

FONCTION EXERCÉE PAR LES GRANULATIONS DU BACILLE DE KOCH
DANS LA STRUCTURE DU MÊME BACILLE. PASSAGE DES GRANULA-
TIONS A TRAVERS LES FILTRES SUFFISAMMENT POREUX. INFECTION
LATENTE

La notion classique qui subordonnait l'infection tuberculeuse à la spécificité du tubercule et aux caractéristiques du bacille de KOCH dérivées de sa composition chimique et qui lui assuraient une place presque à part en pathologie, souffre depuis longtemps une contestation qui lui est faite par de longues observations et par une expérimentation suivie.

BOUDIN (1) dans son étude magistrale sur *Les variations morphologiques du microbe de la tuberculose* montre, au moyen de la bibliographie existante jusqu'alors, de nombreux cas contradictoires, au premier abord, des notions classiques et, laisse entrevoir par l'opinion respectable de VALLÉE, NOCARD, DARIER, BEZANÇON, ARLOING, et STRAUS qu'il n'est pas toujours facile de reconnaître le microbe de la tuberculose ni de l'isoler de la lésion tuberculeuse.

BOUDIN, citant textuellement STRAUS, dit: "En même temps qu'il rappelle l'hypothèse de KOCH, STRAUS s'exprime ainsi au sujet des lésions des tuberculoses sans bacilles colorables. — Néanmoins cette matière caséuse, où les réactifs colorants ne décèlent la présence d'aucun microbe, se montre encore virulente quand on vient à l'inoculer. KOCH expliquait ce fait en admettant que les bacilles avaient disparu, mais laissaient dans le caséum leurs spores résistantes. Aujourd'hui l'existence de ces spores n'est acceptée qu'avec des réserves, mais quelle que soit l'opinion qu'on se fasse, il faut bien admettre qu'il existe dans les foyers caséux des

formes modifiées du Bacille, qui apparaissent dans certains cas comme de simples grains colorés ou qui même sont totalement réfractaires aux réactifs colorants, tout en étant néanmoins vivantes, susceptibles de rajeunissement et virulentes."

Il y a quarante ans, un savant brésilien, LUTZ (2), appelait l'attention sur la structure granuleuse des microbes de la lèpre et la tuberculose, en la considérant comme le facteur prépondérant dans leur morphologie, et il créait le genre *Coccothryx*, pour la classification de ces genres. Dans ces vingt dernières années un grand nombre de travaux sont venus démontrer la possibilité d'être obtenue artificiellement la transformation du germe non seulement dans sa morphologie mais aussi dans sa biologie.

C'est ce qui résulte des remarquables investigations de FERRAN, ARLOING (3) et COURMONT avec les cultures homogènes et avec les travaux de MUCH sur la forme granulaire la clinique a rencontré l'explication de l'infection tuberculeuse sans bacille.

En étudiant le pus caséux où la forme granulaire reconnue par MUCH est abondante et où des formes bacillaires acido-résistantes sont rarement rencontrées j'ai pu, en 1909, filier la cause de ces phénomènes à l'existence, dans le pus de cette nature, d'un ferment lyopolitique qui saponifie les cires et les graisses qui caractérisent le bacille de KOCH.

L'existence de ce ferment qui a été étudié à l'*Institut Oswaldo Cruz*, en 1909 (4 e 5), fut confirmée par les travaux de NOEL FIESSINGER et PIERRE MARIE (6) en France et par BERGELL (7) en Allemagne. Ces savants ont constaté sa présence dans le pus tuberculeux en employant des techniques différentes de celles qui avaient été adoptées par nous.

La vérification expérimentale s'obtient avec facilité. Quand on fait des émulsions d'extraits de ganglions caséux et des cultures de tuberculose et qu'on les place dans une étuve, il est aisé de suivre la diminution du nombre des bacilles acido-résistants et de constater la présence de la forme granulaire.

Par la raison exposée ci-dessus les bacilles acido-résistants ne sont point trouvés dans les produits caséux qui conservent, néanmoins, leur pouvoir infectant, à l'encontre de ce que pense CALMETTE (8) quand il conteste l'interprétation donnée à cette expérience "mais j'ai pu m'assurer qu'il ne s'agit là que d'une apparence résultant de ce fait que le suc ganglionnaire des animaux tuberculeux agglutine les bacilles, ce que ne fait pas le suc ganglionnaire normal." En effet, il suffit de savoir que le suc ganglionnaire tuberculeux agglutine les bacilles pour comprendre que dans une émulsion de bacilles qui aient souffert l'action agglutinante, celle-là ayant été centrifugée et les bacilles ayant été reconnus dans le sédiment, ceux-ci devraient s'y trouver en plus grand nombre que dans le sédiment obtenu aussi par centrifugation des tubes dans lesquels l'émulsion aurait été faite avec un extrait ganglionnaire normal.

Or l'expérience a justement démontré le contraire. La structure granulaire observée non seulement dans le pus caséux ou dans les lésions de nature tuberculeuse, dans lesquelles se trouve absente

la forme bacillaire acido-résistante ainsi que dans les cultures, cette structure, dis-je, peut être parfaitement étudiée au moyen de méthodes spéciales de coloration et même par la coloration vitale.

Telles sont les méthodes que j'ai employées (9) à base d'hématoxyline, de DELAFIELD ou d'HEIDENHAIM après fixation par le sublimé — alcool, suivant SCHAUDINN; de GRAM; et par ce que j'ai déjà eu l'occasion de proposer, à savoir, la combinaison de la méthode de ZIEHL avec celle de GRAM; celle présentée récemment par DIONISIO CERQUEIRA (10), et aussi par le bleu de méthylène en coloration vitale.

Quelle que soit la méthode employée quand on étudie le développement des cultures homogènes on reconnaît que les granulations en originent d'autres qui, à leur tour, servent de centre pour une nouvelle reproduction. Reliées par des filaments très minces les granulations président au développement des germes sous la forme bacillaire.

Leur nombre dans les bacilles est variable: elles sont parfois bi-polaires, d'autres fois la granulation la plus volumineuse occupe le centre du futur bâtonnet. Par suite des différents plans de division déterminée par le clivage produit en raison de la surcharge des graisses et des cires, se forment les *bacilles classiques acido-alcool-résistants*. Des constatations analogues ont été faites par KIRSCHENSTEIN (11).

Dans les jeunes cultures de tuberculose les germes ne sont pas encore acido-résistants. Ce caractère accompagne le développement de la culture et atteint son maximum avec l'acmé de l'évolution de celle-ci.

Dans les vieilles cultures, surtout dans des milieux liquides, on observe la perte de l'acido-résistance et la désagregation granulaire. *L'acido-résistance est un ca-*

ractère acquis avec le cycle du développement du germe. Dans les jeunes cultures, ainsi que dans les vieilles, une semblable caractéristique fait défaut, sans que pour cela elles laissent d'être infectantes.

L'étude de la cytologie du bacille montre que la fonction exercée par la granulation dans la reproduction bacillaire est essentielle, elle est le point de départ de l'organisation du bacille, elle *n'est pas* détruite par les causes communes de destruction inhérentes aux milieux de culture, comme l'épuisement du milieu, la production de substances litiques, l'altération des conditions physico-chimiques du milieu nutritif, *tandis que la forme acido-résistante* est passible de souffrir toutes ces influences.

La granulation représente donc dans la culture de la tuberculose le centre de reproduction des bacilles, la forme de résistance que le virus présente aux causes perturbatrices de sa vitalité.

La granulation est *l'élément vivant, injectant*, dans la tuberculose; *biologiquement parlant, elle exerce le rôle de spore.*

Que la granulation est un élément infectant, c'est une chose difficile à prouver expérimentalement car il serait nécessaire de la séparer des bacilles déjà constitués par un processus mécanique.

J'ai pu obtenir cette séparation (9) vérifiée par filtrage du pus tuberculeux en bougie BERKEFELD, modèle NORDMEYER, laquelle retenait le vibrio-choléra, la sarcina lutea et la choléra gallinarum. Les granulations tuberculeuses étaient filtrables.

L'inoculation du pus filtré faite à des cobayes a montré par la nécropsie pratiquée en mois après qu'elles ne présentaient point de lésion tuberculeuse constituée. Le matériel inoculé n'avait pas déterminé la formation du chancre au point d'inoculation; la résorption avait été complète sans réaction apparente, mais 15

jours après l'inoculation le signal de réaction ganglionnaire commença à se dessiner, lequel se traduisit par une augmentation de volume et l'endurcissement de ganglions inguinaux correspondants point où l'inoculation avait été faite.

L'autopsie démontra que ces ganglions avaient augmenté de volume et étaient durs et hyperémiés.

Le frottis ne révéla pas la présence de bacilles acido-résistants mais on constata l'*existence de granulations* incluses dans des lymphocytes.

Une émulsion de la rate de cet animal inoculée à une autre cobaye donna lieu après une période de 5 mois, l'animal ayant été sacrifié, à la vérification de présence d'un très petit nombre de bacilles caractérisables par l'hématoxyline la méthode de ZIEHL et celle de ZIEHL-GRAM. Cette vérification a été obtenue par des coupes histologiques des poumons et des ganglions.

L'animal ne présentait pas de réaction tuberculeuse nettement constituée; on constata que la présence d'une grande filtration lymphocytaire.

Ces expériences viennent d'avoir une confirmation indirecte qui leur a été donnée par les travaux récents d'ANDRÉ VARDREMER (12).

Cet expérimentateur a communiqué tout dernièrement à la *Société de Biologie*, qu'il avait obtenu par filtrage de cultures faites en profondeur, au moyen de bougies CHAMBERLAND L³, un sérum qui, ensemencé dans le milieu de PÉTROF, donnait lieu à des cultures acido-résistantes. Il annonçait alors qu'il allait procéder à des inoculations pour caractériser le bacille de KOCH.

De cet exposé qui représente la modeste contribution de l'*Institut Oswal Cruz* à l'étude du problème de la tuberculose, découlent trois conclusions capitales pour l'élucidation des questions c

obscurcissent l'étiologie et la pathogénie de l'infection tuberculeuse :

- I—L'acido-résistance du bacille de KOCH est un caractère acquis.
- II—L'infection tuberculeuse peut exister à l'état latent, sans réaction tuberculeuse.
- III—L'élément vivant infectant est la granulation du bacille de KOCH.

I

Quoique cette notion soit une vérité acquise depuis longtemps par l'expérimentation, il s'en faut de beaucoup qu'elle soit admise d'une façon courante en pathologie.

La nécessité de la constatation du bacille acido-alcool-résistant dans la lésion tuberculeuse est encore la pierre de touche pour le diagnostic microbiologique, malgré les démonstrations fournies par le laboratoire, grâce aux cultures homogènes, à l'analyse des substances de nature cireuse des graisses, qui lui impriment ce caractère, qui est lié d'une façon essentielle à la condition *optima* du développement de la culture *in vitro* ou dans l'organisme tuberculisable. Et de toutes les caractéristiques acquises par le germe dans son évolution phlogénétique l'acido-résistance est celle qui présente peut être la plus faible fixité.

Il est possible de vérifier *in vitro*, où les causes perturbatrices de la vitalité des cultures peuvent être établies avec un plus grand déterminisme, que la simple agitation de la culture est suffisante pour déterminer, dans des générations successives, l'absence de la faculté de production des cires et des graisses.

Dès que la cause perturbatrice cesse son action le germe acquiert à nouveau son caractère en s'adaptant rapidement à

la condition *optima* de son développement.

Dans les tissus tuberculeux et, d'une façon plus apparente, dans la première barrière opposée à l'infection, dans les ganglions lymphatiques, la réaction de la défense se traduit par la production des ferments lypolytiques dont l'action fait perdre leur acido-résistance aux bacilles.

On peut suivre l'action de ce ferment en frottis de ganglions de cobaye tuberculysée, avec vérification par la méthode de ZIEHL de la disparation progressive des bacilles qui accompagnent aussi le processus progressif de la caséification.

Dans le pus tuberculeux ce ferment produit la forme granulaire qui ensemencée dans des milieux artificiels ou inoculée à des animaux sensibles, reproduit la forme acido-résistante, avec tous les caractères de l'infection classique.

II

Les lésions attribuées au bacille de KOCH sans la formation de follicules tuberculeux sont généralement admises aujourd'hui. La bibliographie sur ce sujet est abondante et la démonstration que nous donnons journellement la clinique et l'anatomie est tellement convaincante que le jugement scientifique s'est déjà établi, l'infection tuberculeuse pouvant être reconnue, depuis un *simple foyer d'inflammation locale* jusqu'à la constitution du véritable tubercule (CALMETTE) (8).

III

La présence de la forme granulaire dans les lésions tuberculeuses où les bacilles acido-résistants ne sont point rencontrés, donne l'assurance que la granulation est l'élément infectant, ce que d'ailleurs l'inoculation chez les animaux sensibles a établi d'une façon indiscuta-

ble. Ajoutons encore que la démonstration expérimentale, que nous avons pu obtenir, de ce que "la granulation peut exister à l'état latent dans l'organisme vivant ou évoluer tellement lentement que les bacilles constitués peuvent y rester sans déterminer des manifestations accentuées, tout ce qui précède expliquera l'origine des cas cliniques où la tuberculose est presumée et ne peut être démontrée par les méthodes classiques de

coloration, la notion du terrain tuberculisable étant remplacée par celle de l'organisme avec l'infection latente".

C'est donc une voie nouvelle que doivent suivre les expérimentateurs, qui pourront établir que l'infection tuberculeuse doit être caractérisée sous ce point de vue microbiologique" non seulement par le bacille de KOCH mais en outre, et ce qui est essentiel, par la granulation qui en est l'origine.

A. FONTES

BIBLIOGRAPHIE :

BOUDIN (1) — *Les variations morphologiques du microbe de la tuberculose* — Arch. de Paras. — Tome onzième — 1906-1907.

LUTZ, A. (2) — *Dermatologische Studien*, h. r. s. g. v. DR. P. G. UNNA — 1886 — *Zur morphologie des Mikroorganismus der Lepra*.

ARLOING, F. (3) — *Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bacille de la tuberculose en milieu liquide et sur une variété mobile de ce bacille* — Compt. R. de l'Acad. des Sciences — V. 126 — 1898.

FONTES, A. (4) — *Sobre a existencia nos ganglios tuberculosos de uma substancia capaz de destruir os bacillos da tuberculose* — (Nota preliminar) — Brazil Medico — Anno XX — N. 40 — 1908.

FONTES, A. (5) — *Estudos sobre tuberculose* — Studien über Tuberkulose — Memorias do Instituto Oswaldo Cruz — Tomo I — Fasc. I — 1909.

FIESSINGER, NOEL et MARIE, PIERRE (6) — *La*

lipase des leucocytes dans les exsudats — Compt. R. de la Soc. de Biol. — Tc LXVIII — N. 26 — 1909.

BERGELL (7) — *Fettpaltendes Ferment in Lymphoziten* — Munich Med. Woch. Jahrg. 56 — N. 2.

CALMETTE (8) — *L'infection bacillaire et tuberculose chez l'homme et chez les animaux* — MASSON & COMP. — 1920 — (p. 591).

FONTES, A. (9) — *Estudos sobre tuberculose* — Studien über Tuberkulose — Memorias do Instituto Oswaldo Cruz — Tomo II — Fasc. II — 1910.

CERQUEIRA, DIONISIO (10) — *Annaes da Clinica do Rio de Janeiro* — Tomo I — 1911.

KIRSCHENSTEIN, A. (1) — *Sur la structure et la mode de développement du bacille tuberculeux* — Annales de l'Inst. Pasteur — Mai 5 — 1922.

VANDREMER, A. (12) — *Formes filtrantes de bacilles tuberculeux* — Compt. R. de la Soc. de Biologie — N. 20 — LXXXIX — Juin 1923.