

Le bleu composé s'obtient par le mélange d'un tiers de la solution A et de deux tiers de la solution B.

On peut aussi employer la solution suivante :

Cristal violet . . . . .	1 gramme.
Alcool absolu . . . . .	10 grammes.
Acide phénique cristallisé . . . . .	2 —
Eau distillée . . . . .	100 —

On laisse en contact la solution colorante pendant une minute, puis on enlève l'excès de matières colorantes en plongeant la lamelle pendant quelques secondes dans un verre rempli d'eau. Les bacilles de Löffler restent colorés par le Gram.

Il est fort important de savoir recueillir les fausses membranes qui servent à la recherche du bacille. On les détache avec une pince à dissection préalablement flambée ou bien avec un petit tampon d'ouate enroulée sur un manche. On assèche soigneusement avec un peu de papier buvard la parcelle recueillie et on l'enferme dans un tube de verre flambé et bouché avec de l'ouate. Si l'on n'a pas de tube à sa disposition, on l'enveloppe dans du taffetas gommé. Il faut se garder, en tout cas, de plonger la fausse membrane dans les liquides (eau, alcool, glycérine).

Pour faire une préparation, on promène la parcelle de membrane sur une lamelle et l'on fixe la préparation en la passant rapidement, à trois reprises, sur la flamme d'une lampe à alcool; on colore de la façon indiquée, on place la lamelle sur la lame porte-objet, on enlève l'excès d'eau avec du papier buvard.

Si l'on n'a pas de fausse membrane à sa disposition et si cependant on a des raisons de croire à la diphtérie, il faut aller toucher avec la spatule la muqueuse du pilier postérieur et ensemercer ensuite deux tubes de sérum.

*Culture du bacille.* — Pour cultiver le bacille, il suffit de deux tubes de sérum coagulé et d'un fil de fer ou de platine aplati en forme de spatule à l'une de ses extrémités. Les tubes de sérum se trouvent aujourd'hui en dépôt dans la plupart des pharmacies, de telle sorte qu'il est permis à tout médecin de faire un semencement immédiatement après avoir vu le malade atteint d'une angine suspecte.

Après avoir stérilisé à la flamme d'une lampe à alcool l'extrémité aplatie en forme de spatule du fil de fer ou de platine et l'avoir laissé refroidir, on touche la fausse membrane avec les bords de la spatule. Celle-ci ainsi chargée, on la promène à la surface d'un des tubes de sérum, de façon à créer des sillons parallèles d'ensemencement que l'on doit toujours faire dans le même sens.

On procède de même sur le second tube, mais sans essuyer ni charger le fil-spatule sur la fausse membrane. On obtiendra ainsi sur le second tube des colonies moins serrées.

Les deux tubes doivent être placés dans une étuve à 37 degrés où ils devront séjourner vingt-quatre heures.

Au bout de vingt-quatre heures, s'il s'agit de diphtérie, on voit à l'œil nu, à la surface des tubes, des colonies d'un blanc grisâtre, arrondies, de contours réguliers. Si on les regarde par transparence, elles sont plus opaques à leur centre.

Souvent ces colonies apparaissent après quatorze ou quinze heures de séjour à l'étuve; en tous cas, on ne doit jamais laisser les tubes à l'étuve plus de vingt-quatre heures, car, passé ce délai, d'autres microbes commencent à pulluler et rendent alors le diagnostic bactériologique plus compliqué.

Au bout de vingt-quatre heures, même, quelques cocci donnent des colonies assez analogues à celles de la diphtérie. Il en est ainsi d'un coccus que Roux, Yersin et Martin ont appelé « coccus Brison », du nom de l'enfant chez lequel ils le découvrirent.

Bien que présentant une certaine ressemblance avec les colonies du bacille de Löffler,

celles du coccus Brison s'en distinguent cependant en ce qu'elles sont plus humides. De plus, si on les regarde par transparence, elles apparaissent translucides, parce que leur centre n'est pas plus épais que leurs bords, à l'inverse de ce qui existe dans les colonies diphtériques. En cas de doute, l'examen microscopique met un terme à toute hésitation.

*Les associations microbiennes.* — On sait que le streptocoque, les staphylocoques et beaucoup d'autres microbes dont le rôle n'est pas encore défini peuvent se rencontrer en même temps que le bacille diphtérique dans les fausses membranes. Au début, on n'attachait pas grande importance à ces associations microbiennes, elles étaient en quelque sorte considérées comme une curiosité de laboratoire. Aujourd'hui on leur accorde, avec raison, une importance capitale, car, suivant que le bacille de Löffler est accompagné ou non d'autres microbes pathogènes, le pronostic varie essentiellement et les résultats du traitement sont également très différents. Les diphtéries où le bacille de Löffler et le streptocoque sont associés sont particulièrement graves; ce sont celles qui se compliquent de broncho-pneumonie, de bubons suppurés, etc.; l'injection de sérum n'a pas d'influence décisive sur leur évolution.

L'action pathogène combinée, la symbiose du bacille de Löffler et d'autres microbes pathogènes, est difficile à mettre en lumière; la présence constante des streptocoques et d'autres microbes, dans les cavités, à titre d'hôtes habituels, fait que l'on peut être amené à confondre coexistence et association. La constatation même de la virulence d'un germe n'est pas une preuve de son action pathogène, puisque l'on trouve à l'état de parfaite santé des streptocoques et pneumocoques virulents dans la cavité buccale (Méry, *Congrès de gynécologie, d'obstétrique et de pédiatrie*, Marseille, 1898).

Une expérience fondamentale de Roux et Yersin a démontré l'existence de l'association du streptocoque et du bacille diphtérique. L'injection sous-cutanée au cobaye d'un mélange à parties égales de cultures de bacille diphtérique et de streptocoques détermine rapidement la mort de l'animal en expérience, tandis que l'injection isolée de l'une ou de l'autre de ces cultures détermine seulement une lésion locale et permet la survie. Cette expérience a été répétée depuis par de nombreux expérimentateurs et a donné toujours les mêmes résultats.

D'autres expériences ont montré que les toxalbumoses précipitées par l'alcool d'une culture mélangée de bacilles de Löffler et de streptocoques sont plus actives que celles du bacille seul (Schreider).

Le bacille de Löffler devient-il plus virulent du fait de son association avec le streptocoque (Roux) ou bien celui-ci se borne-t-il à rendre l'organisme plus réceptif (Funk)? La question est encore discutée.

Nous verrons plus loin comment on parvient à faire le diagnostic bactériologique des associations microbiennes et notamment de la strepto-diphtérie. Rappelons que les symptômes et l'évolution de la maladie permettent souvent d'en faire le diagnostic clinique (Grancher, Sevestre, Barbier, etc.).

Le début est brusque et marqué par une élévation de température plus forte que dans le cas de diphtérie pure et pouvant aller jusqu'à 40 degrés. Les fausses membranes sont épaisses, mollasses, grisâtres ou brun sale, formant un magma putrilagineux; l'haleine présente une fétidité particulière. La gorge est parsemée d'ulcérations, et la rougeur, l'œdème sont bien plus marqués que dans les diphtéries pures. Il existe, d'autre part, un coryza séro-sanguinolent avec jetage abondant, ulcérations autour des narines, etc. Les ganglions qui, dans la diphtérie pure, sont relativement peu développés, mobiles et roulent sous le doigt, sont au contraire englobés dans une zone d'infiltration œdémateuse, quand la strepto-diphtérie est en cause; il est impossible de les distinguer au milieu de la gangue mollasse, lardacée, formée par le tissu cellulaire infiltré (cou proconsulaire). Les phénomènes généraux et les complications sont ceux