ANNALES DE PARASITOLOGIE

HUMAINE ET COMPARÉE

TOME II

JANVIER 1924

N° 1

MEMOIRES ORIGINAUX

NOUVELLE CONTRIBUTION A L'ETUDE DES CHAMPIGNONS PRODUISANT LES ACTINOMYCOSES (1)

Par le Professeur J. LIGNIÈRES

Après avoir pendant de longues années considéré l'actinomycose comme une entité unique, caractérisée par des grains ou touffes de massues existant dans le pus des lésions, on a constaté, grâce à de nouveaux travaux, que l'unicité de l'actinomycose n'existe pas parce que des microbes d'espèces distinctes sont capables de produire dans le pus des lésions qu'ils provoquent, des grains d'aspect identique.

Les recherches que j'ai publiées en collaboration avec Spitz (1902-1903) ont démontré d'une façon irréfutable que la propriété pour les microbes de faire des massues, comme celle de produire la forme filamenteuse avec ramifications dichotomiques du mycélium, ne constituent pas des qualités spécifiques, mais que ces qualités existent pour des microbes différents qui n'ont parfois entre eux aucune espèce de parenté. C'est ainsi que l'actinobacille, dont les qualités morphologiques et biologiques sont si distinctes de celles de l'*Actinomyces bovis*, produit comme ce dernier dans le pus des lésions, des grains ou touffes de massues qui avaient jusqu'à nos travaux été complètement confondus avec les grains de ce dernier.

(1) Ce travail est antérieur à ceux qui ont été faits en collaboration avec Spitz. Cependant les caractères généraux de l'*Actinomyces bovis* ont déjà été publiés en 1903 au Congrès de Madrid avec mon collaborateur.

De même l'*Actinomyces bovis*, dont les filaments sont ramifiés, dichotomisés, est une espèce complètement différente des *Brevistreptothrix* (1) *Spitzi* ou *Israëli* et cependant tous deux ont des filaments dichotomisés, tous deux produisent des lésions semblables et tous deux forment des grains ayant le même aspect et les mêmes propriétés colorantes.

Puisque les grains ou touffes de massues ne peuvent pas caractériser une affection unique, comme on l'avait cru pour l'*Actinomyces bovis*, j'ai, avec Spitz, proposé le nom d'actinophytose pour désigner toutes les affections dans lesquelles on trouve des grains avec massues, en y joignant le nom du microbe qui les détermine. Par exemple :

L'actinobacillrose est une actinophytose à *Actinobacillus*. L'actinomycose bovine classique est une actinophytose à *Actinomyces bovis*, le *Brevistreptothrix Spitzi* fait une actinophytose à *Brevistreptothrix Spitzi* et ainsi de suite. Nous avons aussi des actinophytoses à microbes encore indéterminés.

Les traités de bactériologie français et étrangers, surtout les plus récents, soulignent en général, et avec raison, l'insuffisance de nos connaissances concernant le chapitre de l'actinomycose.

Je me suis efforcé depuis longtemps d'étudier cette question, sur laquelle je crois apporter aujourd'hui quelques précisions nouvelles.

Il m'a paru que pour débayer un chapitre aussi riche et aussi embrouillé que celui de l'actinomycose, il était nécessaire, comme je l'ai fait pour démêler les septicémies hémorragiques, de procéder avec méthode, en déterminant tout d'abord les caractères spécifiques de quelques-uns des principaux microbes à classer. J'ai donc commencé par étudier simplement l'*Actinomyces bovis* en me servant non pas de cultures conservées depuis longtemps dans les laboratoires, mais en prenant des cas naturels et favorables rencontrés en France, en Argentine et dans l'Uruguay. Ensuite j'ai étudié les actinomycètes qu'on trouve le plus fréquemment dans la nature. Il en reste un grand nombre à classer, mais la voie est ouverte, il n'y aura plus qu'à continuer. Cela ne veut pas dire que ces recherches sont toujours faciles, bien au contraire, et la preuve c'est que j'ai des actinophytoses dont je n'ai pu encore isoler le microbe spécifique.

(1) Nous avons cru devoir créer ce genre, ayant pour type *B. Israëli*; nous en donnons la diagnose à la page 19.

I. — Recherches sur les propriétés morphologiques et biologiques de l'*Actinomyces bovis*

Parmi les nombreux cas étudiés, j'en retiendrai quatre qui me paraissent donner un ensemble suffisamment complet des qualités du microbe qu'on rencontre dans la maladie naturelle.

Technique. — Il n'est pas inutile, pour faciliter le contrôle de ces études, d'indiquer la technique que j'ai suivie.

Le pus est autant que possible prélevé purement dans des lésions closes ; l'examen microscopique se fait en mettant sur une lame de verre et en les mélangeant bien une très petite quantité de pus suspect avec une goutte de glycérine picrocarminée. Après avoir placé une lamelle sur ce mélange, il ne reste plus qu'à examiner au microscope. Les touffes de massues sont jaune verdâtre et font contraste avec le fond rosé donné par le carmin. La recherche se fait avec un faible grossissement, puis, quand on a trouvé une touffe, elle est examinée de plus près à l'aide d'un objectif plus puissant qui montre avec toute évidence les massues des grains colorées en jaune (pl. I, fig. 1 et 2).

Le même pus était aussi étalé en couche mince sur des lames de verre et fixé à l'alcool éther ou simplement par la chaleur. Avec ces lames il était fait une coloration de Gram montrant les filaments de l'*Actinomyces bovis* s'il s'agissait de ce parasite et une coloration simple à la fuchsine de Ziehl diluée ou à la thionine phéniquée pour rechercher s'il n'existait pas d'autres microbes.

Pour cultiver les touffes sur les milieux de culture, le pus était préalablement broyé aseptiquement dans un mortier stérilisé ; une autre partie du pus était mise dans des tubes de glycérine pure et neutre stérilisée à 120°, puis refroidie. Ce pus était laissé ainsi trois jours à la température du laboratoire, et agité de temps en temps. Dans ces conditions, les grains ont des tendances à s'isoler en tombant au fond du tube où on les recueille facilement le troisième jour avec une pipette stérilisée, pour les laisser encore 24 heures dans un dernier tube de glycérine avant d'ensemencer sur les divers milieux. La glycérine agit comme pour la pulpe vaccinale, en tuant les microbes surajoutés à l'infection principale. Si l'ensemencement direct du pus après broyage donnait des cultures impures, j'essayais l'ensemencement du pus broyé après immersion dans la glycérine comme je l'indique plus haut.

En suivant cette technique et en employant comme milieux,

soit dans l'air, soit dans le vide, le bouillon peptoné, les infusions végétales, la gélatine, la géllose, le lait, la pomme de terre, le sérum solidifié avec ou sans glycérine, on constate une grande variété dans le résultat des cultures.

Parfois aucune culture ne se produit, ou bien les colonies sont peu nombreuses et poussent tardivement, c'est-à-dire après 8 jours et plus. Souvent un milieu ne donne rien tandis que d'autres laissent pousser des colonies. Quelquefois enfin la culture est riche d'emblée et commence avant le quatrième jour.

D'ordinaire, une fois la première culture obtenue, les suivantes sont faciles, très rapides et très riches ; toutefois, on trouve des souches qui refusent longtemps de pousser sur un milieu donné, la pomme de terre simple notamment. L'aspect des cultures obtenues est remarquablement varié suivant la nature même du microbe, suivant le milieu sur lequel il pousse et suivant l'âge de la culture. Le même *Actinomyces bovis*, cultivé plusieurs fois sur le même milieu à des dates différentes, peut présenter des aspects parfois très différents. La qualité chromogène surtout est extrêmement variée.

Il est difficile de décrire exactement tous les aspects, aussi ai-je pensé que le meilleur moyen à employer est de donner des planches nombreuses, reproduisant très fidèlement les principales phases des cultures (pl. III à VIII).

Il ne faut pas tenir compte des cultures qui poussent mal, soit parce qu'elles sont impures, soit à cause de la mauvaise qualité du milieu, soit pour toute autre cause ; ces cultures peuvent ne pas donner les caractères classiques que je vais indiquer. Il faut les recommencer jusqu'à ce qu'elles poussent bien et noter seulement alors les caractères observés. L'impureté de la culture se constate généralement avec facilité en faisant un passage en bouillon peptoné ordinaire où l'impureté, si elle existe, poussera plus facilement que l'*Actinomyces bovis*. C'est surtout dans les cultures impures que le microbe spécifique n'alcalinise pas le milieu comme cela doit se produire normalement.

J'ai dit plus haut qu'en examinant au microscope le pus, après l'avoir mélangé avec une goutte de glycérine picrocarminée, on distingue aisément les touffes de massues en amas jaune verdâtre. Mais alors rien ne distingue les touffes à *Actinomyces bovis* de celles à *Brevistreptothrix Israëli* ou à *Brevistreptothrix Spitzzi*, ni même de celles de l'*Actinobacillus*.

Si le pus est étalé sur lame et coloré au Gram, alors il est facile d'éliminer l'actinobacillose. En effet, après la coloration double de

Gram, il ne reste coloré aucun filament mycélien, puisque l'actinobacille est un cocco-bacille qui ne prend pas le Gram. Dans l'actinomyose classique, la coloration du pus par la méthode de Gram fait voir des filaments violets plus ou moins longs, quelques-uns peuvent montrer nettement une dichotomie, beaucoup sont en apparence granuleux, et à côté du mycélium on voit des granulations libres, parfois nombreuses (pl. I, fig. 3).

Quant à la coloration des coupes, elle fait voir, comme Boström l'a si bien décrit, que la touffe est composée de deux parties, l'une centrale, filamenteuse, prenant le Gram (zone germinative), l'autre périphérique, composée par les massues, qui se colorent par la coloration de fond (zone végétative) (pl. I, fig. 4).

Pour la coloration des coupes, je conseille la méthode suivante, que j'ai indiquée avec Spitz en 1903.

1^o Faire agir pendant 3 minutes à froid le violet phéniqué.

2^o Remplacer le violet par la solution iodo-iodurée durant quelques secondes.

3^o Sans laver, décolorer rapidement avec la solution suivante :

Alcool	40 cm ³
Acétone.....	10 —
Acide acétique	1 —
Rubine acide (solution aqueuse saturée à froid)	VI gouttes

4^o Différencier rapidement dans l'eau de source jusqu'à ce que les massues apparaissent en rouge vif sur un fond rose clair. Deshydrater par les alcools, passer au xylol et monter au baume.

Les massues ont été maintes fois décrites, je n'ai rien à ajouter à ce qui est connu ni à ce que j'ai dit avec Spitz à propos des massues du *Brevistrepthrix Spitzii*.

Dans les cultures, après 24 heures, l'*Actinomyces bovis* se montre sous forme de filaments longs, les uns relativement fins, les autres plus épais, immobiles, se colorant facilement par les couleurs d'aniline et prenant très bien le Gram (pl. II, fig. 1).

Après 48 heures, les filaments les plus épais en contact avec l'air s'étranglent dans toute leur épaisseur pour former des éléments cocciformes, qu'on désigne généralement sous le nom impropre de spores (pl. II, fig. 2).

Ces éléments sont bien des formes de résistance ; cependant ils n'ont pas les qualités des spores vraies. En effet, ils prennent le Gram aussi facilement que le mycélium et ne résistent pas à la chaleur de 70° pendant 10 minutes, ni aux antiseptiques, comme l'acide phénique, le crésyl, etc. A l'exemple de Vuillemin, je les appellerai

thallospores. Dès que les thallospores se forment en abondance sur la colonie, on voit apparaître une efflorescence blanche comme une petite poussière ou bien l'aspect est d'un blanc crayeux. Si, dès le début, on prélève de cette efflorescence et qu'on colore au Gram, on voit une quantité énorme de thallospores (pl. II, fig. 3). La culture de ces thallospores reproduit des filaments dichotomisés. En passant, je dois faire remarquer que le *Brevistreptothrix Spitzzi* ne produit jamais de thallospores.

Les filaments de l'*Actinomyces bovis* sont toujours pleins, contrairement à ceux des autres hyphomycètes qui sont cloisonnés. Ils sont toujours immobiles, se colorent très bien par le Gram et poussent dans l'air et dans le vide (aéro-anaérobies).

Les cultures dégagent presque toujours une forte odeur de terreau ou de moisissure, plus rarement une vague odeur de peau d'Espagne. Avec l'azotite de potasse, on ne révèle jamais la production d'indol. Sur les milieux solides, notamment la gélose, l'*Actinomyces bovis* s'enfonce dans le substratum et y adhère si fortement que le fil de platine ne peut enlever une colonie sans arracher un peu de gélose.

Un autre caractère très important de tous les *Actinomyces bovis* isolés de cas d'actinomycose classique, c'est qu'il est impossible avec leurs cultures de déterminer la maladie par inoculation, quelle que soit la voie d'injection. Il y a là une lacune de nos connaissances sur laquelle je reviendrai plus loin.

Parmi les caractères généraux de ces microbes, il faut signaler encore que toutes leurs cultures finissent par donner au milieu une réaction alcaline parfois très forte.

Je vais maintenant décrire aussi sommairement que possible les caractères cultureux des *Actinomyces bovis* isolés de quatre cas d'actinomycose classique, et j'en déduirai les caractères spécifiques.

1^{er} CAS. — ACTINOMYCOSE, SOUCHE LUCET, ENVOYÉE DE FRANCE

Le 12 juin 1901, je reçois de M. Lucet, de Courtenay (Loiret), en pipettes scellées, du pus d'un cas d'actinomycose bovine et, dans la glycérine stérilisée, comme je le lui avais demandé, une tumeur papillomateuse de nature actinomycosique recueillie le 13 mai. Toutes les tentatives de culture avec le pus des pipettes sont restées infructueuses ; cependant on trouvait facilement des grains avec massues. La tumeur retirée aseptiquement et placée dans un récipient stérilisé fut sectionnée avec un bistouri flambé. Je recueillis alors avec une pipette du pus qui montra des touffes de massues et

qui me donna des cultures pures d'*Actinomyces bovis* que je vais étudier maintenant.

Cette expérience montre que, grâce à l'immersion dans la glycérine, j'avais pu recevoir vivantes des lésions d'actinomycose envoyées de France depuis 30 jours, tandis que le pus enfermé dans des pipettes était resté stérile.

Caractères des cultures de l'*Actinomyces bovis*, souche Lucet. — Le jour même de la réception de la lésion, c'est-à-dire le 12 juin, j'ensemence des grains en sérum de bœuf solidifié. Le sixième jour, on voit des colonies punctiformes qui s'enfoncent dans le substratum. Le dixième jour, les colonies sont sèches, quelques-unes montrent des points pulvérulents ; au microscope, je constate que les cultures sont formées par des filaments dichotomisés colorés par le Gram ; on voit en violet des thallospores. C'est cette culture qui me sert à rechercher les qualités du microbe dans les différents milieux.

Bouillon peptoné. — Dès le deuxième jour, très fins flocons blanchâtres au fond du tube : le liquide reste clair. Les jours suivants, les flocons augmentent de volume et de nombre ; beaucoup sont attachés aux parois du tube ; plus tard, quelques colonies se voient sur le bord supérieur du liquide où elles peuvent s'agglomérer. Elles prennent un aspect verruqueux, sec et se couvrent d'une efflorescence blanche contenant des thallospores, souvent en énorme quantité ; le reste est formé par de longs filaments dichotomisés. A aucun moment, par l'agitation qui détache facilement les colonies de la surface et des parois, le liquide n'est troublé. Avec le temps, le bouillon brunit et prend une réaction franchement alcaline.

Bouillon peptoné pancréatique. — Il n'y a pas de production d'indol.

Bouillon peptoné glycosé. — Pas de fermentation, mêmes caractères que pour le bouillon peptoné ordinaire. Après huit jours on note déjà une réaction alcaline.

Bouillon peptoné lactosé. — Mêmes constatations, on remarque aussi que le milieu se fonce et prend une réaction alcaline.

Thé de foin. — Le microbe pousse très bien et avec les mêmes caractères et réactions que dans le bouillon peptoné.

Lait. — Après trois jours, le lait commence à se coaguler sous la forme d'un caillot mou. Le caillot va, les jours suivants, se dissoudre de haut en bas. Le dixième jour, il ne reste guère que le quart inférieur du lait non liquéfié. Peu à peu la peptonisation du lait s'achève et le milieu prend une teinte un peu ambrée qui ne ressemble plus à la teinte blanche du lait. La réaction est alors fortement alcaline.

Sérum de bœuf solidifié. — Dès le lendemain de l'ensemencement, la culture, placée comme toutes les autres à 37°-38°, montre une infinité de colonies petites un peu transparentes. Le deuxième jour, les colonies sont plus grosses et tendent à se fondre pour former une couche uniforme, un peu sèche, sur laquelle on distingue déjà quelques points d'efflorescence blanchâtre.

Après trois jours, la surface noircit, prend une teinte fumée légèrement violacée. Plus tard, les colonies forment une couche sèche, plus épaisse, très enfoncée dans le substratum ; quelques colonies surplombent la surface en prenant un aspect verruqueux. La teinte violacée s'est accentuée, l'efflorescence aussi. Le dixième jour, le sérum est mou, la liquéfaction augmente (pl. III, fig. 1). Plus tard, la liquéfaction s'accroît, le liquide prend une teinte plus foncée, sa réaction est alcaline.

Gélatine. — Le deuxième jour on voit apparaître sur toute la surface une légère couche bleuâtre. Après trois jours, la couche est plus épaisse, un peu opaque, sèche et la gélatine va se liquéfier. Cette liquéfaction est nette quoique seulement superficielle le quatrième jour ; elle s'accroît par la suite. La couche de culture prend alors une teinte un peu fumée et violacée qui gagne même l'épaisseur du milieu dont la liquéfaction finit par être à peu près complète. Le liquide ainsi formé par la peptonisation de la gélatine fonce en couleur et acquiert bientôt une réaction franchement alcaline. Il ne s'est pas produit d'efflorescence blanche.

Gélose peptonée. — Après 24 heures, on peut voir déjà un commencement de culture, plus visible le deuxième jour sous la forme de colonies blanchâtres tout d'abord un peu luisantes, puis formant des îlots irréguliers ou une couche bientôt sèche, un peu plissée ou verruqueuse ; la culture s'enfonce dans la gélose de sorte que la couche s'enlève avec difficulté. La surface se recouvre plus ou moins d'une efflorescence blanche, si épaisse parfois que l'aspect est crayeux. Avec la palette de platine, la partie efflorescente s'enlève avec facilité, tandis que la colonie est comme je viens de le dire très adhérente à la gélose.

Plus tard, la superficie de la culture est sèche, verruqueuse, le milieu peut prendre une teinte fumée-noirâtre et un peu roussâtre ou bien elle ne change pas de couleur.

Si les colonies sont isolées, elles sont verruqueuses, sèches, à bords finement dentelés et donnent au milieu une couleur fumée légèrement roussâtre.

Dans d'autres circonstances, indépendantes de l'âge de la culture, l'aspect est différent ; les colonies blanc-grisâtre formant de grands

anneaux concentriques verruqueux, ressemblent beaucoup à une moisissure. Le milieu prend encore une teinte fumée. Toutes les cultures dégagent une forte odeur de terreau ou de moisi. La gélose n'est jamais liquéfiée.

Je donne trois figures montrant des aspects différents que peut prendre l'*Actinomyces bovis* sur gélose (pl. III, fig. 2, 3, 4).

Gélose de Würtz. — Sur la gélose de Würtz tournesolée et lactosée, la culture se fait bien sous forme de colonies sèches, verruqueuses et crayeuses. La teinte bleue ne change pas les premiers jours. Plus tard, elle s'accroît très notablement parce que, comme c'est la règle, l'alcalinité du milieu augmente.

Pomme de terre ordinaire. — Les cultures ont mal poussé ; parfois j'ai obtenu des colonies sèches, verruqueuses, efflorescentes, de couleur jaunâtre.

Pomme de terre glycinée. — Les cultures ont été beaucoup meilleures ; dès le quatrième jour, la pomme de terre prend une teinte noirâtre avec quelques petites efflorescences blanches ; il y a aussi des colonies verruqueuses brunâtres. Le liquide du fond se teint déjà en brun roussâtre. Le cinquième jour, la pomme de terre est déjà toute noire, les colonies sont tuberculiformes, sèches, parsemées de points efflorescents.

Parfois, en même temps que les colonies forment dès le lendemain de la culture de nombreuses pellicules blanc-grisâtre, sèches, la pomme de terre prend une teinte rougeâtre. Après deux jours, cette teinte s'atténue, tandis que la couleur noire s'accroît ; cependant la teinte rosée se voit toujours un peu (pl. III, fig. 5). Il n'y a pas beaucoup d'efflorescence.

Après 10 jours, la culture est complètement rose brun, la surface a un aspect plissé et verruqueux se rapprochant tout à fait de ce que nous verrons au début d'une culture obtenue avec la souche Palermo. Plus tard encore, les efflorescences ont presque totalement disparu. Au Gram, on voit cependant très facilement des thallospores, mais plus disséminées.

La figure 6 (pl. III) montre la culture le sixième jour, le liquide du fond est bien rosé et il s'y développe des colonies sèches, lichénoïdes, jaunâtres.

Si la culture reste longtemps à une température non inférieure à 25°-27°, à la longue la pomme de terre est ramollie puis subit une réduction par digestion lente. Le milieu est alcalin.

Toutes les cultures réussissent en anaérobiose.

L'action pathogène des cultures sur les bovidés s'est montrée absolument nulle.

2^e CAS. — *ACTINOMYCOSE, SOUCHE PALERMO*
(RÉPUBLIQUE ARGENTINE)

Il s'agit d'un bœuf qui a servi à l'Institut national de bactériologie de Palermo à des expériences sur les piroplasmoses, il portait une forte lésion d'actinomycose à la mâchoire inférieure. Dans le pus, on pouvait voir de nombreux grains typiques avec massues. Cet animal est sacrifié le 5 août 1901 afin d'étudier le parasite de son actinophytose.

Caractères des cultures de l'*Actinomyces bovis*, souche Palermo.

— Quelle que soit la couleur montrée tout d'abord par ce parasite, il a toujours une grande tendance à prendre à la longue, soit à l'étuvé, soit à la température de la chambre, une teinte jaune et un aspect lichénoïde. Ces caractères étaient il y a déjà longtemps considérés comme typiques de l'*Actinomyces bovis* classique.

Bouillon peptoné. — La culture est faite le 14 octobre. Deux jours après, c'est-à-dire le 16, il a poussé de petits grains déposés au fond du tube, le milieu reste clair. Le 17, les petits grains commencent à s'attacher aux parois du tube. Le 23, les grains floconneux sont nombreux ; quelques-uns se trouvent à la surface du liquide. Le 29, il y a des colonies nombreuses contre la paroi au niveau du bord supérieur du bouillon ; elles sont pour la plupart efflorescentes, blanches, quelques-unes ont un aspect lichénoïde, de teinte jaune soufré. Plus tard encore, le milieu a une réaction alcaline, il est resté limpide.

Bouillon peptoné glycosé. — Pas de fermentation, même constatation que pour le bouillon ordinaire.

Bouillon peptoné lactosé. — Mêmes caractères des cultures.

Bouillon peptoné pancréatique. — Pas d'indol.

Thé de foin. — La culture se fait avec les mêmes caractères, mais les grains floconneux sont moins nombreux.

Lait. — Le lait estensemencé le 14 juillet et jusqu'au 17 on ne constate rien d'anormal. Le 18, on voit que l'*Actinomyces bovis* a poussé au bord supérieur sous forme de grains floconneux, mais le milieu n'a pas changé d'aspect. Le 19, le lait est coagulé sous la forme d'un caillot mou, blanc, homogène. Dès le 20, on voit commencer la peptonisation du caillot. Le 21, le sixième supérieur du caillot est liquide, opalescent. Les 22 et 23, la peptonisation augmente, le tiers supérieur du coagulum est liquéfié, ambré. Le 27, les deux tiers du caillot sont liquides. Le 3 août, il reste à peine un cinquième du caillot non liquéfié. Le 6 août, le tube est presque complètement liquide jusqu'en bas, la couleur est ambrée ; la ma-

tière grasse forme de petites gouttelettes en haut du tube ; la réaction est alcaline.

Sérum de bœuf solidifié. — L'ensemencement est fait le 3 septembre avec une culture sur gélatine. Le 4, rien d'apparent. Le 5, il y a de très fines colonies punctiformes transparentes. Le 6, les colonies sont plus nombreuses et plus visibles parce qu'elles sont un peu plus opaques ; on dirait un sablé très fin sur la surface. Le 7, c'est un semis de petites colonies punctiformes, un peu sèches, opaques. Le 9, les colonies ont grossi ; cependant elles sont encore petites comme une piqûre d'épingle ; elles sont devenues opaques, blanc-jaunâtre et ressemblent à des colonies microbiennes, mais elles adhèrent fortement au substratum en s'y enfonçant. Le 11, les colonies ont le volume d'une demi-graine de pavot, le sérum est plus mou. Le 13, je suis obligé de coucher le tube parce que le sérum est devenu très mou. Le 15, les colonies ont le volume d'une graine de pavot, à surface un peu irrégulière ; le sérum a franchement commencé à se liquéfier ; il n'y a pas encore eu d'efflorescence. Le 24, le volume des colonies est comme celui d'un grain de chènevis. Le 4 octobre, le sérum est presque complètement peptonisé ; pas d'efflorescence ; réaction alcaline.

Gélatine. — Le 21 août, une culture faite le 14 montre sur toute la surface un fin pointillé transparent formé par de fines colonies ; là où le parasite avait été déposé plus abondamment, il y a une culture verruqueuse un peu plissée surplombant la surface, de teinte très légèrement rosée, la gélatine n'est pas liquéfiée. Le 23, la gélatine commence à se liquéfier. Le 26, la gélatine est en partie liquide ; cette peptonisation est complète le 1^{er} septembre et la réaction du liquide est alcaline. Il n'y a pas eu d'efflorescence.

Gélose peptonée. — Culture du 29 octobre. Dès le 31, colonies petites, transparentes qui, les jours suivants, deviennent tout à fait opaques, d'un blanc de cire, arrondies, de la grosseur d'une petite tête d'épingle à celle d'un grain de millet ; elles s'enfoncent bien dans le substratum. Le 5 novembre, les colonies rondes, de volume variable, surplombent de plus en plus la surface du milieu ; le 6, quelques colonies ont le volume d'un grain de chènevis (pl. IV, fig. 1 et 2). Le 13, les colonies forment un liseré plat, la colonie est opaque blanc-grisâtre et dans le substratum s'est enfoncée une partie de la colonie égale à celle qui est à la surface. Pas d'efflorescence.

Gélose de Würtz. — La culture ressemble à celle de la gélose peptonée ; elle n'est pas virée, mais au contraire la teinte bleue s'est accentuée.

Pomme de terre ordinaire. — Une culture faite le 5 août sur pomme de terre montre, après trois à quatre jours, de petites colonies formant des élevures brun roussâtre qui bientôt grossissent, deviennent confluentes et prennent la forme et l'aspect verruqueux pas encore très sec.

Le 14, à la partie supérieure de la culture, on constate une efflorescence blanchâtre. Comme pour les autres *Actinomyces*, ces parties blanches peuvent ne pas laisser voir une grande quantité de thallospores, mais c'est dans ces parties qu'il faut les chercher. Quant aux filaments, ils sont en général très fins ; on en distingue cependant de plus épais ; c'est dans ceux-ci exclusivement que se forment les thallospores.

Le 16, la culture a l'aspect présenté par la fig. 3 (pl. IV), c'est-à-dire que la moitié supérieure est blanchâtre, crayeuse, tandis que l'autre partie est brun roussâtre ; l'aspect verruqueux est conservé, la surface est plus sèche.

Le 17, l'efflorescence blanche s'étend en bas. Le 18, le quart inférieur seul reste sans efflorescence ; le tiers supérieur commence à prendre une teinte jaunâtre. Le 19 août, c'est-à-dire 15 jours après l'ensemencement, la culture a un aspect très curieux représenté par la figure 4 (pl. IV). On voit, en effet, le tiers supérieur coloré franchement en jaune, le tiers moyen en blanc et le tiers inférieur en brun roussâtre. Les jours suivants, le jaune et le blanc gagnent progressivement du terrain. Le 21, il n'y a plus que le cinquième inférieur de la culture qui est encore roussâtre, tout le reste est jaune, mais cette teinte est plus accentuée en haut et va en se dégradant vers le bas. A mesure que le temps passe, le jaune envahit toute la culture (fig. 5, pl. IV).

Une fois hors de l'étuve, si la température de la chambre est supérieure à 25°, la teinte jaune peut encore s'accroître ou devenir jaune verdâtre. On a ainsi des aspects variés dont la figure 1 (pl. V) donne un aperçu. Quelquefois la culture est tout à fait lichénoïde.

Pomme de terre glycinée. — La culture est faite le 10 août. Après deux jours, les colonies apparaissent. Le 14, sur toute la surface de la pomme de terre, on voit des colonies assez humides, déjà confluentes, d'une teinte jaune verdâtre, très différentes de ce que nous avons vu pour la culture sur pomme de terre ordinaire.

Le 16, les colonies sont plus saillantes et confluentes, d'un vert plus foncé ; il n'y a pas d'efflorescence.

Le 17, la culture a l'aspect de la figure 2 (pl. V) ; les colonies ont la même teinte que la veille, mais elles ont réellement un aspect verruqueux. Il apparaît quatre ou cinq petits points blancs.

Le 18, toute la surface est revêtue d'un début d'efflorescence.

Le 19, la teinte verdâtre fonce de plus en plus et l'efflorescence s'accroît.

Le 20 août, toute la surface de la culture est nettement efflorescente, blanchâtre ; les colonies sont brunes, à peine verdâtres, elles sont épaisses et très verruqueuses.

Le 21, la couleur verte a complètement disparu, il reste un fond brun, saupoudré de blanc crayeux.

Le 24, l'efflorescence s'est accentuée ainsi que la teinte brun noirâtre qui a gagné toute la pomme de terre.

Le 7 septembre, la culture a l'aspect donné par la figure 3 (pl. V) ; on voit que l'efflorescence a disparu en grande partie et que tant la pomme de terre que les colonies sont de teinte noirâtre. Le liquide du fond est jaune verdâtre, à sa surface se voient des colonies sèches légèrement jaunes. A la température du laboratoire (25° environ), l'efflorescence s'est d'abord reproduite un peu. Le liquide du fond brunit ; à sa surface, les colonies d'aspect tout à fait lichénoïde prennent de plus en plus la couleur jaune. La pomme de terre se ramollit un peu.

Le 27 octobre, le liquide du fond a l'aspect de la figure 4 (pl. V), il est brun et les colonies sont parfaitement lichénoïdes et jaunes. Réaction alcaline.

L'*Actinomyces bovis* (Palermo) pousse bien dans le vide.

L'action pathogène des cultures est absolument nulle.

3^e CAS. — ACTINOMYCOSE, SOUCHE LABOULAYE (RÉPUBLIQUE ARGENTINE)

Dans la localité de Laboulaye, j'ai eu l'occasion d'étudier plusieurs cas d'actinomycose classique chez le bœuf ; cette contrée m'avait été signalée comme particulièrement propice à cette maladie.

Caractères des cultures de l'*Actinomyces bovis*, souche Laboulaye. — Après avoir décrit avec quelques détails les cultures des souches Lucet et Palermo, il me paraît suffisant de donner des indications générales sur la souche Laboulaye.

Les cultures en bouillon peptoné, en bouillon peptoné lactosé et glycosé, en bouillon pancréatique, en thé de foin, dans le lait et sur gélatine, donnent les mêmes caractères que ceux des deux *Actinomyces* étudiés plus haut.

Pour la culture sur sérum, l'une d'elles n'a pas encore liquéfié le milieu du 9 octobre au 5 novembre, tandis que les autres commen-

çaient à se liquéfier le dixième jour. La figure 1 (pl. V) montre une culture efflorescente de 14 jours où la liquéfaction est très sensible. Il n'y a pas eu de couleur violacée. Réaction alcaline.

Gélose. — Là encore je n'ai rien de bien particulier à signaler si ce n'est ce fait important de l'aspect différent des fig. 2 et 3 (pl. VI) qui représentent cependant la culture du même organisme.

Dans la figure 2, l'*Actinomyces* a été ensemencé peu de jours après son isolement de la lésion du maxillaire. La culture, âgée de 21 jours, est très efflorescente, crayeuse et exubérante.

La figure 3 représente une culture de 30 jours sur gélose du même microbe, faite quatre mois après son isolement des lésions. L'efflorescence a disparu et la culture, très finement verruqueuse et sèche, ne ressemble pas du tout à la précédente.

Gélose de Würtz. — Rien de particulier sur ce milieu qui non seulement n'est pas viré, mais qui voit sa teinte devenir d'un bleu plus foncé.

Pomme de terre ordinaire. — La culture se fait très bien et comme toujours l'aspect est variable suivant l'âge de la culture et même l'époque de celle-ci. La figure 4 (pl. VI) montre une culture de 9 jours, tandis que la fig. 5 fait voir la même le 19^e jour. La teinte rose du début a presque disparu, l'efflorescence également et toutes les colonies d'un gris-bleuâtre sont devenues franchement noires.

Dans la figure 1 (pl. VII), la culture date de 22 jours, elle a été faite avec le même *Actinomyces* que les deux précédentes, mais trois jours après celles-ci. Nous avons un aspect un peu différent, la culture est aussi moins abondante.

Pomme de terre glycinée. — Rien de particulier à signaler, sinon que les cultures de l'*Actinomyces* souche Laboulaye se font très aisément sur ce milieu. La figure 2 (pl. V) nous montre une culture de 12 jours efflorescente, jaunâtre ; la figure 4 (pl. VII) représente une culture de 17 jours, jaune doré, verruqueuse en bas et finement vermiforme dans la plus grande partie de son étendue. Le liquide du fond est devenu jaune.

Quant à la figure 3 (pl. VII), elle montre une culture de 15 jours, ensemencée avec un *Actinomyces* retiré d'un autre cas d'actinomycose bovine de Laboulaye, dix jours après l'isolement de la lésion ; l'aspect est totalement différent de celui donné pour les figures 2 et 4.

L'*Actinomyces* souche Laboulaye est aéro-anaérobie. Ses cultures ne sont pas pathogènes.

4^e CAS. — ACTINOMYCOSE, SOUCHE BERGES
(RÉPUBLIQUE DE L'URUGUAY)

Ce cas m'a été envoyé le 17 juin 1901 de Montevideo, République de l'Uruguay, par le D^r P. Bergès, il s'agissait également d'un bovidé porteur de lésions actinomycosiques de la mâchoire.

Les caractères culturels de l'*Actinomyces* souche Bergès sont identiques à ceux décrits pour les *Actinomyces* précédents, sauf quelques différences d'aspect comme c'est la règle pour ces microbes. C'est aussi un aéro-anaérobie dont les cultures sont sans effets sur les bovidés et les autres animaux de laboratoire.

Je reproduis seulement quelques aspects de ce parasite pour ne pas allonger outre mesure ce travail. La figure 2 (pl. VIII) montre une culture sur gélose faite depuis trois jours seulement, peu après l'isolement de la lésion. La figure 3 représente une culture sur gélose de huit jours, l'efflorescence crayeuse est à la partie supérieure du tube. La figure 4 donne l'aspect d'une culture de 30 jours sur pomme de terre ordinaire. Enfin la figure 1 est une culture sur sérum de 6 jours remarquablement crayeuse. Plus tard, le sérum sera liquéfié et la réaction deviendra fortement alcaline.

Sur grains d'avoine humides, comme pour les trois autres *Actinomyces* étudiés plus haut, la culture se fait très rapidement sous la forme de taches gris-blanchâtre ou jaunâtre avec une odeur forte de moisi ; parfois l'enveloppe de l'avoine est attaquée et se ramollit. La réaction est alcaline.

II. — Identité des actinomycètes saprophytes et de l'*Actinomyces bovis*

Dans le travail présenté avec Spitz au Congrès International de Madrid, en 1903, nous avons déjà indiqué que les microbes filamenteux dichotomisés qu'on trouve dans le sol, les eaux, les fumiers, les poussières ont les mêmes caractères que l'*Actinomyces bovis*. Je vais donner maintenant un résumé des caractères de ces microbes. Rien n'est plus facile que de les isoler des graines, des fourrages, de la paille et souvent du tube digestif ou même des organes, surtout du foie, d'animaux non atteints d'actinomycose.

Bouillon peptoné. — Culture en petits flocons sans troubler le milieu ; avec le temps, couleur plus obscure du milieu, réaction alcaline. Les colonies de la partie supérieure du liquide sont très efflorescentes, crayeuses, parfois grisâtres, plus rarement rosées.

Bouillon lactosé ou glycosé. — Donne les mêmes résultats, il n'y a pas de fermentation. Réaction alcaline.

Bouillon pancréatique. — Ne donne pas d'indol.

Thé de foin. — Montre une culture qui ressemble beaucoup à celle du bouillon peptoné.

Lait. — Est peptonisé et alcalinisé.

Gélatine. — Liquéfiée et alcalinisée ; les colonies entrent dans le substratum.

Sérum solidifié. — Aussi peptonisé avec réaction alcaline.

Gélose. — Donne des cultures riches, mais d'ordinaire plus crayeuses que la plupart des *Actinomyces* retirés de lésions actinomycosiques ; les colonies verruqueuses parfois lichénoïdes s'enfoncent fortement dans le milieu.

Gélose de Würtz. — Pas virée, la teinte bleue devient plus foncée.

Pomme de terre ordinaire ou glycinée. — Les cultures sont très faciles, elles sont moins chromogènes en général que celles de l'*Actinomyces bovis*, mais elles donnent plus facilement l'efflorescence blanche et l'aspect crayeux où l'on trouve les thallospores en abondance. Dans les bonnes cultures, avec le temps, la pomme de terre est ramollie.

Les graines humides se couvrent rapidement d'une couche grisâtre ou blanchâtre. L'odeur dans toutes les cultures est aussi celle du terreau ou des moisissures.

Les cultures sont constituées par un microbe filamenteux à ramifications vraies (dichotomie) produisant des thallospores qui conservent la coloration de Gram aussi bien que les filaments ; ces thallospores se forment comme dans l'*Actinomyces bovis* et ont le même aspect. Le microbe est aéro-anaérobie. L'action pathogène est nulle ; pas plus avec lui qu'avec l'*Actinomyces bovis*, on ne peut reproduire de lésions à actinophytes chez les bovidés ni déterminer d'action toxique. Une partie des figures qui représentent l'*Actinomyces* souche Laboulaye et souche Bergès pourraient s'appliquer exactement au microbe des graminées, des fourrages, du terreau, etc..

Il semble bien aussi que le *Streptothrix alba* de Rossi Doria, les *Streptothrix* chromogènes de Gasperini, les *Actinomyces graminea*, *Streptothrix avena* ou *Dassonvillei* et d'autres encore, sont identiques à l'*Actinomyces bovis*. On pourra tout d'abord résister à l'idée de l'identité de l'*Actinomyces bovis* avec les actinomycètes communs des graminées, ceux de la terre, etc., parce que le premier produit des lésions avec grains à massues qu'on ne voit pas se produire pour les autres. Mais cette objection tombe d'elle-même, puis-

que, en réalité, nous ne savons pas reproduire les lésions d'actinophytose à l'aide des cultures de l'*Actinomyces bovis* retiré de ces lésions. Si on a écrit le contraire, c'est qu'on a confondu l'inoculation avec d'autres microbes différents comme les *Brevistrepthrix Israeli* et *Spitzi*.

Jusqu'ici le mode d'inoculation spontané ou expérimental de l'*Actinomyces bovis* au bœuf, nous est complètement inconnu : il y a là une lacune à combler, mais je suis persuadé que le jour où on pourra à volonté inoculer ce microbe et produire une actinophytose, on obtiendra des résultats identiques avec l'actinomycète si répandu partout dans le milieu extérieur et dont je viens de donner les caractères morphologiques et biologiques.

III. — Description de trois types d'actinomycètes pathogènes

Mes recherches en collaboration avec Spitz m'ont amené à caractériser trois types d'actinomycètes pathogènes, dont la connaissance constitue, à mon avis, le début d'une classification scientifique de ces champignons.

1. — Genre *Actinomyces* Harz, 1877

Espèce type : *Actinomyces bovis* Harz, 1877.

Les caractères morphologiques, culturels et biologiques de l'*Actinomyces bovis* ont été depuis longtemps étudiés par un grand nombre de savants. Parmi les travaux qui ont paru depuis celui de Harz (1877), il faut citer notamment celui de Sauvageau et Radais (1892) qui a fait faire un grand pas à la connaissance de ces organismes. Aujourd'hui nous essayons de donner les caractères qui doivent servir à délimiter le genre *Actinomyces* tel que nous le comprenons.

Bien que l'aspect des cultures de l'*Actinomyces bovis* soit extrêmement varié, surtout sur les milieux solides, et en tout premier lieu sur la pomme de terre ordinaire ou glycérinée, il est facile de noter un certain nombre de caractères fixes et communs à toutes les souches examinées qui doivent servir à l'identifier. Je vais résumer ces caractères.

Dans le pus des lésions, grains entourés des massues rayonnées classiques, souvent durs et calcifiés, à centre filamenteux.

Microbe aéro-anaérobie, immobile, filamenteux, non cloisonné,

dichotomisé, donnant des formes de résistance ou thallospores prenant le Gram comme les filaments.

Sur les milieux solides, les colonies s'enfoncent dans le substratum de telle sorte que le fil de platine les enlève avec une grande difficulté et souvent en arrachant en même temps un peu du milieu de culture.

A la surface des cultures il se produit une efflorescence blanchâtre, parfois crayeuse où se trouvent d'ordinaire en abondance les thallospores qui doivent être considérées comme l'expression d'une fructification.

L'Actinomyces bovis est un ferment peptonisant, il alcalinise fortement les milieux de culture. Il peut ramollir la pomme de terre.

L'action pathogène des cultures est nulle, on n'a pas pu jusqu'ici en les inoculant, reproduire l'actinophytose chez les bovidés.

Cultures. — Sur les milieux solides, elles sont le plus souvent chromogènes, les teintes sont variées. La formation d'une efflorescence blanche est la règle. Toutes les cultures liquides ou solides dégagent une odeur de terreau ou de moisi ; elles sont constituées par de longs filaments dichotomisés et des thallospores.

Bouillon simple ou peptoné. — Après 24 à 48 heures, on voit se former de petits grains floconneux qui tombent au fond du tube ou s'attachent contre les parois ; les jours suivants, les flocons augmentent de volume et de nombre. Plusieurs se fixent au bord supérieur du liquide, deviennent efflorescents et verruqueux. Le liquide n'est jamais troublé ; à la longue, il prend une teinte plus brune et sa réaction est nettement alcaline.

Bouillon peptoné lactosé et glycosé. — Ils ne sont pas fermentés et se comportent comme le bouillon peptoné ordinaire.

Thé de foin. — Mêmes caractères, le milieu devient alcalin. Ne produit pas d'indol décelable par l'azotite de potasse.

Lait. — Forme un coagulum mou, qui se redissout jusqu'à complète peptonisation du lait ; celui-ci prend une teinte grise et une réaction nettement alcaline.

Sérum de bœuf solidifié. — Il est liquéfié avec une réaction alcaline. Les colonies qui se forment sont verruqueuses et efflorescentes.

Gélatine. — Elle est aussi peptonisée et rendue plus brune avec réaction alcaline.

Gélose de Würtz. — Pas virée, la teinte bleue s'accentue.

Gélose peptonée. — La culture commence souvent après 24 heures. Les colonies d'abord luisantes, opaques, s'enfoncent très

fortement dans le substratum ; si elles se réunissent elles forment une couche verruqueuse, plissée. A la surface il se forme une efflorescence blanche. L'aspect est variable avec le temps et la qualité du filament. Sa couleur est aussi variable. La gélose n'est pas liquéfiée. Les cultures s'enlèvent avec la plus grande difficulté, on ne peut les étaler avec la spatule de platine.

Pomme de terre ordinaire. — Culture facile, présentant des aspects extrêmement variés. A la surface du milieu, on voit des colonies sèches, verruqueuses, plissées, formant une couche épaisse très adhérente, très difficile à dissocier. L'efflorescence blanche se produit toujours. Aspect chromogène varié.

Pomme de terre glycinée. — Aspect également très variable, à la longue le champignon peut digérer la pomme de terre. Réaction alcaline.

Graines humides. — Culture facile, abondante, de teinte blanchâtre, grisâtre ou jaunâtre, d'odeur forte de terreau ou de moisi. Dans les circonstances les plus favorables, il se produit un ramollissement des enveloppes des graines, la réaction est alcaline.

2. — Genre *Brevistreptothrix* n. g.

Espèce type : *Brevistreptothrix Israël*i (Kruse, 1896).

Wolff et Israël ont décrit les premiers en 1890, dans un cas d'actinomycose humaine, un parasite auquel ils reconnurent des caractères différents de ceux d'*Actinomyces bovis* Harz ; cependant, ils croyaient quand même à leur parenté. Aussi Kruse, en 1896, réunit les deux espèces sous le nom de *Streptothrix Israël*i.

En 1903, j'ai démontré avec Spitz que l'*Actinomyces bovis* et l'*Actinomyces Israël*i sont deux parasites appartenant à deux groupes différents (1).

En 1911, Pinoy, étudiant les concrétions du canalicule lacrymal, retrouva le parasite étudié par Cohn en 1874 sous le nom de *Streptothrix Færsteri* et proposa le nom de *Cohnistreptothrix Færsteri* (2). Dans ce nouveau genre, Pinoy a fait entrer *Actinomyces Israël*i et *A. Thibierge*i. Il est possible que l'*Actinomyces Færsteri* appartienne à un nouveau genre et le nom de *Cohnistreptothrix* est fort approprié ; mais les caractères de ce genre ne sont pas assez précisés et il

(1) J.-H. WRIGHT, aux Etats-Unis, et PINOY, en France, ont rencontré plus fréquemment *Actinomyces Israël*i qu'*Actinomyces bovis* dans les lésions d'actinomycose.

(2) E. PINOY. — Actinomycoses et Mycétomes. Revue. Bull. de l'Institut Pasteur, 15 novembre 1913, p. 932.

reste à démontrer la parenté de ce parasite avec l'*Actinomyces Israëli*.

Pour distinguer *A. Israëli* et *A. Spitzii* des autres parasites dont ils sont totalement différents, je leur ai donné le nom de *Brevistreptothrix Israëli* et *B. Spitzii* à cause de la brièveté des éléments microbiens qu'on rencontre généralement dans leurs cultures en milieux artificiels.

Dans le pus, les grains ont tout à fait l'aspect de ceux de l'*Actinomyces bovis*, on y voit des massues rayonnées à centre filamenteux. Ces grains ont peu de tendances à se calcifier ; ils se colorent aussi en jaune verdâtre par la glycérine picrocarminée ; la partie centrale reste colorée par le Gram.

Le *Brevistreptothrix Spitzii* est aéro-anaérobie, mais il croît beaucoup mieux en l'absence de l'air ; il pousse sous la forme de bâtonnets jamais cloisonnés de 0 μ , 5 à 0 μ , 6 d'épaisseur, droits ou recourbés, avec une épaisseur un peu plus grande à une extrémité comme le bacille diphtérique ; c'est seulement dans le liquide de condensation de la gélose qu'il apparaît sous forme filamenteuse avec de rares ramifications presque à angle droit. Quelle que soit la forme du microbe, il est immobile, prend bien les matières colorantes et reste coloré par le Gram. Dans les cultures on ne voit jamais d'efflorescence et les thallospores font toujours défaut. L'aspect des cultures n'est pas varié comme pour l'*Actinomyces bovis*. Sur les milieux solides, notamment la gélose, les colonies s'enlèvent avec la plus grande facilité avec la spatule de platine et s'étalent très aisément. Dans le bouillon pancréatique, il ne se produit pas d'indol.

Le *Brevistreptothrix Spitzii* n'est pas un ferment peptonisant, il n'alcalinise jamais les milieux de culture et fait fermenter légèrement le glycose et le lactose.

Les cultures, surtout anaérobies, dégagent une odeur qui se rapproche de celle de l'acide sulfhydrique ou de certains fromages.

Action pathogène. — L'inoculation sous-cutanée des cultures récentes ou après de nombreux passages est toujours positive chez le bœuf et le mouton qui donnent des abcès aux points d'injection : dans le pus on trouve les grains caractéristiques et des filaments ramifiés. Le porc, le chien, le lapin, le cobaye, le rat, la souris, la poule et le pigeon présentent une tuméfaction aux points d'inoculation, sans donner de pus. Chez le cheval, on observe, après l'inoculation sous-cutanée, un abcès, mais dans le pus il n'y a pas de grains et parfois, l'ensemencement de ce pus en bouillon reste stérile.

L'inoculation intrapéritonéale chez le cobaye, le rat et la souris ne produit aucune lésion spécifique.

Cultures. — *Bouillon peptoné.* — Après 3 jours la culture commence, elle prend l'aspect de petits grains blanc-grisâtre faiblement adhérents aux parois du tube ; les grains tombent au fond et le milieu s'éclaircit complètement. Pas de voile, pas d'anneau. Si on agite une culture de cinq à six jours, on voit se disperser dans le liquide le dépôt granulo-floconneux du fond.

Le milieu n'est jamais uniformément trouble, mais il prend l'aspect d'un liquide renfermant en suspension un fin précipité albumineux. Les amas granuleux ou floconneux sont constitués uniquement par des bacilles courts, diphtériformes, disposés en petits amas comme des buissons d'épines ; il n'y a pas de filaments.

Les cultures aérobies en bouillon n'ont qu'une faible odeur, leur réaction est acide.

Bouillon peptoné sérum. — La culture est plus abondante quand on ajoute du sérum.

Bouillon glycosé. — Même aspect des cultures, la réaction devient franchement acide.

Bouillon lactosé. — Il se produit la même fermentation de ce sucre, la réaction est acide.

Thé de foin. — La culture s'y fait assez bien et comme dans le bouillon peptoné.

Lait. — Il est coagulé avec une réaction acide ; le caillot ne se redissout pas.

Gélatine. — A la température de 20 à 22°, il ne se fait pas de culture ; à 37°, le développement se fait comme dans le bouillon. La culture ramenée ensuite à 22° se solidifie, ce qui prouve que la gélatine n'est pas liquéfiée par *Brevistreptothrix Spitzl*.

Gélose de Würtz. — La culture est faible et cependant le milieu vire au rouge.

Gélose peptonée. — Seulement après 48 heures, on voit se former un semis de très petites colonies punctiformes qui grossissent les jours suivants. C'est vers le sixième jour que la culture est caractéristique ; à ce moment on y voit des colonies arrondies à centre surélevé, blanches, opaques. D'autres colonies plus petites ont les bords irréguliers et le centre un peu concave. Vers le dixième jour, les colonies prennent la forme de toutes petites pyramides ; d'autres sont cratériformes. Avec le temps elles deviennent plus sèches et donnent l'aspect d'une culture de tuberculose. La couleur des colonies varie du jaune clair au jaune orangé ou au brun. Les colonies

sont aussi constituées par des formes bactériennes souvent en V. Les passages sur gélose aérobie perdent vite leur vitalité.

Sérum solidifié. — Que le sérum provienne du cheval ou du bœuf, la culture se fait un peu comme sur la gélose. Le milieu n'est pas liquéfié. On y voit souvent de longs filaments non ramifiés.

Pomme de terre simple. — On obtient un résultat seulement après avoir ensemencé du pus. Alors, après 4 à 5 jours, on voit sur la pomme de terre de petites colonies blanc-grisâtre rondes, saillantes, molles, constituées par des filaments enchevêtrés prenant le Gram. Un repiquage de ces colonies sur une deuxième pomme de terre reste négatif.

Pomme de terre glycinée. — Pas de culture.

Toutes les cultures faites en aérobie, sauf celles en bouillon peptoné qui durent un peu plus longtemps, perdent leur vitalité après dix jours environ.

3. — Genre *Actinobacillus* (1)

Espèce type : *Actinobacillus Lignieresii* Brumpt, 1910.

Dans leur classification, Chalmers et Christopherson (1916), placent dans le même genre, sous les noms de *Nocardia bovis* et *Nocardia Lignieresii*, le parasite de l'actinomycose bovine et l'actinobacille, ce qui, à mon avis, ne peut se soutenir.

D'ailleurs, je considère que dans l'état actuel de nos connaissances, toute classification du genre de celle de Chalmers et Christopherson, et malgré leur grande compétence, est inacceptable parce que ce serait vouloir classer des parasites dont la grande majorité nous est encore imparfaitement connue.

Pour aboutir, il faut suivre la méthode que j'ai employée pour classer les septicémies hémorragiques, c'est-à-dire faire une étude systématique et comparée des parasites à classer pour en découvrir les types principaux, déterminer avec précision les caractères spécifiques de ces types et alors rien n'est plus facile que de placer dans chacun d'eux toutes les espèces qui doivent y entrer. C'est ce que j'ai entrepris pour les actinomycoses du bœuf, comme je l'ai exposé plus haut, dans la première partie de ce mémoire.

Dans le pus des lésions, les grains petits, mous, rarement calcaires, à massues bien rayonnées, sont nombreux ; ils ont les mêmes affinités pour l'acide picrique que ceux des actinophytoses décrites

(1) Brumpt a donné, en 1910, le nom générique d'*Actinobacillus* au champignon que j'ai étudié avec Spitz en 1902 et que j'ai nommé actinobacille.

dans les deux groupes précédents. Par contre, la partie centrale de ces grains qui se décolore par la méthode de Gram, ne montre jamais de filaments simples ou ramifiés, mais bien de petits bacilles dont nous allons voir les propriétés.

L'Actinobacillus Lignieresii est aéro-anaérobie, il se présente parfois sous la forme d'un microbe à peine plus grand que celui de la pasteurellose aviaire ou choléra des poules. Les premières cultures donnent des microbes de forme bacillaire ; plus tard, surtout en gélose, l'aspect peut être celui d'un cocco-bacille ou même d'un diplocoque. Si on ajoute un peu de sérum au bouillon, le microbe se présente en streptobacilles. Les dimensions de la forme bacillaire varient de $1\ \mu$, $15\ \mu$ à $1\ \mu$, $25\ \mu$ de long sur $0\ \mu$, $4\ \mu$ de large. Il est immobile, c'est-à-dire sans mouvements de translation et ne produit pas de spores. On le colore assez facilement à l'aide des matières colorantes d'aniline, mais il ne prend pas le Gram. Dans le bouillon pancréatique, il donne de l'indol.

Action pathogène. — *L'Actinobacillus* est un microbe toxique. Inoculé dans les veines, il provoque des troubles chez la plupart des animaux et parfois il tue notamment le lapin, le chat et le chien.

Par inoculation sous-cutanée, il produit facilement des abcès chez le chien, le lapin, le cheval, l'âne, le rat blanc, mais on n'y trouve pas de grains à massues caractéristiques.

L'inoculation intrapéritonéale des cultures provoque chez le lapin la formation de nodules purulents sans touffes de massues. Par contre, les injections de cultures dans le péritoine du cobaye détermine des nodules remplis de pus dans lesquels se trouvent de grandes quantités de grains à massues rayonnées caractéristiques.

L'Actinobacillus Lignieresii s'inocule avec la plus grande facilité sous la peau du mouton et surtout du bœuf. Dans le pus des abcès on trouve les grains caractéristiques de la maladie naturelle. Les oiseaux ne sont pas sensibles.

Cultures. — *Bouillon simple et peptoné.* — Il se fait un trouble uniforme mais discret. Dans les vieilles cultures il se forme un voile léger et un dépôt pulvérulent. La réaction du milieu ne change pas ; il n'y a pas d'odeur.

Bouillon peptoné sérum. — La culture est plus abondante.

Bouillon lactosé. — Légère fermentation, réaction acide.

Bouillon glycosé. — La fermentation se fait un peu mieux.

Thé de foin. — Si la culture est faite avec des microbes récemment isolés des lésions, le trouble est extrêmement léger. La réaction n'est pas changée.

Lait. — Il n'est jamais coagulé quoique la réaction soit nettement acide.

Gélatine. — L'actinobacille pousse peu ; cependant à la longue il se forme de petites colonies pointillées blanc-bleuâtre. Pas de liquéfaction.

Gélose. — C'est le meilleur milieu. Il s'y développe facilement en 24 heures des colonies petites, translucides, bleuâtres. Lorsqu'elles sont peu nombreuses, elles sont plus grandes, bleuâtres, puis opaques. En strie, les premières cultures ressemblent un peu à celles du bacille d'Eberth, mais elles sont plus sèches et adhèrent assez fortement à la surface de la gélose sans entrer dans le substratum ; elles n'atteignent jamais les bords du tube. Après plusieurs passages la culture devient plus abondante, filante, visqueuse, elle s'enlève et se repique aisément. Les cultures un peu vieilles dégagent une odeur spermatique. On ne voit, non plus que sur aucun autre milieu, la formation d'efflorescence blanche.

Gélose de Würtz. — Après 48 heures, elle est complètement virée au rouge.

Sérum solidifié. — Culture discrète, moins abondante que sur gélose.

Pomme de terre simple. — Aucune culture apparente.

Pomme de terre glycinée. — Même constatation.

Pomme de terre simple-alcalinisée. — Il se fait une culture sous forme d'une couche mince, luisante, gris-jaunâtre.

Les cultures anaérobies sont un peu moins abondantes que celles qui sont faites en présence de l'air.

CONCLUSIONS

Nous pouvons tirer de ce travail les conclusions suivantes :

1° Bien que l'aspect des cultures de l'*Actinomyces bovis*, qu'on considère comme la cause de l'actinomycose bovine classique, soit très variable, notamment sur les milieux solides, il est facile de distinguer un ensemble de caractères morphologiques et biologiques permettant de constituer avec ces champignons un groupe bien délimité.

2° L'*Actinomyces bovis* est identique aux actinomycètes rencontrés et décrits maintes fois et qui se trouvent en abondance sur les graminées, les fourrages, surtout la paille, le terreau, dans le tube digestif et en général dans la terre, l'air et l'eau.

3° Nous ne savons pas comment se produit spontanément l'actinomycose à *Actinomyces bovis*, car les cultures de celui-ci, comme

celles des actinomycètes communs des fourrages et des graines, sont absolument incapables jusqu'à présent de produire ces lésions expérimentalement.

Quand on connaîtra le mécanisme de cette inoculation, on produira des lésions à actinophytes aussi bien avec les cultures d'*Actinomyces bovis* qu'avec les actinomycètes communs des graines et des fourrages.

4° L'étude systématique et comparée des parasites qui rentrent dans le groupe des actinomycoses permet de distinguer les genres qui sont la base de toute vraie classification scientifique.

5° Cette étude m'a permis dès 1903 (Lignières et Spitz) de déterminer les caractères spécifiques de trois types avec lesquels je crois utile de constituer trois genres : *Actinomyces*, *Brevistreptothrix* et *Actinobacillus*.

RÉSUMÉ

Ce mémoire est destiné, dans ma pensée, à jeter les bases d'une classification rationnelle des actinomycètes. Dans ce but, je donne une étude détaillée des caractères morphologiques et biologiques de quatre souches d'*Actinomyces bovis*. La description de ces caractères est illustrée par huit planches en couleurs. Je démontre ensuite que rien ne permet de distinguer les actinomycètes saprophytes de l'*Actinomyces bovis*. Enfin j'établis les caractères de trois genres d'actinomycètes pathogènes : *Actinomyces*, *Brevistreptothrix* n. g. et *Actinobacillus*.

BIBLIOGRAPHIE

- LIGNIÈRES et SPITZ. — Actinobacillose. *Revista de la Soc. med. argentina*, n° 53, 1902, 108 p., IX pl.
— Contribution à l'étude des affections connues sous le nom d'actinomycose. *Archives de Parasitologie*, VII, 1903, p. 428-479, pl. V.
— Travail d'ensemble. *Congrès de Médecine de Madrid*, avril 1903.
-