

STAPHYLOCOQUES DE LA LYMPHE VACCINALE ET VIRUS VACCINAL

par R. DUJARRIG DE LA RIVIÈRE et F. PATOCKA.

Les Staphylocoques que l'on rencontre si souvent dans la lymphe vaccinale sont considérés comme des impuretés dont il convient de la débarrasser. Nous nous sommes proposé de rechercher si aucun rôle intéressant n'est, au contraire, dévolu aux Staphylocoques dans l'infection vaccinale. Pour toutes les expériences que nous allons exposer nous avons utilisé la lymphe vaccinale glycérinée ordinaire.

Nous avons isolé de la lymphe les Staphylocoques par les procédés habituels. Nous avons, d'autre part, filtré sur bougie Chamberland L₂ (à faible pression) la lymphe préalablement diluée dans un mélange à parties égales d'eau peptonée et d'eau physiologique. Les Staphylocoques cultivés à partir de la lymphe ont les caractères classiques des Staphylocoques ; nous avons trouvé des colonies blanc porcelaine et des colonies à teinte légèrement jaune ; ce sont ces dernières qui ont donné les meilleurs résultats pour toutes les expériences dont nous allons parler. Notons aussi que certaines colonies de Staphylocoques présentaient, sur gélose inclinée — et seulement aux premiers repiquages — la dégénérescence vitreuse décrite par Twort, alors que les filtrats de lymphe ou de cultures en bouillon ne contenaient jamais de Bactériophage, ce qui semble venir à l'appui de l'opinion émise par d'Hérelle et suivant laquelle cette dégénérescence vitreuse serait différente du phénomène de bactériophagie.

Avec le virus et les Staphylocoques nous avons fait les expériences suivantes.

1°) *Inoculation sur la cornée du Cobaye et du Lapin.* — a) Le filtrat de lymphe, soit directement, soit après concentration dans le vide, mis au contact de la cornée scarifiée du Lapin ou du Cobaye (instillation de quelques gouttes de filtrat) ne produit aucune lésion apparente (1*). b) L'émulsion de Staphylocoques, inoculée dans les mêmes conditions, donne, lorsque ces germes ont été isolés depuis peu, une réaction inflammatoire (lésions superficielles : conjonctivite et opacification légère de la cornée) qui ne s'accompagne pas de la formation d'un pannus et qui est passagère, sa durée ne dépassant jamais cinq jours. Mais, comme nous le dirons plus loin, nous avons souvent, par la suite, expéri-

(1*) Ce résultat, obtenu dans nos conditions d'expérience, n'infirme pas ceux que d'autres auteurs ont obtenu avec le filtrat de lymphe en opérant dans d'autres conditions. Mais notre but était d'opérer de la même façon pour les trois expériences a, b et c.

menté avec des Staphylocoques d'origines diverses et qui avaient presque entièrement perdu leur pouvoir pathogène. La différence avec les résultats obtenus dans l'expérience suivante en était d'autant plus nette. c) On ajoute à une émulsion de Staphylocoques en eau physiologique une ou deux gouttes de lymphé vaccinale. On agite soigneusement. On laisse au contact pendant 15 à 20 minutes à la température du laboratoire. On centrifuge, puis on lave cinq ou six fois de suite dans une grande quantité d'eau physiologique jusqu'à ce que l'émulsion soit complètement débarrassée des particules de lymphé. On inocule par instillation sur la cornée scarifiée. On obtient une kérato-conjonctivite grave, durable (12 à 15 jours) ; elle est suivie de la formation d'un pannus qui, en trois jours, couvre toute la surface de la cornée pour disparaître ensuite au bout de quatre jours, laissant une teinte métallique de la cornée. Les lésions sont plus marquées chez le Cobaye, mais elles guérissent presque complètement, tandis qu'il persiste chez le Lapin des taches blanchâtres sur la cornée.

2°) *Inoculation par voie cutanée.* — Une émulsion de lymphé dans l'eau peptonée est additionnée d'une forte spatule de Staphylocoques (provenant de la lymphé) puis mise à l'étuve à 37° pendant 24 heures. Le mélange est ensuite appliqué sur la peau rasée d'un Lapin. On obtient des lésions vaccinales typiques avec présence de nombreux éléments, alors que la lymphé non additionnée de Staphylocoques ne donne, à la même dose de dilution (et lorsqu'elle a été laissée le même temps à l'étuve) que des lésions minimales. Les Staphylocoques seuls, inoculés dans les mêmes conditions, ne donnent que des lésions insignifiantes et tout à fait différentes.

Tout se passe comme si le virus vaccinal était adsorbé par les Staphylocoques et rendu plus résistant aux agents nocifs. On considère habituellement que, dans nombre d'infections, le virus filtrant favorise l'action des microbes secondaires ; l'inverse est peut-être exact ici. Les Staphylocoques ayant une action plus rapide (même lorsqu'ils sont très peu pathogènes) déterminent des lésions des cellules cutanées sur lesquelles se fixent alors les plus petites traces de virus, qui ne seraient pas elles-mêmes capables de déterminer une réaction typique et intense.

STAPHYLOCOQUES DE DIVERSES ORIGINES ET VIRUS VACCINAL,

par R. DUJARRIC DE LA RIVIÈRE et F. PATOCKA.

Nos premières recherches ont été faites exclusivement avec des Staphylocoques provenant de la lymphé. Mais l'expérience nous a montré que l'on obtient des résultats comparables (quoique les

lésions soient un peu moins intenses) avec des Staphylocoques dorés (furonculose, ostéomyélite) rendus non pathogènes (test : inoculation sur la cornée du Lapin ou du Cobaye et dans le péritoine des Souris) par repiquages successifs (certaines de nos souches ont été préalablement repiquées pendant six mois).

Augmentation du pouvoir pathogène des Staphylocoques. —
1°) *Culture et inoculation cutanée.* — Les deux expériences suivantes sont réalisées. a) A 10 c.c. de bouillon Martin on ajoute, à deux reprises, à trois jours d'intervalle, 5 gouttes de lymphé vaccinale. b) On dilue de la lymphé dans un mélange d'eau peptonée et d'eau physiologique ; on filtre à la bougie ; on met 10 c.c. de ce filtrat dans un tube. Dans les deux tubes on ajoute des Staphylocoques dorés dont le pouvoir pathogène (essayé sur plusieurs Cobayes) est nul. On laisse en contact pendant 10 jours à la température du laboratoire (assez fixe, entre 18 et 20°). On repique sur gélose inclinée ; on laisse à l'étuve à 37° pendant 24 heures. On émulsionne cette culture que l'on instille dans l'œil du Cobaye. Dans les deux cas on obtient des lésions inflammatoires très nettes.

2°) *Inoculation sous-cutanée.* — On prend trois lots de Cobayes qui, tous, sont inoculés par la voie sous-cutanée (peau de l'abdomen). Ils reçoivent respectivement : le lot a : des Staphylocoques dorés non pathogènes ; le lot b : la même dose d'une émulsion de Staphylocoques de même densité, mais qui a été préalablement additionnée de lymphé vaccinale ; le lot c : de la lymphé diluée dans l'eau physiologique (même quantité de lymphé, même volume d'eau physiologique que dans l'expérience précédente). Dans aucun cas, il n'y a eu de fortes réactions : la peau était un peu rouge, mais il ne s'est produit ni abcès, ni nécrose. Les Cobayes du second lot sont morts au bout de 7 - 8 jours. A l'autopsie : congestion viscérale, hémoculture négative ; présence de Staphylocoques dans la rate. Les Cobayes des autres lots étaient tous vivants au bout de deux mois.

Expériences avec la lymphé filtrée et concentrée. — Par suite de la dilution, nécessitée par la filtration, la quantité de virus contenue dans le filtrat peut se trouver parfois en quantité trop faible pour que son action sur le renforcement de la virulence des Staphylocoques soit manifeste. Nous avons donc concentré dans le vide le filtrat de lymphé et nous l'avons ramené à 1/8 environ de son volume primitif. Les expériences nécessitant beaucoup d'animaux nous avons choisi la Souris dont le prix est beaucoup moins élevé que celui des Lapins et dont la sensibilité à l'inoculation intrapéritonéale de Staphylocoques est suffisante pour que les résultats soient démonstratifs. A quatre lots de Souris nous avons injecté respectivement (dans le péritoine) : a) un mélange composé de X gouttes d'émulsion de Staphylocoques avirulents et X de filtrat concentré ; b) un mélange composé de X gouttes de la même

émulsion de Staphylocoques avirulents et X de bouillon ordinaire; c) XX gouttes de filtrat concentré; d) XX gouttes de bouillon concentré. Les essais *b*, *c* et *d*, servaient de témoins. Dix fois sur 13 expériences (85 p. 100) les Souris ayant reçu le premier mélange (*a*) ont succombé en 24 heures en moyenne (une fois 12 h. et une fois 48 h.). Dans la rate on pouvait mettre en évidence des Staphylocoques du même type que ceux qui avaient été injectés (Staphylocoques dorés). Tous les témoins (*b*, *c*, *d*) étaient encore vivants au bout de trois mois.

Les expériences que nous avons faites chez le Cobaye n'avaient pas réussi. Il est vrai que nous opérons, dans ce cas, au début de nos recherches avec des Staphylocoques encore virulents et que nous ne disposons pas de souches avirulentes ou très peu virulentes avec lesquelles nous recommençons actuellement les expériences.

Réactions sérologiques chez les animaux inoculés. — Agglutination. — Nous n'avons pas réussi à augmenter le titre agglutinant du sérum de Lapin vis-à-vis des Staphylocoques provenant de la lymphe en préparant cet animal par des injections intrapéritonéales, répétées pendant plusieurs semaines, et faites, soit avec la lymphe pure, soit avec la lymphe additionnée de Staphylocoques vivants, soit avec du filtrat mis en bouillon pendant 24 heures à l'étuve à 37°, ou à la température du laboratoire ou à la glacière. Dans tous les cas on a cherché le titre agglutinant du sérum vis-à-vis de la souche homologue de Staphylocoque.

Déviations du complément. — Pour cette réaction nous avons utilisé tout d'abord de la lymphe diluée dans l'eau physiologique et comme antigène-Staphylocoques une émulsion chauffée de ces germes. Mais nous avons reconnu rapidement que les antigènes alcooliques étaient plus maniables et plus fixes. Nous avons donc préparé deux macérations alcooliques (qui ont servi d'antigène, pour les réactions dont nous allons parler) : premier antigène : la lymphe vaccinale brute (pustules prélevées depuis peu sur la génisse) est desséchée dans le vide, finement broyée et mise à macérer dans l'alcool absolu pendant trois mois ; deuxième antigène : les Staphylocoques provenant de la lymphe sont cultivés en boîtes de Roux puis émulsionnés dans l'alcool absolu où ils macèrent aussi pendant trois mois. Les sérums, pour les expériences de déviation, sont fournis par des Lapins inoculés soit avec de la lymphe, soit avec la lymphe filtrée, soit avec un mélange de lymphe et de Staphylocoques. Les résultats, comparables avec les deux antigènes (déviations plus faibles avec l'antigène-Staphylocoques) ont été les suivants : *a*) animaux inoculés avec la lymphe : résultat positif dans 33 p. 100 des cas ; *b*) animaux inoculés avec lymphe et Staphylocoques : résultat positif dans 33 p. 100 des cas ; *c*) animaux inoculés avec le filtrat de lymphe : pas de déviation. Si on suit, par des analyses journa-

lières, les modifications de la réaction dans le temps, on constate, pour les cas positifs, l'évolution suivante : la réaction n'apparaît qu'au quatrième jour ; elle est fortement positive et le demeure jusqu'au dixième jour ; elle baisse ensuite pour disparaître au quinzième jour.

Au cours de ces expériences nous avons observé un cas particulièrement intéressant : un Lapin est infecté, par application de lymphè sur la peau rasée de l'abdomen ; cinq jours après cette inoculation il n'est pas encore apparu d'éruption, mais il existe, depuis le troisième jour, une paralysie progressive du train postérieur ; au cinquième jour, la paralysie est complète ; à cette date, la déviation du complément est négative. La paralysie progresse et le neuvième jour le train antérieur est atteint. Le dixième jour, des pustules rares mais typiques apparaissent ; en même temps la déviation du complément devient positive et le reste jusqu'à la mort de l'animal qui survient le treizième jour. L'autopsie, très soigneusement faite, ne montre pas de lésions appréciables en dehors de la paralysie. Ainsi la déviation du complément qui est apparue, dans tous nos cas normaux, en même temps que l'éruption, vers le 4^e ou le 5^e jour, a, dans ce cas particulier, suivi le retard de l'éruption, tant pour les essais pratiqués avec l'antigène-Staphylocoques qu'avec ceux où on a utilisé l'antigène-lymphe.

Conclusions. — 1^o) Des Staphylocoques, presque avirulents, mis en contact pendant 20 minutes avec une quantité minime de lymphè vaccinale, soumis ensuite à une série de lavages pour les débarrasser de cette lymphè, puis inoculés sur la cornée scarifiée du Lapin ou du Cobaye donnent des lésions qui ont même intensité et même évolution que celles déterminées par la lymphè seule. 2^o) Des Staphylocoques, devenus presque avirulents, peuvent récupérer leur virulence par contact avec de la lymphè vaccinale, employée directement ou après filtration. 3^o) Les Staphylocoques de diverses origines donnent, pour ces expériences, des résultats presque comparables à ceux obtenus avec les Staphylocoques provenant de la lymphè vaccinale. 4^o) Dans un certain nombre de cas, et seulement pendant les quinze premiers jours de l'infection, le sérum des animaux infectés avec de la lymphè vaccinale dévie le complément non seulement en présence de l'antigène-lymphe, mais aussi (quoique moins fortement) en présence de l'antigène-Staphylocoques.
