une propriété à retenir.

3° **Virulence.** — Elle se perd très vite en cultures artificielles.

4° **Agglutination.** — Nulle, par le sang des malades ayant le microbe dans les crachats (MEUNIER).

D) ACTION PATHOGÈNE

1° **Action naturelle.** — L'influenza (bien qu'on ait soutenu le contraire) est une maladie exclusivement humaine. Est-elle toujours due au *B. de Pfeiffer*? N'y a-t-il pas plusieurs influenzas? Le *B. de Pfeiffer* n'est-il pas (comme le *Pneumocoque* et tant d'autres) un hôte habituel de nos voies respiratoires? Autant de questions en suspens. En tous cas, le *B. de Pfeiffer* joue certainement un rôle pathogène chez l'homme, dans les maladies influenziques (broncho-pneumonies, pleurésies, méningites, arthrites, périostites, etc.).

Il existe dans les crachats, le mucus nasal, les voies respiratoires. Il peut faire des broncho-pneumonies. Il n'existe pas, pendant la vie, dans le sang des malades (l'influenza est une intoxication), d'après PFEIFFER : ROSENTHAL le trouve dans le sang du cœur après la mort. Il persiste longtemps après la guérison.

Il est presque toujours associé au *Pneumocoque* et au *Streptocoque* (vingt-quatre fois sur trente ; GRASSBERGER), quelquefois au *Staphylocoque* et au *Colibacille*. Ces associations microbiennes, qui jouent certainement un rôle dans la gravité de la maladie, favorisent les cultures. Dans un tube où végète le *Staphylocoque*, les colonies du *B. de Pfeiffer* poussent plus vite et sont plus grosses (colonies géantes). Ces grosses colonies, repiquées pures, redeviennent petites. Cette action favorisante est due aux produits solubles sécrétés par le *Staphylocoque*. Les autres microbes sont moins favorisants.

Réciproquement (ROSENTHAL), le *Pneumocoque*, mélangé au *B. de Pfeiffer* se repique indéfiniment (au lieu de périr rapidement) sur sang gélosé.

2° Action expérimentale. — Le *singe* seul est sensible (PFEIFFER). L'inoculation de crachats ou d'une première culture dans les voies respiratoires donne une influenza curable.

Cependant, on a tué la *souris*, par inoculation intrapéritonéale, et le *lapin*, par injection intraveineuse. Ils meurent d'intoxication par les produits préformés : il n'y a pas d'infection. MEUNIER, ROSENTHAL seraient cependant arrivés à infecter des lapins. DELIUS et KOLLE ont, disent-ils, infecté souris, lapins et cobayes par voie péritonéale.

SLATINEANO (1901) aurait exalté la virulence, par passages dans le péritoine du *cobaye* (ac. lactique). Après cent quarante-cinq passages, le bacille tuait rapidement par septicémie le lapin, le cobaye, la souris. L'auteur aurait immunisé le cobaye et obtenu un sérum préventif.

CANTANI tue le *lapin* par inoculation sous-méningée.

JACOBSON, ayant inoculé, dans le sang, le *lapin* avec du *B. de Pfeiffer* mélangé à du *Streptocoque* aurait obtenu une septicé-

mie uniquement à *B. de Pfeiffer*. On réussit aussi chez la souris, et la virulence s'exalte.

E) DIAGNOSTIC BACTÉRIOLOGIQUE

Il faut rechercher le bacille dans les crachats, à l'intérieur des petites masses compactes. On fera un frottis, qu'on colorera avec la fuchsine de Ziehl diluée ou la thionine aqueuse à 2 p. 100, et on examinera avec un fort grossissement.

Dans les coupes : colorer pendant une demi-heure dans la fuchsine de Ziehl diluée ; traiter pendant quelques secondes par l'alcool absolu faiblement acidulé avec l'acide acétique ; dès que la coupe est rose violet, l'éclaircir et la monter. Les bacilles sont rouges sur fond rose.

On fera une culture sur gélose sanglante ou sang gélosé (voy. *Isolement*, p. 695). On a utilisé l'action favorisante du *Staphylocoque*. On fait, sur le tube de sang gélosé, préalablement ensemené avec le crachat, quelques stries avec une aiguille de platine chargée de staphylocoque. Il se développe des colonies géantes à *B. de Pfeiffer* le long des stries. Cela facilite beaucoup le diagnostic. Chez les enfants, on examinera le mucus pharyngien.

L'absence du *B. de Pfeiffer* ne peut faire rejeter le diagnostic d'influenza.