

Recherches bactériologiques sur la diphthérie.

Par

J. Fibiger.

(Travail du Laboratoire de Bactériologie médicale de l'Université de Copenhague.)

(Présenté dans la séance du 25 mai 1894.)

I. Diagnostic bactériologique de la diphthérie.

M. Lœffler ayant, en 1884, cultivé à l'état de pureté et nous ayant décrit le bacille (*bacillus diphtheriæ*), aujourd'hui reconnu par tout le monde pour le bacille spécifique de la diphthérie, on s'étudia tout de suite à tirer parti de cette découverte pour le diagnostic des affections diphthériques, surtout de la diphthérie pharyngienne. **MM. Roux et Yersin** résolurent les premiers (1890) d'une manière satisfaisante ce problème en montrant que l'examen des fausses membranes diphthériques, qui ne porte que sur le but de constater par le microscope la présence des bacilles spécifiques, mène souvent à un résultat négatif, même au cas que, en cultivant les bacilles, on constate la présence de grandes quantités des bacilles dans le pharynx. C'est pourquoi ces savants employèrent, pour arriver à la diagnose, le procédé indiqué par **M. Lœffler** pour isoler le bacille de la diphthérie, savoir de le semer à la surface de sérum coagulé. Si, au pharynx d'un malade atteint d'angine couenneuse, l'on prend une petite quantité de la fausse membrane, si on la sème sur sérum

coagulé et qu'on la garde à une température de 35° à 37°, on trouvera au bout de 20 à 24 heures, si c'est un cas de diphtérie, la surface couverte de nombreuses petites colonies d'un blanc grisâtre, dont le centre est un peu opaque. En les examinant au microscope, on constatera qu'elles renferment des bacilles diphtériques. Si ce n'est pas un cas de diphtérie, souvent, au bout du temps nommé, il n'y aura pas de végétation visible à la surface du sérum; parfois on trouvera des colonies dont l'aspect sera tout autre que le susdit, et qui contiendront d'autres bactéries que le bacille Lœffler. — De plus, MM. Roux et Yersin affirmèrent avoir surmonté la difficulté qui pendant assez longtemps menaçait d'entraver le diagnostic bactériologique de la diphtérie, savoir l'impossibilité de discerner, par simple culture ou par l'examen microscopique, le bacille diphtérique Lœffler d'avec les *bacilles pseudo-diphtériques* non virulents (Lœffler, Hofmann) qui parfois se trouvent dans le pharynx, tant de l'homme sain que du malade atteint d'angine non diphtérique. Comme on le sait, l'inoculation aux cobayes est le seul moyen de diagnostiquer avec certitude entre le bacille diphtérique vrai et le bacille pseudo-diphtérique; mais si l'expérience faite sur les animaux, était tout à fait indispensable au diagnostic bactériologique de la diphtérie, l'utilité clinique de ce diagnostic serait extrêmement limitée. Or, MM. Roux et Yersin ont constaté que les bacilles pseudo-diphtériques ne se trouvent jamais qu'en très petit nombre dans le pharynx du malade atteint d'angine: seulement très peu de colonies se développent à la surface du sérum, tandis que les cultures sur sérum, provenant du pharynx des maladies diphtériques, offrent toujours un extrêmement grand nombre de colonies des bacilles Lœffler. On pourrait donc, avec certitude et sans recourir aux expérimentations sur les animaux, diagnostiquer la diphtérie, si la surface du sérum présentait de nombreuses colonies comme les susdites et contenant des bactéries du même aspect que les bacilles de la diphtérie.

Si, au contraire, au bout de 20 à 25 heures, on ne trouvait sur la culture sur sérum qu'un très petit nombre de colonies composées de bactéries ressemblant aux bacilles de la diphtérie, ces bactéries seraient des bacilles pseudo-diphtériques, et le cas d'où ils provenaient, ne serait pas la diphtérie.

Si l'on veut examiner jusqu'à quel point on peut compter sur cette méthode diagnostique indiquée par MM. Roux et Yersin, on aura aussitôt affaire à une difficulté que l'on connaît bien pour l'avoir rencontrée en faisant des expériences analogues sur le diagnostic bactériologique d'autres maladies infectieuses: sans l'examen bactériologique, nous ne sommes pas à même de diagnostiquer avec certitude la diphtérie, et, en nombre de cas, les paralysies secondaires sont seules à nous rendre certains que l'angine constatée a été de nature diphtérique. Il n'y a qu'un moyen de surmonter cette difficulté: il faut examiner un grand nombre de cas d'angine et porter le diagnostic de ces cas, et en ignorant le résultat de l'examen bactériologique et en s'appuyant uniquement sur cet examen. La comparaison des deux séries de diagnoses donnera alors une presque-certitude que le diagnostic, suivant le résultat obtenu, peut ou ne peut pas s'établir par la méthode bactériologique. MM. Roux et Yersin ont fait cet examen sur 80 enfants, et sont arrivés à ce résultat, qu'à l'aide de la méthode indiquée on saura toujours, au bout de 20 à 24 heures, décider si une angine est ou n'est pas de nature diphtérique.

Pour examiner si la méthode peut servir, j'ai fait deux séries d'expériences analogues, l'une à l'hôpital du Blegdam (hôpital pour les maladies épidémiques), l'autre à l'hôpital militaire de Copenhague, et dont l'ensemble comprend 220 malades.

A l'hôpital du Blegdam les recherches embrassent un laps de deux ans, et elles ont porté sur un total de 100 malades, dont 96 étaient inscrits comme atteints de diphtérie, 3 comme suspects de diphtérie et un comme atteint d'angine folliculaire.

Les diagnoses furent corrigées par un examen clinique

minutieux fait dans les salles et indépendamment de l'examen bactériologique; le résultat de cet examen fut:

diphtérie en 91 cas, non-diphtérie (ou diphtérie douteuse) en 9 cas, savoir 2 cas de scarlatine, 6 cas d'angine non diphtérique (folliculaire ou membraneuse) et 1 cas de stomatite.

Le diagnostic bactériologique, au contraire, indépendant de l'examen clinique, donna pour résultat

72 cas de diphtérie¹⁾,
28 cas de non-diphtérie¹⁾.

Si nous examinons les deux groupes basés sur l'examen bactériologique, quant à la mortalité, à l'albuminurie et à la paralysie, trois circonstances où, antérieurement à la découverte du bacille diphtérique, on cherchait l'appui principal pour diagnostiquer la diphtérie dans les cas douteux, le résultat sera:

	Décès	Cas d'albuminurie	Cas de paralysie
72 cas de diphtérie	6	12	11
28 cas de non-diphtérie	0	1 ²⁾	0

A l'hôpital militaire, 120 cas ont été examinés. La diagnose clinique, portée sans l'examen bactériologique, fut

diphtérie en 88 cas,
non-diphtérie en 32 cas.

La diagnose bactériologique, portée sans l'examen clinique, donna pour résultat:

diphtérie en 65 cas,
non-diphtérie en 55 cas.

¹⁾ Toutefois ces chiffres n'indiquent pas le rapport entre les angines diphtériques et les non-diphtériques traitées à l'hôpital du Blegdam dans la section des diphtériques durant le laps de temps susdit; car, d'une part, il y avait de courts intervalles où l'on ne faisait pas d'examen, d'autre part, il y avait des cas où la diagnose paraissait mise hors de doute; et alors on ne les examinait pas, tandis qu'on faisait choix surtout des cas douteux.

²⁾ Ne durant qu'un jour.

Voici le dénombrement quant à la mortalité, à l'albuminurie et à la paralysie :

	Décès	Cas d'albuminurie	Cas de paralysie
65 diphtéries	2	16	7
55 non-diphtéries	0	2	0

Voici le dénombrement des 220 malades :

	Décès	Cas d'albuminurie	Cas de paralysie
137 diphtéries ¹⁾	8	28	18
83 non-diphtéries ²⁾	0	3	0

Ce qui saute aux yeux, c'est le contraste de la marche peu grave de la maladie, du peu de décès, de la rareté des maladies de reins et de l'absence de paralysie dans l'un des groupes, avec la marche grave, la fréquence des maladies de reins et des paralysies dans l'autre groupe; et, par conséquent, la série entière de ces recherches confirme — de concert avec celles de MM. Morel, Lefèvre, Baginsky, Martin, Holst, Janson — l'exactitude de l'affirmation de Roux-Yersin, savoir que, en cultivant sur sérum les produits pris aux pharynx atteints d'angine, on peut faire le diagnostic différentiel entre les affections de la gorge qui sont diphtériques et celles qui ne le sont pas³⁾.

¹⁾ Dans 7 de ces cas, l'affection de la gorge présentait l'image exacte de l'angine folliculaire.

²⁾ Un de ces cas d'angine membraneuse ressemblait tout à fait à la diphtérie; ledit malade fournit matière à de nombreuses cultures où un examen réitéré ne fit découvrir que des streptocoques et un microbe qui, étudié de plus près, fut identifié au *monilia albicans*, qui, avec les streptocoques, doit être jugé avoir produit les fausses membranes d'apparence diphtérique.

³⁾ Dans un seul cas, l'examen bactériologique nous a *peut-être* fourvoyés, parce qu'on le fit quand la maladie était trop avancée, savoir le 14^e jour après qu'elle s'était déclarée. Chez un malade, envoyé à l'hôpital en même temps que sa mère et sa sœur, toutes deux atteintes

Deux fois seulement, l'examen bactériologique m'a fait constater chez des malades diphtériques un phénomène différent de ceux qu'ont décrits des expérimentateurs antérieurs, et qu'il est important de connaître pour éviter des interprétations fausses. Chez deux malades (hommes) les premières cultures, provenant de la fausse membrane pharyngienne, offrirent de nombreuses colonies d'un aspect identique à celui d'une colonie diphtérique; l'examen microscopique montra qu'elles ne consistaient qu'en bâtonnets courts (1—5^μ) et gros, dont quelques-uns assez courts pour pouvoir être appelés coccobacilles. Dans aucune des colonies examinées on ne trouva de bactéries présentant les caractères propres au bacille diphtérique durant sa croissance sur sérum. Les bacilles trouvés se montrèrent non virulents pour le cobaye et, cultivés dans du bouillon, ils différèrent du bacille typique quant à leur manière de croître (formation d'enduit membraneux, louchissement diffus, prompt manifestation de l'alcalescence). Lorsque plus tard — c. à d., dans l'un des cas, le lendemain, dans l'autre, trois jours après, — on répéta l'expérience, on ne put plus constater la présence de la bactérie décrite, mais on trouva, par quantités et exclusivement, des bactéries présentant tous les caractères morphologiques du bacille diphtérique typique et dont la culture et la virulence étaient identiques à celles du bacille spécifique.

Ces observations peuvent s'interpréter de diverses manières. On peut admettre que dans les deux cas il y ait eu une angine pseudo-membraneuse, non diphtérique, engendrée par les bacilles courts, d'abord observés, et que ceux-ci aient été refoulés par des bacilles diphtériques dus à une nouvelle infection. Toutefois un fait parle contre cette supposition: c'est que chez

de diphtérie, on ne trouva aucun bacille diphtérique. Toutefois, puisqu'il y a des cas de diphtérie exceptionnels (Morel) où les bacilles disparaissent avant les membranes, il pourrait bien s'agir ici d'un de ces cas.

le malade on ne constata absolument aucun symptôme, ni objectif ni subjectif, d'une infection nouvelle, mais que tous les symptômes morbides étaient dans leur décours, juste au moment où les bacilles virulents typiques de la diphtérie furent constatés. Ce fait, comparé à quelques observations sur la variabilité morphologique de quelques bacilles pseudo-diphtériques, mentionnées plus loin, rend plus probable la supposition que les bâtonnets courts, trouvés d'abord, ont été une variété du bacille spécifique, non virulente pour le cobaye et pathogène pour l'homme, et qui, dans les fausses membranes qu'elle produit, peut devenir virulente pour les animaux. Il se peut que cette variété soit identique aux *bacilles courts* décrits par M. Martin. En tout cas, lorsqu'à l'avenir on fera des recherches diagnostiques et que les bactéries ayant l'aspect susdit se présenteront dans les cultures sur sérum, on devra, avant de s'exprimer sur la nature de la maladie, répéter, pendant les jours suivants, les ensemencements de produits provenant du pharynx du malade.

Il y a encore une de mes observations qui mérite qu'on l'approfondisse un peu. Comme on l'a déjà dit plus haut, MM. Roux et Yersin affirment que, si les cultures sur sérum qui proviennent d'un malade atteint d'angine, n'offrent que peu de colonies de bâtonnets, ressemblant au bacille spécifique, un examen plus en détail prouvera toujours que les bâtonnets sont pseudo-diphtériques et qu'il ne s'agit pas d'un cas de diphtérie; j'ai pu confirmer ce dernier fait, mais pas le premier. Parmi les cultures sur sérum provenant des malades atteints d'angine, je n'ai trouvé que dans 4 cas des colonies très peu nombreuses (1 ou 2) et des bactéries ressemblant au bacille spécifique. Dans trois de ces cas, on constata que les bactéries étaient non virulentes pour le cobaye, et devaient par conséquent se ranger parmi les bacilles pseudo-diphtériques; mais, dans le quatrième cas, les deux colonies observées contenaient des bacilles Loeffler très virulents. Toutefois, comme

ces colonies ne proviennent que d'une seule expérience, tandis qu'on ne trouva rien de semblable dans les cultures sur sérum faites quelques jours avant et après; de plus, comme les fausses membranes avaient disparu au moment où l'on trouva les deux colonies, et que le malade ne fut pas atteint plus tard de la diphtérie, les bacilles spécifiques observés doivent être considérés comme accidentels et n'ayant pas été la cause de l'angine pseudo-membraneuse observée, mais se trouvant sur la muqueuse pharyngienne sans y provoquer de symptômes morbides, tout à fait comme ils se trouvent parfois sur la muqueuse de sujets sains (voir plus bas). Cependant, ce cas nous apprend que si les cultures sur sérum, provenant d'un angineux, n'offrent que très peu de colonies d'apparence diphtérique, on n'aura aucune garantie qu'elles consistent en bacilles pseudo-diphtériques, et qu'en pareil cas on doit toujours, un ou deux jours plus tard, répéter l'ensemencement; car il se pourra toujours que ces bacilles puissent se multiplier et engendrer la diphtérie de la gorge. A en juger par mes observations, une telle infection secondaire d'un malade atteint d'une angine non diphtérique n'est pas vraisemblable; car aucun des malades atteints d'angine simple, que j'ai observés, n'a été attaqué plus tard de la diphtérie durant mon traitement, bien que, deux exceptés, ils aient été exposés tous plus ou moins longtemps à l'infection diphtérique des hôpitaux.

II. Apparition du bacille diphtérique dans le pharynx de sujets sains.

Dans le but d'examiner si le bacille diphtérique, tel que l'ont signalé divers auteurs (Lœffler, Hofmann, Fränkel, Feer), se trouve dans le pharynx de sujets sains, j'ai cultivé sur sérum des produits provenant de 135 personnes, soit de personnes particulièrement exposées à l'infection diphtérique, soit d'autres personnes.

Technique employée. L'ensemencement des cultures se fit de la manière ordinaire: une aiguille d'inoculation en platine et courbe, servit à prendre aux deux tonsilles de quoi ensemer. Lorsqu'après le séjour dans l'étuve, il se formait des colonies de bâtonnets ayant l'aspect diphtérique, on en établissait, par une dissémination successive sur la surface du sérum, des cultures pures. Avec ces cultures pures on enseigna alors des cultures nouvelles dans du bouillon (dans des tubes à essai ordinaires ou dans des tubes Roux, à l'abri de l'air), sur gélose, sur gélose glycinée, sur gélatine et sur pommes de terre. La plupart des types furent en outre cultivés sur sang coagulé de porc, sur pommes de terre alcalinisées, et sur lait. Les bacilles furent examinés au microscope, incolores ou colorés, soit à l'état humide par une solution de fuchsine (méthode Salomonsen), soit secs sur lamelles d'après la méthode Gram, à l'aide d'une solution de fuchsine phéniquée affaiblie. Quelques-unes des cultures furent gardées à une température de 37°—38° C., d'autres à 22° C., d'autres encore à la température variable de la chambre. Ces cultures furent toutes comparées avec des cultures, préparées comme contrôle, de bacilles diphtériques typiques, fortement virulents et cultivés exactement sur les mêmes milieux provenant de gosiers diphtériques. La réaction des cultures au bouillon fut examinée chaque jour. Les cultures se firent toutes dans d'égales quantités du même bouillon. Pour contrôler, on essaya en même temps et sous les mêmes conditions la réaction de cultures de bacilles diphtériques et celle de bouillon stérile en tubes à essai. La virulence de chaque type fut essayée sur des cobayes par inoculation sous-cutanée; pour la plupart de ces types on fit aussi l'inoculation intramusculaire du virus sur des pigeons et l'inoculation intraveineuse sur des lapins. Pour quelques types on pratiqua en outre une inoculation sous-cutanée sur des souris.

Ce dernier groupe comprend 82 sujets (voir plus bas, titre III); chez aucun d'eux on ne trouva dans le pharynx le bacille diphtérique. Le premier groupe comprend 53 sujets, tous employés à l'hôpital du Blegdam et vaquant constamment à leurs affaires parmi les malades diphtériques. Autant que possible on s'assura qu'aucun des sujets examinés n'avait eu la diphthérie peu de temps avant l'examen, ni ne fut atteint de cette maladie peu de temps après. Chez 3 de ces 53 sujets, on trouva des bacilles diphtériques en petit nombre (1 ou 2 colonies). Dans un quatrième cas, où l'on fit 20 explorations en 5 semaines environ, les bacilles diphtériques se trouvèrent en nombreuses colonies; mais ce cas ne compte pas, parce que, peu de temps avant l'examen, le malade avait souffert un peu de douleurs à la gorge; il se peut donc que

ce cas-là ait été une diphtérie pharyngienne d'une marche inaperçue et suivie d'une apparition lente de bacilles.

Des bacilles diphtériques virulents peuvent donc parfois vivre dans le pharynx de personnes saines sans engendrer la diphtérie, ce qui doit naturellement être regardé comme important quant à l'infection. Comme on le sait, on a déjà constaté que d'autres bactéries pathogènes peuvent se trouver comme parasites inoffensifs dans des lieux où, en d'autres circonstances, elles peuvent engendrer des maladies. A titre d'exemple on peut citer l'apparition du bacille-virgule du choléra dans l'intestin de personnes saines, quand celles-ci sont exposées à la contagion du choléra (Koch); de même, on a trouvé des bacilles de la tuberculose dans les fosses nasales de sujets sains fréquentant beaucoup les tuberculeux (Straus).

Chez six autres de 53 employés exposés à l'infection diphtérique, on trouva des bacilles d'apparence diphtérique, mais non virulents, dont je parlerai plus en détail dans la section suivante.

III. Bacilles pseudo-diphtériques.

Sous ce nom l'on a désigné les bacilles dont les colonies sur sérum ne peuvent pas être distinguées des colonies diphtériques, et que le microscope non plus ne permet pas de distinguer avec certitude d'avec les bacilles Loeffler, mais qui néanmoins ne sont pas virulents pour les animaux sensibles au bacille spécifique. Pour le moment on ne peut pas décider péremptoirement si les bacilles pseudo-diphtériques sont des bacilles de diphtérie ayant perdu leur virulence, comme le prétend surtout l'école française, M. Roux en tête, ou bien s'ils comprennent une ou plusieurs espèces saprophytes, différant du bacille Loeffler, ainsi que la plupart des savants allemands sont portés à le croire.

Pour faciliter l'étude des bacilles pseudo-diphtériques, on

a examiné non seulement le pharynx des 53 sujets sains mentionnés ci-dessus, mais en outre celui de 83 personnes saines. On pratiqua, comme d'ordinaire, la culture sur sérum, et les colonies d'aspect diphtérique qui se développaient au bout de 24 heures à une température de 37 degrés, furent examinées au microscope. Y trouvait-on des bacilles ressemblant soit tout à fait, soit beaucoup, à celui de la diphtérie, on les semait dans du bouillon, et l'on éprouvait leur virulence sur des cobayes. En outre on étudia comment ils croissaient sur gélose nutritive, gélose glycinée, pommes de terre, dans du bouillon dans le vide, comment ils réagissaient quant aux manières différentes de les colorer, et on surveilla les variations de réaction des cultures au bouillon.

Les 83 sujets étaient 1°: 25 employés de l'hôpital Frédéric, choisis comme spécialement propres à être comparés avec le personnel de l'hôpital du Blegdam, parce qu'il était à présumer qu'ils ne différeraient de ce personnel qu'en ce qu'ils n'étaient pas constamment exposés à l'infection diphtérique; 2°: 47 écoliers, c'est-à-dire des sujets d'un âge qui expose surtout à la diphtérie; 3°: 10 autres personnes saines.

A. Examen des 25 employés de l'hôpital Frédéric.

Lors de l'examen, il y avait à l'hôpital Frédéric, pendant quelque temps, 2 malades, souffrant de croup diphtérique; mais seulement 2 des gardes-malades examinées avaient été en rapport avec eux, et ces deux dernières n'offraient point de bacilles spécifiques ni de microbes semblables. Il était de fait qu'aucune des autres gardes-malades n'avait été exposée à la contagion diphtérique. Elles se portaient toutes bien lors de l'examen; elles ne venaient pas de souffrir de maladies de la gorge, ni n'en furent attaquées plus tard; il ne leur survint pas non plus des paralysies. Chez 23 d'entre elles on ne trouva presque que des streptocoques et des microcoques. Pourtant, chez deux les cultures sur sérum offraient de nombreuses colonies,

consistant en bacilles qui ressemblaient au spécifique. Les bacilles provenant de ces deux gardes-malades furent trouvés identiques; sous le rapport morphologique on ne saurait les distinguer des bacilles de la diphtérie. La seule particularité qu'ils offraient, c'est qu'il y avait des cultures où quelques-uns des bâtonnets étaient un peu plus courts, et où les bâtonnets claviformes et annelés étaient plus rares qu'on n'est accoutumé à le voir dans les cultures diphtériques. Les bacilles étaient immobiles, se laissaient bien colorer par le procédé Gram, ainsi que par la fuchsine comme préparation humide, et colorés par la fuchsine phéniquée ils se teignaient fortement. Les cultures sur sérum, gélose nutritive, gélose glycinée, sang coagulé de porc, gélatine et lait, avaient absolument le même aspect que les cultures préparées, comme contrôle, de bacilles diphtériques virulents, et comme ceux-ci, ils ne croissaient ni sur les pommes de terre ordinaires ni sur les pommes alcalinisées. Dans les cultures au bouillon, la croissance était un peu plus vive et présentait le plus souvent de fins enduits membraneux à la surface. La réaction alcaline remplaçait plus rapidement la réaction acide que dans les cultures de contrôle; mais les bacilles se développaient plus vivement à l'abri de l'air que les cultures de contrôle des bacilles diphtériques; ils étaient complètement hors d'état d'infecter les lapins (inoculation intraveineuse), les pigeons (inoculation intramusculaire) et les souris (inoculation sous-cutanée). Les cobayes furent infectés sous la peau à l'aide de cultures pures provenant de 14 colonies différentes. Chez 11 des animaux d'expérience les inoculations ne provoquèrent trace de symptômes morbides; chez trois seulement, des infiltrations insignifiantes au point de vue d'inoculation.

L'examen quotidien fit constater chez les deux gardes-malades une grande quantité de bacilles: on trouva jusqu'à 150 colonies dans les cultures sur sérum, chez l'une, pendant quelques jours, chez l'autre, pendant un mois; celle-ci en pré-

sentait quantité encore au bout de six semaines, bien que, à un examen fait quatre semaines après le premier, on n'en trouvât pas. Ces bacilles ne se distinguaient de ceux de la diphtérie que par le manque de virulence, et je les regarde comme identiques aux *bacilles pseudo-diphtériques* Roux et Yersin. L'unique caractère distinctif connu jusqu'ici entre ces bacilles et les bacilles spécifiques, mais d'une virulence minime, consiste en ce que ces derniers, contrairement aux bacilles pseudo-diphtériques, peuvent devenir tout à fait virulents, si on les inocule conjointement avec le microcoque de l'érysipèle. J'ai donc cherché s'il ne serait pas possible d'arriver par là à produire la virulence chez les bacilles trouvés. Ces essais furent faits à l'aide d'une culture de streptocoques dont $\frac{1}{2}$ centimètre cube tua des souris blanches au bout de quatre jours par infection générale; le résultat fut négatif. C'est donc là une nouvelle corroboration de l'hypothèse que le bacille trouvé est le bacille pseudo-diphtérique Roux.

B. 47 enfants d'une école de village.

MM. Roux et Yersin trouvèrent à Caen des bacilles pseudo-diphtériques dans le pharynx de non moins de 26 sur 59 écoliers sains; depuis longtemps on n'avait pas vu de diphtérie dans cette ville. En janvier 1893, je fis un examen semblable dans une école du village d'œnslev en Falster, village où depuis longtemps la diphtérie n'avait pas paru épidémique; d'après les renseignements donnés par les médecins, le personnel de l'école et le pasteur, on n'y avait pendant les deux derniers mois, constaté aucun cas isolé, tandis qu'on en avait noté dans les communes voisines, dont l'une partage avec œnslev le local de l'école; dans l'autre commune, 14 mois s'étaient écoulés depuis la dernière apparition de la diphtérie épidémique.

Les enfants examinés avaient de 7 à 14 ans. Nul d'entre eux ne présentait de symptômes diphtériques; tant avant que

pendant et jusqu'à dix semaines après l'examen, ils restaient tout à fait bien portants. De ces enfants, deux seulement avaient été exposés à la contagion diphtérique, l'un étant la sœur d'un diphtérique guéri, l'autre ayant récemment été en visite chez un autre diphtérique guéri (les cas isolés déjà mentionnés de ladite commune voisine). Ni chez l'un ni chez l'autre de ces deux enfants, on ne constata de bacilles d'aspect diphtérique, pas plus que chez 39 des autres enfants. Dans la gorge de ces 41 sujets, on trouva presque uniquement des streptocoques et d'autres microcoques.

En revanche, chez 6 des enfants les cultures sur sérum présentaient des colonies ressemblant tout à fait aux bacilles diphtériques. Dans un de ces cas on constata que les colonies contenaient un type de bacille qui ne présentait aucune ressemblance avec le bacille Loeffler, ni au point de vue morphologique, ni dans les cultures différentes, excepté celle sur sérum. Dans les 5 autres cas on trouva des bacilles ayant ou tout à fait le même aspect que le bacille Loeffler (n° 3), ou (nos 1, 2, 4, 6) beaucoup de ressemblance avec celui-ci; seulement ils étaient plus courts et plus gros que ne l'est ordinairement le bacille diphtérique, et les bacilles claviformes et annelés étaient moins prononcés. Chez 4 des enfants, l'on ne trouva ces bacilles qu'en colonies peu nombreuses (2—6); chez un enfant, elles étaient plus nombreuses (environ 40). Une de ces cultures sur sérum périt avant d'avoir pu fournir des colonies-filles, ce qui en rendit impossible un examen plus approfondi. Les 4 cultures restantes présentèrent toutes le même bacille. Dans une des 4 cultures primitives provenant immédiatement du pharynx, on constata surtout une grande ressemblance avec le bacille diphtérique; mais cette ressemblance était beaucoup moindre dans les cultures-filles sur sérum, ces dernières présentant surtout des bâtonnets courts (1—5^μ) et gros, qui formaient souvent des groupes composés de bâtonnets en rangs parallèles; de temps à autre on observait des bacilles clavi-

formes et annelés, mais ils n'étaient jamais aussi prononcés qu'on les trouve parmi les bacilles spécifiques de la diphtérie. Souvent les bâtonnets étaient si courts qu'ils se rapprochaient du type microcoque (*coccobacilles*). Ils se coloraient bien par la solution aqueuse de fuchsine, et se teignaient intensivement par la fuchsine phéniquée et d'après le procédé Gram.

En poursuivant l'examen on constata que tous les bacilles (nos 1—4) des cultures anciennes au bouillon affectaient une forme répondant complètement au bacille spécifique de la diphtérie; car ils s'allongeaient (jusqu'à 10^μ) et devenaient claviformes et annelés. Cette métamorphose se produisit au bout d'un temps variable (11 à 16 jours et plus). Cependant, dans les cultures-filles de ces cultures anciennes, on ne retrouva ordinairement que des types courts. Mais cultivée sur sérum, la première génération pouvait conserver une apparence diphtérique, et ce n'était que la deuxième ou la troisième génération qui de nouveau offrait le type primitif court.

Les cultures sur sérum, sang de porc coagulé et lait, ne différaient en rien des cultures de contrôle de bacilles diphtériques spécifiques, tandis que les cultures au bouillon poussaient mieux, présentaient un aspect un peu trouble et diffus et, en général, formaient un enduit membraneux très fin. Les cultures au bouillon, d'abord amphotères, présentaient dès le second jour une alcalinescence manifeste, qui augmentait pour ne pas disparaître (observation de 44 jours). Les cultures sur gélose nutritive, gélose glycinée et gélatine présentaient une végétation plus forte que les cultures témoins, sans d'ailleurs en différer. Le bacille n'était pas anaérobie ni ne poussait sur pommes de terre soit ordinaires, soit alcalinisées. Ces bacilles étaient sans virulence pour le cobaye (inoculation sous-cutanée), les pigeons (inoculation intramusculaire) et pour les lapins (inoculation intraveineuse).

C. Examen de 10 sujets adultes sains.

L'un de ces sujets, homme de 25 ans, fournit par grandes quantités un bacille ne différant sous aucun rapport de celui qu'on vient de décrire, constaté chez les écoliers.

D. Malades atteints d'angines non diphtériques.

Sur 83, trois présentèrent des bacilles semblables aux diphtériques. Pour deux de ces trois cas, l'examen se borna à produire une culture pure, et, comme on l'a déjà dit plus haut, à l'essai de virulence, les bacilles se montrèrent sans virulence.

Le pharynx d'un troisième malade (atteint de scarlatine) donna des produits qui, cultivés sur sérum, firent constater que les colonies se composaient de bactéries tout à fait semblables au bacille diphtérique, bien qu'un peu plus courtes que ce dernier ne l'est ordinairement. Dans les cultures sur sérum, gélose nutritive, gélose glycinée, lait, sang coagulé de porc, et dans du bouillon, sur gélatine, pommes de terre tant ordinaires qu'alcalinisées, on constata précisément le même état de choses que dans le cas du bacille diphtérique. Les réactions des cultures au bouillon étaient tout à fait identiques à celles des cultures de contrôle, tandis que la croissance anaérobie était un peu moins vive. Le bacille n'était pas virulent pour les cobayes, les pigeons, les lapins et les souris.

Parmi 83 malades atteints d'angines non diphtériques et 35 sujets bien portants, j'en ai donc trouvé 14 qui offraient des bacilles pseudo-diphtériques, qu'on a examinés sous le rapport de leur morphologie, de leur coloration, de leur virulence, de leur croissance sur 6 milieux différents (sérum de sang coagulé, bouillon, gélose nutritive, gélose glycinée, gélatine, pommes de terre) et sous le rapport de leurs qualités anaérobies. Le résultat de cette étude se trouve ci-joint en un tableau com-

paratif où les cultures sont portées sous deux titres A et B d'après leur plus ou moins de ressemblance à la culture typique de la diphtérie. Dans ces deux sections les cultures subissent

A.	Numéro d'ordre.	Provenance de la culture pure.	Nombre de colonies dans les cultures sur sérum, provenant du pharynx.	Morphologie.	Croissance dans le vide.	Virulence. Effet sur les cobayes.
I.	1.	femme, 19 ans (hôpital du Blegdam)	1	Culture diphtérique typique (D).	< D	0
	2.	femme, 20 ans (hôpital du Blegdam)	1			
II.	3.	homme, 24 ans (médecin de l'hôpital du Blegdam)	peu	Bâtonnets courts et assez minces; les bâtonnets claviformes et annelés, rares; d'ailleurs = D.	< D	0
	4.	homme, 20 ans (scarlatine)	2			
III.	5.	garde-malade, 29 ans (hôpital Frédéric)	} nombreuses	= D, mais nombre de bâtonnets et relativement peu de bâtonnets claviformes.	< D	0
	6.	garde-malade, 21 ans (hôpital Frédéric)				
IV.	7.	femme, 25 ans (employée à l'hôpital du Blegdam)	5-9 et plus	= D, mais avec bâtonnets considérablement plus longs et plus minces.	< D	0

B.

V.	8.	femme, 21 ans (hôpital du Blegdam)	1-5	Bâtonnets courts et gros; <i>coccobacilles</i> fréquents.	?	0
	9.	femme, 26 ans (hôpital du Blegdam)	4		0	
VI.	10.	} écoliers, 11-14 ans	6	Comme en BV; dans certains milieux, les bacilles peuvent prendre tout à fait l'aspect du bacille spécifique de la diphtérie.	0	0
	11.		2			
	12.		40			
	13.		5-6			
	14.	homme, 25 ans	nombreuses			

un nouveau groupement (I—VI) montrant leurs différences mutuelles quant à la culture et sous d'autres rapports.

Cultures au bouillon.	Changements de réaction des cultures au bouillon.	Cultures sur gélose nutritive.	Cultures sur gélose glycinée.	Cultures sur gélatine.	Cultures sur pommes de terre.	Cultures sur sérum.	Coloration.
= D	= D	= D	= D	= D	= D	= D	= D
= D	= D	= D	= D	= D	= D	= D	= D
Formation d'un enduit membraneux. Aspect légèrement trouble et diffus.	Plus rapides que dans les cultures de D.	Croissance plus forte.	= D	= D	= D	= D	= D
= D	= D	Croissance plus forte.	Croissance plus forte.	Croissance plus forte.	= D	Colonies un peu plus blanchâtres et plus diffuses.	= D

Forté production de membranes et de trouble.	Réaction alcaline prononcée dans des cultures âgées de 2-3 jours.	Croissance plus forte.	Croissance plus forte.	Croissance plus forte.	= D	= D	= D
id.	id.	id.	id.	id.	= D	= D	= D

Le groupe A comprend les cultures, différant des cultures typiques de la diphtérie soit seulement par la virulence, soit aussi par des variétés de culture si petites qu'on ne s'en aperçoit qu'en les comparant immédiatement avec des cultures de contrôle du même âge.

Les bacilles du groupe B diffèrent beaucoup plus de la culture diphtérique typique: d'ordinaire ils se présentent en bâtonnets courts et gros, parfois sous la forme de *coccobacille*. Les bacilles claviformes et annelés ne se trouvent que rarement dans ces cultures; pourtant, ils se retrouvent constamment et en grand nombre dans d'anciennes cultures au bouillon, parfois aussi dans les cultures sur sérum provenant immédiatement du pharynx. Dans ces conditions, les cultures B ne laissent voir au microscope aucune différence perceptible par rapport aux cultures A et aux cultures typiques de la diphtérie. Entre celles-ci et les bacilles B il y a encore les différences que voici: 1° la formation marquée d'un enduit membraneux et un aspect trouble des cultures au bouillon; 2° ces cultures-là ne présentent pas la réaction acide, mais leur alcalinescence croît et persiste; 3° l'aérobie inévitable; 4° la croissance plus rapide sur gélose nutritive, gélose glycinée et gélatine.

Je regarde comme indubitable l'identité des bacilles A avec les bacilles pseudo-diphtériques de l'école française (Roux et Yersin, Cornil et Babès), tandis que selon moi les types B sont les bacilles pseudo-diphtériques décrits par Zarniko, Escherich et plusieurs autres bactériologistes, surtout allemands. C'est peut-être là une explication de la grande différence entre les idées des deux écoles sur le rapport du bacille pseudo-diphtérique avec le bacille Loeffler: si la plupart des savants allemands ont opéré sur des bacilles du groupe B, on conçoit plus aisément leur propension à regarder le bacille pseudo-diphtérique comme une espèce saprophyte, différant du bacille Loeffler. Je partageais moi-même cette opinion jusqu'à ce que mon doute fût éveillé, soit par mon observation des

métamorphoses des bacilles B durant leur culture dans du bouillon, soit par mon observation des deux cas de diphtérie ci-dessus décrits, dans lesquels, en une journée ou en quelques jours, les bacilles spécifiques virulents de la diphtérie remplacèrent des bacilles non virulents pour le cobaye, lesquels, dans l'un de cas, ne peuvent se distinguer, à aucun égard, de nos types B, tandis que dans l'autre cas la seule différence consistait dans leur anaérobie facultative et leur croissance sur un seul milieu. D'ailleurs, pour le moment il est impossible de résoudre péremptoirement la question de savoir si les bacilles pseudo-diphtériques sont originairement des saprophytes non virulents apparentés au bacille Loeffler, ou s'ils en sont des variétés physiologiques.

La quantité des bacilles pseudo-diphtériques variait beaucoup chez les 14 sujets (voir tableau, colonne 3). Le plus souvent, on avait de la peine à en constater la présence dans un très petit nombre de colonies; mais trois fois on les a trouvés en grande quantité (A III, 5, 6; B VI, 14).

On peut donc trouver le pharynx de sujets sains encombré de grandes quantités de bacilles pseudo-diphtériques. Ce fait pourrait faire douter que la méthode Roux-Yersin mérite une absolue confiance comme moyen diagnostique. Car la possibilité d'utiliser pour le diagnostic clinique de la diphtérie le simple examen macroscopique et microscopique des cultures sur sérum, dépend absolument (voir plus haut p. 291) de la justesse de l'affirmation de MM. Roux et Yersin, c'est-à-dire que le bacille pseudo-diphtérique, s'il se trouve dans les cultures sur sérum, provenant de gosiers angineux, n'y est jamais qu'en extrêmement petite quantité. Or, si un sujet sain dont le pharynx recèle des masses de bacilles pseudo-diphtériques, est atteint d'angine non diphtérique, il se pourrait que, avec les microcoques pathogènes des cultures sur sérum, provenant de son pharynx, on trouvât de nombreuses colonies de bacilles pseudo-diphtériques, que par conséquent le simple examen

microscopique fera prendre pour des bacilles Loeffler. Seulement au cas où, durant leur développement, les différentes bactéries pathogènes qui engendrent des angines, supplanteraient les bacilles pseudo-diphthériques, ladite difficulté ne surgirait pas; déjà en 1893, M. Janson a émis la présomption qu'une telle supplantation a toujours lieu, s'appuyant, entre autres choses, sur l'observation du fait que les bacilles pseudo-diphthériques se trouvent beaucoup plus rarement chez les malades angineux que chez les sujets sains. Je puis moi-même confirmer cette observation; car, sur 83 malades angineux, j'ai trouvé des bacilles pseudo-diphthériques chez trois seulement, tandis que, sur 135 sujets sains, je les ai trouvés chez 14. Mais, en outre, j'ai eu l'occasion d'observer directement que les bacilles pseudo-diphthériques furent supplantés par des microcoques pathogènes chez un des sujets dont j'examinais par cultures le pharynx pendant quelque temps, jour par jour. Dans la gorge d'une des gardes-malades de l'hôpital Frédéric, on put constater la présence de grandes quantités de bacilles pseudo-diphthériques; puis, le nombre en diminua notablement dans l'espace de quelques jours, tandis que les streptocoques apparurent dans les cultures, augmentant leur nombre graduellement, jusqu'à ce qu'enfin les streptocoques se trouvassent à l'état de pureté, les bacilles pseudo-diphthériques ayant complètement disparu; en même temps on constatait l'apparition d'une angine folliculaire; pendant la marche de cette maladie on ne pouvait démontrer que des streptocoques.

Dans un autre cas je n'ai pas observé la supplantation jour par jour; mais il est hors de doute qu'il en était de même dans ce cas-là: le pharynx de l'une des gardes-malades ne cessa pas de présenter, durant environ six semaines, quantité de bacilles pseudo-diphthériques. Peu après, on fit un examen où l'on ne réussit pas à en constater la présence; mais on apprit que durant les jours précédents la malade avait eu une angine catarrhale qui n'était pas encore tout à fait terminée.

Il y a encore une troisième observation qui parle en faveur de l'hypothèse Janson, bien qu'elle ait trait, non pas aux bacilles pseudo-diphtériques, mais à des bacilles diphtériques virulents provenant présumablement d'une diphtérie guérie (comp. plus haut, p. 298): dans le pharynx d'un employé de l'hôpital du Blegdam, qui ne présentait aucun symptôme morbide, on trouva constamment, durant cinq semaines environ, de nombreux bacilles diphtériques; puis leur nombre commença de diminuer, en même temps que les cultures présentaient de nombreux microcoques. Les bacilles diphtériques finirent par disparaître complètement; les microcoques se trouvèrent alors à l'état de pureté et, quelques jours plus tard, ledit sujet fut atteint d'une angine pseudo-membraneuse, dont les fausses membranes ne présentaient que des microcoques.

Avril 1894.
