

formées par des pellicules sèches et écailleuses qui n'adhèrent que faiblement au milieu de culture. En reportant une pellicule dans un autre tube et la frottant énergiquement sur la surface nutritive, on voit la végétation débiter vers le dixième jour; souvent les grains finissent par se réunir et, au bout d'un mois, forment des membranes assez denses et assez épaisses.

On peut aussi, comme l'ont montré Koch et Kitasato, avoir d'emblée une culture pure avec les expectorations. Il faut prendre un crachat nummulaire, laver sa surface et semer une parcelle de son intérieur. Les cultures ainsi obtenues sont plus humides et plus luxuriantes.

En se servant du sérum liquide, Koch a vu la végétation se faire sous forme d'une pellicule occupant la surface libre, mais se fendillant et tombant au fond du tube dès qu'on l'agitait.

On a essayé de remplacer le sérum par d'autres milieux nutritifs. Makins se serait bien trouvé du liquide de l'hydrocèle solidifié. MM. Nocard et Roux (1) ont employé des bouillons et de la gélose additionnés de 4 à 5 pour 100 de glycérine neutre. En se servant de ce milieu, les auteurs ont obtenu des cultures extrêmement abondantes; toute la surface nutritive est recouverte d'une masse épaisse, mamelonnée et grise; le développement se fait très vite, et les colonies sont déjà visibles au bout de 4 jours. Dans le bouillon contenant 5 à 8 pour 100 de glycérine, il se produit une membrane épaisse, occupant la surface du liquide, ou bien d'abondants flocons qui tombent au fond du vase. Malheureusement ces cultures ont eu pour point de départ un tubeensemencé avec de la tuberculose du faisan. A l'époque où MM. Nocard et Roux ont publié leurs recherches, on croyait que la tuberculose des oiseaux était identique à celle des mammifères et particulièrement à celle de l'homme; aussi ces cultures ont-elles servi à un grand nombre d'expériences poursuivies dans notre pays. Tous les résultats obtenus ne peuvent s'appliquer qu'aux gallinacés; car on sait aujourd'hui que la tuberculose aviaire est due à une variété différente de celle qu'on trouve chez l'homme, résistant beaucoup plus aux causes de destruction, ayant une végétabilité plus énergique, mais n'ayant pas le même pouvoir pathogène, au moins pour le cobaye. Dans beaucoup de travaux l'origine de la culture n'a pas été indiquée: de là des contradictions et des confusions qui viennent obscurcir l'histoire bactériologique de la tuberculose.

FIG. 8.  
Culture de tuberculose sur sérum sanguin gélatinisé.

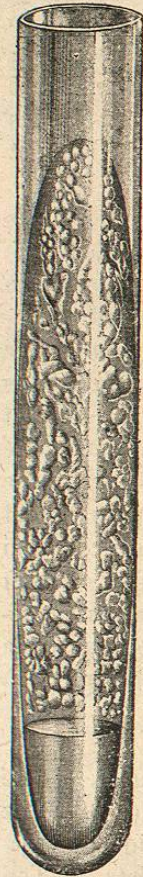
L'adjonction de la glycérine aux matières nutritives ne constitue pas moins un progrès très réel; la tuberculose humaine peut aussi se développer sur les milieux solides ou liquides ainsi préparés. C. Fränkel (2) parle d'une culture semée sur agar glyciné et ayant pour origine un tube de sérum fourni par Koch; c'était le cent septième ensemencement.

Straus et Gamaleïa (3) ont décrit avec grand soin les caractères que présentent

(1) NOCARD et ROUX, Sur la culture du bacille de la tuberculose. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1887.

(2) C. FRÄNKEL, *Grundriss der Bakterienkunde*, III. Aufl., Berlin, 1890.

(3) STRAUS et GAMALEÏA, Recherches expérimentales sur la tuberculose. *Archives de médecine exp.*, 1891.



les cultures de tuberculose humaine sur gélose glycinée: c'est un enduit blanchâtre, hérissé d'une foule de petites saillies verruqueuses; la surface de la culture demeure toujours sèche, terne et mate; les cultures de la tuberculose aviaire sont humides, grasses, plissées et molles.

Dans le bouillon glyciné, le développement se fait sous forme d'un voile assez épais et le milieu reste toujours clair.

La glycérine peut être remplacée par de la glycose, de la saccharose, de la lactose, du glycogène, de la dextrine. Toutes ces substances se transforment partiellement en alcool, ce qui donne aux cultures une odeur de fruit; une partie sert à former la cellulose qu'on trouve dans le protoplasma des bacilles. Hammerschlag, à qui nous devons ces résultats, fait remarquer que les matières sécrétées par le bacille tuberculeux n'arrêtent pas son développement. Si l'on filtre une culture ancienne et qu'on l'ensemence de nouveau, le bacille se développe aussi bien que dans un milieu neuf. C'est un résultat différent de celui qu'on obtient avec la plupart des autres microbes.

Le bacille de la tuberculose se cultive facilement sur les tranches de pommes de terre<sup>1</sup>, surtout quand on les a fait tremper, avant de les stériliser, dans de l'eau glycinée à 5 p. 100. Le milieu convient si bien au bacille, qu'on obtient d'emblée des cultures en y semant des produits tuberculeux naturels. D'autres légumes, tels que les radis blancs, les radis noirs, les choux raves constituent encore des bons milieux de culture.

En examinant, à un grossissement de 80 ou 100 diamètres, une colonie développée sur le sérum, on voit qu'elle est formée d'une masse centrale d'où s'échappent de petites lignes fines, onduleuses, plusieurs fois coudées. En faisant des préparations par impression, c'est-à-dire en appliquant sur la colonie une lamelle et en l'enlevant avec soin de façon à ne pas étaler les bacilles, on peut se rendre compte de l'arrangement que présentent les microbes dans une colonie; au centre, les bâtonnets sont tassés et enchevêtrés; dans les lignes rayonnantes, ils sont disposés longitudinalement, leur grand axe étant dans la direction de la colonie; les bacilles ne sont pas accolés, mais séparés les uns des autres ou plutôt réunis par une substance qui les agglutine (Koch).

**Morphologie du bacille.** — Le bacille de la tuberculose se comporte d'une façon assez spéciale vis-à-vis des matières colorantes: tout le monde connaît aujourd'hui le procédé d'Ehrlich (2), qui permet de le distinguer dans les tissus, les humeurs, les crachats (fig. 18) et de le différencier des autres microbes (sauf celui de la lèpre). Cette méthode est basée sur le fait suivant: le microbe coloré par une couleur d'aniline, soit à chaud, soit à froid, après un séjour prolongé dans des bains colorants, résiste à l'action décolorante de l'acide nitrique au tiers.

Ainsi coloré, le bacille se présente sous l'aspect de petits bâtonnets, dont la longueur varie de 2 à 10  $\mu$ , et oscille généralement entre 3 et 4, la largeur de 0,5 à 0,5. Dans les cultures, les bacilles sont un peu plus petits que dans les crachats, leur volume est uniforme; pourtant on voit parfois des renflements ovoïdes qui seraient en rapport avec la présence de spores. Les bâtonnets sont

(1) PAWLOWSKY, Culture des bacilles de la tuberculose sur la pomme de terre. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888.

(2) EHRLICH, *Deutsche med. Wochenschrift*, 1882. — Beiträge zur theorie der Bacillenfarbung. *Charité-Annalen*, 1886.

droits ou infléchis, quelquefois disposés en S ou recourbés à une de leurs extrémités. Leur protoplasma est tantôt homogène, tantôt formé de petits grains ovoïdes ou arrondis, placés bout à bout. Souvent on observe dans leur intérieur de petites vacuoles incolores, ovalaires, qui ont été considérées comme des spores, ce qui expliquerait la grande résistance du microbe aux différentes causes de destruction.

On peut aussi voir au microscope le bacille de la tuberculose, dans les tissus, sans employer de matière colorante; il suffit de se servir de potasse; c'est par cette méthode que Baumgarten l'a entrevu peu de temps avant la découverte de Koch. Quand ils n'ont pas été colorés, les bacilles se présentent sous l'aspect

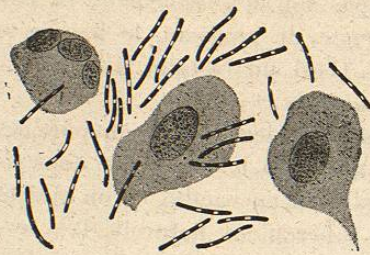


FIG. 9. — Bacilles de la tuberculose dans les crachats. — Gr. 4600 D.

de bâtonnets hyalins, transparents, un peu plus volumineux que lorsqu'on les a soumis aux divers traitements employés pour teindre leur protoplasma.

Les intéressantes recherches de Hammer-schlag ont établi que le protoplasma des bacilles renferme 88,82 pour 100 d'eau; le résidu sec donne 26 à 28 pour 100 de matières solubles dans l'alcool et l'éther (lécithine, matières grasses); la portion insoluble dans l'alcool contient de l'albumine et de la cellulose. Quand les bacilles ont été traités par

l'alcool et l'éther, ils conservent leurs réactions colorantes habituelles; si l'on enlève l'albumine au moyen de la potasse, la matière restante, surtout constituée par de la cellulose, peut être colorée, mais se laisse décolorer par les acides; d'un autre côté, l'albumine seule ne possède pas la réaction tinctoriale du bacille; celle-ci dépend donc d'un état d'association particulier des deux substances.

Une question nouvelle, posée dans ces derniers temps, présente au point de vue théorique un grand intérêt: c'est de savoir quelle place il faut assigner au microbe de la tuberculose. En effet, quand on le cultive à des températures élevées, il prend l'aspect de petits mycéliums avec des ramifications dues à des bourgeonnements latéraux ou terminaux (Metchnikoff); les bourgeons sont souvent renflés en massue à leurs extrémités. Les travaux de Czaplenski, Fischel, Coppen Jones, Lehmann et Naumann, Ledoux-Lebard, ont confirmé l'existence des formes en massue et ont bien établi que les filaments peuvent présenter des bourgeonnements et des divisions.

Dans un mémoire récent, Babès et Levaditi<sup>(1)</sup>, étudiant les foyers provoqués dans les méninges du lapin par inoculation sous la dure-mère, ont obtenu des figures qui rappellent tout à fait l'aspect de l'actinomyces: autour d'un amas de bacilles et de filaments colorés en rouge par la méthode d'Ehrlich, on voit une zone rayonnante de masses colorées en violet pâle par le bleu de méthylène.

Quelques savants se sont appuyés sur ces aspects du bacille de Koch pour l'éloigner des bactéries ordinaires. Dès 1894, Pétrone avait pensé qu'il tenait le milieu entre les mycomycètes et les schizomycètes. Aujourd'hui deux opinions sont en présence. Pour certains auteurs, les ramifications sont des ramifica-

<sup>(1)</sup> BABÈS et LEVADITI, Sur la forme actinomycosique du bacille de la tuberculose. *Archives de médecine expér.*, 1897, p. 1041.

tions vraies: il faudrait placer le microbe dans la classe des *Streptothrix* ou *Oospora*, à côté de l'actinomycète. Ce fut l'opinion de Metchnikoff qui créa, pour le microbe de la tuberculose, un genre spécial, le genre *Sclerothrix*, et proposa de le dénommer *Sclerothrix Kochii*. Dans le même ordre d'idées, Lehmann et Neumann ont proposé le nom de *Mycobacterium tuberculosis*, C. Jones celui de *Tuberculomyces*. Dans un travail récent, Ledoux-Lebard soutient que le microbe présente de fausses ramifications; il s'agit donc, non d'un champignon, mais d'une bactérie qu'il faut ranger parmi les *Cladothrix*. Il conserve le genre sclerothrix de Metchnikoff, mais le transporte du groupe streptothrix dans celui des cladothrix.

Quelle que soit la solution à intervenir, la question de morphologie et de taxinomie, qui a été soulevée dans ces derniers temps, présente un intérêt considérable au point de vue bactériologique. Si vraiment le microbe tuberculeux ne rentre pas dans le groupe des bactéries, ce sera l'argument le meilleur à apporter à la thèse de ceux qui prétendent que ces parasites ne sont pas les seuls agents des maladies infectieuses. Cette conclusion ne doit pas trop nous surprendre; l'analogie clinique entre la tuberculose et l'actinomycose nous a préparés à accepter une parenté entre les agents de ces deux maladies.

**Inoculation aux animaux.** — Il n'est guère de mammifères qui soient complètement à l'abri de la tuberculose. Dans les laboratoires, on opère surtout sur le lapin et le cobaye; chez ce dernier l'inoculation réussit quelle que soit la voie d'introduction. Si le virus est déposé dans le tissu cellulaire sous-cutané, il se produit à ce niveau une petite tuméfaction (tubercule d'inoculation) qui pourra se résorber, subir la fonte purulente, s'ouvrir au dehors et se transformer en une ulcération assez rebelle (chancre tuberculeux). Les ganglions lymphatiques correspondants s'engorgent; on peut déjà les sentir par la palpation au bout de 5 ou 6 jours; puis les autres ganglions se prennent à leur tour. L'animal maigrit et finit par succomber au bout d'un temps assez variable. Le plus souvent, la mort arrive après 6 semaines ou 5 mois; mais il n'est pas rare de voir les animaux résister pendant un temps beaucoup plus long. A l'autopsie, on trouve la rate volumineuse; ses dimensions sont souvent extraordinaires; elle est gorgée de sang, brun foncé ou noirâtre, et farcie de granulations; on voit des granulations semblables, mais généralement plus petites, dans le foie, les poumons, les reins et sur les séreuses, particulièrement sur le péritoine. Dans quelques cas, la cavité abdominale renferme une certaine quantité de liquide.

L'évolution est à peu près semblable, si l'inoculation est faite dans le péritoine ou la plèvre; seulement elle est plus sûre. La généralisation se produit plus rapidement quand le virus est introduit dans les veines; c'est même la meilleure méthode pour être certain de réussir chez le lapin, cet animal résistant quelquefois aux autres modes d'inoculation; quand il succombe, les lésions sont d'ailleurs semblables à celles que nous avons décrites chez le cobaye. Seulement, comme l'a fait remarquer M. Arloing, on ne trouve pas chez le lapin d'adénopathie correspondant au point où a été inoculé le virus, sauf quand on se sert de tuberculose bovine<sup>(1)</sup>.

Enfin les expérimentateurs se sont souvent servis, depuis Cohnheim et Salo-

<sup>(1)</sup> Pour tout ce qui concerne l'étude expérimentale de la tuberculose, consulter l'ouvrage de M. ARLOING, *Leçons sur la tuberculose*, recueillies par J. Courmont. Paris, 1892, et le livre de STRAUS, *La tuberculose et son bacille*, Paris 1895.

mosen, de l'inoculation dans la chambre antérieure. Cette opération détermine une légère kératite, qui guérit rapidement; la masse inoculée se voit alors au-devant de l'iris, à la partie déclive de la chambre antérieure. Puis vers le vingtième ou le trentième jour, se fait sur l'iris une éruption de granulations miliaires, suivie quelquefois d'une kératite grave. Enfin l'animal succombe à la généralisation de l'infection.

Baumgarten soutient que les bacilles de la tuberculose ne se généralisent qu'après avoir déterminé au préalable une lésion locale, au point d'inoculation. Cette loi, vérifiée par Tangl (1), qui a pratiqué des inoculations sous la dure-mère, sur la conjonctive, la muqueuse nasale, etc., semble généralement exacte; elle souffre pourtant quelques exceptions; c'est ainsi que les bacilles qu'on fait ingérer aux animaux peuvent pénétrer dans l'organisme sans avoir produit de lésions intestinales.

De même que pour les autres infections, il faut tenir grand compte du nombre des bacilles inoculés : la maladie évolue d'autant plus vite que la quantité de virus introduit est plus considérable. En employant la voie intraveineuse, on constate, chez le lapin, une éclosion de granulations miliaires; si l'on force la dose, l'animal succombe à une vraie septicémie, sans lésions macroscopiques appréciables. Ce résultat a été obtenu par M. Yersin avec des cultures d'origine aviaire et d'origine bovine : aussi ne peut-on invoquer le *type Yersin* comme un caractère différentiel entre les tuberculoses des oiseaux et des mammifères, puisque ces deux virus peuvent le produire également.

Les recherches de Bollinger et de Gebhardt ont démontré que la dilution rend inoffensives les matières tuberculeuses : du lait contaminé perd sa virulence si on l'étend d'eau au 1/50 ou au 1/100. Les animaux résistent quand on leur fait avaler 2 centimètres cubes de crachats tuberculeux dilués au 1/8; mais il faut des dilutions au 1/100000 pour supprimer les effets des inoculations sous-cutanées ou intrapéritonéales; souvent on réussit à donner la tuberculose avec des cultures au 1/400000.

Hischberger, Gebhardt, Wissokowicz, ont établi aussi que le lapin supporte parfaitement des doses qui sont mortelles pour le cobaye; chez ce dernier animal, la tuberculose se développe quand on inocule une parcelle de crachats contenant 820 bacilles. Wissokowicz s'appuie sur ce fait pour expliquer les résultats obtenus en inoculant des matières empruntées aux tuberculoses locales de l'homme; si, dans ce cas, le lapin résiste tandis que le cobaye succombe, cela tient, d'après l'auteur, non pas à l'atténuation du virus, mais à sa dilution; les bacilles seraient trop peu nombreux pour triompher de la résistance du lapin.

Malgré cette assertion, nous pensons que les résultats obtenus par M. Arloing imposent une autre conclusion. Les recherches de cet auteur établissent en effet que les lésions scrofuleuses typiques n'infectent que le cobaye par la voie sous-cutanée; elles sont sans action sur le lapin. Or, en diluant le virus tuberculeux, on n'obtient pas de résultats semblables à ceux que donne le virus scrofuleux; par l'inoculation on tuberculise un certain nombre de cobayes ou de lapins et on constate que les cas positifs sont disséminés au hasard. Au contraire si l'on chauffe à 60° pendant 15, 50 ou 60 minutes le même virus, on l'atténue au point

(1) TANGL, Ueber die Verhalten d. Tuberkelbacillen an d. Eingangspforte. *Centralb. f. allg. Pathologie*, 1890.

de ne plus tuer le lapin; il peut encore tuberculiser le cobaye; c'est assez dire qu'il se comporte comme le virus scrofuleux. On est donc porté à conclure, avec M. Arloing, que le virus scrofuleux est un virus tuberculeux atténué : il représente une race plus ou moins fixe du bacille de Koch.

**Action des produits solubles.** — Les matières solubles que sécrète le bacille de Koch ont été étudiées avec soin par Hammerschlag (1).

Cet expérimentateur a reconnu que les cultures, débarrassées d'éléments figurés au moyen du filtre de porcelaine, ne sont pas toxiques; elles peuvent, sans amener d'accidents, être injectées à doses de 50 à 40 centimètres cubes sous la peau des lapins. Mais en opérant sur 5 litres de culture, Hammerschlag a pu isoler une matière albuminoïde dont l'injection déterminait une élévation de température atteignant 1 ou 2 degrés et persistant pendant 24 ou 48 heures. A côté de cette toxalbumine, il existe une substance analogue aux ptomaines, et toxique pour la grenouille et une *toxomucine* (Weyl) produisant un foyer de nécrose au point d'injection. Au moyen de l'alcool, on peut extraire, du protoplasma des bactéries, un poison qui produit chez le cobaye des convulsions tétaniformes et entraîne la mort dans un temps qui varie de 12 à 51 heures.

Plus récemment, Zuelzer a trouvé dans les cultures un alcaloïde qui, à dose de 1 centigramme, amène chez le lapin une violente dyspnée; il se produit 180 respirations par minute; la température rectale s'élève, les pupilles se dilatent, il survient de l'exophtalmie, qui est plus marquée du côté où on a fait l'injection. Ces phénomènes ne durent que 15 ou 20 minutes. Mais, avec des doses supérieures, par exemple avec 2 ou 5 centigrammes, les animaux succombent en 5 ou 4 jours. On trouve à l'autopsie des foyers hémorragiques disséminés sur la muqueuse de l'estomac et de l'intestin grêle; le péritoine renferme du liquide séreux, le cerveau et la moelle sont congestionnés.

Tous ces faits trouvent une confirmation dans les expériences de Crookshank et Herroun. En opérant sur des cultures ou sur des tissus tuberculeux, ces auteurs ont pu isoler une ptomaine, une albumose et une peptone. L'albumose injectée sous la peau du cobaye sain abaisse sa température; chez le cobaye tuberculeux elle détermine, au contraire, une élévation thermique et un gonflement douloureux des ganglions malades. C'est le même résultat que celui qu'on obtient en injectant le liquide de Koch, qui représente, comme on sait, un extrait glycérolé de cultures. Nous reviendrons sur ces faits dans le chapitre consacré au traitement, mais nous rappellerons dès maintenant que les exsudats des phtisiques produisent des réactions semblables. MM. Debove et Rémond ont montré que l'injection sous-cutanée de 5 à 10 centimètres cubes du liquide provenant d'une ascite tuberculeuse détermine, chez le phtisique, les mêmes effets que la lymphe de Koch. Il est donc probable que ce liquide contient une tuberculine, mais cette conclusion ne peut être formulée sans réserve; les substances les plus diverses peuvent produire les mêmes effets.

Parmi les autres propriétés des produits solubles du bacille de Koch, nous en signalerons encore deux : l'abaissement considérable de la pression avec accélération de la respiration (Kostjurine et Kraïnsky) et l'augmentation très notable de la quantité de lymphe sécrétée (Gärtner et Roemer); d'après Löwit,

(1) HAMMERSCHLAG, Ueber bakteriologische chemische Untersuchungen der Tuberkelbacillen. *Corresp.-Blatt. f. Schweizer Aertze*, 1888; *Centralb. für klin. Medicin.*, 1891.