

Une autre difficulté pour les expérimentateurs consiste dans l'atténuation que les bacilles subissent à la suite de cultures successives.

Koch a longtemps cherché à produire le choléra chez les divers animaux de laboratoire, en leur faisant avaler des déjections de cholériques ou des cultures de bacilles, après leur avoir donné artificiellement un catarrhe intestinal.

Nicati et Rietsch ont déterminé, chez des animaux, les symptômes du choléra, en injectant directement le virus cholérique dans le duodénum, après avoir lié au préalable le canal cholédoque. Koch et Van Ermengem, Cornil et Babès, Doyen et Chantemesse ont injecté directement dans le duodénum, sans lier le canal cholédoque, une très faible quantité de liquide de culture. Les résultats ont été très variables, mais dans un certain nombre de cas la muqueuse intestinale était congestionnée et remplie de bacilles en virgule.

Koch a obtenu des résultats constants sur le cobaye en employant le procédé suivant : On introduit d'abord dans l'estomac quelques centimètres cubes d'une solution alcaline de soude avec une sonde œsophagienne. Vingt minutes plus tard, on injecte dans l'estomac, par le même procédé, 40 centimètres cubes d'une culture en bouillon de bacille-virgule. Immédiatement après on injecte dans le péritoine de l'animal 1 centimètre cube de teinture d'opium par 200 grammes de son poids. Les animaux sont ainsi narcotisés pendant une demi-heure, leur estomac est alcalinisé et leur intestin immobilisé. Déjà le lendemain les animaux sont malades et, au bout de trois jours, ils meurent avec le poil hérissé, les extrémités refroidies et de la diarrhée. A l'autopsie on trouve l'intestin distendu par un liquide diarrhéique, floconneux, qui est une culture pure du bacille-virgule.

Pfeiffer a montré que la véritable réaction propre à démontrer la virulence du vibron de Koch était l'injection, dans le péritoine du cobaye, d'une culture ayant poussé sur gélose. Un cobaye de 500 grammes est tué par l'inoculation intra-péritonéale de la vingtième partie d'une culture sur gélose du poids de un milligramme et demi. Koch a confirmé le fait et prétendu même que c'était là le meilleur critérium de la nature cholérique du vibron. M. Metchnikoff, par contre, a montré la variabilité de la virulence du bacille cholérique suivant sa provenance. Il a vu, d'autre part, la virulence du vibron d'Angers rapidement diminuer dans les cultures successives.

Certains vibrions retirés des selles d'individus atteints de choléra épidémique se sont montrés peu pathogènes pour le cobaye, tel le vibron de Lisbonne retiré par Pestana et Bettencourt, en 1894, des selles des cholériques et de l'eau d'alimentation. Certains vibrions sont même dénués de tout pouvoir pathogène pour le cobaye, tel le vibron de Rome isolé des selles des cholériques par Celli et Santori.

Par contre certains vibrions isolés des eaux comme le vibron de Ghinda étudié par Pasquale, le vibron de St-Cloud étudié par Sanarelli se montrent plus virulents pour le cobaye que le vibron Indien type de Koch. Entre ces types extrêmes, on trouve toute une série intermédiaire.

Certains animaux paraissent réfractaires au vibron. Koch et Pfeiffer ont érigé en principe, que tout vibron tuant le pigeon devait être considéré comme n'étant pas de nature cholérique. C'est là, en effet, un caractère d'une grande importance. Cependant M. Metchnikoff a pu tuer le pigeon avec un vibron nettement cholérique, provenant d'Angers.

Ces faits montrent à l'évidence l'inégalité de virulence qui peut exister entre les différents échantillons de vibrions cholériques.

Choléra intestinal. Association microbienne. — Le choléra intestinal, dont les symptômes relèvent d'une intoxication générale de l'organisme par les bacilles cantonnés dans le tube digestif, est très difficile à réaliser expérimentalement.

C'est au secours de divers microbes que le vibron cholérique doit de pouvoir s'installer dans l'intestin et y sécréter sa toxine. La découverte de ce fait est due à M. Metchnikoff.

M. Metchnikoff n'avait eu que des insuccès, en faisant ingérer des cultures pures de vibron à des cobayes, et cependant les germes passaient dans l'intestin, car il les retrouvait dans les selles.

M. Metchnikoff⁽¹⁾ s'est demandé s'il n'y avait pas dans l'intestin des microbes capables de favoriser ou d'empêcher l'infection par le bacille du choléra. Des recherches faites *in vitro* sur milieux nutritifs lui apprirent d'abord que deux espèces de sarcines et une torula blanche favorisaient plus particulièrement le développement des vibrions. M. Metchnikoff chercha dès lors si l'action favorisante de ces microbes associés s'exerçait également dans le tube digestif; il prit comme animal réactif pour ses expériences le lapin nouveau-né.

La flore intestinale des jeunes lapins, nourris uniquement du lait maternel, est assez pauvre et peut être considérée comme négligeable. On ne voit succomber à un choléra intestinal que la moitié de ces animaux à qui on a fait ingérer par la bouche une culture de bacilles de Massaouah.

Par contre, si l'on fait ingérer dans les mêmes conditions à de jeunes lapins d'abord une culture des trois microbes favorisants, sarcines et torula blanche, puis une culture de vibrions cholériques, on voit succomber 20 animaux sur 22, en un temps variant de vingt-quatre à cent vingt heures. Les symptômes et les lésions du choléra expérimental ainsi produits ont été étudiés avec le plus grand soin par M. Metchnikoff.

Remarquons que dans les selles on trouve presque uniquement des vibrions cholériques; les microbes favorisants semblent disparaître lorsque la maladie a éclaté.

De très petites quantités de vibrions et de microbes favorisants suffisent à donner la maladie. En donnant à manger le vibron cholérique et les microbes favorisants à quelques-uns seulement des petits lapins d'une nichée, M. Metchnikoff a vu les autres prendre spontanément le choléra. La contamination s'est faite alors par les mamelles de la mère, souillées par quelques microbes laissés par les petits.

M. Renon⁽²⁾ a fait voir récemment l'action favorisante du coli-bacille sur le bacille-virgule.

Les jeunes cobayes sont plus résistants que les lapins à l'ingestion du vibron cholérique et des microbes favorisants. Cette immunité relative contre le choléra intestinal est sans doute en rapport avec leur genre de vie. Presque immédiatement après leur naissance, ils commencent à se nourrir de végétaux; leur flore intestinale s'enrichit ainsi et des microbes empêchants doivent souvent entraver l'éclosion de la maladie.

⁽¹⁾ METCHNIKOFF. — Recherches sur le choléra et les vibrions, 4^e mémoire. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 529.

⁽²⁾ RENON, *Action du coli-bacille sur le bacille-virgule*. Société de biologie, 1^{er} mai 1897, p. 417. Du rapport étiologique entre le choléra nostras et le choléra indien. *Archives générales de médecine*, juillet 1897, p. 27.

M. Metchnikoff a pu montrer, par des expériences analogues à celles rapportées plus haut, l'action empêchante de certains germes sur le développement du vibron cholérique dans l'intestin des jeunes lapins.

Les recherches sur le rôle des associations microbiennes dans la pathogénie du choléra aident à l'éclaircissement de faits restés obscurs dans l'épidémiologie de la maladie, depuis même la découverte du vibron spécifique de Koch.

La présence des vibrions cholériques dans les matières fécales des personnes saines n'est pas un fait rare et prouve que ce microbe peut traverser certains organismes sans y occasionner de dommages. L'immunité classique d'une ville comme Versailles n'est pas due à l'impossibilité, pour le vibron cholérique, de vivre dans l'eau d'alimentation de cette ville, puisque ce vibron y a été retrouvé par M. Sanarelli. Le même auteur a retiré le vibron de l'eau de la Seine près de Saint-Cloud, à une époque où il n'y avait pas d'épidémie dans cette localité.

On doit donc admettre comme certain, dit M. Metchnikoff, que le vibron du choléra peut pulluler dans les eaux des localités constamment ou temporairement indemnes contre cette maladie, et que par conséquent l'immunité locale ne peut être expliquée par l'impossibilité où serait le microbe spécifique de vivre dans ces localités.

Les recherches de M. Metchnikoff ont encore établi que l'immunité des habitants des localités indemnes contre le choléra n'était pas due à un état de vaccination inconsciente et permanente; le sang de ces habitants ne se distingue par aucune propriété particulière préventive vis-à-vis de l'infection cholérique.

M. Metchnikoff⁽¹⁾ a institué des recherches sur des microbes pouvant empêcher l'action pathogène du vibron cholérique. « L'influence de ces microbes pourrait être mise en cause, dit-il, comme facteur de la résistance de l'homme contre le choléra, si fréquente en général, surtout dans les localités indemnes. » Il a particulièrement étudié l'influence empêchante qu'un bacille liquéfiant retiré de l'intestin d'un cobaye a sur l'activité cholérigène des vibrions.

Ce sont les microbes favorisant et empêchant des organes digestifs qui jouent un rôle des plus importants dans le choléra, maladie due à l'action spécifique du bacille-*virgule*. Leur intervention, conclut M. Metchnikoff, permet d'expliquer des faits d'épidémiologie qui semblaient être en désaccord avec la théorie du bacille-*virgule*, et surtout explique l'influence du temps et des lieux, incontestable dans le développement des épidémies. « L'eau contaminée a pu importer des microbes cholériques, sans que ceux-ci aient le choléra par suite de l'obstacle des microbes empêchant. Lorsque la flore des voies digestives est favorable pour le vibron cholérique, l'extension épidémique du fléau est facile; dans le cas contraire, il ne se produit que des cas isolés. Les influences microbiennes peuvent expliquer également des cas de choléra développés à la suite de l'absorption de certaine nourriture qui, par elle-même, ne sert pas de véhicule au vibron cholérique. Ainsi on a observé que des fruits, une bière mauvaise, etc., provoquaient des explosions cholériques. »

Ingestion de cultures par l'homme. — Le choléra chez l'homme est, on le sait, une toxi-infection. L'intoxication est causée par les poisons que le vibron sécrète dans l'intestin. C'est par la voie digestive que pénètre le vibron infectant.

⁽¹⁾ METCHNIKOFF, Recherches sur le choléra et les vibrions (2^e mémoire). *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, p. 362.

Si l'ingestion des vibrions, si fréquemment répétée chez l'homme, n'a donné le plus souvent que des résultats négatifs, il est des cas cependant où le résultat positif a permis de trancher la question. M. Metchnikoff rapporte notamment qu'un jeune homme de dix-neuf ans eut une véritable attaque de choléra avec diarrhée riziforme, vomissements, crampes, anurie et hypothermie, après avoir absorbé un vibron du choléra de Paris 1884. Semblables résultats ont été obtenus par M. Metchnikoff avec des vibrions de Courbevoie.

Toxines. — On peut isoler des milieux de culture les toxines qui empoisonnent l'organisme au cours du choléra. C'est par ses toxines que le bacille cholérique est redoutable. « Le choléra est un empoisonnement aigu, causé par l'absorption d'une substance spéciale élaborée dans l'intestin par le bacille-*virgule* de Koch. » (Metchnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni).

La première démonstration de l'existence de toxines dans les cultures du vibron cholérique a été faite par Nicati et Rietsch, en 1884, qui, injectant dans les veines, après filtration, des cultures déjà âgées, déterminèrent des vomissements, de la diarrhée, de la parésie des membres postérieurs et la mort ainsi que des ecchymoses sur l'intestin. Depuis, cette étude a été reprise par de nombreux expérimentateurs, tels que Petri (1890), Hueppe et Scholl (1891), Gruber et Wiener (1892), Gamaleia, Werbroock (1894), Ransom (1894), Pfeiffer (1896), Metchnikoff, E. Roux et Taurelli-Salimbeni (1896) ⁽¹⁾.

Pour obtenir une toxine active, il faut avant tout opérer avec un vibron très virulent. MM. Roux, Metchnikoff et Taurelli-Salimbeni ont exalté le vibron de la Prusse orientale, par passages successifs dans le péritoine du cobaye. Ils maintenaient la virulence de ce microbe en alternant les inoculations directes avec des cultures en sac de collodion insérées dans la cavité péritonéale des cobayes. Une telle culture âgée de deux jours tue un cobaye de poids moyen par inoculation intra-péritonéale à dose de $\frac{1}{380}$ centimètre cube. Pour préparer la toxine, ces expérimentateurs ensemencent, avec une culture en sac vieille de trois à quatre jours, un milieu constitué par une solution de peptone à 2 pour 100, additionné de 2 pour 100 de gélatine et de 1 pour 100 de chlorure de sodium. Ils distribuent, au bout de quelques heures, le liquide dans des boîtes de Petri. Après quatre jours, ils filtrent et obtiennent ainsi un liquide alcalin d'odeur spéciale qui tue le cobaye à dose de $\frac{1}{2}$ centimètre cube par 100 grammes d'animal, en déterminant de la diarrhée, du refroidissement, de la cyanose et une congestion générale des viscères. La dose minima mortelle tue en 14 à 16 heures. Les gros cobayes résistent mieux à dose égale pour 100 grammes d'animal que les cobayes moyens.

Le lapin, la souris, les pigeons et les poules supportent des doses de toxines beaucoup plus considérables que le cobaye.

Pfeiffer avait soutenu que la toxine cholérique était adhérente aux corps mêmes des vibrions et qu'elle n'en sortait qu'après la mort de ceux-ci; Behring et Ransom ont admis, au contraire, que le poison était soluble, diffusible et sécrété par le microbe de son vivant. MM. Roux, Metchnikoff et Taurelli-Salimbeni ont tranché le différend. En faisant vivre dans le péritoine des cobayes le bacille du choléra enfermé dans des sacs de collodion, ils ont tué ces animaux,

⁽¹⁾ METCHNIKOFF, E. ROUX et TAURELLI-SALIMBENI, Toxine et antitoxine cholérique. *Annales de l'Institut Pasteur*, mai 1896, n° 5.

sans intervention microbienne et ont prouvé ainsi que la toxine seule diffusait dans leur organisme. Ce sac n'est autre chose qu'une anse intestinale artificielle, où ils ont réalisé un choléra simplifié sans concurrence microbienne, ni action de sucs digestifs. Cette expérience montre ainsi à l'évidence, l'existence du poison cholérique soluble.

La nature chimique des toxines cholériques n'est pas mieux connue que celle des toxines sécrétées par d'autres microbes.

Vaccinations. — On doit étudier la vaccination contre l'infection cholérique, produite par l'inoculation sous-cutanée ou péritonéale, et la vaccination contre l'intoxication cholérique, c'est-à-dire contre le choléra intestinal. Ce sont là deux processus différents et la vaccination obtenue contre l'un de ces processus morbides ne serait pas valable contre l'autre.

Pour vacciner contre l'infection cholérique, on emploie des cultures dont la virulence a été atténuée par différents procédés : la chaleur, les substances chimiques, l'électricité.

Haffkine a donné deux procédés de vaccination. Le premier procédé consiste à employer un germe qui, après avoir été exalté par passage chez le cobaye, est ensuite atténué par culture dans un bouillon constamment aéré. Les cobayes sont vaccinés par inoculations successives de ce virus atténué et du virus exalté. Le second procédé consiste à vacciner des animaux à l'aide des cultures stérilisées par une solution phéniquée à 0,5 pour 100.

L'immunité créée par ces différents procédés est rapidement acquise. Elle persiste pendant deux et trois mois, et non pas seulement pendant quelques jours, comme on l'observe chez des animaux qui viennent d'être inoculés avec le *prodigiosus*, le bacille d'Eberth et le colibacille. C'est là ce qui permet, comme l'ont montré Pfeiffer et Nassau, d'affirmer la spécificité de la vaccination; les animaux vaccinés depuis quinze jours avec le *prodigiosus*, le bacille d'Eberth, le colibacille, succombent aussi vite que les témoins à une inoculation cholérique virulente.

Les animaux vaccinés contre l'infection cholérique sous-cutanée ou intrapéritonéale, ne le sont pas contre le choléra intestinal qui n'agit, nous l'avons dit, que par intoxication. Le fait est prouvé par les expériences de Ramon y Cajal, de Pfeiffer et Wasserman, de Metchnikoff.

Sérum antibactérien contre l'infection cholérique. — Les animaux vaccinés par les procédés que nous venons d'indiquer ont acquis ce qu'on est convenu d'appeler l'immunité active. Leur sérum présente les qualités suivantes :

Tout d'abord ce sérum possède la propriété, si on l'injecte sous la peau d'un animal de même espèce ou d'autre espèce, de créer chez lui l'immunité dite passive. Il jouit d'un pouvoir préventif; il protège un animal si on l'injecte quelque temps avant l'inoculation d'une dose mortelle de germe virulent. Ce pouvoir préventif est plus ou moins marqué, et en rapport avec le degré de vaccination. Klemperer a obtenu un sérum préventif à la dose de 2 centimètres cubes. Pfeiffer prépare un sérum qui préserve le cobaye à la dose d'un huitième et même d'un quinzième de milligramme contre la péritonite vibrionnienne.

Chez l'homme, les vaccinations préventives sont encore à l'étude (Haffkine).

Cette propriété préventive du sérum des vaccinés n'est pas liée aux propriétés bactéricides du sérum. En effet, les sérums normaux peuvent être bactéricides

sans être préventifs. D'autre part, la propriété bactéricide disparaît quand on chauffe à 70° le sérum des vaccinés, tandis que la propriété préventive persiste dans un sérum exposé à cette température. Ces deux propriétés ne sont cependant pas sans rapport entre elles; il suffit d'ajouter à un sérum préventif chauffé une trace de sérum normal, pour voir réapparaître la propriété bactéricide.

Cette propriété préventive n'est pas liée non plus au pouvoir antitoxique du sérum. Le sérum des animaux ainsi vaccinés est en effet inefficace contre l'injection de toxine cholérique.

Le sérum des animaux vaccinés jouit de la propriété d'immobiliser les vibrions, et de les transformer en granules. C'est là le *phénomène de Pfeiffer*, phénomène qui se produit avec le concours d'un organisme vivant. Voici en quoi consiste le phénomène.

Si l'on injecte dans le péritoine d'un cobaye solidement immunisé des vibrions cholériques développés dans du bouillon, ou si l'on injecte dans le péritoine d'un animal neuf une culture délayée de vibrions cholériques et en même temps une petite dose de sérum préventif, dans l'un et l'autre cas on voit, au bout d'un temps très court, une heure au maximum, un grand nombre de vibrions subir une modification très intéressante. Ils sont presque tous immobilisés et ne sont pas agglomérés, s'ils ne l'ont pas été au préalable par leur contact avec le sérum *in vitro*; la plupart d'entre eux ont perdu la forme bacillaire et se sont transformés en granules arrondies. Le phénomène se termine par une véritable bactériolyse des microbes injectés, qui, suivant la comparaison de C. Fränkel, sont dissous dans l'organisme comme un morceau de sucre est dissous dans l'eau.

Pfeiffer a essayé de tirer parti du phénomène pour l'explication de la théorie de l'immunité et pour le diagnostic des vibrions cholériques. Pour Pfeiffer, on pourrait considérer comme vibrions de nature sûrement cholérique tous les microbes ressemblant aux vibrions de Koch par leurs différents caractères et se transformant en granules, lorsqu'on les injecte en même temps que du choléra-sérum dans le péritoine d'un cobaye neuf. M. Metchnikoff n'admet pas la spécificité du phénomène de Pfeiffer.

Le phénomène de Pfeiffer est considéré comme un processus de défense de l'organisme, qui se produit en attendant l'afflux des leucocytes, quand celui-ci est retardé. M. Metchnikoff a, en effet, montré que si l'on favorise l'afflux des globules blancs dans le péritoine par injection préalable d'un peu de bouillon stérile, la transformation granuleuse ne se produit pas.

Le phénomène de Pfeiffer serait d'ailleurs sous la dépendance des leucocytes. Il ne se produit en effet qu'avec les humeurs qui en contiennent; il manque là où il n'y en a pas, par exemple dans la sérosité de l'œdème.

Le sérum des animaux vaccinés, s'il a un pouvoir préventif, n'est pas curateur de l'infection cholérique. Cependant injecté peu de temps après l'inoculation, il sauve l'animal dans quelques cas.

Le lait des animaux immunisés, chèvre (Ketscher), vache (Popoff), possède comme le sérum un pouvoir immunisant contre l'infection cholérique si on l'injecte préventivement dans le péritoine d'un cobaye; par la voie digestive il est sans action.

Sérum antitoxique. — Avec des toxines suffisamment actives, comme celles obtenues par Ransom ou par Metchnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni, on peut

immuniser les animaux contre l'intoxication cholérique et obtenir des sérums antitoxiques.

Les procédés d'immunisation n'ont rien de spécial. On inocule d'abord une dose de toxine non mortelle, puis des doses croissantes jusqu'à ce qu'une dose plusieurs fois mortelle ne provoque plus de réaction. Ainsi, un cobaye qui a reçu une première fois moins de 1/4 de centimètre cube (dose mortelle), arrive à supporter une dose 16 fois mortelle; un cheval qui, la première fois, a reçu 10 centimètres cubes, arrive à supporter, au bout de six mois, 200 centimètres cubes en une seule fois.

Le sérum de ces animaux ainsi vaccinés est antitoxique après le mélange *in vitro*, pour une dose plusieurs fois mortelle de toxine (jusqu'à 4 fois). A plus forte dose même, il protège quand l'injection de toxine et de sérum est faite en des points séparés (Metchnikoff, Roux et Taurelli-Salimbeni).

Avec ce sérum on peut protéger les jeunes lapins contre le choléra intestinal, qu'ils prennent assez facilement par ingestion de cultures cholériques (Metchnikoff). Cette action s'exerce, que les animaux reçoivent le sérum avant l'ingestion des cultures ou en même temps qu'elle; on obtient une mortalité de 49 pour 100 au lieu de 81 pour 100 pour les témoins. Ce sérum ne protège pas s'il est injecté après l'apparition de la diarrhée ou même 24 heures seulement après l'ingestion des vibrions, probablement à cause de son faible pouvoir antitoxique.

Réaction agglutinante. — Le sérum des vaccinés dilué dans l'eau physiologique ou dans du bouillon possède une autre propriété d'un grand intérêt, celle d'agglutiner *in vitro* les vibrions. Sous le champ du microscope, on voit les vibrions réunis en amas, qui donnent l'image des îlots d'un archipel. A l'œil nu la culture additionnée de sérum s'éclaircit et les vibrions forment un véritable précipité au fond du tube.

Cette propriété acquise par le sérum des animaux vaccinés contre le choléra, constatée d'abord par Bordet, a été ensuite étudiée par Gruber et Durham.

Pfeiffer et Kolle ont démontré d'une façon indiscutable que l'action agglutinante et l'action lysogène n'avaient rien de commun, et M. Salimbeni a prouvé récemment que l'agglutination du vibron cholérique n'apparaissait jamais dans les humeurs au sein de l'organisme des vaccinés, mais seulement lorsque les humeurs étaient mises au contact de l'air, à la façon de la coagulation du sang qui se produit à la sortie des vaisseaux.

Avec M. Nobécourt, j'ai cherché comment le sérum de cobayes, vaccinés avec différents échantillons de vibrions retirés des selles cholériques ou des eaux, réagissait *in vitro* en présence des cultures de divers vibrions. Nous avons vu, dans quelques cas, un même sérum acquérir à peu près le même pouvoir agglutinatif pour quelques vibrions retirés de l'homme et présenter un pouvoir différent pour des vibrions aquatiques. Même dans ces cas, tous les vibrions humains ne sont pas égaux devant le même sérum. Il nous est arrivé souvent d'obtenir un sérum possédant un taux agglutinatif à peu près identique pour divers échantillons provenant d'épidémies européennes (Hambourg, Constantinople, Paris 1884), et pourtant ce même sérum présentait un pouvoir beaucoup plus faible, quelquefois presque nul, vis-à-vis d'un échantillon isolé des selles d'un cholérique de l'Inde, échantillon que M. Metchnikoff avait mis obligeamment à notre disposition.

On conçoit donc que le diagnostic bactériologique des vibrions cholériques

proposé par Pfeiffer puisse prêter à des causes d'erreur. Il n'en est pas des vibrions cholériques comme des bacilles typhiques, dont les divers échantillons, quelle que soit leur provenance, réagissent toujours d'une façon presque identique vis-à-vis d'un sérum agglutinant.

Blachstein a montré que l'agglutination des vibrions pouvait être produite par certaines substances chimiques telles que la chrysoïdine.

Espèces cholériformes. — Des détails dans lesquels nous sommes entré dans cette étude bactériologique, il ressort que le vibron cholérique ne se présente pas toujours avec les caractères définis et exclusifs que lui avait assignés Koch, au premier temps de sa découverte.

On a isolé un grand nombre de vibrions présentant plus ou moins d'analogie avec le bacille de Koch. S'agit-il d'échantillons ou d'espèces diverses? D'autre part, y a-t-il identité de tous les vibrions cholériques comme le veulent Koch et son école, ou y a-t-il pluralité des vibrions cholériques, comme le prétend Cunningham?

Finkler et Prior dans un cas de choléra nostras, Deneke dans du vieux fromage, Miller et Lewis dans la bouche et dans les foyers de carie dentaire, Ywanoff dans les selles d'un typhique, Wernicke dans l'eau de l'Elbe, Sanarelli dans l'eau de Seine, ont isolé des vibrions variables dans leur morphologie, dans leur propriété de liquéfier la gélatine et de donner la réaction de l'indol. Gamaleia a isolé encore un vibron qu'il a appelé vibrio Metchnikowi, vibron spécial par sa grande virulence pour le pigeon.

Existe-t-il des caractères permettant d'établir si un vibron est vraiment cholérique ou non? Koch considère comme pathognomoniques la réaction de l'indol, la virulence pour le cobaye et la non-virulence pour le pigeon. Pfeiffer et Issaef donnent comme spécifique la propriété préventive du sérum des animaux vaccinés. Les animaux vaccinés ne résisteraient qu'aux inoculations intra-péritonéales de vibrions nettement cholériques. Enfin Pfeiffer et Vagedes ont donné encore comme critérium la réaction agglutinante obtenue avec un sérum anticholérique. Nous nous sommes déjà expliqués sur ce dernier phénomène.

La valeur des différents moyens de différenciation proposés est discutable.

Sanarelli a repris l'étude de toute une série de vibrions et de ses recherches conclut à la pluralité des vibrions cholériques. Les trente-deux espèces de vibrions isolés par lui dans l'eau de Seine ou dans l'eau des égouts lui ont fourni les résultats les plus divers. Les uns fabriquent de l'indol et les autres non. La plupart de ces vibrions ne donnent pas de vaccination réciproque; quelques-uns cependant se vaccinent réciproquement. D'autre part, Sanarelli a montré que si les vibrions trouvés chez les gens sains étaient sans action pathogène, on pouvait cependant arriver à leur conférer la virulence.

Reste le caractère indiqué par Pfeiffer, le fait de l'immunisation par le sérum des animaux vaccinés.

Les expériences de Pfeiffer et Issaef ont été entreprises uniquement avec le vibron de Hambourg; la réaction de Pfeiffer, dit Sanarelli, est donc, en somme, la réaction vis-à-vis du vibron de Hambourg et peut se formuler ainsi: tout vibron qui tue un cobaye immunisé par le sérum d'un animal vacciné contre le vibron de Hambourg n'est pas un germe cholérique. Or, douze variétés de vibrions isolés par Sanarelli se vaccinent les uns les autres, mais ne vaccinent