17

LA

# Technique bactériologique du praticien

X

PAR E. MALVOZ

Liège 1897

---

LIÉGE
IMPRIMERIE FAUST, RUE SŒURS-DE-HASQUE, 7

1897

(Extrait des *Annales de la Société médico-chirurgicale de Liége*,

juin 1897)

La *Société médico-chirurgicale de Liége*, en décidant l'impression d'un travail, laisse à l'auteur la responsabilité de ses opinions.

*(Décision prise par la Société, dans la séance du 9 février 1888)*

# La Technique bactériologique du praticien

Contrairement à ce que l'on croit généralement, il est un bon nombre de petites recherches bactériologiques que le praticien peut parfaitement entreprendre chez lui et avec un succès assuré, pour peu qu'il soit doué d'une certaine habileté manuelle et de quelque esprit d'observation. C'est que les perfectionnements réalisés dans ces dernières années en technique bactériologique, en même temps qu'ils rendaient cette dernière plus précise, l'ont considérablement simplifiée au point qu'il n'est plus une clinique bien tenue qui ne soit pourvue des installations bactériologiques nécessaires pour le diagnostic des principaux microbes pathogènes. Ce que l'on fait dans les cliniques, on peut l'exécuter chez soi : le matériel ne coûte pas cher, et si l'on a quelques connaissances de chimie usuelle, on arrive assez rapidement à être au courant des manipulations, peu compliquées en somme, de la recherche des principales bactéries intervenant dans les affections qui se présentent journellement au praticien: la tuberculose, la diphtérie, les suppurations, la blennorrhagie, etc.

Mais une chose nous paraît indispensable au praticien qui veut faire ces petites recherches, c'est d'être familiarisé avec le travail du microscope, et de bien connaître l'histologie normale et pathologique. Or, les jeunes médecins qui sortent actuellement de l'Université de Liége — nous ignorons s'il en est de même des autres Universités, mais il faut le souhaiter — s'ils ne savent pas reconnaître au microscope les globules du sang, les spermatozoïdes, le pus, les principaux tissus normaux et pathologiques, c'est que vraiment ils ne l'ont pas voulu et ils n'ont qu'à s'en prendre à eux-mêmes s'ils n'ont pas recueilli les fruits de l'enseignement qui leur a été donné. En effet, dès leur entrée à l'Université, en première année des sciences, les futurs jeunes médecins sont initiés, par M. le professeur Van Beneden, à l'emploi du microscope. Depuis une dizaine d'années déjà, M. Van Beneden a créé, à côté de son cours de zoologie, des exercices pratiques auxquels doivent assister tous ses élèves et dans lesquels ils se livrent à l'examen des infusoires, des grégarines, à la dissection des petits animaux, tels que lombrics, ascarides, grenouilles, etc. Toutes ces recherches se font macro- et microscopiquement, et déjà, à la fin de leur première année, les étudiants en médecine savent reconnaître les éléments histologiques les plus importants. En

candidature en médecine, ils sont initiés à l'examen microscopique de tous les tissus normaux; enfin, au doctorat, le professeur d'anatomie pathologique leur montre les principales lésions, le sang altéré, le pus, les tumeurs, les parasites, etc. Ajoutons que depuis la création du cours de bactériologie appliquée, les étudiants du premier doctorat pratiquent la recherche des principaux microbes pathogènes (charbon, suppurations, tuberculose, diphtérie, choléra, fièvre typhoïde, blennorrhagie, etc.); ils font également le sero-diagnostic de la fièvre typhoïde.

Il est évident qu'après son passage dans ces divers cours pratiques, le jeune médecin est véritablement familiarisé avec le travail au microscope et peut se risquer parfaitement à répéter chez lui ce qu'il a fait à l'Université. Ce sont surtout les jeunes médecins de l'avenir qui pourront profiter des immenses avantages que donne au clinicien la connaissance des microbes en jeu dans une affection donnée.

Quel matériel faut-il au praticien pour les recherches courantes? Avant tout, il faut un bon microscope. Or, les progrès dans la construction des lentilles, la concurrence entre les divers fabricants ont fait baisser, d'une façon inattendue, le prix des microscopes. On peut aujourd'hui se procurer, pour environ trois cents francs, un bon instrument pourvu d'un condensateur, de deux oculaires, de deux objectifs secs et d'un objectif à immersion dans l'huile. Ce dernier est vraiment indispensable si l'on veut voir les microbes avec netteté. C'est d'ailleurs la pièce la plus importante, puisque un tel objectif coûte à lui seul une centaine de francs (1).

A côté du microscope, que l'on installe sur une bonne table solide, près d'une fenêtre recevant un bon éclairage, il faut, naturellement, quelques petits instruments tels que des pinces, des aiguilles montées sur manches, des ciseaux, un bistouri.

Comme verrerie, des tubes à essai, des lamelles porte-objets et couvre-objets, quelques petits matras et entonnoirs en verre, des verres de montre, des baquets, enfin, une bonne provision de papier à filtrer.

Une aiguille de platine, montée sur baguette de verre, rend les plus grands services.

Quant aux réactifs, le mieux est de les préparer soi-même.

---

(1) Nous nous tenons à la disposition des confrères qui désirent des renseignements sur le choix d'un microscope.

Voici ceux qui nous paraissent nécessaires :

— Eau distillée.

— Eau salée physiologique (chlorure de sodium à 7 gr. par litre).

— Alcools à 60°, à 80°, à 95°.

— Acide nitrique au 1/10. Acide acétique glacial.

— Carbonate d'ammoniaque : solution à 1 % dans l'eau.

— Eau anilinée : on prend 2 à 3 gr. d'huile d'aniline, on l'agite fortement pendant quelques minutes avec 100 gr. d'eau distillée, on filtre, on ajoute un peu d'alcool pour la conservation. Ce réactif doit être renouvelé fréquemment.

— Solution iodée de Lugol : Iode, 1 gr.; iodure de potassium, 3 gr., eau, 300 gr.

— Essence de girofle. Xylol. Baume de Canada dissous dans le Xylol.

— Désinfectants (acide phénique à 3 % ou sublimé à 1 p. 1000).

— Matières colorantes : Picro-carmin, hematoxyline, éosine en solution alcoolique.

— Liquide de Ziehl : fuchsine, 1 gr.; alcool, 10 gr.; acide phénique à 5 %, 100 gr.

— Liquide de Roux, composé des deux solutions suivantes :

Solution I : Dahlia, 1 gr.; alcool, 10 gr.; eau, 90 gr.

Solution II : Vert de méthyle, 1 gr.; alcool, 10 gr.; eau, 90 gr.

On prend une partie de la solution I et deux parties de la solution II.

Bleu phéniqué de Kühne : Bleu de méthylène, 2 gr.
Alcool absolu, 10 gr.
Acide phénique à 5 %, 90 gr.

Crystal violet (2 gr. de couleur dissous 100 gr. d'alcool à 95°).
Violet de gentiane (id. id.).
Violet de méthyle (id. id.).

La totalité de ces réactifs colorants n'est pas indispensable ; ainsi, au moyen du liquide de Ziehl, du bleu de Kühne et du liquide de Roux, on peut tout faire ; mais mieux vaut mettre un peu de variété dans les colorations, et les réactifs indiqués ne sont nullement encombrants.

Enfin, pour compléter le matériel, il faut un bec Bunsen, ou à défaut de gaz, une lampe à alcool. Une petite marmite à eau, disposée en bain-marie, et montée sur pieds, de façon à pouvoir être chauffée soit au moyen d'une toute petite flamme de gaz

soit d'une petite lampe à pétrole, pourra être maintenue facilement, après un peu de tâtonnements, à une température comprise entre 35° et 38°. La marmite doit pouvoir contenir un support pour quelques tubes de culture. Ce petit appareil rendra, on le verra, les plus grands services.

En possession de ces instruments et de ces réactifs, comment s'y prendre pour pratiquer la recherche des microbes?

Les microbes peuvent être examinés sur le frais, sans coloration, ou après coloration. Ce dernier procédé est presque le seul employé dans la recherche des microbes pathogènes. C'est seulement pour l'épreuve du séro-diagnostic, que l'on doit examiner les bactéries sans coloration. Aussi est-il bon de s'exercer à reconnaître l'aspect des microbes non colorés, vivants.

Pour cela, on ne saurait mieux faire que de prendre soit le produit de raclage du tartre dentaire, fourmillant de microbes variés, soit de l'urine, du bouillon, un liquide organique quelconque, abandonnés à la putréfaction. On prend tout simplement un porte-objet bien nettoyé, on dépose à son centre une toute petite goutte d'eau salée physiologique (stérilisée préalablement par l'ébullition dans un tube à réaction chauffé dans la flamme); puis, dans cette goutte d'eau on délaie, au moyen de l'aiguille de platine, le produit à examiner ; on recouvre d'une lamelle, et on examine avec le plus fort des objectifs secs, en ayant soin de placer, sous le porte-objet, un diaphragme étroit : *c'est la règle quand il s'agit d'objets non colorés*. La mise au point est plus difficile qu'avec des microbes fortement teintés, mais avec un peu d'exercice, on y arrive facilement.

On voit alors, dans les préparations, des microcoques, des bacilles, parfois des spirilles : certains microbes sont immobiles, d'autres animés d'un mouvement très vif. Mais les préparations sont incomparablement plus belles après coloration par certains réactifs. Aussi, les matières colorantes sont-elles constamment employées dans la recherche microscopique des bactéries. Pour colorer des bactéries, la première des conditions est d'en obtenir une couche aussi faible que possible ; pour cela, on dépose une toute petite goutte d'eau stérilisée, soit sur un couvre-objet, soit sur un porte-objet. Le porte-objet est très commode à manier. Il faut le choisir quand la méthode de coloration n'exige pas le passage par plusieurs bains ; dans ce dernier cas, on est bien obligé de faire la préparation sur couvre-objet.

Au moyen de l'aiguille de platine, on délaie dans la goutte d'eau une toute petite parcelle du produit dans lequel on veut rechercher des microbes, puis le liquide est étalé, en couche aussi mince que possible, sur toute la surface du couvre-objet ou sur le milieu du porte-objet. On laisse sécher lentement à l'air, puis après dix à quinze minutes, il s'agit de fixer définitivement les microbes à la surface du verre, sinon ils disparaîtraient dans le bain colorant. Pour cela, on peut ajouter une goutte d'alcool fort, mais il vaut mieux se servir de la chaleur. Au moyen d'une pince, on passe lentement dans la flamme, trois fois de suite s'il agit d'un couvre-objet, une dizaine de fois pour un porte-objet, la lamelle chargée de produit. La chaleur coagule les substances albuminoïdes toujours présentes dans les produits organiques et les microbes sont fixés au verre comme par un vernis. On peut, dès lors, faire passer ces lamelles dans les divers bains sans que les bactéries se détachent dans les solutions.

Il s'agit alors de faire choix d'un bain colorant. Tout dépend du microbe que l'on veut rechercher.

S'il s'agit tout simplement de rechercher dans la préparation des microbes quelconques, banaux, on choisit une méthode générale colorant le plus d'espèces microbiennes possible. On commence, par exemple, par le bleu phéniqué de Kühne : on dépose quelques gouttes de cette solution sur la lamelle, on laisse reposer cinq à dix minutes, puis on lave par un courant abondant d'eau alimentaire ; on essuie, au moyen d'un linge fin, la partie du verre non chargée de microbes, et on examine au microscope tout simplement dans l'eau. Si le produit contient beaucoup de microbes et peu d'éléments étrangers, ce simple lavage à l'eau suffit ; mais s'il renferme beaucoup de cellules, des détritus organiques, etc., il est utile de produire ce qu'on appelle une *différenciation*, c'est-à-dire d'employer un réactif qui décolore en partie tout ce qui n'est pas microbe : l'alcool à 60°, l'acide acétique *très dilué* sont utilisés dans ce but. Les microbes ont une telle affinité pour les couleurs d'aniline qu'ils gardent la coloration, même après passage dans ces liquides très actifs. Mais les préparations qui ont été lavées simplement à l'eau montrent des microbes toujours plus vivement colorés qu'après la différenciation par l'alcool, etc.

Aussi, en général, se passe-t-on de cette dernière.

Il ne faut jamais oublier que, par ces méthodes générales, on ne colore pas les *spores* des bactéries : celles-ci ont une capsule épaisse qui ne se laisse traverser par les couleurs d'aniline que grâce à certains artifices spéciaux.

Ces préparations colorées sont examinées d'abord au faible grossissement, pour l'orientation générale, puis avec l'objectif sec le plus fort dans le but de choisir un endroit particulièrement riche en microbes ; celui-ci trouvé, on fixe la lamelle porte-objet sur la platine du microscope, on dépose au-dessus de la préparation une goutte d'huile à immersion et on braque l'objectif à immersion homogène au point fixé. Il est nécessaire d'employer un diaphragme très ouvert, de façon à inonder le champ microscopique de rayons lumineux.

Si l'on juge que la préparation mérite d'être conservée, on l'abandonne simplement sur la table pendant une heure ou deux jusqu'à ce que l'eau soit complètement évaporée, le couvre-objet est enlevé, on dépose au centre du porte-objet une goutte de baume de Canada dissous dans le xylol, on met par-dessus un couvre-objet bien propre et on a ainsi une préparation définitive.

Une autre méthode générale est celle de Ziehl. La fuchisne phéniquée de Ziehl ne s'emploie guère qu'en dilution plus ou moins considérable. D'habitude, on l'additionne, au moment du besoin, de son volume d'eau, et on procède comme il a été dit pour le bleu de Kühne. Les microbes sont colorés en un beau rouge.

Enfin, une troisième méthode générale consiste dans l'emploi de l'eau anilinée additionnée de quelques gouttes d'une solution alcoolique de couleur (violet de méthyle, de gentiane, etc.). Ici, le simple lavage à l'eau ne suffit pas, il faut différencier par l'alcool à 60° et examiner ultérieurement dans une goutte d'eau.

Tels sont les procédés qui permettent de voir facilement les microbes dans les préparations.

Mais l'expérience a appris que certains microbes pathogènes se colorent particulièrement bien par des réactifs employés d'une façon déterminée. Aussi, quand il s'agit de rechercher ces microbes, on commence d'emblée par employer la méthode qui leur convient spécialement.

Nous allons passer ces méthodes en revue.

1) *Bacille de la tuberculose.*

La recherche du bacille de la tuberculose est d'une importance capitale pour le praticien. Il est arrivé que l'on a trouvé des bacilles spécifiques dans l'expectoration, alors que les signes cliniques étaient pour ainsi dire nuls. De plus, si l'emploi de la tuberculine se généralise, il sera indispensable de s'assurer, par des examens pratiqués de temps en temps, de la diminution ou même de la disparition des bacilles dans les crachats.

L'expectoration peut être recueillie dans n'importe quel récipient ; il n'en faut pas beaucoup si elle provient des profondeurs du poumon. Au moyen d'aiguilles, on recherche dans les crachats les petits grumeaux opaques qui y sont parfois si abondants ; on les écrase à la surface d'un couvre-objet, en couche mince, on laisse sécher et on passe trois fois à la flamme. On verse dans un verre de montre soit du liquide de Ziehl pur, soit du carbonate ammonique à 1 % additionné de quelques gouttes de solution alcoolique de crystalviolet (méthode Herman). Au moyen d'une forte pince, on saisit le couvre-objet par le bord, et on chauffe au-dessus de la flamme jusqu'à production de vapeurs. Le bacille de la tuberculose est difficile à pénétrer par les couleurs d'aniline ; aussi emploie-t-on des réactifs très colorants, dont on augmente encore l'action par la chaleur. On laisse reposer le verre de montre sur la table pendant une ou deux minutes ; puis, saisissant le couvre-objet au moyen d'une petite pince, on le plonge, sans le lâcher, pendant 3 ou 4 *secondes* dans l'acide nitrique au 1/10, puis rapidement dans l'alcool fort, où on l'agite jusqu'à décoloration.

Dans l'acide nitrique dilué, les microbes autres que le bacille de la tuberculose se décolorent. On examine dans une goutte d'eau, au moyen de l'immersion homogène, et on reconnait les bacilles à leur gracilité, à leur groupement particulier, à leur aspect fragmenté et leur vive coloration sur le fond clair de la préparation.

Il est beaucoup plus difficile de rechercher le bacille de la tuberculose dans l'urine et les matières fécales. Il faut, pour cela, des procédés particuliers et, pour ces cas, le praticien fera mieux d'envoyer les produits à un laboratoire spécial.

Le pus des abcès froids, les productions d'arthrite fongueuse, d'ostéïte, etc., de nature tuberculeuse montrent fort peu de bacilles. Dans ces cas, il ne faut pas se donner le mal de les rechercher au microscope ; on doit envoyer les produits à un laboratoire où on les inoculera à des cobayes avec toutes les précautions voulues.

2) *Staphylocoques, streptocoques, bacilles du charbon, pseudo-gonocoques, actinomycose.*

Ces microbes se colorent bien par les méthodes générales, mais mieux encore par la méthode dite de *Gram*. Le produit à examiner, étalé, desséché et fixé comme d'habitude sur couvre-objet, est mis pendant trois minutes dans un verre de montre contenant de l'eau anilinée additionnée de quelques gouttes de

violet de gentiane (solution alcoolique). On saisit le couvre-objet au moyen de la pince, on lave à l'eau, puis on le dépose pendant deux minutes dans la solution iodée de Lugol. Après celle-ci, le couvre-objet est agité dans l'alcool à 95° jusqu'à décoloration. On examine dans une goutte d'eau.

Les staphylocoques du pus, les streptocoques, le bacille du charbon, le pseudo-gonocoque, le microbe de l'actinomycose, le bacille diphtérique se colorent très bien par cette méthode. Au contraire, si on soumet à ces divers réactifs des produits contenant le bacille cholérique, le bacille typhique, le vrai gonocoque, ces microbes apparaissent tout à fait pâles, décolorés. Aussi, l'emploi de la méthode de Gram est-il préconisé pour le diagnostic de quelques microbes : si, dans un pus uréthral, par exemple, on trouve des microbes ayant l'aspect du vrai gonocoque, on doit s'assurer par la méthode de Gram qu'ils apparaissent décolorés ; si cette méthode les montre vivement teintés, ils n'appartiennent pas à l'espèce *gonococcus Neisseri*, le véritable agent de la blennorrhagie.

On recherche surtout les staphylocoques dans le pus des abcès chauds, dans le sang au cours de certaines septicémies, dans la sécrétion de l'œil, au cours de certaines conjonctivites, dans les vulvo-vaginites aiguës, etc.

Le streptocoque se retrouve dans les sécrétions utérines à la suite des complications puerpérales, dans le sang d'un grand nombre de septicémiques, etc., etc. Sa découverte dans le sang, au cours d'une maladie infectieuse grave, pourra faire prescrire le sérum antistreptococcique.

Le *prélèvement du sang* pour les examens bactérioscopiques ou le séro-diagnostic se fait le plus facilement en piquant la pulpe du doigt, bien lavée à l'alcool, au moyen d'un bistouri ou du vaccinostyle, et en faisant couler quelques gouttes de sang, tout en massant le doigt vers la périphérie, dans un petit tube à vaccin.

Le procédé le plus simple pour recueillir des sécrétions utérines est l'emploi d'un écouvillon en ouate fixé au bout d'une longue baguette de bois. Après un lavage antiseptique du vagin, on introduit l'écouvillon jusqu'au fond de l'utérus, et on le ramène chargé de sécrétions.

Pour le charbon, on recueille simplement le pus de la pustule, ou bien une goutte de sang s'il s'agit d'une affection générale. Les bacilles se reconnaissent assez facilement au microscope. Mais il ne peut s'agir ici, pour le praticien, que d'un diagnostic approximatif. On devra toujours faire confirmer le diagnostic

du charbon dans un laboratoire outillé pour les cultures et les inoculations. Cette recherche du bacille charbonneux est surtout importante chez les sujets que leur profession expose à des écorchures , et qui manient à l'occasion des animaux charbonneux ou des déchets de ceux-ci (équarisseurs, mégissiers, ouvriers préparant les brosses, etc., etc.).

L'actinomycose est tellement caractéristique au microscope que sa recherche peut être faite très facilement sans cultures ou inoculations. On recueille un peu de pus de la tumeur, on fait une préparation dans l'eau salée pour rechercher les conidies en marguerite, et quelques autres préparations sur couvre-objet que l'on traite par le Gram : on trouve facilement les filaments mycéliens ramifiés colorés en un beau violet.

3) *Gonocoque de la blennorrhagie.*

On sait que la recherche du microbe spécifique de la blennorrhagie a une grande importance pratique.

Un écoulement uréthral à gonocoques ne doit pas être traité comme le produit d'une inflammation due à des microbes banaux. Le traitement rationnel de la blennorrhagie, basé sur le diagnostic bactérioscopique, a donné de beaux succès aux spécialistes et il n'est plus aucun de ceux-ci qui ne pratique couramment, dans son cabinet, l'examen microscopique des sécrétions.

S'il y a un écoulement purulent, rien n'est plus facile que d'en étaler une petite goutte sur porte-objet et de l'y fixer. Si le malade ne présente que peu d'inflammation, on fait une instillation de nitrate d'argent à 2 p. 1000 et on recueille la sécrétion provoquée quelques heures après. Le gonocoque pullule dans celle-ci.

Le meilleur réactif colorant nous paraît être le bleu phéniqué de Kühne. On fait agir quelques minutes puis on lave largement et on examine dans l'eau. Il est bon de ne pas traiter à l'alcool, car on doit pouvoir retrouver facilement les noyaux des leucocytes ; en effet, les gonocoques sont surtout caractérisés par leur groupement tout particulier au sein des globules de pus. On sait que ces microbes ne sont pas globuleux mais concavo-convexes et groupés deux par deux.

Quand on a trouvé des éléments rappelant les gonocoques, on prend un peu de sécrétion qu'on étale sur couvre-objet et on fait une préparation par le Gram. Si vraiment il s'agit bien de gonocoques, on ne retrouve plus ces derniers colorés dans la préparation.

Le gonocoque est recherché, non seulement dans le pus uréthral, mais dans la vulvo-vaginite des petites filles, la sécrétion conjonctivale de certaines inflammations oculaires (conjonctivite des nouveau-nés), etc., etc.

4) *Pneumocoque de la pneumonie franche.*

Le pneumocoque est un petit microbe, en forme de flamme de bougie, très remarquable par la capsule muqueuse qui l'entoure.

Pour bien voir le microbe et sa capsule, on traite le produit d'expectoration, étalé et fixé sur couvre-objet, par le liquide de Ziehl dilué, pendant quelques minutes, puis on lave pendant quelques *secondes* dans 100 c. c. d'eau distillée additionnée de 1 goutte d'acide acétique glacial.

On examine dans l'eau.

On trouve à l'état normal des pneumocoques dans certaines parties de l'arbre respiratoire, mais les préparations de ces sécrétions ne montrent que de rares microbes encapsulés, disséminés par-ci par-là. Au contraire, dans les crachats pneumoniques, les microbes spécifiques sont très abondants et on en trouve dans tout le champ de la préparation.

Le meilleur procédé pour mettre en évidence le pneumocoque est l'inoculation à la souris. On délaie un peu de crachat dans l'eau stérilisée et on injecte sous la peau. La souris meurt en 24 heures avec des pneumocoques répandus partout dans le sang et les organes. On les colore par la méthode indiquée.

5) *Bacille de la diphtérie.*

Inutile d'insister sur la grande importance pratique de cette recherche, devenue la base de la prophylaxie de la diphtérie et du traitement par le sérum de Behring.

Le procédé le plus facile pour recueillir les produits diphtéroïdes est l'emploi de l'écouvillon en ouate ; s'il y a une fausse membrane, on la recueille sur le tampon, sinon on enlève les sécrétions à l'endroit enflammé, ou, en cas de laryngite, le plus loin possible dans le pharynx inférieur. Il ne faut jamais faire cette récolte après un lavage antiseptique, un traitement par les astringents, etc.

On frotte le tampon chargé sur un porte-objet, on laisse sécher et on fixe à la flamme.

Le meilleur réactif colorant est le liquide de Roux ; la méthode de Gram donne aussi de bons résultats (1).

---

(1) Nous n'avons pas encore pu vérifier la nouvelle méthode de NEISSER (*Zeitschrift für Hygiène*. 28 mai 1897).

On laisse agir le liquide de Roux pendant quelques minutes, on lave largement à l'eau et on examine dans l'eau.

Dans certains cas favorables, on arrive, par un simple examen microscopique,à reconnaitre les bacilles de Lœffler grâce à leurs dimensions, leurs formes en massue et leur groupement si particulier. Mais c'est exceptionnel : le plus ordinairement, les bacilles diphtériques sont disséminés au milieu d'une infinité de microbes banaux de la cavité buccale et il est impossible de les caractériser microscopiquement dans ces conditions. Heureusement, le procédé des cultures sur sérum coagulé permet de les mettre facilement en évidence. Sur sérum coagulé à 35°-37°, le bacille diphtérique prolifère activement, et beaucoup plus vite que les autres microbes saprophytiques auxquels il peut être mélangé : par conséquent, si une sécrétion renferme le bacille de Lœffler, en la semant sur sérum coagulé placé quelques heures à 35°-37°, on obtiendra le bacille spécifique en culture abondante, très facilement reconnaissable par un simple examen microscopique. Dans la plupart des cas de diphtérie, la culture des produits sur sérum coagulé fournit, après 15 à 18 heures à 35°-37°, le bacille diphtérique pur ; quelquefois, on obtient, à côté du bacille, des streptocoques plus ou moins abondants. Ce sont les cas de diphtérie dite *associée :* ils comportent, d'après Roux, un pronostic plus grave, le streptocoque exaltant la virulence du bacille de Lœffler.

Rien n'est plus facile que d'ensemencer le sérum coagulé : on fait des stries à la surface de ce dernier au moyen de l'aiguille de platine imprégnée des sécrétions recueillies sur l'écouvillon, on bouche le tube à l'ouate et on le maintient à la température convenable.On ensemence habituellement trois tubes de sérum. Dans les laboratoires, on dispose d'étuves spéciales réglées automatiquement. Mais un praticien peut parfaitement arriver, au moyen du bain-marie dont nous avons signalé l'utilité, à maintenir pendant une vingtaine d'heures de l'eau à la température de 35° à 37° ; on n'a qu'à y placer les tubes de sérum. dans un support spécial. On a préconisé récemment un autre genre d'étuve, dont nous n'avons pas vérifié les qualités, mais qui a au moins le mérite de l'originalité : on lie les tubes de sérum sous l'aile d'une poule immobilisée pendant quelques heures et ils sont maintenus ainsi à une bonne température de couveuse permettant la multiplication du bacille diphtérique.

Quant au sérum coagulé, il est impossible au praticien de le préparer lui-même. Il faut se rendre à un abattoir, recueillir du sang d'une façon aseptique, laisser former le sérum, le

recueillir à l'abri des germes : c'est une opération délicate qui réclame beaucoup d'expérience. Mais les garçons des laboratoires où l'on pratique les diagnostics bactérioscopiques préparent très bien ces tubes de sérum coagulé et les médecins peuvent, sans difficultés, leur en demander au fur et à mesure de leurs besoins.

Il importe de ne pas confondre, dans les cultures sur sérum, le bacille de Lœffler avec un bacille saprophytique qui se développe facilement sur ce milieu et qui, à première vue, ressemble par quelques caractères au bacille diphtérique. Mais avec un peu d'expérience, on n'a garde de confondre.

La présence du bacille diphtérique dans la gorge d'un sujet ne doit pas toujours faire prescrire une injection de sérum, loin de là. Le sérum ne doit être injecté que si le cas présente une certaine gravité, ce que l'on apprécie par les symptômes généraux. Mais la constatation du microbe spécifique impose l'isolement le plus absolu et les mesures prophylactiques les plus sévères : c'est là, justement, le résultat le plus important du diagnostic bactérioscopique. Souvent on trouve des bacilles diphtériques dans la bouche de petits enfants, en apparence bien portants, vivant au voisinage d'un croup. Ces enfants deviennent des agents de propagation de la maladie s'ils ne sont pas étroitement surveillés et isolés.

6) *Bacille virgule du choléra asiatique.*

Le bacille spécifique du choléra se trouve dans les vomissements et les déjections. A l'état normal, l'examen microscopique des matières fécales montre des microbes très variés, mais il s'agit surtout de bacilles courts (bacillus coli). Dans certains cas graves de choléra, le bacille en virgule est à l'état de culture pure dans les selles, les autres microbes ont disparu. Par conséquent, un simple examen microscopique de déjections diarrhéïques, qui ne montrerait que des bacilles en virgule, fournirait une forte présomption en faveur d'un cas de choléra. Mais c'est là l'exception : le plus souvent, les bacilles virgules sont mélangés en plus ou moins grand nombre aux microbes normaux de l'intestin et on ne peut, par l'examen microscopique seul, pratiquer le diagnostic même approximatif du choléra. La méthode des cultures est indispensable ; elle ne peut guère être pratiquée que dans un laboratoire spécial. Aussi le praticien, en présence d'un cas douteux, doit-il sans retard envoyer les déjections à un bactériologiste. Il suffit d'en recueillir quelques centimètres cubes en évitant tout désinfectant.

Cependant, il est une petite recherche que le praticien pourrait parfaitement instituer chez lui et dont les résultats seraient déjà très importants, en présence d'un cas suspect : c'est la culture des déjections en eau peptone. Si des selles contiennent le bacille cholérique, l'ensemencement d'une trace de ces matières dans des tubes contenant de l'eau peptone, et à la température de 37°, fournit en quelques heures une quantité prodigieuse de bacilles spécifiques. Le microbe du choléra pousse plus vite en eau peptone que les autres bacilles des selles ; de plus, particulièrement avides d'oxygène, les bacilles-virgules viennent former, après quelques heures, à la surface du liquide, une sorte de voile dans lequel ils foisonnent. L'examen microscopique de la surface du liquide, s'il fait constater des bacilles virgules en quantité, fournira une présomption sérieuse en faveur du choléra. Si l'addition de quelques gouttes d'acide sulfurique *pur* donne à l'eau peptone une coloration rose ou rouge (choleraroth), on aura plus de raisons encore de croire au choléra, et on instituera toutes les mesures que comporte la situation. Pendant ce temps, les recherches effectuées au laboratoire par le spécialiste compétent permettront de trancher définitivement le diagnostic lequel, nous le répétons, ne peut être donné *en toute certitude* qu'après des manipulations assez compliquées.

L'eau peptone se prépare très facilement en prenant 1 litre d'eau distillée, en ajoutant 10 gr. de peptone alcaline (peptone de Witte par exemple) et 5 gr. de sel marin. On fait bouillir, on filtre et on répartit le filtrat, par 10 c. c., dans des tubes à essai qu'on bouche à l'ouate. Ceux-ci sont stérilisés par deux chauffages d'une demi-heure à 100°, à 24 heures d'intervalle. Les tubes ensemencés seront placés au bain-marie maintenu à 35°-37°, si on ne dispose pas d'une véritable étuve, et examinés après une douzaine d'heures.

Le meilleur réactif colorant du bacille cholérique est le liquide de Ziehl dilué.

L'examen bactérioscopique des déjections au point de vue du bacille cholérique doit se faire dans un grand nombre de circonstances. Dans beaucoup de cas d'intoxications (poisons minéraux (arsenic), viandes altérées, trichines, lait corrompu, etc.), on observe des symptômes cholériformes : seul l'examen bactériologique permet la détermination des cas dus à des germes spécifiques, susceptibles de se propager, et comportant par suite l'emploi de mesures prophylactiques sévères. Il est inutile, par exemple, de se livrer à des opérations

coûteuses de désinfection si les symptômes cholériformes sont produits par des poisons minéraux, des viandes altérées, etc.

7) *Bacille de la fièvre typhoïde.*

La recherche du bacille de la fièvre typhoïde ne peut être faite qu'au laboratoire. Dans les déjections et les eaux, il est très difficile de le déceler : le procédé comporte l'emploi de cultures très délicates. L'épreuve du séro-diagnostic de Widal exige, elle aussi, des manipulations très soigneuses, qui ne peuvent être pratiquées que par un bactériologiste très expérimenté. Cette réaction est soumise à un grand nombre de causes d'erreur, qu'il importe de bien connaître avant d'appliquer le procédé à la pratique. Le médecin qui veut recourir à l'épreuve du séro-diagnostic s'adressera à un laboratoire outillé pour ces recherches ; il recueillera le plus proprement possible, dans un tube à vaccin, un peu de sang pris à la pulpe du doigt du malade. Ce n'est guère que vers le 12e jour de la maladie que l'épreuve réussit bien. La réaction est surtout intéressante à étudier dans ces cas d'infection grave où le diagnostic entre une fièvre typhoïde, une tuberculose miliaire aiguë, une endocardite, une méningite latente met souvent les médecins appelés en consultation dans la plus extrême perplexité. Il ne faut jamais négliger, en pareil cas, de s'éclairer par la séro-diagnose.

8) *Bacille du tétanos.*

Ce n'est guère que par les inoculations à la souris que l'on peut poser le diagnostic bactériologique du tétanos. Il faut donc, dans un cas suspect de tétanos chez l'homme ou l'animal, recueillir la sécrétion de la plaie et l'envoyer à un laboratoire de diagnostics. Mais les épreuves demandent du temps.

L'examen microscopique direct montre des bacilles qui, parfois, se terminent par un renflement en forme de baguette de tambour. Ces bacilles se colorent facilement par l'eau anilinée additionnée de violet de méthyle. Leur présence fournira une *présomption* en faveur du tétanos et imposera, au besoin, une injection de sérum antitétanique.

9) *Bacilles de la morve, de la peste, de l'influenza.*

Ces recherches ne peuvent être faites que dans des laboratoires *ad hoc*.

Nous avons ainsi passé en revue les principaux examens bactérioscopiques qu'un praticien peut entreprendre, avec fruit, au moyen d'un outillage peu coûteux. A supposer qu'un grand nombre de médecins se livrent à ces petites recherches,

quels services rendront, dans ces conditions, les laboratoires régionaux de diagnostics bactériologiques ? On sait que ces institutions tendent à prendre une importance de plus en plus grande dans les divers pays. Il est clair que de nombreuses années s'écouleront encore avant que les médecins, dans leur généralité, se livrent à ces recherches : les laboratoires sont donc indispensables en ce moment. Mais ils le seront encore le jour où l'on verra le microscope faire partie, au même titre qu'une trousse, du bagage médical. En effet, il est un grand nombre de recherches qui exigent des soins tout spéciaux (cultures du choléra, de la fièvre typhoïde, de la diphtérie, des microbes des entérites alimentaires, de la morve, de la peste, épreuves des séro-diagnostics, examens des eaux contaminées) pour lesquelles les laboratoires régionaux doivent être spécialement outillés.

De plus, pour un certain nombre de maladies, telles que le charbon, le tétanos, la rage, les inoculations aux animaux sont indispensables et ces expériences ne pourront jamais être faites chez le médecin praticien.

---