

Trousseau, comme on le voit, avait déjà commencé à modifier la doctrine de son maître. Il était bien près de prendre pour l'effet ce que Bretonneau considérait comme la cause. Cette évolution fâcheuse fut bientôt achevée par ses continuateurs. Frappés de la disproportion excessive qu'ils reconnaissaient entre l'importance des lésions de la surface gutturale et celle des symptômes généraux, découragés par la fréquence extrême des insuccès de la thérapeutique locale, la plupart d'entre eux abandonnèrent la conception de la *diphthérite* de Bretonneau, maladie primitivement locale déterminant des symptômes généraux consécutifs, pour adopter celle qui considérait la *diphthérie* comme une maladie générale d'emblée, dont les fausses membranes n'étaient qu'une manifestation localisée⁽¹⁾.

Quatrième période. — L'étude bactériologique de la diphthérie et surtout l'application rigoureuse de la méthode expérimentale à cette étude, jusque-là stérile, devait faire justice de ces doctrines erronées, aussi bien que des idées étroites de l'école anatomique allemande. En 1885, Klebs⁽²⁾ découvrit dans les fausses membranes de l'angine, où depuis longtemps déjà la présence de nombreux micro-organismes avait été reconnue, un bacille dont il donna une description précise en le signalant comme l'agent spécifique de la diphthérie. Toute gratuite au début, cette hypothèse parut justifiée dans une certaine mesure lorsque les recherches de Loeffler eurent été publiées, en 1884⁽³⁾ et en 1887⁽⁴⁾. Ces recherches, en effet, confirmaient et complétaient les observations de Klebs. En inoculant des cultures pures du bacille découvert par cet auteur sur les muqueuses pharyngées et trachéales excoriées de divers animaux, Loeffler avait obtenu des fausses membranes qui s'étendaient sur la muqueuse saine, au delà du foyer d'inoculation, présentaient une structure identique à celles de la diphthérie humaine, et à la surface desquelles le bacille inoculé se développait activement.

Cependant, ni Loeffler, ni Hoffmann⁽⁵⁾, qui avait repris les mêmes recherches après lui, ne s'étaient crus autorisés à admettre sans réserve la spécificité du bacille. La démonstration n'en fut donnée d'une manière satisfaisante qu'en 1888 par Roux et Yersin⁽⁶⁾. Ces auteurs confirmèrent les observations de Loeffler en ajoutant aux constatations de ce dernier celles des paralysies diphthériques expérimentales. Ainsi complétée, la maladie expérimentale reproduisait la maladie humaine assez exactement pour mettre en évidence et établir solidement le rôle spécifique du bacille.

A cette date, commence la période actuelle de l'histoire de la diphthérie telle que nous allons l'exposer dans les pages suivantes⁽⁷⁾. Nous pouvons définir cette maladie comme il suit :

(1) On trouvera les indications bibliographiques des travaux les plus importants parus depuis Bretonneau dans les articles *Angine, Croup, Diphthérie* des Dictionnaires de Dechambre et de Jaccoud. — Consulter de plus les *Traité*s classiques de Pathologie infantile de RILLIET et BARTHEZ, CADET DE GASSICOURT, BOUCHUT, HENOCH, etc., et les monographies de OERTEL, FRANCOU, DELTHIL, etc.

(2) *C. R. du Congrès de Wiesbaden*, 1885.

(3) *Mittheilungen aus den K. Gesundheitsamte*, 1884, p. 421.

(4) *Centralbl. f. Bakteriol.*, 1887, p. 105.

(5) *Wiener med. Woch.*, 1888, n° 5 et 4.

(6) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888-89-90.

(7) Depuis la publication de la 1^{re} édition de cet ouvrage, en 1892, plusieurs études d'ensemble de la diphthérie ont paru en Europe et en Amérique. Parmi les travaux français, on devra consulter les articles *Diphthérie* de GRANCHER et BOULLOCHÉ, — *Traité* de Brouardel

Définition. — La diphthérie est une affection microbienne contagieuse, caractérisée par l'évolution, à la surface de certaines muqueuses ou de la peau érodée, d'une inflammation due à la pullulation sur la région malade d'un micro-organisme particulier, ayant la propriété de sécréter une substance toxique qui, absorbée au niveau des points où elle est fabriquée, empoisonne l'organisme atteint. Cette inflammation spécifique donne lieu, dans la grande majorité des cas, au développement sur les parties malades de pseudo-membranes fibrineuses plus ou moins adhérentes, renfermant le microbe pathogène, qui a reçu le nom de *bacille diphthérique*.

Les régions le plus souvent atteintes par la diphthérie sont le pharynx, les fosses nasales, le larynx et la trachée. Lorsque l'affection siège à la gorge, au niveau des amygdales, du voile palatin, du pharynx, elle prend le nom d'*angine diphthérique*. Lorsqu'elle frappe le larynx, on lui donne le nom de *croup diphthérique*.

II

ÉTILOGIE ET PATHOGÉNIE

Le bacille diphthérique. — Lorsqu'on enlève de la gorge d'un malade atteint d'angine diphthérique un petit débris de fausse membrane, qu'on l'applique sur une lame de verre et qu'après en avoir détaché le mucus adhérent avec du papier buvard, on le frotte sur des lamelles de verre sèches et bien propres, celles-ci se recouvrent d'un mince enduit où les micro-organismes existent en abondance.

Pour bien voir au milieu d'eux le bacille diphthérique, il faut colorer les lamelles, après les avoir séchées et passées dans la flamme, avec le violet de gentiane par la méthode de Gram⁽¹⁾ ou avec le bleu composé de Roux⁽²⁾. On examine ensuite la préparation, lavée à l'eau, avec un objectif à immersion homogène.

Dans les cas ordinaires, on voit au milieu d'autres micro-organismes (coccus variés, streptocoques, bactéries diverses), de petits amas de bâtonnets à bouts arrondis et renflés, parfois légèrement recourbés, granuleux et inégalement

et Gilbert, tome 1^{er}, p. 464; et de SEVESTRE et L. MARTIN, *Traité des maladies de l'enfance* de Grancher, Comby et Marfan, tome 1^{er}, p. 516). Ce dernier article, des plus remarquables, est aussi riche en renseignements cliniques que bactériologiques. On lira aussi avec intérêt les monographies de BOURGES, *La Diphthérie*, 1892; BOULLOCHÉ, *Angines à fausses membranes*, 1894; de H. BARBIER et ULMANN, *La diphthérie*, 1898; et de VARIOT, *Diphthérie et sérumthérapie*, 1898. Nous nous bornerons, dans notre article, à un petit nombre d'indications bibliographiques relatives à quelques points particuliers.

(1) On colore la préparation par le violet de gentiane aniliné, on lave à l'eau pure, et on examine. Tous les microbes sont colorés en violet. On ajoute ensuite au violet le liquide de Gram et on passe à l'alcool absolu. Les bacilles restent seuls colorés.

(2) Ce bleu se prépare en mélangeant une solution de 1 gramme de violet dahlia dans 90 grammes d'eau distillée additionnée de 10 grammes d'alcool absolu, avec une solution de 1 gramme de vert de méthyle dans une égale quantité du même liquide. On mélange une partie de la solution de violet avec deux parties de la solution de vert. On fait tomber sur la lamelle quelques gouttes du mélange, on laisse en contact 3 minutes, puis on lave à l'eau pure, on place la lamelle sur une lame de verre, et après avoir enlevé l'excès d'eau avec du papier buvard, on examine. Les bacilles sont mieux colorés que les autres microbes.

teintés. Ce sont les bacilles diphthériques. Ces bâtonnets ont une dimension moyenne de 2,5 à 5 μ de largeur sur 7 μ de longueur; c'est-à-dire qu'ils sont à peu près de la longueur des bacilles de la tuberculose, mais plus épais que ceux-ci du double environ.

Dans certains cas, ils existent presque seuls dans les préparations, et dans d'autres, lorsqu'on a affaire à des fausses membranes friables renfermant un grand nombre de micro-organismes, il faut quelquefois, pour distinguer nettement au milieu d'eux les bacilles diphthériques, durcir les membranes dans l'alcool et en faire des coupes qu'on colore par la méthode de Gram et l'éosine. En examinant ces préparations, on voit que la couche superficielle de la fausse membrane est remplie de microbes vulgaires, mais au-dessous d'elle on trouve, emprisonnés dans la fibrine, des petits amas très nets de bacilles caractéristiques. Ces bacilles ne se rencontrent pas seulement dans les fausses membranes pharyngées; on les voit de même, quoique en moins grand nombre, dans les fausses membranes trachéales recueillies après la trachéotomie ou crachées par le malade. On les retrouve très fréquemment chez les diphthériques à la surface des muqueuses des premières voies non recouvertes par l'exsudat. Sur les coupes des fausses membranes, lorsque la maladie affecte une marche rapide surtout, on voit parfois les bacilles former une couche continue à la surface libre; ils y sont presque à l'état de pureté, séparés de la muqueuse dépouillée de l'épithélium par une couche épaisse de fibrine, renfermant dans ses mailles des cellules migratrices et des cellules épithéliales à divers degrés d'altération. Plus souvent la couche la plus superficielle n'est guère composée que de microbes vulgaires, et les bacilles spécifiques sont situés au-dessous d'eux. Mais leurs amas ne pénètrent pas dans la couche profonde de la fausse membrane, on ne les trouve pas non plus, groupés, dans le chorion muqueux sous-jacent.

Lorsque la maladie marche vers la guérison, le nombre des bacilles spécifiques diminue dans les fausses membranes, et très souvent ceux-là disparaissent de la gorge en même temps que celles-ci. Mais le fait est loin d'être constant: le bacille peut persister après la disparition des fausses membranes, plusieurs jours et même plusieurs semaines après la guérison. Exceptionnellement, il peut y persister beaucoup plus longtemps.

Cultures.—Le bacille de la diphthérie se cultive parfaitement bien sur le sérum solidifié pur de sang de bœuf, ou celui de veau, de mouton ou de cheval, additionné d'un peu de peptone. Pour l'ensemencer, on se munit d'un fil de platine, aplati en spatule à l'une de ses extrémités. On stérilise cette spatule à la flamme d'un bec Bunsen ou d'une lampe à alcool, on la laisse refroidir, on la passe légèrement sur la surface d'une fausse membrane et on ensemence immédiatement deux ou trois tubes sans la recharger, en couvrant la surface du sérum de stries parallèles rapprochées. On met ensuite ces tubes à l'étuve, à une température de 36° à 37°, et on les examine au bout de 20 à 24 heures. On voit alors à la surface du sérum de petites taches arrondies, blanc grisâtre, dont le centre est plus opaque que la périphérie: ce sont des colonies de bacilles diphthériques. Sur le tube ensemencé en dernier lieu, elles sont en général assez espacées pour que ces caractères soient bien apparents. Parfois elles existent seules ou à peu près seules, mais dans d'autres cas elles sont environnées de colonies formées par des cocci, des streptocoques ou des staphylocoques, qui présentent des caractères

différentiels particuliers dont l'étude sera faite plus tard. Lorsque l'on possède un tube de sérum où les colonies de bacilles diphthériques sont bien isolées, il est facile d'obtenir très vite des cultures pures: pour cela, on recueille sur une de ces colonies, avec le fil de platine stérilisé, un peu de semence que l'on dilue dans du bouillon de veau peptonisé contenu dans un tube à essai et qu'on agite vivement et assez longtemps. On étale ensuite un peu de cette dilution à la surface du sérum d'un tube neuf.

Dans les cultures pures ainsi obtenues, les colonies apparues au bout de 18 ou 20 heures poussent énergiquement. Si elles sont très rapprochées, elles restent très petites. Si, au contraire, elles sont suffisamment espacées, elles s'étendent rapidement et peuvent, au bout de 4 ou 5 jours, atteindre 4 ou 5 millimètres de diamètre. Le sérum gélatinisé n'est pas le seul milieu sur lequel on puisse cultiver le bacille diphthérique. Celui-ci pousse encore sur le blanc d'œuf coagulé ou sur la gélose, mais le sérum est le milieu de choix, parce que, sauf une ou deux exceptions, aucun autre des micro-organismes qu'on trouve d'ordinaire dans la bouche ou les fausses membranes ne se développe sur ce milieu de culture aussi vite que le bacille de Klebs; fait extrêmement important, comme nous le verrons, au point de vue des applications de la bactériologie au diagnostic. Pour étudier à l'aise le bacille diphthérique, il suffit de porter sur une lamelle une parcelle de colonie sur sérum et de l'y délayer dans une goutte d'eau. Après quoi on sèche, on fixe et on colore.

« Au microscope, on voit que le bacille diphthérique se présente sous la forme de bâtonnets allongés, renflés aux deux extrémités, disposés par groupes; dans ces groupes, les bacilles sont quelquefois très enchevêtrés, ou encore on rencontre une série de trois ou quatre bacilles rangés parallèlement les uns aux autres; parfois, ils sont placés bout à bout, mais alors les corps de deux bacilles ne se trouvent pas dans le prolongement l'un de l'autre, ils figurent des accents circonflexes plus ou moins ouverts; on a ainsi une figure générale qui rappelle assez bien un assemblage de caractères cunéiformes, ou mieux encore des aiguilles courtes et trapues qu'on aurait laissé tomber par petits tas sur une table. Traité par la méthode de Gram, ce bacille reste coloré⁽¹⁾. »

Un bon milieu liquide de culture du bacille est le bouillon de veau peptonisé. Son développement, entre 35° et 37° à l'étuve, y est très rapide: dès la fin du premier jour, la culture s'y montre sous forme de petits grumeaux très fins qui s'attachent aux parois du vase; plus tard, les microbes forment rapidement une épaisse couche blanche au fond du tube et le bouillon qui surnage, sauf à sa surface où se forme un légervolle après deux ou trois jours, conserve sa transparence.

Pendant que se fait cette culture, le bouillon devient bientôt acide, puis lorsque l'air a libre accès dans la culture, il reprend une réaction alcaline (Roux et Yersin). Dans ce milieu liquide, le bacille prend en général un aspect un peu différent de celui qu'il présente sur les cultures sur sérum, et plus analogue à celui sous lequel on le voit dans les fausses membranes. Il paraît moins régulier, plus gros; ses extrémités ou l'une d'elles sont souvent fortement renflées en forme de massue; la coloration se fait inégalement. Au bout d'un temps assez court, ses modifications deviennent de plus en plus accusées, mais il suffit d'un nouvel ensemencement de ces bacilles sur le sérum ou le bouillon pour voir de nouvelles cultures reprendre l'aspect primitif.

(1) L. MARTIN, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892.

Le bacille diphthérique est toujours immobile, ainsi qu'on peut s'en convaincre en l'examinant en goutte pendante.

Quelque soit le milieu de culture adopté, la température favorable au développement du bacille est toujours entre 55° et 57°. Au-dessous de 29° et au-dessus de 40°, il ne se développe plus. Les cultures sont toujours tuées lorsqu'on les chauffe à 58° pendant quelques minutes, ce qui démontre que le microbe ne donne pas de spores, contrairement à l'opinion émise par quelques auteurs, Klebs et Babès entre autres.

« Le bacille diphthérique, disent Roux et Yersin, se conserve très longtemps vivant dans les cultures; il n'est pas rare de trouver des colonies actives sur des tubes de sérum restés pendant plus de six mois à la température de la chambre. Des cultures en bouillon pourraient encore être rajeunies après un séjour de cinq mois à 55° et de deux mois à 59°. Enfermées en tubes clos, sans air et à l'abri de la lumière, elles conservent pendant plus longtemps encore leur vitalité et leur virulence. Les bacilles contenus dans de semblables tubes datant de treize mois nous ont donné des cultures actives. »

Cependant, il ne se forme pas de spores dans ces cultures, car elles périssent comme les jeunes quand on les chauffe à 58°.

Les bacilles desséchés sont capables, au contraire, de supporter une chaleur sèche de 98° prolongée pendant une heure. Cependant, dans les conditions ordinaires, ils périssent un peu moins lentement que dans les cultures : ainsi des bacilles provenant de cultures sur sérum ayant été desséchés et conservés par Roux et Yersin, les uns à 55°, les autres à la température ordinaire, à l'abri de la lumière, les premiers ont cessé de donner des cultures après trois mois, les seconds après quatre mois. Une fausse membrane trachéale enveloppée dans un linge, puis pliée dans du papier et mise dans une armoire fermée, dès qu'elle fut sèche, a donné, après cinq mois, de très belles cultures. Une autre, préparée de même, mais conservée suspendue à l'air, exposée au soleil et à la pluie pendant les mois d'avril et mai, s'est montrée stérile au bout d'un mois et demi, ce qui semble montrer que sous l'action du soleil et de l'humidité alternant avec la sécheresse le virus est détruit plus rapidement.

Le bacille diphthérique oppose une très grande résistance à l'action des antiseptiques chimiques, ainsi que l'a constaté Loeffler. Les recherches les plus complètes faites à ce sujet sont dues à Chantemesse et Widal⁽¹⁾, à d'Espine et Maignac⁽²⁾, Babès⁽³⁾ et H. Barbier⁽⁴⁾. Pour étudier la valeur comparative des divers antiseptiques, les premiers de ces auteurs ont eu recours à la méthode suivante : on immerge dans une culture virulente un faisceau de fils stérilisés, puis on les sèche à l'étuve. Un certain nombre de ces fils sont alors plongés, séparément et pendant un temps égal, dans diverses solutions antiseptiques, puis lavés dans l'eau stérilisée ou l'alcool à 90° pour être débarrassés de toute trace de l'antiseptique où ils ont séjourné. On place ensuite chacun de ces fils dans un tube de bouillon pur, en même temps qu'on met dans d'autres tubes quelques-uns de ceux qui n'ont subi l'action d'aucun antiseptique, et on met le tout à l'étuve à 37°. Les derniers tubes donnent de très belles cultures; les autres se comportent différemment suivant l'antiseptique employé. Tantôt la

(1) *Revue d'hygiène*, 1889, p. 609.

(2) *Revue médicale de la Suisse romande*, 1890.

(3) *Archiv. f. Path. Anat.*, 1890.

(4) *France médicale*, 1^{er} janvier 1892.

culture ne paraît pas modifiée; tantôt elle est retardée; tantôt enfin le tube reste stérile. Le biiodure de mercure à 1,5 pour 1000, le phénol à 10 pour 1000 n'ont pas empêché le bacille de pulluler, après trois minutes d'action sur les fils. La culture n'est retardée ou empêchée que par des solutions beaucoup plus fortes. Ainsi, pour que le tube reste stérile sous l'action du phénol, il faut que le fil ait été plongé dans la glycérine phéniquée à 10 pour 100. La glycérine phéniquée à un titre inférieur et l'huile phéniquée au même titre ne font que retarder la culture.

H. Barbier, en suivant une méthode différente, déjà employée par Babès, et qui consiste à badigeonner avec le liquide antiseptique une culture sur sérum, et à faire un ensemencement cinq minutes après, s'est rapproché davantage des conditions où se trouve le médecin qui applique des topiques sur les pseudo-membranes de la gorge. Il a surtout étudié la valeur comparative des divers topiques phéniqués; et il a reconnu que le plus actif de tous ceux qui peuvent être employés sur le malade, sans douleur ni action caustique sur la muqueuse, est le phénol absolu en solution au cinquième dans le sulforicinate de soude à réaction légèrement acide (phénol sulforiciné à 20 pour 100).

Inoculations expérimentales. — Les inoculations de cultures pures de bacille diphthérique permettent de reproduire chez les animaux les lésions et les symptômes de la diphthérie humaine. Quelques-uns cependant, tels que les souris et les rats, présentent une immunité naturelle à peu près absolue, mais les veaux, les moutons, les chiens, les poules, plus encore les lapins, les pigeons et les cobayes surtout, sont tous sensibles à l'action du virus diphthérique.

Inoculations sur les muqueuses. — En badigeonnant une muqueuse saine avec un pinceau chargé d'une culture de Klebs, on ne détermine pas d'inflammation ni de fausses membranes; mais si l'on opère sur une muqueuse préalablement excoriée, on y réussit toujours. On peut ainsi déterminer des diphthéries pharyngées chez les pigeons et les poules, des diphthéries pharyngées, conjonctivales ou vulvaires chez les lapins et chez les cobayes. En inoculant le virus dans la trachée après la trachéotomie, on reproduit tous les symptômes du croup chez l'homme, avec tuméfaction des tissus et des ganglions du cou, et presque toujours les animaux succombent rapidement.

Inoculations sur la peau dénudée. — On peut obtenir de belles fausses membranes en inoculant des cultures pures sur l'oreille des lapins, après application de vésicatoires. Mais ces fausses membranes exposées à l'air se dessèchent et disparaissent assez rapidement.

Inoculations sous-cutanées. — Les inoculations sous-cutanées, si elles sont faites avec une dose suffisante de culture active, tuent rapidement les pigeons, les lapins et les cobayes. Les lapins inoculés ainsi présentent bientôt autour du point d'inoculation un œdème considérable. Ils deviennent tristes, cessent de manger, et meurent au bout de quelques jours, sans convulsions, dans l'attitude où ils se trouvent. A l'autopsie, on trouve un œdème étendu, infiltrant un tissu induré avec pointillé hémorragique, de la tuméfaction des ganglions inguinaux et axillaires, de la congestion de l'épiploon et du mésentère avec de petites ecchymoses le long des vaisseaux. Le poumon et les plèvres sont presque tou-

jours sains; mais le foie est jaune et atteint de dégénérescence grasseuse.

Les cobayes sont beaucoup plus sensibles que les lapins à ces inoculations, qui les font périr souvent en moins de trente-six heures. A l'autopsie, on trouve un enduit membraneux, grisâtre au point d'inoculation, un œdème gélatiniforme plus ou moins étendu, une dilatation vasculaire généralisée. La congestion est surtout marquée au niveau des capsules surrénales. Contrairement à ce qu'on observe chez les lapins, les plèvres sont le plus souvent remplies par un épanchement séreux, et parfois même le tissu du poumon est splénisé; mais le foie n'est pas dégénéré.

Les inoculations *intra-péritonéales* tuent les cobayes moins rapidement que les injections sous-cutanées.

Inoculations intra-veineuses. — Avec une dose suffisante d'une culture active en injection intra-veineuse, les lapins succombent en moins de soixante heures. A l'autopsie, on trouve une congestion généralisée des organes abdominaux, une dilatation des vaisseaux, de la tuméfaction des ganglions, une néphrite aiguë et très souvent de la dégénérescence grasseuse du foie.

Paralysies diphthériques expérimentales. — Loeffler, dans ses expériences, s'était servi de cultures peu virulentes, car les inoculations sous-cutanées et intra-veineuses de ces cultures aux animaux n'avaient pas tué ceux-ci aussi facilement que celles utilisées plus tard par Roux et Yersin. Trois fois, chez des oiseaux qui avaient résisté à l'inoculation, Loeffler avait observé des troubles moteurs consécutifs, mais il avait cru pouvoir les attribuer à des lésions articulaires ou autres trouvées à l'autopsie. N'ayant pu obtenir de paralysies diphthériques expérimentales, il avait été obligé de faire quelques réserves sur la valeur spécifique du bacille de Klebs.

Roux et Yersin ont été plus heureux. En inoculant à leurs animaux, soit dans le pharynx ou la trachée, soit sous la peau, soit dans les veines, de petites quantités de culture, à doses insuffisantes pour amener une mort rapide chez les animaux assez résistants à l'action du virus, ils ont observé la plupart du temps des paralysies expérimentales; et les observateurs qui les ont suivis dans la même voie ont obtenu des résultats identiques. Chez les lapins, ces paralysies commencent par le train postérieur, où elles peuvent rester cantonnées quelque temps, mais le plus souvent elles sont rapidement envahissantes, gagnent le cou et les membres antérieurs en quelques jours, et tuent l'animal par arrêt de la respiration et du cœur. Parfois, la paralysie peut débiter par les muscles du cou ou par ceux du larynx, ce qui donne de la rauçité de la voix. A l'autopsie, si la mort a été assez rapide, on trouve de la congestion des ganglions et de divers organes; le foie est parfois grasseux. Dans quelques cas seulement, la consistance de la moelle épinière a paru diminuée à Roux et Yersin, mais l'examen des nerfs n'y a jamais décelé aucune altération. Cependant, on ne trouve pas de lésions articulaires ou autres expliquant les troubles moteurs et permettant de les attribuer à une autre cause qu'à une paralysie progressive. C'est chez le chien que ces paralysies sont surtout intéressantes à étudier, à cause de la facilité qu'on a à explorer chez cet animal les fonctions musculaires. Les chiens inoculés se rétablissent plus fréquemment que les lapins, et les paralysies qu'on obtient chez eux offrent une ressemblance complète avec celles qu'on observe chez l'homme.

Recherche du bacille diphthérique dans les organes des animaux inoculés. — Roux et Yersin ont inoculé sous la peau une série de cobayes et les ont sacrifiés de deux heures en deux heures à partir du moment de l'inoculation, afin de savoir si avant la mort il ne se fait pas en quelque point du corps de l'animal une culture plus ou moins abondante, mais de courte durée. Au point de l'inoculation, où l'œdème est déjà manifeste au bout de quatre heures, les bacilles augmentent de nombre jusqu'à la sixième ou la huitième heure. Un certain nombre sont enfermés dans les cellules. Bientôt leur nombre décroît, et, au moment de la mort de l'animal, il y a moins de bacilles qu'il n'y en avait six ou huit heures après l'inoculation. L'ensemencement du sang et des organes des animaux ainsi sacrifiés est stérile; l'œdème local seul et la sérosité péritonéale, quand l'injection a été faite sous la peau de l'abdomen, donnent des cultures.

Il n'y a plus de microbes dans le sang des lapins inoculés par la voie intra-veineuse seize heures après cette inoculation. Lorsqu'ils ont succombé de la trentième à la trente-sixième heure, l'ensemencement de leurs organes est stérile; mais en ensemençant la rate d'animaux sacrifiés cinq ou six heures après l'inoculation, on obtient des cultures, surtout si l'on n'ensemence la rate qu'après l'avoir mise à l'étuve pendant une demi-journée ou une journée.

Ces expériences de Roux et Yersin, d'accord avec celles faites antérieurement par Loeffler, établissent que le bacille ne pullule pas dans les organes des animaux inoculés. Les recherches récentes de Métin⁽¹⁾ confirment entièrement les précédentes. Ce n'est qu'à l'état d'unités isolées et très peu nombreuses qu'on peut retrouver le bacille dans l'organisme, après les inoculations intra-veineuses de cultures pures, lorsqu'on sacrifie les animaux quelques heures après l'inoculation et qu'on procède immédiatement à la recherche du micro-organisme. Mais en ne procédant à l'autopsie qu'tardivement après la mort, on voit que le bacille s'est développé, *post mortem*, dans le sang et les organes, comme dans la rate mise à l'étuve.

Le poison diphthérique. — Le bacille diphthérique n'envahissant pas les organes des animaux inoculés sur les muqueuses et restant sur les surfaces malades, il était légitime, avant toute expérience, d'attribuer à l'absorption des produits solubles qu'il fabrique les symptômes généraux présentés par les malades. Loeffler et Oertel admettaient donc avec raison l'existence d'un poison diphthérique. Roux et Yersin ont démontré l'exactitude de cette hypothèse en étudiant les effets produits sur les animaux par les injections sous-cutanées de cultures pures dans le bouillon stérilisé par la filtration sur porcelaine.

Effets sur les animaux. — En filtrant ainsi, avec toutes les précautions voulues, une culture devenue alcaline, par exemple âgée de quinze à vingt jours, on obtient un liquide clair, ne renfermant aucun microbe. Si l'on injecte sous la peau d'un cobaye 1 ou 2 centimètres cubes de ce liquide, l'animal commence au bout de quatre ou cinq jours à maigrir et à devenir triste; il se plaint dès qu'on le touche; ses urines deviennent sanglantes. Rapidement, la faiblesse et l'émaciation s'accroissent et la mort survient. A l'autopsie, on trouve, au point d'inoculation, un œdème hémorragique, aux poumons de l'œdème et des foyers congestifs isolés, et dans les plèvres un épanchement séreux. On voit de plus une

⁽¹⁾ *Annales de l'Institut Pasteur*, 1898, p. 596.