



LA CELLULE



LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

PUBLIÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BIOLOGIE CELLULAIRE,
G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE, J. DENYS, PROFESSEUR D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE,
A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

AVEC LA COLLABORATION DE LEURS ÉLÈVES ET DES SAVANTS ÉTRANGERS

TOME X

1^{er} FASCICULE.

- I. Sur la part des leucocytes dans le pouvoir bactéricide du sang de chien,
par J. DENYS & J. HAVET.
- II. La soie et les appareils séricigènes (II. Trichoptères),
par Gustave GILSON.
- III. Du mécanisme des symptômes gastro-intestinaux dans le choléra asiatique,
par J. DENYS & CH. SLUYTS.
- IV. Contribution à l'étude du développement organique et histologique
du thymus, de la glande thyroïde et de la glande carotidienne.
par A. PRENANT.
- V. Étude sur les propriétés du poison du choléra asiatique,
par Charles SLUYTS.
- VI. Du rapport entre le pouvoir bactéricide du sang de chien
et sa richesse en leucocytes,
par J. HAVET.

LIERRE

TYP. DE JOSEPH VAN IN & C^{ie},
rue Droite, 48.

LOUVAIN

A. UYSTPRUYST, LIBRAIRE,
rue de Namur, 11.

1958

TABLE DES MATIÈRES DU TOME X.

I.	Sur la part des leucocytes dans le pouvoir bactéricide du sang de chien, par J. DENYS et J. HAVET	5
II.	La soie et les appareils séricigènes (I. Lépidoptères, suite. — II. Trichoptères), par Gustave GILSON	37
III.	Du mécanisme des symptômes gastro-intestinaux dans le choléra asiatique, par J. DENYS et Ch. SLUYTS	65
IV.	Contribution à l'étude du développement organique et histologique du thymus, de la glande thyroïde et de la glande carotidienne, par A. PRENANT	85
V.	Étude sur les propriétés du poison du choléra asiatique, par Charles SLUYTS	185
VI.	Du rapport entre le pouvoir bactéricide du sang de chien et sa richesse en leucocytes, par J. HAVET.	219
VII.	Contribution à l'étude du système nerveux des téléostéens (Communication préliminaire), par A. VAN GEHUCHTEN	253
VIII.	Les glandes filières de l' <i>Owenia fusiformis</i> Delle Chiage (<i>Ammochares Ottonis</i> Grube), par Gustave GILSON	297
IX.	Le sphincter de la néphridie des gnathobdellides, par H. BOLSIUS	333
X.	Étude sur l'action sporicide des humeurs, par J. LECLEF	347
XI.	Rapport entre le pouvoir pathogène des microbes et leur résistance au sérum, par J. LECLEF	377
XII.	Étude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène, par le Dr Honoré VAN DE VELDE	401
XIII.	A propos d'une critique dirigée contre le pouvoir bactéricide des humeurs, par J. DENYS	463





SUR LA PART DES LEUCOCYTES

DANS LE

POUVOIR BACTÉRICIDE DU SANG DE CHIEN

PAR

J. DENYS

&

J. HAVET

PROFESSEUR D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE.

DOCTEUR EN MÉDECINE.

(Mémoire déposé le 3 juillet 1893.)

(TRAVAIL DU LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET DE PATHOLOGIE
EXPÉRIMENTALE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.)



SUR LA PART DES LEUCOCYTES
DANS LE
POUVOIR BACTÉRICIDE DU SANG DE CHIEN

Il y a quelque temps, l'un de nous fit paraître, en collaboration avec M. KAISIN (1), un travail dans lequel il examinait la valeur des différentes objections faites à la théorie du pouvoir bactéricide des humeurs, telle qu'elle avait été formulée par BUCHNER.

La conclusion de ce travail fut qu'aucune des objections formulées ne pouvait aboutir à renverser cette théorie, que ce pouvoir jouait un rôle considérable dans l'immunité et la guérison spontanée des maladies, que l'intervention des phagocytes ne se basait sur aucune expérience décisive et que son rôle restait à définir.

Nous disions que le rôle des leucocytes et autres cellules absorbantes n'était établi sur aucune expérience décisive; en effet, nous considérons toutes celles, qui ont été invoquées, comme susceptibles d'une interprétation différente de celles données au phénomène par METCHNIKOFF et ses adhérents.

Prouvons notre affirmation en reproduisant brièvement les arguments des partisans de la phagocytose.

1° Dans les infections se terminant par la guérison, il se fait, dans la région envahie par les microbes, une diapédèse énergique et l'on trouve les leucocytes remplis de microbes ou de leurs débris. Au contraire, dans les infections mortelles, cette diapédèse est nulle ou insignifiante, et l'englobement des microbes fait défaut ou n'a pas d'importance.

(1) J. DENYS et A. KAISIN : *Recherches à propos des objections élevées récemment contre le pouvoir bactéricide du sang*; La Cellule, t. IX, 1893.

D'après les défenseurs de la phagocytose, ces faits doivent s'interpréter comme il suit. Quand les globules blancs sont à même de s'emparer des organismes envahisseurs, l'infection est enrayée, mais quand ils n'apparaissent pas sur le point menacé, les agresseurs se développent à l'aise et tuent leur hôte.

Les travaux dans lesquels on a combattu cette manière de voir sont nombreux et l'on y a fait remarquer avec raison que les faits invoqués ne rendaient pas dû tout nécessaire la conclusion qu'on voulait en tirer.

Les partisans du pouvoir des humeurs conviennent volontiers que l'apparition des leucocytes dans la région envahie et l'englobement des microbes est un fait incontestable, dans le cas où le conflit se termine par la défaite du microbe; mais, d'après eux, l'apparition des phagocytes est un phénomène secondaire, ayant pour but d'emporter, d'enterrer, pour nous servir d'une expression employée, les cadavres des organismes tués par l'influence microbicide des humeurs. Les partisans de la phagocytose posaient, suivant eux, simplement un raisonnement illogique : *cum hoc, ergo propter hoc*.

METCHNIKOFF et ses élèves ont essayé de répondre à cette objection en prouvant d'abord que les leucocytes absorbent des microbes vivants. Ils firent remarquer que, dans certains cas, les organismes situés à l'intérieur des globules blancs présentent des mouvements. Mais cet argument ne nous semble guère péremptoire, car :

1° Si ces mouvements sont lents, nous ne voyons pas bien comment on les distinguerait de ceux imprimés au microbe par le protoplasme du globule blanc.

2° S'ils sont vifs, ils nous paraissent indiquer sûrement que le leucocyte est mort, car nous ne les comprenons pas dans un milieu visqueux comme le protoplasme vivant.

Cet argument n'est donc pas décisif.

Leur second argument ne l'est pas davantage. Il est basé sur ce fait que si l'on retire du corps vivant des leucocytes renfermant des organismes, et si on les met dans des circonstances favorables au développement de ces derniers, on voit ceux-ci augmenter de nombre. Ils deviennent même tellement nombreux qu'ils remplissent tout le leucocyte et le font crever.

Cette expérience, nous le reconnaissons, prouve d'une façon définitive que le leucocyte englobe des microbes vivants, mais prouve-t-elle qu'il s'en rend maître? Nullement; au contraire, puisque le vaincu c'est lui.

La doctrine phagocytaire, à notre avis, manquait donc de base sûre, et comme les objections faites à la doctrine du pouvoir bactéricide des humeurs étaient tombées devant l'examen, l'un de nous avait conclu, dans le travail précité, que le pouvoir bactéricide intense du sang de chien devait être attribué au sérum.

Nous reconnaissons volontiers, qu'en formulant avec M. KAISIN une thèse aussi absolue, nous avons été trop loin. La source de notre erreur se trouve dans l'affirmation de certains auteurs, d'après laquelle le sérum aurait le même pouvoir bactéricide que le sang, ou à peu près. Nous nous étions fondés sur cette assertion pour nous dispenser d'expérimenter avec le sang dépouillé de ses globules, c'est-à-dire avec le sérum pur. Mais à l'occasion d'une expérience faite dans la suite, et qui avait pour but de comparer la puissance bactéricide du sang de chien avec celle de son sérum, nous avons constaté une différence considérable entre les deux liquides, différence tout en faveur du sang. Cette observation devint le point de départ des expériences que nous consignons dans ce travail et qui constituent, nous l'espérons, la preuve irrécusable de l'intervention des leucocytes dans la destruction des microbes. Elles ne peuvent en effet, d'après nous, contrairement aux observations antérieures, donner lieu à aucune autre interprétation.

Comme nous venons de le dire, le pouvoir bactéricide du sang de chien est de loin supérieur à celui de son sérum.

Donnons-en quelques preuves.

TABLEAU I.

Inoculation avec une culture de bacille commun de l'intestin dans le sang et le sérum du même chien.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 2 H.	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
Sang	13566	151	7	3	0
Sérum	17500	14280	11172	2201	728

On remarquera dans cette expérience, non seulement la différence entre les chiffres terminaux, 0 et 728, mais surtout l'inégalité dans la rapidité de la destruction.

Les expériences suivantes ont porté sur les spores du bacille du foin, provenant d'une culture sur agar et émulsionnées dans l'eau salée physiologique. Pour éliminer sûrement les formes végétatives, nous avons porté l'émulsion à l'ébullition. Il s'agit toujours de sang et de sérum de chien.

TABLEAU II.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 2 H.	APRÈS 5 H.
Sang	3542	79	7
Sérum	4692	713	2480

TABLEAU III.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
Sang	9280	210	64	18
Sérum	10530	8010	8032	22960

TABLEAU IV.

Ensemencement avec des quantités différentes de spores.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 2 H.	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
Sang	3336	135	112	52	72
	6916	667	725	270	55
	15450	1652	1050	112	
Sérum	5500	4000	1656	588	9750
	11288	5628	3105	4805	44080
	26752	15205	2050	4950	39300

Ces trois expériences avec les spores du bacille du foin fournissent le même résultat que celle qui a été faite avec le coli-bacille. *Elles prouvent que le sérum du chien possède un pouvoir bactéricide beaucoup inférieur au sang du même animal.*

A quoi tient la différence?

Il fallait naturellement songer aux globules blancs, et le premier pas à faire était tout indiqué : c'était de comparer l'action d'un sang complet avec un sang dépouillé de ses globules blancs.

Nous sommes parvenus à obtenir un sang privé de leucocytes par un moyen bien simple et incapable de produire un changement autre que l'élimination des leucocytes. Ce moyen est la filtration.

Voici comment nous procédons. Nous préparons un filtre double de papier Joseph, que nous plaçons dans un entonnoir, qui vient lui-même s'adapter sur un récipient quelconque. Le tout est arrosé abondamment d'abord d'acide phénique à 5 0/0 et ensuite d'eau salée physiologique, afin d'entraîner les dernières traces de l'antiseptique. L'entonnoir avec son filtre et le récipient sont ensuite placés dans un bocal revêtu intérieurement de papier humide, et fermé par une plaque de verre. C'est dans l'atmosphère humide de ce bocal que se fera la filtration. Le tout est porté à la couveuse, et quand l'entonnoir a pris la température du corps, nous y versons le sang préalablement chauffé à 38°. Le bocal est fermé avec la plaque, afin d'empêcher l'évaporation du sang. Les premières gouttes de sang qui passent ne renferment déjà presque plus de leucocytes à noyau polymorphe; ceux-ci disparaissent ensuite rapidement, et après la filtration de quelques centimètres cubes, le sang est complètement dépouillé de ses globules blancs à noyau polymorphe. Il conserve une partie de ses globules blancs à noyau rond et à protoplasme rudimentaire; mais comme ces derniers ne possèdent que peu de mouvements amboïdes et que même, d'après certains auteurs, ils en sont complètement dépourvus, nous n'en avons pas tenu compte dans nos expériences. L'essentiel est l'élimination des leucocytes actifs, des vrais phagocytes, et cette élimination réussit au-delà de tout espoir. Il est possible que le papier soit imprégné de quelque substance chimiotactique positive, qui retient le globule blanc.

Voici quelques expériences faites avec le sang filtré et le sang non filtré, ou sang complet. Ordinairement, nous avons opéré en même temps sur le sérum du même animal, obtenu soit par dépôt, soit par expression du caillot. Dans toutes ces expériences, l'avantage revient au sang complet; le sang filtré ne se montre pas plus actif que le sérum; bien plus, chose curieuse, il lui est généralement inférieur.

TABLEAU V.

Ensemencement avec une culture de bacille de l'intestin dans le sang de chien.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 1/2 HEURE	APRÈS 1 2 H.	APRÈS 1 H.
Sang complet	6720	924	0	0
Sang filtré	10425	7630	3562	8384
Sérum	15812	13338	21420	6000

TABLEAU VI.

Même ensemencement.

	IMMÉDIA- TEMENT	APRÈS 1 2 HEURE	APRÈS 1 H.	APRÈS 1 1/2 HEURE	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
Sang complet	32620	8432	1960	1197	834	3020
Sang filtré	40600	43892	47040	84000	Innombr.	Innombr.

Dans cette expérience, il n'y a aucune diminution dans le sang filtré.

TABLEAU VII.

Même ensemencement.

	IMMÉDIA- TEMENT	APRÈS 1 2 HEURE	APRÈS 1 1 2 HEURE	APRÈS 3 H.	APRÈS 5 H.	APRÈS 7 H.
Sang complet	19430	1800	32	0	0	0
Sang filtré	25200	9360	2590	702	4060	52000

Pour terminer, voici une expérience avec le staphylocoque pyogène, et une autre avec les spores du bacille du foin.

TABLEAU VIII.

Ensemencement avec le staphylocoque pyogène.

	IMMÉDIA- TEMENT	APRÈS 1/2 H.	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 2 1 2 H.
Sang complet	2684	930	273	372	75
Sang filtré	4188	4956	5907	25680	Innombrables

TABLEAU IX.

Ensemencement avec les spores du bacille du foin.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1/2 H.	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.
Sang complet	3776	0	0	0
Sang filtré	6112	3683	3503	17280
Sérum	5912	4890	4620	4830

La proposition que nous énoncions plus haut, à savoir *qu'il y a une différence énorme entre le pouvoir bactéricide du sang possesseur de ses leucocytes et celui du sang qui en est dépouillé*, se vérifie pour trois organismes différents : le bacille commun de l'intestin, le staphylocoque pyogène et le bacille du foin sous forme de spores.

Comme fait accessoire, mais pourtant digne de remarque, observons que le développement dans le sérum est moins abondant que dans le sang filtré ; nous reviendrons plus tard sur cette particularité.

Les expériences précédentes établissent très nettement le lien qui existe entre les leucocytes et le pouvoir bactéricide, mais elles sont pourtant passibles de l'objection suivante. Le parallèle entre le sang filtré et le sang non filtré ne démontre pas que les leucocytes sont la cause directe de la destruction des microbes, et qu'ils tuent ceux-ci après les avoir englobés à l'état vivant. A la rigueur, on peut supposer que les globules blancs ont expulsé, sous l'action des organismes, une substance bactéricide, laquelle atteint ces derniers dans le plasma. Dans cette hypothèse, les leucocytes demeurent à la vérité les agents destructifs, mais ils exercent cette fonction d'une façon indirecte, et n'englobent les organismes qu'après leur mort.

Malgré le peu de probabilité de cette hypothèse, elle méritait cependant d'entrer en ligne de compte. Nous avons essayé de la résoudre en nous fondant sur les considérations suivantes.

Si l'hypothèse proposée est vraie, le plasma doit se charger, sous l'action des microbes ou plutôt de leurs sécrétions, de substance bactéricide. Si, après la dissolution de cette dernière, nous filtrons le sang afin de retenir les leucocytes, nous devons constater que le filtrat possède des propriétés microbicides notables.

Nous avons réalisé cette expérience de la façon suivante. Nous commençons comme d'habitude une portion du sang, et nous l'abandonnons à elle-même à la température du corps pendant une demi-heure, afin de laisser aux microbes le temps d'agir sur les leucocytes et de les déterminer à sécréter leur poison. Nous filtrons afin d'éliminer les globules blancs, et nous examinons, par les plaques, le pouvoir bactéricide du sang filtré. Dans ce but, nous divisons ce dernier en deux portions : l'une est employée comme telle, l'autre est de nouveauensemencée avec des organismes vivants. Enfin, une troisième portion, constituée par du sang complet, sert à fixer le pouvoir bactéricide absolu.

Voici les deux expériences que nous avons faites. La seconde est en quelque sorte double, car elle comprend une quatrième portion de sang, à laquelle nous avons ajouté, pour solliciter l'expulsion du produit bactéricide, non pas des organismes vivants mais leur poison dissous, obtenu au moyen d'une culture des mêmes bacilles sur pommes de terre, et délayés dans l'eau salée physiologique (1 p. de microbes pour 20 d'eau). Après filtration de cette portion, nous y avons ajouté des bacilles vivants.

TABLEAU X.

Ensemencement avec une culture de bacille de l'intestin dans le sérum de chien. Une plaque faite avec la portion destinée à être filtrée donne 57988 colonies.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 8 H.
Sang complet	16900	71	6	0
Sans filtré sans nouvelle addition de microbes	420	812	5280	Innombrables
Sang filtré ensemencé une seconde fois	25740	36500	34190	Innombrables

Dans cette expérience, au moment du filtrage, chaque anse de sang, c'est-à-dire environ 7 milligr. de ce liquide, renfermait encore 420 bacilles. Tous les globules blancs à noyau polymorphe étant restés sur le filtre, on doit admettre que les organismes se trouvaient en liberté dans le sérum. Or celui-ci n'a exercé sur eux aucune action bactéricide, puisque après une heure ils avaient doublé, après deux heures avaient décuplé, après huit heures ils étaient devenus innombrables.

Les chiffres fournis par la troisième portion permettent de tirer la même conclusion.

TABLEAU XI.

Expérience conduite comme la précédente, avec en plus une portion de sang soumise avant le filtrage à l'action du poison dissous, dans les conditions indiquées ci-dessus. Une plaque faite avec la portion additionnée de bacilles vivants et destinée à être filtrée fournit 110200 colonies.

	IMMÉDIATEMENT	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
Sang complet	30900	312	210
Sang filtré sans nouvelle addition de microbes	1500	Innombrables	Innombrables
Sang filtré ensemené une seconde fois	51600	Innombrables	Innombrables
Sang additionné de poison, filtré et ensemené	637000	Innombrables	Innombrables

Cette expérience confirme la précédente. Dans la 2^{me} portion, les microbes restés libres sont devenus innombrables au bout de quatre heures. Ceux des portions 3 et 4 échappent également à la numération.

A notre avis, ces deux expériences démontrent qu'on ne peut pas admettre que les bacilles périssent dans le sérum par l'effet d'un poison expulsé par les leucocytes sous l'action des sécrétions microbiennes, ou tout au moins que l'action bactéricide énergique du sang de chien n'est pas due à un mécanisme de cette nature. Dans le cas, où cette hypothèse eut été vraie, l'action de la substance microbicide aurait continué ses effets dans le sang filtré, et cette action se serait manifestée par une diminution *considérable* d'organismes et par un retard *marqué* de la repullulation. Or ces deux phénomènes font défaut. *Nous concluons que la part principale, prédominante, du pouvoir bactéricide du sang de chien doit être attribuée aux leucocytes fonctionnant comme éléments phagocytaires.*

Faisons remarquer pour éviter tout malentendu, que nous ne nions nullement que, sous l'influence des microbes, les globules blancs ne puissent céder au sérum une certaine quantité de substance bactéricide, mais cet abandon doit être relativement faible, et chez le chien, le leucocyte reste certainement dépositaire de la plus grande partie de l'énergie microbicide.

Le rôle phagocytaire des leucocytes ne se laisse pas seulement établir par les plaques; mais, par un examen microscopique répété à de courts in-

tervalles, on peut assister à toutes les phases de l'englobement et de la digestion, de même que l'on peut juger des progrès de la pullulation.

Dans le sang filtré du chien, le développement du bacille commun provenant d'une culture dans le sang débute par un allongement et un épaissement de cet organisme, il devient plus long et plus gros; en même temps, il se colore beaucoup plus intensément. Après une demi-heure, beaucoup de bacilles se sont divisés, et l'on voit dans le champ du microscope un certain nombre de diplobacilles. Après une heure, ils forment des chainettes de quatre individus, plus tard de huit, vingt, cinquante unités, de sorte qu'après quatre à six heures de culture, le sang est rempli de chainettes. Plus tard encore, ces chainettes se défont et, quand la culture est mûre, elle est composée de bacilles, de diplobacilles et d'amas irréguliers de bâtonnets.

Telle est en général la marche de la culture, et sa connaissance permettra de bien se rendre compte des phénomènes qui vont être décrits de suite. Ajoutons encore que dans un sang ou un sérum, où il y a eu d'abord destruction intense, le premier signe de l'épuisement de la phagocytose consiste dans l'apparition d'organismes libres entre les cellules.

Nous donnons une expérience où la phagocytose a été poursuivie au microscope. En même temps, nous avons fait des plaques pour contrôler les résultats.

Une portion de sang de chien est employée comme telle etensemencée avec le bacille de l'intestin; c'est la portion A.

Une autre portion est filtrée etensemencée de même; c'est la portion B.

Avec toutes les deux, nous faisons des plaques à divers intervalles, les premiers très rapprochés; de plus nous faisons des préparations avec une anse de sang étalé sur un couvre-objets et coloré au bleu de méthylène.

Donnons d'abord la marche du nombre des microbes dans les deux portions.

TABLEAU XII.

Ensemencement avec une culture de bacille de l'intestin dans le sang.

	IMMÉDIA- TEMENT	APRÈS 1/2 H.	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 3 H.	APRÈS 4 1 2 H.
Sang complet (Portion A)	49735	1683	77	7		
Sang filtré (Portion B)	38836	30105	26334	39060	Augmen- tation	Innombrables

Le sang filtré nous donne donc une faible diminution.

Avec les deux portions, nous faisons, à partir de l'ensemencement, des préparations toutes les dix minutes, puis à de plus longs intervalles.

Dans la première préparation faite avec le sang A, nous trouvons de rares bacilles libres; vingt minutes plus tard, ils ont disparu.

Le sang B nous fournit les étapes suivantes :

<i>Immédiatement.</i>	Rares bacilles libres.
<i>Après 20 minutes.</i>	Pas de diminution du nombre des bacilles; quelques diplobacilles. Les bâtonnets se colorent mieux.
<i>Après 40 minutes.</i>	Le nombre des diplobacilles augmente.
<i>Après 1 heure.</i>	Beaucoup de chainettes de quatre individus.
<i>Après 2 heures</i>	Dans chaque champ, plusieurs chainettes d'une vingtaine d'individus.
<i>Après 4 et 2 heures.</i>	Vraie culture de chainettes.

Le microscope nous présente donc dans ce sang un développement continu. Après deux heures, c'est-à-dire au moment où les préparations montrent dans chaque champ plusieurs chainettes d'une vingtaine d'individus, nous divisons le sang en deux portions et nous ajoutons à l'une d'elles, qui devient la portion C, son volume de sang non filtré. Les plaques faites avec le mélange nous donnent les chiffres suivants :

TABLEAU XIII.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 2 H.	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 3 H.
Portion C	90000	3380	1716	1472	2408

L'addition du sang non filtré a eu pour résultat immédiat, non seulement d'enrayer le développement, mais de faire tomber le nombre des microbes à un taux très bas. Par les préparations microscopiques, on constate que la diminution est due non pas à une action extracellulaire, mais à une absorption des microbes par les leucocytes et à leur dégénérescence à l'intérieur de ces derniers.

Voici, en effet, ce que nous révèle le microscope.

<i>Immédiatement</i>	Beaucoup de bacilles et de chainettes libres.
<i>Après 10 minutes.</i>	Les organismes libres diminuent. Beaucoup de leucocytes, isolés ou réunis en petits groupes de 3 à 6, sont remplis de bâtonnets bien colorés. On note également des chainettes en partie libres, en parties repliées dans les leucocytes.

- Après 20 minutes.* Les organismes libres diminuent encore. Un certain nombre des bacilles renfermés dans les leucocytes se colorent mal. Les leucocytes forment des amas plus gros de 10, 20 individus.
- Après 30 minutes.* Les organismes libres sont extrêmement rares. Beaucoup de bacilles dans les globules sont mal colorés ou morcelés. Leur nombre diminue.
- Après 50 minutes.* La dégénérescence des microbes dans les leucocytes progresse.
- Après 2 1/2 heures.* Pas de bacilles libres. Dans les leucocytes, peu de bacilles bien colorés.
- Après 7 heures.* Pas de bacilles libres. Les amas de leucocytes qui renferment des bacilles sont rares.

Nous observons, dans cette série de préparations, toutes les étapes de la phagocytose : englobement, dégénérescence, disparition des bâtonnets, et le phénomène est d'autant plus facile à poursuivre qu'il porte sur des organismes qui se coloraient bien. *Tandis que dans la portion B (sang filtré) nous avons, quatre heures après l'ensemencement, une vraie culture de chaînettes, la portion C, faite avec un mélange à parties égales de B et de sang non filtré, ne montre, après sept heures, aucun bacille libre et seulement de rares bacilles dans les leucocytes.*

Deux heures après avoir fait la portion C, nous divisons celle-ci également en deux et à l'une d'elles nous ajoutons deux volumes de sang filtré : portion D.

Nous obtenons d'après les plaques les chiffres suivants :

TABLEAU XIV.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.
Sang C + 2 vol. de sang non filtré (Portion D)	390	83	180

Le résultat est le même : l'introduction de sang non filtré dans la portion C (mélange de sang filtré et de sang non filtré) a de nouveau pour conséquence un abaissement du nombre des microbes.

Le microscope nous révèle les faits suivants :

- Après 15 minutes.* On constate que les nouveaux leucocytes se sont presque tous réunis aux amas anciens, et que le nombre de batonnets renfermés dans ceux-ci a considérablement diminué.
- Après 30 minutes.* Les bacilles sont devenus extrêmement rares. Pas de bacilles libres.
- Après 2 heures.* Pas de bacilles visibles, ni dans les amas leucocytaires, ni en dehors.

L'examen microscopique non seulement nous montre d'une façon saisissante le sort des microbes dans un sang possesseur de ses leucocytes, mais il nous permet d'apprécier à leur exacte valeur les chiffres fournis par les plaques.

Si nous ne considérons que ces derniers, nous serions tentés d'admettre que la plus grande partie des organismes a succombé en moins d'une demi-heure (voir le tableau XII). D'un autre côté, nous serions portés à croire que la deuxième addition de sang a eu très peu d'effet (voir le tableau XIV). L'examen microscopique nous permet de corriger cette manière de voir. La diminution énorme subie en une demi-heure par la portion C (de 90000 à 3380) ne correspond pas au chiffre réel de l'anéantissement microbien, mais elle doit s'expliquer, en partie du moins, par la phagocytose. Un seul et même leucocyte accapare plusieurs bâtonnets indépendants ou plusieurs chainettes indépendantes; ces chainettes et ces bâtonnets auraient donné, dans le cas où ils fussent restés libres, plusieurs colonies; mais englobés dans un même leucocyte, ils n'en fournissent plus qu'une. Ajoutons encore que le nombre de colonies est inférieur au nombre d'organismes libres pour une autre raison : l'agglomération, l'agglutination des leucocytes entre eux.

C'est pour ces deux raisons que le nombre des colonies diminue rapidement de la première à la deuxième plaque et reste sensiblement stationnaire, tandis qu'en réalité la destruction microbienne est plus lente et plus graduelle.

C'est encore pour ce motif que la deuxième addition, portion D, tableau XIV, paraît avoir peu d'effet; le chiffre microbien descend seulement de 390 à 83. Comme l'examen microscopique le démontrait, l'aggrégation leucocytaire avait atteint dans la portion C un degré très prononcé; les amas de vingt-cinq et de cinquante globules blancs n'y étaient pas rares; tous ces amas renfermaient un certain nombre de microbes, et pour réduire le nombre de colonies d'une unité, il était nécessaire de détruire dans ces accumulations les microbes jusqu'au dernier.

Les chiffres fournis par les plaques doivent donc être corrigés dans une certaine mesure; ils font paraître la destruction plus rapide qu'elle n'est en réalité, mais le résultat final est, en somme, le même.

Nous venons de voir qu'en enlevant au sang ses globules blancs, on le prive du coup de la plus grande partie de son pouvoir bactéricide, et nous

avons conclu que c'est le leucocyte, agissant par voie active et par englobement, qui est la cause de cette perte de pouvoir. Notre thèse exige que, si nous restituons au sang les globules blancs, le pouvoir reparaisse. C'est ce que nous établissons dans les expériences suivantes.

Nous avons dû renoncer à ajouter au sang les globules blancs que nous lui avons enlevés, pour le motif que nous n'avons pas pu trouver de procédé pour retirer ces éléments du filtre. Mais nous avons employé des cellules analogues : les globules de pus des exsudats qui, comme on le sait, ne sont autres que des leucocytes émigrés et auxquels tout le monde concède les mêmes propriétés qu'aux cellules amiboïdes intravasculaires.

Pour obtenir des globules de pus, nous avons injecté, dans la plèvre ou dans le tissu cellulaire des chiens, des cultures mortes de staphylocoque pyogène ou de choléra asiatique. Quand nous jugions le moment opportun, nous avons saigné les animaux, conservé une partie de leur sang comme tel et filtré une autre partie; une troisième a été réservée pour son sérum; enfin nous avons utilisé l'exsudat, soit complet, soit déposé, soit centrifugé. Tantôt nous avons ajouté au sang les globules de pus du même animal, tantôt ceux d'un autre, mais avec le même résultat.

Les expériences ont répondu parfaitement à notre attente.

En voici quelques-unes.

Expérience. Un chien reçoit deux centimètres cubes de staphylocoques pyogènes tués dans la plèvre droite. Le lendemain matin, le chien, qui présente une température de 39°,8 et qui ne paraît plus affecté de l'injection, est tué par hémorrhagie. Dans la plèvre droite aucun exsudat, mais en regardant attentivement, on remarque à la surface de la séreuse une couche crémeuse mince, d'un blanc un peu jaune et qui, au microscope, se montre composée de globules blancs, la plupart non dégénérés et animés de mouvements amiboïdes. Nous versons dans la plèvre un centimètre cube de sérum provenant du même chien par rétraction d'un caillot, nous grattons la séreuse et nous obtenons un liquide opaque tenant les globules en suspension. Ce sont ces globules que nous ajoutons au sérum après qu'ils se sont déposés.

TABLEAU XV.

Inoculation avec une culture de bacille de l'intestin dans le sang de chien.

	IMMÉDIA- TEMENT	APRÈS 1 HEURE	APRÈS 2 HEUR.	APRÈS 4 HEUR.	APRÈS 6 HEUR.
A. Sang complet	5940	7	5	0	0
B. Sérum pur	7560	2550		8514	39150
C. Sérum + globules blancs de la plèvre	13650	696	360	175	145

L'effet de l'addition des globules blancs est des plus évidents : d'un côté, nous avons comme chiffre terminal, dans le sérum pur, 39150 colonies; de l'autre, dans le sérum additionné d'un certain nombre de leucocytes, 145 colonies seulement; l'intervention des globules blancs apparaît plus nette encore quand on tient compte des chiffres primordiaux : 7560 dans la portion B; 13650, c'est-à-dire environ le double, dans la portion C.

Expérience. Un chien reçoit dans la plèvre droite une culture morte de choléra asiatique. Après quelques jours, nous le tuons et nous trouvons 300 cc. d'exsudat. Au microscope, on constate dans celui-ci une absence complète d'organismes, mais beaucoup de leucocytes. Les uns, c'est le plus grand nombre, sont granuleux (dégénérescence grasseuse) et ne présentent pas de pseudopodes ou n'en présentent que de très paresseux. Les autres, plus rares, mais pourtant assez abondants, ne présentent pas de granulations grasseuses, et maintenus à la température du corps, ils sont sans cesse le siège de déformations amiboïdes. Après une heure et demie d'examen au microscope, ces mouvements n'ont pas diminué d'activité.

Ce chien nous fournit :

- 1° Une portion de sang complet.
- 2° Une portion de sang filtré.
- 3° Une portion de sang filtré, additionné d'exsudat centrifugé.
- 4° Une portion de sang filtré, additionné de globules de pus de l'exsudat déposés.

Les quatre portions sont ensemencées avec une culture de bacille de l'intestin dans le sang de chien.

TABLEAU XVI.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 3 H.	APRÈS 5 HEURES
A. Sang complet	78720	3500	Pas de microbes au micr.
B. Sang filtré	77450	22080	Forte augmentation
C. Sang filtré + exsudat centrifuge	59500	31680	Beauc. micr. au microsc.
D. Sang filtré + dépôt de l'exsudat	78000	530	612

Ce tableau mérite notre attention à plusieurs points de vue.

1^o Le pouvoir bactéricide du sang complet est dépassé par celui du sang filtré auquel, par l'addition du dépôt, nous avons restitué des globules sortis de son sein.

2^o Sans connaître nos expériences précédentes, on pourrait supposer que la restitution du pouvoir à la portion D n'est pas due aux globules de l'exsudat, mais à des produits chimiques dérivant des leucocytes vivants ou dégénérés et dissous dans le plasma; mais cette supposition ne s'accorde pas avec les chiffres fournis par la portion C, où nous avons précisément l'association du sang filtré et des principes dissous de l'exsudat. Loin d'exercer une influence plus nocive que le sang filtré pur, la portion C se montre inférieure dans son action à la portion B. Cette observation confirme nos expériences précédentes, d'après lesquelles le pouvoir bactéricide du chien réside surtout dans les leucocytes et non dans une substance dissoute dans le plasma.

Chez le même chien, nous avons comparé l'exsudat complet et l'exsudat débarrassé de ses globules. Voici les résultats.

TABLEAU XVII.

Insemencement avec le bacille de l'intestin (culture dans le sang de chien).

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 7 HEURES
A. Exsudat complet	40000	45	29	Au microscope, rares diplocoq. (impuretés).
B. Exsudat sans globules	29295	1309	37800	Au micr., une culture.

Ces trois expériences nous permettent de conclure *que les leucocytes d'un exsudat, additionnés au sang filtré, au sérum ou à l'exsudat centrifugé, leur communiquent un pouvoir bactéricide considérable.*

Les différentes phases de la phagocytose se laissent poursuivre dans les leucocytes d'un exsudat avec la même facilité que dans ceux du sang. Nous donnons deux exemples.

1° Culture jeune de coli-bacille dans un sang filtré. Les bacilles s'y rencontrent sous la forme de diplobacilles, de courtes chainettes, mais surtout sous forme de grands amas compacts, composés de plusieurs centaines d'individus. A cette culture, nous ajoutons des leucocytes obtenus par dépôt d'un exsudat.

Après 10 minutes. Les amas de bacilles sont envahis, nous dirons dissociés, par les leucocytes, qui ont pénétré jusqu'à leur centre. Beaucoup d'organismes sont intracellulaires.

Après 20 minutes. A chaque amas ancien de microbes correspond un amoncellement de leucocytes, qui ont englobé les organismes. Ceux-ci ont diminué.

Après 30 minutes. Les organismes sont devenus assez rares. La plupart ont disparu.

2° Culture jeune de coli-bacille dans du sérum de chien chauffé une heure à 55°. Addition de leucocytes de l'exsudat produit par le bacille virgule mort de l'expérience de la page 20. Rappelons que la plupart des leucocytes étaient sans mouvements amiboïdes ou n'avaient que des mouvements très paresseux.

Après 10 minutes. La plupart des chainettes sont englobées par les leucocytes.

Après 20 minutes. Les chainettes libres sont rares. Un petit nombre de leucocytes seulement participe à la phagocytose; ce sont, sans aucun doute, les leucocytes vivants.

Après 40 minutes. Plus d'organismes libres.

Après 50 minutes. Les organismes englobés ont en grande partie disparu.

Après 3 1/2 heures. Plusieurs bacilles libres par champ.

A ce moment, nous ajoutons de nouveau des globules, et nous constatons une heure plus tard que les bâtonnets libres ont disparu et que le nombre de ceux qui sont emprisonnés a diminué.

Concurremment avec ces examens microscopiques, nous faisons des plaques qui nous donnent les chiffres suivants :

A est la culture jeune.

B, la culture additionnée du dépôt de l'exsudat.

C, une partie de B, additionnée d'une nouvelle portion du dépôt.

TABLEAU XVIII.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 3 H.	APRÈS 4 H.
A	112500			
B	210000	22000	25600	50000
C			9760	3240

Chaque introduction de leucocytes entraîne donc une diminution dans le nombre des colonies. Le tableau confirme ainsi complètement les données fournies par le microscope et comme nous avons démontré plus haut que la part prépondérante du pouvoir bactéricide de l'exsudat complet revient aux éléments figurés et non aux substances dissoutes, il ne peut rester aucun doute touchant l'interprétation du recul microbien.

Nous avons ainsi démontré :

1° *Qu'on rend au sang filtré un pouvoir bactéricide intense en y introduisant des leucocytes d'exsudat ;*

2° *Que les exsudats eux-mêmes détiennent la part principale de leur pouvoir bactéricide des leucocytes qu'ils renferment.*

Les expériences précédentes établissent à coup sûr l'importance de la phagocytose pour la défense du chien contre les microbes, mais faut-il en conclure qu'il faut jeter par-dessus bord la théorie bactéricide des humeurs? Nous n'oserions pas soutenir cette thèse; nous croyons plutôt que la composition du milieu liquide joue également un rôle et que ce rôle chez certaines espèces est très important.

Nos travaux sur ce point ne sont pas achevés, mais nous avons déjà constaté des faits curieux, qui méritent d'être mis dès à présent en regard de ceux fournis par le chien.

Expériences avec le sang de l'homme

Chez un homme d'une quarantaine d'années, se plaignant d'état congestif à la tête, mais autrement pas malade, nous pratiquons une saignée. Une partie du sang est employée comme telle, l'autre après une filtration

qui retient tous les globules à noyau polymorphe et une partie de ceux à noyau rond. Chaque portion fournit deux tubes, que nous inoculons respectivement avec une et deux anses de culture de bacille commun de l'intestin dans le sang de chien.

TABLEAU XIX.

		IMMÉDIA- TEMENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
Sang complet	1 anse	80000	10206	69	25	6
	2 anses	120000	26030	750	207	70
Sang filtré	1 anse	80000	26866	69	20	5
	2 anses	120000	52500	648	105	180

Ainsi la destruction est sensiblement aussi rapide dans le sang filtré que dans le sang complet. Ce résultat ne nous a pas peu étonnés, mais il ne pouvait laisser place au doute, car il était confirmé complètement par les préparations microscopiques. En effet, celles qui avaient été faites après la première heure, montraient de nombreux organismes, bacilles et diplobacilles bien colorés, volumineux, et qui indiquaient par conséquent un certain état de prospérité de la semence. Or, dans les préparations exécutées après la deuxième heure, les organismes avaient disparu; il en était de même dans les suivantes. Il fallait donc bien admettre leur destruction. Il serait pourtant inexact de mettre le sang filtré et le sang non filtré sur le même pied; celui-ci a une action plus puissante et qui est surtout évidente quand on a laissé les tubes une nuit à la couveuse. Le lendemain, le sang complet a conservé la teinte artérielle; le sang filtré, au contraire, est noir et ses globules sont souvent dissous.

Voici une seconde expérience avec le sang humain. Elle est instructive à de nouveaux points de vue. En premier lieu, elle comprend une portion de sérum chauffé une heure à 55; en second lieu, une portion traitée de même, mais soumise après le chauffage, pendant sept minutes à un fort courant d'anhydride carbonique. Ce passage a été effectué dans le but de contrôler, si réellement, comme quelques auteurs le prétendent, l'abolition du pouvoir bactéricide est dû simplement au dégagement de ce gaz.

TABLEAU XX.

Sang d'un homme alcoolique et épileptique. A part des troubles nerveux, pas d'altération de la santé.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 6 H.	LE LENDEMAIN
Sang	45530	8700	2666	20	Sérum clair; aucun bâtonnet au microscope
Sérum	24000	22920	2145	10	
Sérum chauffé	29160	34749	75000	Innombr.	Sérum trouble
Sérum chauffé + CO ₂	21320	18135	22470	Innombr.	Sérum trouble

Expériences avec la poule.

Si de l'homme nous passons à un vertébré d'une autre classe, à la poule, nous faisons les mêmes constatations.

TABLEAU XXI.

Sang complet, sang filtré et sérum de poule inoculés avec une culture de bacille commun de l'intestin dans le sang de chien.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 2 H.	APRÈS 1 1/2 HEURE	APRÈS 3 H.	APRÈS 5 H.	APRÈS 7 H.
Sang complet	47450	2184		6	0	0
Sang filtré	33280	6580	70	3	10	1056
Sérum	8580	325	2	0	0	0

Ce tableau nous permet d'assimiler le sang de la poule au sang de l'homme.

1° Comme ce dernier, le sang filtré est encore doué de propriétés bactéricides intenses, quoique affaiblies. (Comparer les chiffres de la deuxième et de la dernière colonne.)

2° Comme le sérum du chien également, le sérum de la poule est très meurtrier pour le bacille de l'intestin.

Et qu'on ne prétende pas que l'ancantissement doive être imputé au transport de la culture du sang de chien dans le sérum de poule ! Cette supposition se trouve formellement contredite par l'expérience suivante.

TABLEAU XXII.

Deux portions du même sérum de l'expérience précédente sont inoculées : A, avec la même culture du sang de chien ; B, avec le sérum de l'expérience précédente, c'est-à-dire avec une culture du bacille, non seulement dans un animal de même espèce, mais dans celui du même animal.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
A. Sérum inoc. avec cult. de chien	46020	1769	250	79
B. Sérum inoc. avec cult. dans sérum de poule	24310	3180	35	19

La destruction dans le sérum s'opère aussi bien quand le matériel d'ensemencement provient d'une culture dans un sérum de même espèce, que lorsqu'il provient du sang d'une autre espèce.

L'action bactéricide du sérum de poule n'est pas un phénomène exceptionnel ; nous l'avons rencontrée constamment. Les expériences suivantes en sont la preuve ; tout en étant la répétition de la précédente, elles la complètent à différents points de vue.

TABLEAU XXIII.

Sang de poule, sérum obtenu par expression du caillot, et sérum obtenu par dépôt du sang défibriné. Inoculation avec une culture de bacille de l'intestin dans le sang de chien.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
Sang	11900	3861	61	48
Sérum obtenu par expr.	7580	2337	24	2
Sérum obtenu par dépôt	7960	765	7	3

TABLEAU XXIV.

Inoculation avec une culture de bacille de l'intestin dans le sang de poule.

	IMMÉDIATE- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 3 H.	APRÈS 7 H.
Sang	3552	1480	43	46
Sérum obtenu par expr.	8160	855	0	2
Sérum obtenu par dépôt	4224	1344	1	

TABLEAU XXV.

Dans cette expérience, nous comparons le sang de poule, le sérum déposé et centrifugé, et le même sérum chauffé une heure à 55°. Inoculation avec une culture du même bacille dans le sérum de poule.

	IMMÉDIA- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 3 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 5 H.
Sang	11100	4945	408	125	116	159
Sérum	13720	1495	1	0	3	0
Sérum chauffé	8173	9685	19400	75600	196000	Innombr.

De ces quatre expériences nous pouvons conclure que le sérum de la poule est bactéricide au plus haut degré. Bien plus, dans trois expériences sur quatre, il se montre plus nuisible au bacille que le sang. Cette action plus intense est indiquée à la fois par la destruction plus rapide et par la destruction plus complète. Le sérum chauffé une heure à 55° a perdu tout pouvoir bactéricide.

Expériences avec le pigeon.

Le sérum du pigeon nous a donné les mêmes résultats que celui de la poule. Contentons-nous d'un exemple. Il complète les expériences précédentes, en ce qu'il répond à l'objection que la perte du pouvoir bactéricide est due au départ de l'anhydride carbonique. Une portion de sérum, après avoir été chauffée une heure à 55°, fut divisée en deux, et à travers l'une, nous faisons passer un courant d'anhydride carbonique pendant douze minutes.

TABLEAU XXVI.

Ensemencement avec une culture de bacille de l'intestin dans le sérum de pigeon.

	IMMÉDIA- MENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 8 H.
Sang	1200	121	73	67	100
Sérum	1067	8	4	0	0
Sérum chauffé	1296	638		99000	Innombrables
Sérum chauffé + CO ₂	1344	1482	2640	80000	Innombrables

Le sang et le sérum de pigeon se comportent donc comme celui de la poule. Un courant d'anhydride carbonique ne restitue pas au sérum chauffé son pouvoir bactéricide.

Que deviennent les bacilles introduits dans le sérum de l'homme, de la poule et du pigeon ?

Leur sort est assez curieux. Presque toujours quelques-uns commencent par se maintenir et se multiplier, et ce n'est qu'après des signes évidents de vitalité qu'ils succombent.

Ainsi, dans le sang filtré et le sérum de l'homme, le maximum de la destruction a lieu pendant les deux premières heures. Dans la première heure, on peut s'assurer, par des examens microscopiques répétés tous les quarts d'heure, qu'un certain nombre de bacilles augmentent de volume, sont plus longs et plus gros et prennent mieux la matière colorante; puis ils disparaissent en un court espace de temps sans laisser de trace.

L'expérience suivante peut servir d'exemple. Elle a été faite en même temps que les plaques du tableau XX.

	SÉRUM NON CHAUFFÉ	SÉRUM CHAUFFÉ
Après 1 heure.	Plusieurs bâtonnets par champ microscopique.	Plusieurs bâtonnets et diplobacilles par champ.
» 1,15 »	Id.	Augmentation des microbes. A côté des diplocoques, il y a des chainettes de quatre individus.
» 1,30 »	Les bâtonnets diminuent de nombre.	Comme précédemment.
» 1,45 »	Les bâtonnets diminuent encore.	Les chainettes sont plus nombreuses et comprennent 4 à 8 individus.
» 2 »	Bâtonnets très rares.	Comme précédemment.

Ainsi, l'examen microscopique confirme parfaitement les résultats fournis par les plaques; dans les trois expériences que nous avons faites, nous avons toujours vu cette disparition coïncider avec la deuxième heure.

Chez la poule, la destruction est beaucoup plus intéressante à poursuivre au microscope que chez l'homme. Dans le sérum de cet animal, un certain nombre de bâtonnets commencent par se multiplier et former de petites chainettes. Tout d'abord, ces chainettes sont composées d'individus égaux en longueur et en largeur, et se colorent intensément; puis, à partir de la troisième heure, une certaine irrégularité se manifeste dans la chainette.

Certains individus se fragmentent et sont remplacés par des granulations qui se colorent bien par le bleu de méthylène. D'autres se gonflent en entier et se transforment en boules. Plus tard, ces résidus disparaissent et à la place d'une chaînette de bacilles bien imprégnée de matière colorante, on n'aperçoit plus qu'une gaine, deux à trois fois aussi large que la chaîne. Cette gaine renferme quelques points colorés, mais sa substance elle-même se colore peu; enfin, ces points disparaissent eux-mêmes, et il ne reste plus que la gaine, presque incolore, qui aurait échappé certainement à l'examen, si, par la série des préparations, l'attention n'avait été fixée sur elle et n'avait surpris la dégradation progressive de la chaînette.

Voici un exemple pris chez la poule du tableau XXV.

	SÉRUM NON CHAUFFÉ.	SÉRUM CHAUFFÉ
Après 1 heure.	Quelques diplobacilles par champ.	Quelques diplobacilles par champ.
» 2 »	En moyenne 2 à 4 chaînettes de 4 individus et plus par champ microscopique.	10 à 40 diplobacilles ou chaînettes courtes par champ.
» 3 »	Pas d'augmentation de chaînettes. Les bacilles commencent à se fragmenter.	Augmentation.
» 4 »	Diminution des chaînettes. La dégénérescence progresse.	Encore augmentation.
» 5 »	Rares chaînettes toutes dégénérées.	Culture de bacilles et de diplobacilles.

Chez le chien, le phénomène de la dégénérescence se laisse également observé avec la plus grande facilité; là aussi, un certain nombre de bacilles fournissent des chaînettes, qui traversent également leur stade critique environ deux heures après ensemencement.

Nous répétons que cette dégénérescence survient en l'absence de tout élément figuré dans la préparation.

Ce phénomène nous paraît très important à enregistrer. La méthode des plaques en somme, toute précieuse qu'elle soit, ne nous renseigne que sur l'état de vie ou de mort des organismes. L'examen microscopique nous fait assister à leur dégénérescence, nous dirons à leur maladie. Il nous révèle en outre ce fait curieux que certains bacilles se multiplient, qu'ils donnent naissance avant de succomber à huit individus et plus. On dirait donc que certains d'entre eux commencent par triompher des conditions nuisibles dans lesquelles ils se trouvent; mais ils produisent sans doute, dans ce milieu

meurtrier des rejetons chétifs, qui finissent par périr. Cette dégénérescence tardive nous semble impossible à expliquer par le changement brusque du milieu; car l'effet de ce dernier doit être immédiat et ne doit pas porter sur la troisième ou la quatrième génération, lesquelles doivent être acclimatées aux exigences nouvelles.

Quelles conclusions pouvons-nous tirer de nos expériences?

La première, c'est qu'il n'est pas juste de vouloir expliquer la résistance que les organismes supérieurs présentent aux microbes soit uniquement par la propriété bactéricide des humeurs, soit uniquement par les facultés digestives des phagocytes. Les adversaires absolus du pouvoir bactéricide des liquides ont tort, tout aussi bien que les partisans exclusifs du rôle des globules blancs. Les moyens de défense de l'organisme sont multiples : ce sont d'abord les cellules elles-mêmes, ensuite les liquides qui les baignent.

Quel est celui de ces deux éléments qui joue le rôle principal?

Chez le chien, c'est incontestablement le globule blanc; il en est de même chez l'homme, quoique chez ce dernier la prépondérance du leucocyte est beaucoup moins accusée; elle se manifeste néanmoins encore d'une façon incontestable, soit par la rapidité avec laquelle la destruction microbienne s'opère, soit par la lenteur avec laquelle se fait la repullulation. Comme exemple, nous pouvons citer l'expérience de la page 25. Après une heure, le sang complet a détruit 70000 organismes, tandis que le sang filtré n'en a détruit que 55000; le lendemain, le premier a conservé son aspect artériel normal, signe que la pullulation fait défaut ou est peu active, tandis que le second est devenu noir et transparent, preuve qu'il a donné lieu à une culture de bacille de l'intestin. En outre, d'après quelques expériences, peu nombreuses à la vérité, nous croyons que l'action du leucocyte est beaucoup plus générale et qu'il est apte à détruire énergiquement beaucoup plus d'espèces microbiennes que le sérum, qui paraît plus électif.

La part principale dans la préservation des animaux supérieurs contre le parasitisme microbien revient donc aux leucocytes, mais ce serait une grave erreur que de vouloir méconnaître l'intervention du sérum. Chez l'homme, le pigeon et la poule, le pouvoir bactéricide de cette humeur est considérable et ne se laisse pas expliquer dans nos expériences par un changement de milieu, puisque nous nous sommes adressés pour l'ensemencement à des cultures dans le sang ou dans le sérum. Du reste, l'influence

du changement brusque du milieu a été considérablement exagérée. Le bacille commun, transporté dans le sang filtré, après avoir végété dans des milieux très différents, s'accommode rapidement aux nouvelles conditions dans lesquelles il est obligé de vivre.

TABLEAU XXVII.

Sang de chien filtré, ensemencé avec du coli-bacille de 4 sources : sérum, bouillon, agar et pomme de terre.

	IMMÉDIATEMENT	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
1. Bac. de sérum	28250	14840	63800	Innombrables
2. Bac. de bouillon	39860	37356	Innombrables	Id.
3. Bac. d'agar	20280	9250	19845	Id.
4. Bac. de pomme de terre	135680	73630	Augmentation	Id.

Dans les portions 1, 3 et 4, la diminution est sensiblement la même, quelle que soit l'origine de la semence; elle est d'environ 50 0/0 et une heure plus tard, il y a progression partout. Dans la portion 2, la perte constatée tombe dans les limites d'erreur possibles.

Nous pouvons donc bien hardiment écarter pour le bacille de l'intestin l'interprétation d'une déchéance transitoire due aux conditions nouvelles de l'existence, et considérer la destruction microbienne comme ayant sa source, non pas dans un état de dégénérescence des organismes, mais dans un état spécial du sérum. Cet état, comme l'a montré BUCHNER, est assez instable et il suffit de chauffer le sérum pendant une heure à 55°, pour que ce liquide se prête immédiatement à une pullulation rapide et progressive.

Connaissant le pouvoir bactéricide du sérum, la congestion et la transsudation inflammatoires peuvent être considérées comme des moyens mis en œuvre par les organismes supérieurs pour lutter contre l'invasion des microbes. D'après METCHNIKOFF, dans son livre si original sur la *Pathologie comparée de l'inflammation*, la transsudation inflammatoire ne serait d'aucune utilité. - On peut se demander, écrit-il, si cette transsudation de liquides représente un phénomène réactionnel de la part de l'organisme, et, si elle en est un, quel avantage peut retirer de cette réaction l'organisme envahi. -

« En examinant cette question, il faut penser d'abord à une influence microbicide du liquide transsudé, qui débarrasserait l'organisme de ses agresseurs. Or, bien au contraire, l'œdème inflammatoire fournit un liquide très favorable à la vie de toutes sortes de bactéries. »

Et après avoir passé en revue un certain nombre de faits qu'il croit favorables à sa manière de voir, le savant russe continue : « Cette analyse des faits connus ne nous autorise point à admettre que l'inflammation séreuse soit un moyen employé par l'organisme pour détruire les microbes pathogènes. Les résultats obtenus au sujet de la propriété bactéricide des humeurs en général ne font que confirmer cette conclusion. Malgré tout ce qui a été entrepris pour démontrer le rôle actif de cette propriété dans la destruction des microbes et la production de l'immunité, il faut reconnaître que ce facteur ne présente aucune importance à ce point de vue. » Et plus loin, METCHNIKOFF ajoute : « L'ensemble des faits analysés nous prouve donc que l'exsudation d'un liquide séreux inflammatoire ne peut être nullement considérée comme un moyen naturel servant à détruire les microbes pathogènes. »

Comme on peut le voir par ces diverses citations, le père de la doctrine phagocytaire réuse tout rôle définitif à la transsudation séreuse dans l'inflammation, et il s'appuie, pour porter son jugement, sur l'absence de pouvoir bactéricide des humeurs. Nous croyons avoir prouvé le contraire d'une façon absolument péremptoire, et nous pensons que la transsudation séreuse en submergeant le territoire envahi dans un flot de liquide bactéricide, flot qui, sous la poussée de la circulation, se renouvelle incessamment, contribue puissamment à enrayer la marche triomphante du microbe agresseur. L'importance de ce rôle varie sans doute suivant les espèces, il varie aussi suivant la nature de l'envahisseur; mais il n'est à négliger nulle part.

Une remarque pour finir. Existe-t-il un lien entre le pouvoir bactéricide du sérum et celui des leucocytes?

On ne peut pas mettre en doute un instant qu'en fin de compte, l'action microbicide du leucocyte se réduise à une action chimique. En effet, on ne peut pas admettre qu'il agisse sur le microbe d'une manière physique, par exemple, par trituration; son action nocive s'exerce à coup sûr par une substance qu'il élabore et dont-il possède une certaine provision. Or, il nous semble que le pouvoir bactéricide du sérum peut très bien se rattacher à une fonction du leucocyte, sans que l'on doive recourir à l'existence dans le sérum d'une substance microbicide spéciale. En effet, les lois générales de

la biologie nous font admettre qu'il existe des échanges continuels entre les cellules et les milieux dans lesquelles elles sont plongées; le leucocyte n'échappe sans doute pas à cette loi, et il doit abandonner sans cesse au sérum une quantité plus ou moins considérable de cette substance qu'il élabore. Notre supposition s'appuie encore sur le fait que les globules blancs sont soumis à une destruction continue, en vertu de laquelle leur substance se dissout dans les humeurs. Au moment de leur anéantissement, ces éléments leur abandonnent leur produit bactéricide. Enfin, élargissant le cercle de nos suppositions, nous pouvons admettre que les leucocytes, attirés sur le théâtre d'une invasion microbienne, concourent à arrêter celle-ci, non pas uniquement par une lutte corps à corps avec l'agresseur, mais en saturant le foyer de substance bactéricide qu'ils expulsent pendant leur vie, ou même après leur mort. Ainsi, on comprendrait le rôle de beaucoup de globules de pus, qui, tout en étant attirés dans la région menacée, et étant entourés d'organismes, n'englobent pas ces derniers. Un savant anglais, HANKIN, admet cette sécrétion de produits bactéricides par les leucocytes. D'après lui, ces produits constitueraient les granulations éosinophiles de certains globules blancs. Nous avons déjà dit ailleurs que nous ne considérons pas ses observations comme décisives. Du reste, la plupart des leucocytes ne possèdent pas ces granulations, quoiqu'ils possèdent le pouvoir d'englober et de digérer les microbes au degré le plus élevé.

CONCLUSIONS.

1^o Le sang de chien filtré perd presque complètement son pouvoir bactéricide. Comme la filtration a pour conséquence de retenir les leucocytes tout en laissant passer les autres éléments du sang, il faut admettre que la part principale de ce pouvoir revient, chez le chien, aux globules blancs.

2^o La destruction énergique exercée sur les microbes par le sang complet est le résultat d'un englobement par les leucocytes. Elle s'opère à l'intérieur de ceux-ci, et non pas sous l'influence d'un produit bactéricide que les leucocytes ont sécrété dans le sérum sous l'action des microbes.

3^o On peut restituer au sang filtré son pouvoir bactéricide en y ajoutant des globules de pus vivants.

4^o L'examen microscopique permet d'assister à toutes les phases de la phagocytose.

5° Une certaine partie du pouvoir bactéricide du sang de chien, mais la plus petite, revient au sérum.

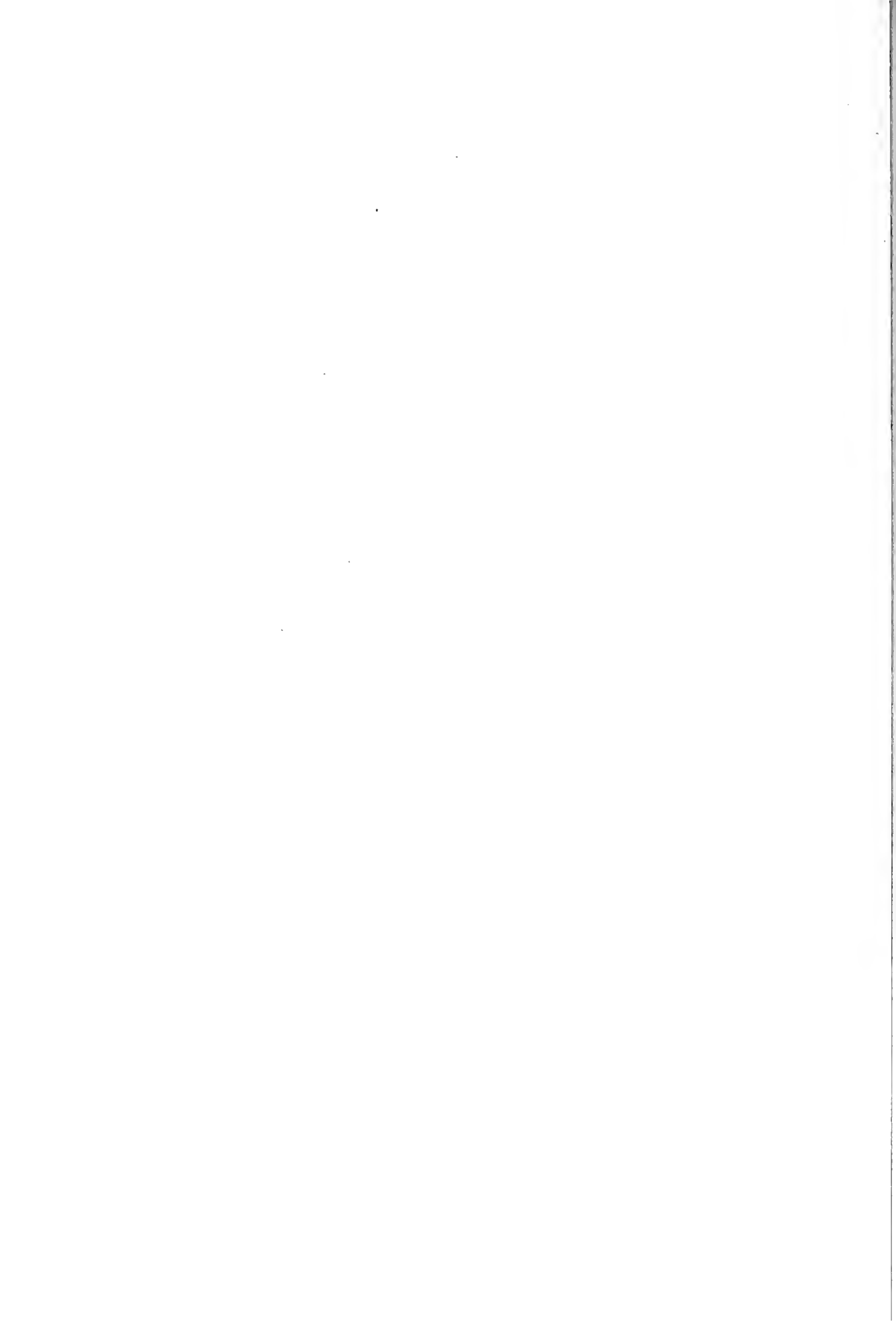
6° Le sang filtré et le sérum de l'homme sont presque aussi bactéricides pour le bacille commun de l'intestin que le sang non filtré.

7° Les sangs du pigeon et de la poule se comportent comme celui de l'homme.

8° Dans les sérums, la destruction du bacille de l'intestin est précédée d'un stade de prospérité. Les bacilles y présentent à leur mort des signes très nets de dégénérescence.

9° Le pouvoir bactéricide des sérums ne se laisse pas expliquer par la présence de l'acide carbonique.

10° *Conclusion générale : ni la théorie phagocytaire, ni la théorie des humeurs, prises séparément, ne peuvent expliquer l'immunité. Les phagocytes et les humeurs concourent ensemble, dans une mesure variable d'après les espèces, et aussi sans doute d'après la nature de l'agresseur, à préserver les organismes supérieurs contre l'envahissement des microbes.*



Recherches sur les Cellules sécrétantes.

I

LA SOIE & LES APPAREILS SÉRICIGÈNES

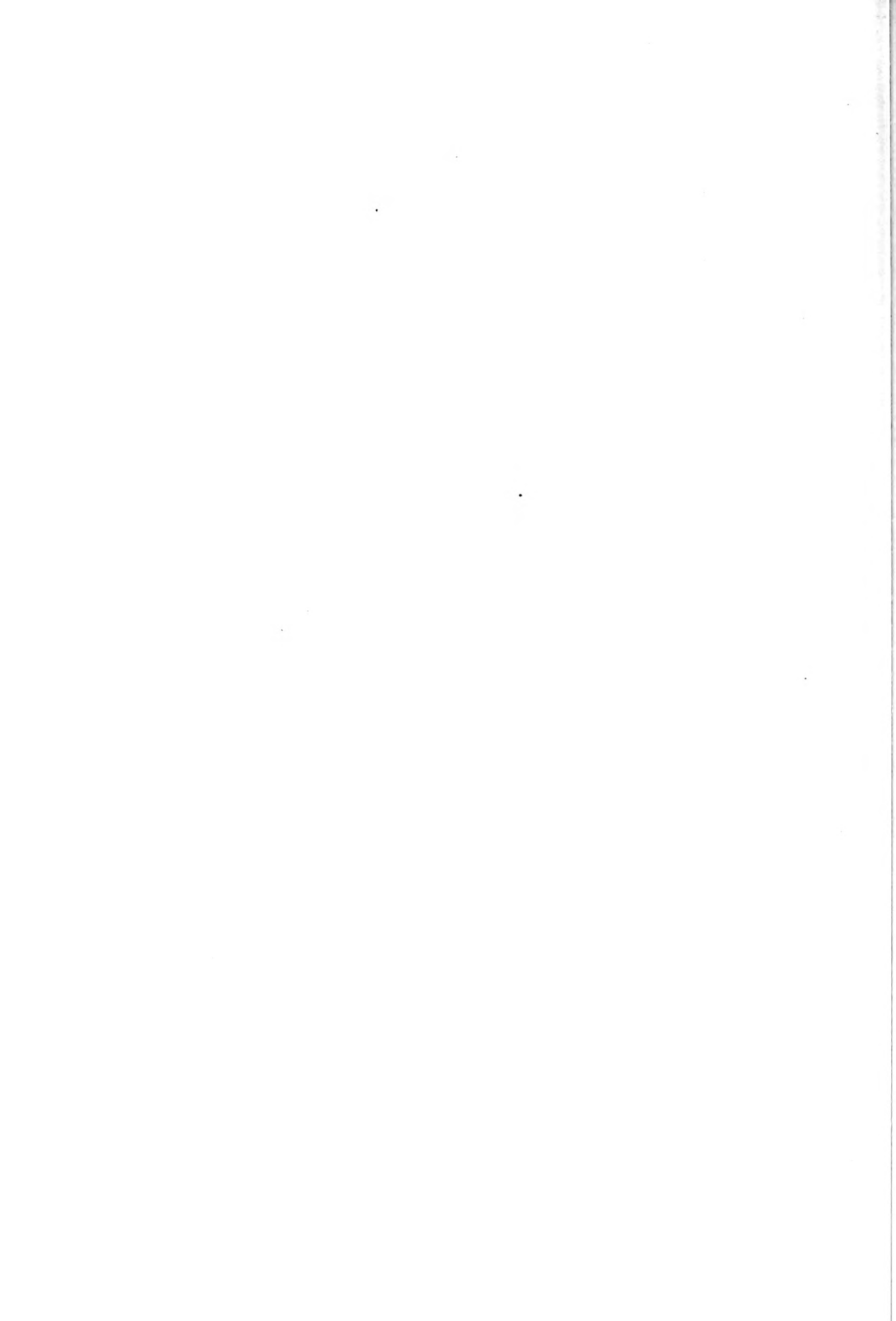
I. LÉPIDOPTÈRES (suite). II. TRICHOPTÈRES

PAR

Gustave GILSON

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 30 mai 1893.)



I.

La Soie et les Appareils séricigènes.

I. Glandes séricigènes des Lépidoptères.

(APPENDICE.)

Aux recherches consignées dans la première partie de ce travail (1), dont nous avons été contraint d'interrompre la publication, nous ajouterons les quelques remarques qui suivent.

1^o Nous avons omis, dans notre aperçu historique, une note succincte du professeur ENGELMANN, dans laquelle il expose les résultats des recherches poursuivies par lui sur les glandes filières du ver-à-soie, en collaboration avec VAN LIDTH DE JEUDE (2). Réparons cette omission involontaire en résumant ici ce que cette note contient d'essentiel. Elle a trait uniquement à la portion de l'appareil que nous appelons tubes glandulaires.

Les auteurs distinguent dans le tube glandulaire trois parties, dont ils étudient la structure et le contenu.

Dans ces trois parties, la paroi comprend une mince *tunica propria* et une couche épithéliale. Il s'y ajoute, sur la face interne du canal excréteur, ou partie antérieure, et sur celle du commencement de la partie moyenne, une solide *intima cuticulaire*.

La *propria* est percée par des branches trachéennes qui se ramifient entre les cellules et y pénètrent parfois. Ils considèrent comme certain qu'il n'existe pas de nerfs glandulaires.

(1) G. GILSON : *La soie et les appareils séricigènes*; LA CELLULE, tome VI, 1^{er} fascicule.

(2) ENGELMANN et VAN LIDTH DE JEUDE : *Zur Anatomie und Physiologie der Spinnrüsen der Seidenraupe*; Zool. Anzeiger, 1. Jahrg., n. 5.

La structure des cellules les occupe ensuite.

Dans la région antérieure ils signalent des fibrilles radiales dans la masse protoplasmatiche. L'*intima*, tout en s'amincissant, pénètre jusque dans un bout de la partie moyenne, mais plus loin elle disparaît.

Le protoplasme de la région moyenne est plus granuleux et n'est pas anisotrope comme dans la région antérieure.

Dans la portion postérieure il est granuleux et comme composé de fragments prismatiques irréguliers.

La portion postérieure de la glande contient plus de fer que la moyenne.

L'action de l'électricité appliquée sous le microscope pendant la vie, produit dans le protoplasme certaines modifications.

La soie est déversée exclusivement par la portion moyenne de la glande. Ce qui conduit les auteurs à cette manière de voir, c'est une analyse, — un peu sommaire, il est vrai — des portions moyennes et antérieures. La région antérieure soumise à l'ébullition dans l'eau pendant trois heures donne un mucilage présentant les réactions de la soie. La partie postérieure traitée de la même façon, n'en donne pas de trace.

La matière colorante jaune est déversée surtout par la partie postérieure de la région moyenne.

Des pesages du cocon et de la substance glandulaire durcie démontrent que la sécrétion se poursuit encore pendant le filage du cocon.

Les auteurs ont reconnu aussi que les modifications de réfringence et de solidité que la soie subit après sa sortie, ne sont pas dues à la dessiccation à l'air; en effet, elle subit ces modifications même quand elle est filée sous l'eau.

Nous avons fait la même remarque chez les aranéides à propos de l'*Argyronète*.

Cette note préliminaire est malheureusement trop succincte pour que l'on puisse se rendre un compte exact des observations des auteurs. On regrette beaucoup, en les lisant, l'absence de figures explicatives ou descriptives. Nous pourrions donc difficilement en faire la critique.

Quoi qu'il en soit, les expériences entreprises sur les glandes paraissent être la partie la plus intéressante de ces recherches; et il est à désirer, bien que quinze ans se soient écoulés, que le professeur ENGELMANN les poursuive avec l'ingéniosité et la précision qui caractérisent toutes ses investigations.

2° Nous avons simplement signalé dans notre première partie, l'état rudimentaire de la glande de FILIPPI chez le *Cossus* (1), ainsi que l'absence de canal excréteur de ces organes dans cette espèce. La FIG. 1, de la présente communication montre à la fois la position reculée de ce rudiment et ses faibles dimensions. La FIG. 2, qui n'est qu'un tronçon du même objet, fait voir au niveau de la glandule, une protubérance de la paroi du tube chitineux qui constitue le seul vestige du canal excréteur de cet organe. Une strie de structure un peu forte, qui existe souvent en ce point de la paroi chitineuse, nous avait fait croire qu'il existe là un mince pertuis servant au passage du liquide produit par le rudiment de glande. Mais un examen plus attentif et des objets mieux préparés nous ont permis de constater qu'il n'en est rien; ce n'est qu'une apparence. Le produit sécrété ne peut passer dans la lumière du tube glandulaire qu'en traversant la paroi chitineuse elle-même. Les cellules de la glande de FILIPPI rudimentaire se trouvent donc, par rapport à ce canal, dans la même situation que les cellules épithéliales propres de ce dernier : si elles sécrètent, leur produit doit ou bien traverser la paroi chitineuse, ou bien descendre en passant d'une cellule à l'autre, si cette paroi est imperméable; ce qui est peu probable étant donnée sa structure à claire voie, fermée seulement du côté interne par une très mince membrane hyaline.

En tout cas, la glande de FILIPPI du *Cossus* est dépourvue d'appareil excréteur; elle est dans un état de réduction très prononcée et on peut la regarder comme un simple reliquat ancestral.

3° Nous avons admis que la couche corticale du cylindre de soie fait défaut parfois, surtout dans la partie postérieure du tube glandulaire. Mais de nouvelles observations sur ce point nous permettent aujourd'hui de penser qu'elle ne fait jamais défaut. Elle peut devenir excessivement mince, mais on parvient toujours à en constater l'existence, en examinant le fil de soie extrait du tube épithélial et sectionné en long ou en travers. L'action du réactif de SCHWEIZER, grâce au gonflement qu'elle produit dans toute la masse du fil, même après fixation ou dessiccation, peut servir à la mettre en évidence. Il est bon d'y chauffer la pièce, mais avec précaution; car la soie tout entière s'y dissout quand la température se surélève.

Nous avons retrouvé la couche corticale mince jusqu'à l'extrémité postérieure du fil, au fond de la glande; mais en ce point sa minceur est extrême.

(1) Loc. cit., p. 138.

Cette remarque n'est pas sans importance pour l'hypothèse que nous avons formulée au sujet du mécanisme de la sécrétion de la soie et de la signification du grès.

M. LOUIS BLANC, de Lyon, touche à cette difficile question dans un important mémoire, publié peu après le nôtre, mais dans lequel il se place à un point de vue tout différent (1).

Il considère le grès comme le produit d'une sécrétion spéciale de la paroi dans la région antérieure et dilatée, ou réservoir. - La fibroïne sécrétée dans la première partie de l'appareil séricigène, se déverse sans cesse „ dans le réservoir et, dès son arrivée, elle y est entourée par une matière „ nouvelle, fabriquée dans cette région. Cette substance est le grès..... -

Nous avons dit que nous ne regardons pas le grès comme une sécrétion spéciale; nous considérons sa production comme simultanée de celle de la soie ou de la fibroïne, et comme résultant probablement d'un travail de triage s'effectuant au sein des matériaux déversés dans le tube par toutes les cellules épithéliales qui en constituent la paroi. Le fait de l'existence d'une couche de substance corticale, si mince qu'elle soit, jusqu'au fond de la glande fournit un nouvel appui à cette manière de voir.

(1) LOUIS BLANC - *Étude sur la sécrétion de la soie*, etc.; Lyon, Pitral, 1880.

II. Glandes séricigènes des Trichoptères.

Remarques préliminaires.

Les rapports étroits de parenté qui unissent les trichoptères aux lépidoptères ressortent des nombreux caractères communs à l'imago et à la larve de ces deux groupes d'insectes. Aussi, la théorie de l'évolution les fait-elle dériver d'une souche commune.

Il n'entre pas dans nos vues de discuter ici ces affinités qui ont été mises en lumière par divers auteurs. Mais l'intérêt particulier que donnent ces rapports intimes à toute étude anatomique portant sur l'un ou sur l'autre de ces groupes, nous engage à décrire assez en détail l'appareil séricigène de quelques larves de trichoptères. Cet appareil présente avec celui des larves des lépidoptères, décrit par nous dans le premier chapitre de ce travail (1), une ressemblance telle que, n'était la considération d'ordre morphologique que nous venons d'indiquer, nous eussions pu nous borner à signaler les différences qui les séparent.

Tout entomologiste sait que le tube des larves de phrygane est formé de matériaux étrangers de nature fort variable, reliés entre eux par des fils de soie et tapissés à l'intérieur d'une couche régulière feutrée de cette substance. L'existence de glandes filières chez les larves des phryganes est donc un fait bien connu.

Néanmoins il n'existe, à notre connaissance, aucune description détaillée de ces organes. PICTET (2) est le seul auteur qui en donne une représentation; elle est assez élémentaire et sommairement décrite. Il n'est pas impossible, toutefois, qu'il en existe quelque autre figure perdue dans un travail dont le titre ne le fait point prévoir.

Il ne nous est pas possible de déterminer avec une certitude absolue toutes les espèces que nous avons étudiées, les larves ne présentant pas toujours des caractères spécifiques bien nets. Nous avons envoyé les tubes des individus auxquels se rapportent nos figures à M. MAC LACHLAN, de Londres, qui a eu l'extrême obligeance de nous en faire la détermination.

(1) G. GILSON : *La soie et les appareils séricigènes — I. Lépidoptères*; LA CELLULE, tome VI, 1 fascicule.

(2) PICTET : *Recherches pour servir à l'histoire et l'anatomie des phryganides*; Genève, 1834.

Ce sont : l'*Anabdia nervosa*, Cart. (*Phryganea fusca*. Pict);
les *Limnophilus rhombicus* et *flavicornis*;
et la *Molanna angustata*, Cart.

Cinq ou six autres espèces ont également fait l'objet de nos recherches mais nous n'y avons distingué aucune différence notable dans la structure des glandes filières.

Aperçu anatomique.

L'appareil séricigène des phryganes comprend, comme celui des chenilles, deux longs tubes pelotonnés qui s'étendent fort loin vers l'arrière, sur les côtés et en dessous du tube digestif, FIG. 3. Ces deux tubes s'unissent dans la tête de la larve, beaucoup plus en avant que chez les chenilles, à la base même de la canule saillante que porte la lèvre inférieure. Le tube résultant de leur fusion n'est point tout d'abord un mince canal à structure simple, comme chez le *Bombyx mori*; il prend immédiatement la disposition que nous avons décrite chez ces derniers sous le nom de *presse*.

A la presse fait suite un tronçon mince qui débouche, sans présenter d'autres particularités, au sommet de la canule fileuse.

Les glandes de FILIPPI n'existent dans aucune des huit ou neuf espèces que nous avons examinées; mais la paroi des tubes séricigènes y subit en un point une modification, que nous signalerons plus loin et qui représente peut-être ces glandes annexes.

A. TUBES GLANDULAIRES.

Chacune des deux glandes tubulaires se divise en deux régions : une région antérieure mince, droite et assez courte : *la portion simplement conductrice*; et une région postérieure volumineuse et pelotonnée en plusieurs anses : *la portion productrice de la soie*.

La limite entre ces deux régions est nettement indiquée par les caractères différents de leur épithélium et de leur cuticule interne, ainsi que par un étranglement brusque qui les sépare, FIG. 3.

1° *Portion postérieure ou productrice.*

Cette portion est très longue. Son calibre est plus fort dans sa région moyenne et antérieure, bien que là même elle soit loin de présenter cette

forte dilatation qui, chez les chenilles et surtout chez les *Bombyx* exploités dans l'industrie, a reçu le nom de réservoir. Tout en avant elle s'amincit aussi avant de s'unir à la portion conductrice; mais au moment de se terminer elle se renfle, FIG. 3 et 12, et se trouve coupée brusquement par l'étranglement dont nous venons de parler. Nous appellerons *bulbe terminal* cette portion renflée.

Les deux glandes reçoivent des trachées. Une forte branche aboutit au bulbe terminal et se ramifie sur lui; cette portion est plus riche en tubes aériens que toutes les autres régions. Nous n'avons pas cherché à vérifier ici les observations que WISTINGHAUSEN (1) a faites sur les chenilles. Mais il est incontestable que certains troncs pénètrent profondément dans les cellules épithéliales et passent à travers leur protoplasme, aussi bien que chez les larves des lépidoptères, ainsi que nous l'avons signalé chez ces derniers dans notre première partie. ENGELMANN et VAN LIDTH DE JEUDE avaient déjà fait cette remarque en 1878.

Les cellules qui constituent la paroi sont aplaties, polygonales et étonnamment semblables à celles des chenilles. Elles possèdent un noyau ramifié identique à ceux dont HELM (2) a décrit les formes variées et que nous avons étudiés nous-mêmes chez le *Bombyx mori* et d'autres espèces.

Noyau.

Les noyaux de cette région sont, avons-nous dit, semblables à ceux des lépidoptères. Ils sont ramifiés et leur forme est souvent très compliquée. Comme chez les *Bombyx*, ils se fragmentent totalement dans certaines cellules de la partie large du tube. On y remarque souvent des tronçons de bras en voie de séparation réunis encore par un cordon mince, achromatique, résultant de l'étirement de la membrane nucléaire, FIG. 6. Celle-ci est très nette.

Le contenu semble, à première vue, constitué d'un grand nombre de granulations chromatiques. Mais un examen plus attentif à l'aide de bons objectifs à immersion, y révèle des cordons ou chainettes extrêmement tortillées. Ici, comme dans bien d'autres organes, on reconnaît que l'aspect granuleux est dû à la section optique de filaments contournés formant des anses extrêmement courtes. En choisissant les branches nucléaires les

(1) WISTINGHAUSEN : *Ueber Tracheenendigungen der Sericiden der Raupe*; Zeit. f. Wiss. Zool., t. 49, p. 565.

(2) HELM : *Ueber die Spinnrüsen der Lepidopteren*; Zeit. f. wiss. Zool., B. 26, 1876.

plus claires, les plus pauvres en nucléine, on rencontre, ça et là, sur une certaine longueur, des tronçons de filaments moins contournés et bien nets, FIG. 9.

Nous avons examiné les cellules épithéliales des glandes filières *intra vitam*, en vue surtout de rencontrer une fois de plus cette vieille objection que l'on fait parfois encore aux cytologistes : ce sont les réactifs qui font apparaître les productions solides de la cellule, le réticulum plastinien, la membrane, les corpuscules ou filaments du noyau, ou, du moins, qui transforment profondément ces parties.

À cet effet nous avons extirpé la glande le plus rapidement possible, et nous l'avons placée dans une goutte du sang de l'animal lui-même. Les corpuscules nucléiniens présentaient exactement le même aspect que dans les sections obtenues par diverses méthodes de fixation et d'enrobage et colorées au vert de méthyle ou à l'acide carminique aluné de PAUL MAYER, FIG. 7.

Désirant éviter tout empiètement sur des recherches spéciales qui se poursuivent en ce moment, nous n'entrerons pas davantage dans les détails de la structure intime du noyau. Disons seulement qu'il existe au sein de l'amas de tronçons nucléiniens, des corps arrondis, chromatiques, des nucléoles particuliers qui souvent laissent voir dans leur intérieur des cordons nucléiniens, semblables à ceux qui constituent la grande masse du contenu nucléaire. Beaucoup d'entre eux sont semblables à certaines productions que nous avons signalées il y a longtemps dans les métrocytes primaires des crustacés décapodes, et sur lesquels l'action des acides forts, spécialement celle de l'acide fluorhydrique, nous ont donné des résultats intéressants (1).

Cytoplasme.

La description que nous en avons donnée chez le *Bombyx mori*, nous exempte de nous y arrêter. Sa structure est très semblable chez les phryganes, tout en présentant un peu plus de finesse.

Le cytoplasme des phryganes présente, à frais, la même consistance filante et collante que nous avons regardée comme due, chez les chenilles, à la présence de la fibroïne, ou plutôt, pour ne préjuger de rien, de la substance séricigène disséminée dans l'enchylème.

(1) G. GILSON : *Étude comparée de la spermatogénèse chez les arthropodes*; LA CELLULE, t. II, 1^{er} fascicule, p. 128 et suivantes

Nous n'y avons point remarqué ces productions bacillaires qui sont si distinctes, du moins après fixation, chez le ver-à-soie à la fin de la période larvaire, et qui doivent être regardées comme des trainées de fibroïne accumulée en certains parages du cytoplasme et destinées à être excrétées pendant le filage du cocon.

Sur le vivant ce cytoplasme est translucide et d'aspect vitré; on y distingue de petits granules brillants et parfois des vacuoles. Ces dernières se retrouvent souvent assez déformées dans les coupes d'objets fixés, FIG. 9.

Du réticulum, si bien organisé pourtant, de ce cytoplasme on n'aperçoit, dans ces conditions, que ça et là quelques filaments. La grande réfringence de l'enchylème si particulier de ces cellules en fait un objet peu favorable à l'observation de la partie plastinienne sur le vivant. Cette recherche de contrôle demande le choix d'objets particulièrement favorables et accessibles; ce n'est pas ici le lieu de les signaler.

Membrane.

Sur les faces externes et latérales, elle ne présente rien de spécial; elle y est très mince et délicate. Du côté extérieure elle est renforcée par la mince mais résistante *tunica propria*, à noyaux aplatis, qui entoure le tube, FIG. 9.

La membrane cellulaire est très distincte sur le vivant, tant sur les cellules examinées à plat, FIG. 7, que dans la section optique du tube, FIG. 8. Mais elle s'altère rapidement sous l'influence de la compression produite par le couvre-objets; on la voit bientôt s'affaiblir et devenir invisible, FIG. 7.

Les sections optiques de la paroi du tube permettent de constater que les cellules chevauchent souvent l'une sur l'autre et sont unies par des surfaces obliques, où la membrane est bien visible, même sur les objets vivants, FIG. 8.

La membrane qui ferme la face interne des cellules est plus épaisse et plus résistante. En section optique elle présente un aspect ponctué, FIG. 9. De face elle est très finement réticulée. Sa texture est beaucoup plus fine que chez les lépidoptères, plus difficile à observer, mais identique.

Remarques sur les particularités du tronçon antérieur.

L'épithélium de la portion productrice se modifie un peu dans le tronçon antérieur aminci. Tout d'abord les cellules y changent de forme; elles se raccourcissent beaucoup dans le sens du grand axe de l'organe et deviennent ainsi plus larges que longues, FIG. 12. Vers le haut du bulbe terminal, où elles présentent cette forme, on les voit, en outre, affecter une direction oblique tantôt vers le haut, tantôt, chez d'autres individus, vers le bas, FIG. 12. Leurs noyaux, vers le haut, prennent une forme de moins en moins ramifiée. A un point donné ils passent à l'état de simples barres courbes, parfois assez trapues; celle-ci s'épaississent et se raccourcissent encore dans le bulbe, FIG. 12 et 13.

Si l'on examine le tronçon antérieur aminci monté en entier, c'est-à-dire dans le sens longitudinal, on y voit généralement les noyaux disposés en deux séries latérales, l'une à droite et l'autre à gauche, disposition qui est celle des cellules elles-mêmes.

La membrane interne présente aussi quelques détails nouveaux dans ce tronçon. Elle y est un peu plus épaisse que dans les parties larges de la glande. En outre, elle est tapissée elle-même par une couche membrani-forme assez épaisse et striée, FIG. 12 et 13. Cette couche est visiblement formée par les extrémités des filaments radiés du cytoplasme, qui ne sont eux-mêmes que des parties régularisées du réticulum général. Elle ressemble beaucoup à un plateau strié; mais elle en diffère par le manque de netteté de ses limites du côté interne où ses fils se continuent avec les fils radiés également, mais moins réguliers, du cytoplasme, et souvent aussi par son peu de réfringence. En beaucoup d'endroits elle n'est guère plus réfringente que le cytoplasme lui-même, tandis que les plateaux striés le sont d'ordinaire davantage. Cette zone correspond plutôt à la deuxième couche striée qui tapisse souvent les plateaux vrais des cellules épithéliales, dans les organes digestifs, par exemple. Cependant nous l'avons trouvée, dans une espèce indéterminée, plus brillante et plus semblable à une cuticule striée; ses trabécules droites et rigides étaient évidemment chitinisées. On pouvait s'en convaincre aisément grâce à certaines sections brisées où ces trabécules se voyaient nettement cassées, comme le sont souvent celles de la cuticule de la portion conductrice.

La membrane interne de la région productrice présente, tout en avant, à la limite de la région suivante, un pli circulaire saillant dans le cyto-

plasme, FIG. 12. C'est vers le fond de ce repli qu'elle se continue avec la cuticule striée de la portion conductrice.

Si l'on suit la zone striée jusque dans la région conductrice, on la voit se continuer avec la cuticule chitineuse qui est de règle dans cette région; elle en est évidemment l'homologue.

Signalons ici une particularité de cette zone que nous avons observée chez une larve que nous pensons être le *Limnophilus rhombicus*. Nous l'avons représentée, FIG. 15, en section transversale. C'est un petit bec ou bourrelet d'épaississement existant d'un seul côté, tout près de l'extrémité de la région productrice, non loin du sillon ou pli circulaire. Une légère dépression existe à la surface interne du tube au niveau de cet épaissement. Ce n'est donc pas un simple détail de structure de la zone striée sous-membraneuse; c'est, en outre, une très légère évagination de la paroi du tube interne tout entière. Cette particularité qui ne paraît pas exister chez tous les individus, du moins avec des caractères aussi tranchés, présente par elle-même assez peu d'intérêt. Mais elle devient plus digne d'observation si on la compare à ce léger bec du tube cuticulaire qui, chez le *Cossus*, représente seul le canal excréteur des glandes de FILIPPI rudimentaires. S'il se révélait que cette saillie de la couche interne du bulbe terminal se retrouve souvent chez certaines espèces de phryganides, il y aurait lieu de la regarder comme l'homologue du canal excréteur de ces glandes qui y font défaut. Dans ce cas, le bulbe lui-même devrait être regardé comme l'homologue des glandes de FILIPPI, qui seraient donc, ici, dans un état de réduction plus profonde encore que chez le *Cossus*.

Nos observations sont trop incomplètes pour nous permettre d'affirmer cette homologie. Mais la question que nous soulevons n'est pas sans importance au point de vue morphologique. Elle s'éluciderait aisément par l'examen suivi d'une série d'espèces.

2° *Portion antérieure ou conductrice.*

Elle commence au sillon circulaire qui termine la région productrice, FIG. 12. Sa partie postérieure est renflée comme la partie antérieure de cette dernière, et s'amincit ensuite. Le sillon circulaire sépare donc deux renflements bulbaires unis par leur base.

L'antérieur, base de la portion conductrice, se distingue d'une façon nette et frappante, d'avec la portion postérieure ou productrice, par sa

teinte plus claire, par la petitesse de ses cellules et de ses noyaux, et par la moindre affinité de toutes ses parties pour les matières colorantes. Les cellules qui le constituent sont évidemment d'une nature tout autre que celles de la région postérieure; la différence qui sépare les éléments constitutifs de ces deux régions est beaucoup plus profonde et plus tranchée que chez les lépidoptères.

La membrane de ces cellules ne présente rien de remarquable sur leurs faces latérales et externe.

Il est souvent difficile de distinguer sur les coupes la section des membranes latérales d'avec les fortes trabécules radiales de leur cytoplasme. Au contraire, en dissociant ces cellules, par l'alcool au $\frac{1}{3}$ ou autrement, on reconnaît aisément que chacune d'elles est entourée d'une membrane sur toutes ses faces.

Quant à la portion de cette membrane qui ferme leur face interne, elle est fusionnée par ses bords, comme dans la région postérieure du reste, avec la membrane correspondante des cellules voisines et fait partie du tube chitineux général; celui-ci est donc une cuticule véritable, dans le sens cytologique du mot. Cette cuticule, au niveau du bulbe, s'épaissit beaucoup et prend une importance nouvelle et une structure spéciale qu'elle conserve jusqu'au tube fileur.

En coupe longitudinale, elle se montre fortement striée et paraît formée de bâtonnets chitineux gros et brillants; l'image est très semblable à la figure qu'en donne MECKEL (1) chez le *Cossus*. Ces bâtonnets sont très nettement séparés les uns des autres par des espaces clairs et vides, FIG. 12. Ces espaces sont évidemment les *Porenkanälen* de LEYDIG (2). Mais ici, comme à propos des lépidoptères, nous sommes obligés d'interpréter autrement la structure de cette membrane. Tout d'abord les prétendus bâtonnets de la section optique s'unissent par leur bout interne à une mince membranule qui paraît continue et semble donc fermer les espaces qui les séparent. Nous laissons pourtant subsister sur ce dernier point quelque incertitude; cette membranule si mince est d'une observation si difficile, que l'usage même des meilleurs instruments d'optique ne permet pas de décider si elle n'est pas elle-même réticulée de façon à laisser, par ses mailles, une libre communication entre la lumière et les espaces internes de la cuticule.

Mais en outre, ces espaces ne sont point des pores; ce sont des fentes assez longues. En effet, les prétendus bâtonnets ne sont que la section

(1) MECKEL : *Mikrographie einiger Drüsenapparate der niederen Thiere*; Müll. Arch., 1846.

(2) LEYDIG : *Traité d'histologie*.

optique de lames allongées dans le sens transversal ou plutôt circulaire. C'est ce que démontre l'examen successif du tube entier par sa surface, et celui des coupes transversales de la région.

Examiné à plat, le tube chitineux présente l'aspect reproduit dans la FIG. 18. Si, après avoir mis au point la surface supérieure ou inférieure de ce cylindre légèrement aplati par la pression du couvre-objets, on monte ou on descend l'objectif de manière à en obtenir, sur les bords, la section optique, on constate que chacun des côtés de la surface passe sur les côtés à un des bâtonnets de cette section optique. Il faut noter que dans cette figure la surface seule est mise au point et nullement la section, même sur les bords. La surface du tube chitineux présente donc un aspect assez semblable à celui d'une trachée, avec moins de régularité toutefois que celle des trachées spiralées ordinaires. En effet, les diverses bandes chitineuses circulaires ou à peu près sont unies entre elles par des travées obliques, assez distantes cependant, FIG. 18, et les bandes principales elles-mêmes ont souvent un trajet sinueux et irrégulier. Néanmoins l'ensemble des travées principales semble appartenir à un système spiraloïde. Nous sommes parvenu à les dérouler comme un ressort en exerçant sur le tube des tractions longitudinales. Ce résultat implique évidemment la rupture de toutes les trabécules obliques unissant les tours de la spire. Remarquons qu'il existe des trachées d'insectes dans lesquelles les tours de spires sont réunis par de courtes travées secondaires.

En section transversale le tube chitineux a l'aspect d'une bande brillante dont la largeur est mesurée par la hauteur des bâtonnets de la coupe longitudinale. Cette bande ne présente généralement, comme détails de structure interne, du moins dans le bulbe, que des stries circulaires extrêmement fines et difficiles à voir. Les trabécules radiées du cytoplasme viennent buter contre elle, mais on ne les voit pas pénétrer dans sa substance, FIG. 17. Or, telle ne serait pas la structure des sections transverses de ce tube si les prétendus bâtonnets existaient réellement comme tels; on devrait les y retrouver avec un aspect semblable, et la bande brillante devrait avoir une structure radiée assez grossière. Il n'y a donc dans cette région ni bâtonnets, ni *Porenkanälen*; il n'y a que des bandes chitineuses anastomosées en un réseau à mailles assez lâches. Mais hâtons nous de dire que cette structure se modifie dans la partie antérieure de la portion conductrice.

Suit-on le tube chitineux au delà du bulbe, on le voit s'amincir un peu. En coupe optique longitudinale il conserve sa striation. De face, il garde

un aspect réticulé, mais les mailles y deviennent de plus en plus petites et serrées.

De plus, si l'on examine les coupes transversales à ce niveau, on constate la disparition des couches concentriques et l'apparition de stries radiales semblables à celles de la coupe optique longitudinale de la même partie. Ces stries correspondent donc ici à de véritables bâtonnets. On reconnaît aisément alors que les trabécules radiées du cytoplasme, plus nombreuses et plus fortes que plus bas, sont en continuité avec un véritable bâtonnet chitineux de la couche cuticulaire.

Telle est donc la structure de cette cuticule que LEYDIG appelle *intima*. Son étude est difficile et exige l'emploi des meilleurs objectifs. Aussi n'est-il pas étonnant que le savant de Leipzig, à l'époque déjà éloignée où il l'étudiait, n'ait point reconnu toutes les particularités que nous venons d'y signaler, d'une façon encore bien incomplète sans doute, et qu'il l'ait considérée comme une couche brillante simplement perforée de canalicules ou *Porenkanälen*.

Ce tube chitineux constitue un objet très remarquable pour l'étude de la genèse et de la signification de la membrane cellulaire. On sait que si la plupart des cytologistes, et surtout l'École de Louvain, à la suite de CARNOY, considèrent la membrane comme une différenciation périphérique du protoplasme, il est pourtant des auteurs qui n'ont pas encore adopté cette manière de voir (1). Il est encore assez fréquent d'entendre les histologistes dire que la membrane cellulaire est un simple produit de sécrétion, déversé au dehors par le protoplasme et solidifiée.

Or, si l'on suit la série des coupes transversales du tube séricigène des phryganides, dans la région que nous venons d'examiner, on se trouve dans l'impossibilité de considérer la membrane comme une production extérieure au cytoplasme. L'examen de trois coupes semblables aux FIG. 14, 13 et 17, par exemple, démontre qu'elle contient et emprisonne les extrémités des longues trabécules radiales du cytoplasme, si distinctes dans cet objet.

On trouve aisément dans le bout du tube des endroits, FIG. 14, où ces trabécules viennent buter contre une membranule interne très mince. Au voisinage de celle-ci ces trabécules sont un peu épaissies, légèrement régularisées et comme enrobées dans un dépôt très faible encore d'une

(1) Nous parlons uniquement ici de la membrane cellulaire véritable, qu'elle soit libre autour de chaque cellule ou fusionnée entre éléments voisins pour former une cuticule; mais nous n'entendons rien préjuger sur la nature d'autres productions analogues, telles que la paroi de certains spermatophores, celle des oothèques et d'autres productions, qui doivent encore être étudiées à ce point de vue.

substance brillante assez avide de carmin, — comme la cuticule tout entière — et formant une couche encore irrégulière, épineuse du côté du cytoplasme. Plus bas on trouve des coupes où cette couche interne se régularise, s'épaissit, s'imprègne davantage de la substance brillante, tout en laissant encore voir très nettement les portions terminales régularisées des trabécules cytoplasmiques, FIG. 13. Enfin, plus bas, dans le bulbe lui-même, la couche est devenue plus solide encore; elle s'est si fortement imprégnée de la substance brillante que les trabécules qui y sont enclavées cessent d'être visibles, FIG. 17. Une structure nouvelle s'indique alors dans cette couche compacte : une striation concentrique très fine s'y montre. Les travées radiales du cytoplasme paraissent dès lors venir buter non plus contre une mince membranule limitant la face interne du tube, mais contre la face externe de l'épaisse cuticule.

Si l'on ne connaissait que cette dernière apparence, on pourrait accorder à ceux qui décrivent la membrane comme une sécrétion, que leur hypothèse, quoique purement gratuite, n'est pas une impossibilité. Mais les autres aspects que nous venons de signaler, et certaines étapes intermédiaires, de même que l'étude attentive de bien d'autres objets, contraignent l'observateur à rejeter cette hypothèse comme directement contraire aux faits.

B. TUBE FILEUR.

Presse.

Nous avons vu que, contrairement à ce qui s'observe chez les larves des lépidoptères, les deux tubes séricigènes s'unissent très en avant, dans la tête. Il en résulte que le canal commun ou tube fileur est beaucoup plus court. On n'y distingue que deux régions au lieu de trois. C'est la postérieure qui fait défaut; la presse suit immédiatement le point de réunion des deux tubes glandulaires, FIG. 3.

La structure de cette presse est très semblable à celle que nous avons décrite chez les chenilles. La FIG. 19, qui est une coupe transversale du mamelon saillant ou canule fileuse de la lèvre inférieure, donne une idée exacte de sa disposition, surtout si l'on tient compte en même temps de la FIG. 4 qui représente cet appareil suivant son profil longitudinal, d'après une dissection.

La pièce *P* de la FIG. 19 n'est autre chose que le tube fileur sectionné. La couche épithéliale *m*, ou matrice du tube cuticulaire, n'est elle-même autre chose que la continuation de l'épithélium des glandes, et la partie chiti-

tineuse *p* correspond au tube interne des portions situées en arrière. Seulement, ici le tube chitineux, très épaissi, est déprimé longitudinalement. Sa face supérieure porte une profonde gouttière, un pli d'invagination dont la saillie rétrécit la lumière du canal et la réduit à une fente qui présente, en section transversale, la forme d'un croissant. Dans cette fente gisent deux fils de soie *f* placés l'un près de l'autre et emprisonnés entre le plancher du tube et le fond de la gouttière supérieure qui en forme le plafond.

Des fibres musculaires s'insèrent les unes au fond de la gouttière, les autres sur la crête des deux plis latéraux que laisse sur ses bords le sillon médian, FIG. 19, *ml*. Toutes se fixent par leur extrémité externe à la cuticule dermique de la canule.

Le fonctionnement de cet appareil est évidemment le même que chez les lépidoptères. C'est une presse dans laquelle les fils de soie venus des deux glandes se trouvent comprimés. L'agent compresseur c'est l'élasticité des parois chitineuses. Lorsqu'elle agit librement, la crête interne qui correspond au sillon médian externe comprime fortement la soie. Les muscles agissent contrairement à cette force. Leur direction et leur mode d'insertion indiquent avec la plus grande évidence que leur contraction doit avoir pour effet de relever la crête saillante, d'élargir ainsi la lumière du canal et, par suite, de diminuer la compression que subit la soie. Son mécanisme est donc exactement le même que chez les chenilles. La seule différence que nous ayons à signaler dans sa structure, est l'existence d'une seule paire de muscles latéraux au lieu de deux : les muscles inférieurs insérés sur les crêtes latérales. Les muscles latéraux-supérieurs des chenilles, qui sont dilatateurs comme les inférieurs, font défaut chez les phryganes. De plus, tous les muscles sont ici bien moins puissants que chez les chenilles fileuses. Ils sont remarquables par la masse volumineuse de protoplasme qui entoure leur noyau et s'étend sur une grande partie de la portion différenciée.

Les fibres supérieures sont disposées l'une derrière l'autre, en deux séries longitudinales.

La dernière paire, plus volumineuse, est séparée de la série par un espace vide, FIG. 4; elle s'insère sur un prolongement saillant et coloré en brun qui est une dépendance de la paroi supérieure du canal chitineux et qui termine en arrière le sillon longitudinal. Il nous semble que l'action de ces fibres ne peut consister qu'à relever l'appareil dans son ensemble, peut-être aussi à le tirer en avant ou en arrière, si son point d'insertion supérieure le comporte. Nous manquons de données précises à ce sujet; la FIG. 4 ayant été faite, non d'après une section longitudinale, mais d'après une dissection, les insertions supérieures étaient rompues.

Tronçon antérieur.

La portion antérieure à la presse n'est qu'un simple tube chitineux à section ovale, tapissée d'une matrice de cellules plates.

Nous n'avons pas examiné l'orifice de la canule. FR. KLAPALEK, qui donne une courte description de l'appareil, sans toutefois signaler la presse, dit qu'il est cruciforme (1).

Remarques sur la soie et sa production.

Les phryganes sont, sans contredit, moins bonnes fileuses que beaucoup de lépidoptères. Néanmoins leur appareil séricigène et fileur, d'après la description que nous venons d'en faire, n'est guère moins parfait que celui des chenilles. Sans doute les glandes de FILIPPI leur font défaut, du moins dans les espèces que nous avons examinées. Mais il n'est pas démontré que ce soit là un caractère d'infériorité. Cette différence est peut-être en rapport avec le régime aquatique, si différent, de ces larves.

La réduction des muscles de leur presse est, au contraire, un indice de faiblesse relative.

Le fil de soie complet et sorti de la filière, ou, pour employer un terme usité dans l'industrie, la bave, ressemble étonnamment au fil des lépidoptères. Il est constitué de deux fils aplatis exactement accolés l'un à l'autre par leur bord, FIG. 20 et 21. Nous l'avons examiné dans plusieurs espèces et nous n'y avons remarqué que très peu de différences. C'est surtout l'épaisseur des deux fils qui varie, et seulement dans de faibles limites.

Très souvent les deux fils portent une striation longitudinale assez régulière, FIG. 20 et 21, qui n'est que superficielle.

Comme chez les lépidoptères, le fil est recouvert d'une couche de grès. Mais elle est ici encore plus mince et, sur la bave filée, très difficile à voir. Dans l'intérieur des tubes glandulaires on la distingue plus aisément, surtout dans les parties antérieures, bien qu'elle demeure remarquablement plus faible que chez les chenilles.

Les cellules séricigènes des trichoptères sont loin d'offrir un objet favorable à l'étude de la sécrétion de la soie. Sous ce rapport celles des

(1) FR. KLAPALEK : *Untersuchungen über die Fauna der Gewässer Böhmens*; Archiv für naturwissenschaftl. Landesdurchforschung von Böhmen, V. Band, n° 5, 1888, Prag, bei F. Rivnac.

bombycides leur sont préférables. Nous n'avons rien à modifier de ce que nous avons dit sur ce sujet dans notre première partie. La soie produite dans le cytoplasme passe dans la lumière en traversant la mince mais solide membrane réticulée qui en tapisse la face interne.

Dans la lumière du tube l'on perçoit aisément deux substances distinctes : une substance centrale et une substance corticale ou, si l'on veut, la soie et le grès. Comme nous venons de le dire, c'est surtout dans la partie antérieure, mais avant la presse, que la couche corticale est bien développée. Néanmoins, on peut déceler la présence d'une mince couche corticale sur toute la longueur du cylindre de soie jusqu'au fond de la glande, FIG. 11, aussi bien que chez les chenilles.

Nous continuons donc à considérer le grès comme le produit d'un travail de séparation, de triage, se passant au sein de la substance déversée par les cellules, ou du moins à la périphérie du cylindre de soie, et non comme un produit de sécrétion spécial, déversé seulement par les portions antérieures du tube.

Signalons ici une particularité de la zone externe du cylindre de soie que nous avons rencontrée à mainte reprise sans pouvoir nous l'expliquer. Il arrive que cette zone est remplie de vacuoles claires, à membrane épaisse, parfois très volumineuse, FIG. 10. Ces vacuoles paraissent contenues dans la couche de grès elle-même. Elles la désorganisent parfois profondément. C'est ainsi que dans la FIG. 9 il ne reste plus de la zone ordinairement homogène de cette substance que deux légers amas latéraux qui sont respectés par les vacuoles.

La signification de ces vacuoles nous échappe, aussi bien que les conditions dans lesquelles elles se produisent. Apparaissent-elles quand la larve a beaucoup filé et cesse de le faire? C'est possible, car nous ne les avons observées que sur des fibres beaucoup plus minces que la lumière du tube, comme c'est le cas dans les FIG. 9 et 10.

Souvent dans la région moyenne et la région postérieure, le fil remplit toute la lumière du tube sans laisser le moindre espace entre lui et la paroi, du moins sur les objets fixés dans la vapeur de chloroforme et l'acide sulfureux sous pression. Dans ce cas, il est plus difficile encore de saisir la mince couche de substance corticale que lorsque le tube est partiellement vidé et où le cylindre de soie y flotte à son aise. Quand il était bien rempli, nous n'avons jamais vu de vacuoles dans la couche périphérique.

RÉSUMÉ.

L'appareil séricigène des larves des phryganides est très semblable à celui des larves des lépidoptères. Il comprend deux tubes séricigènes pelotonnés que PICTET avait déjà représentés, et un tube fileur formé par leur réunion.

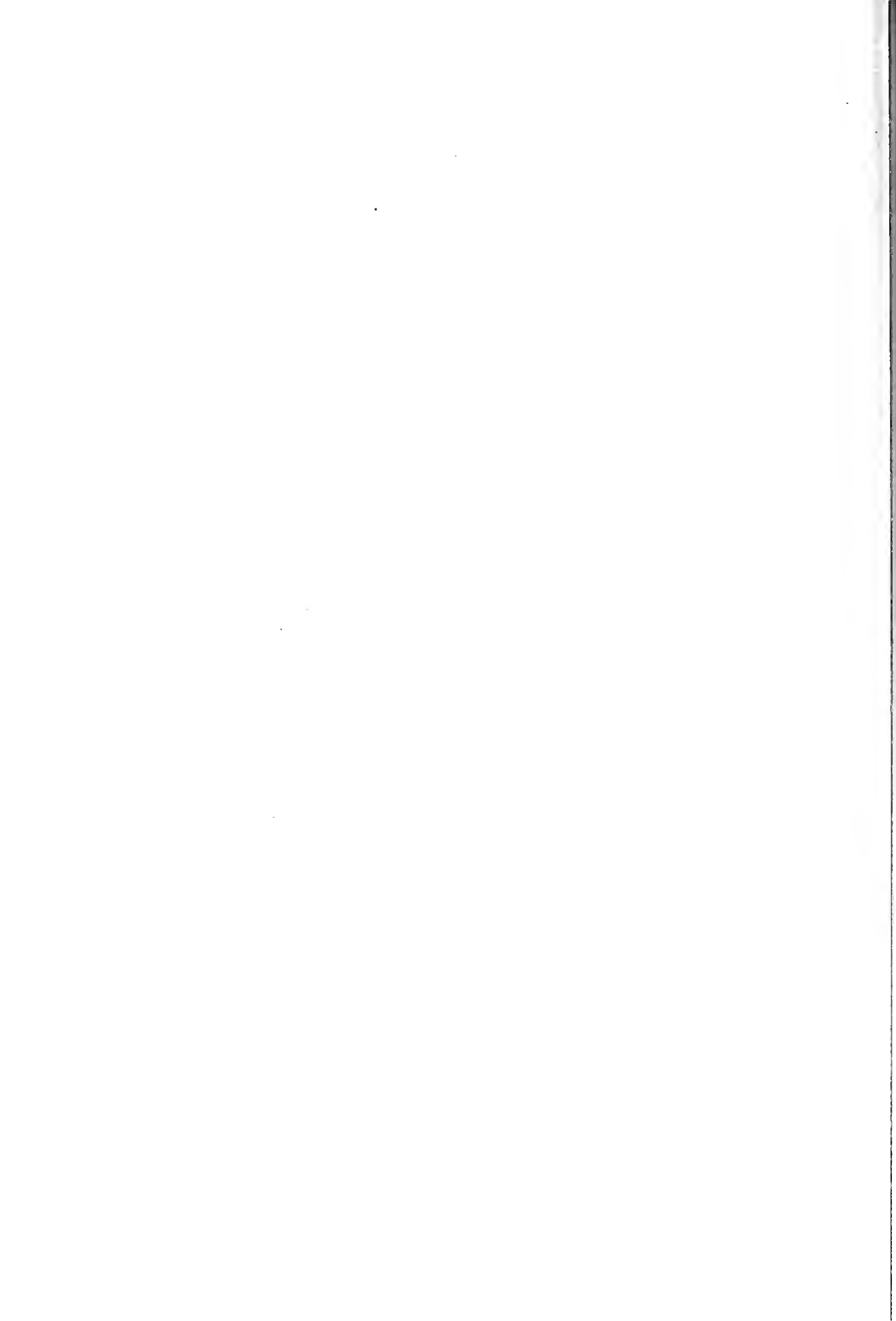
Ce tube fileur présente un appareil spécial homologue et très semblable à la presse des chenilles. PICTET, tout en figurant le tube fileur, n'avait pas signalé cette presse.

Les glandes de FILIPPI manquent dans les *Limnophilus rombicus*, et *flavicornis*, la *Molanna angustata*, l'*Anabdia nerrosa* et cinq ou six autres espèces que nous n'avons pu déterminer. C'est là, probablement, un caractère général du groupe. Une tubérosité qui s'observe parfois sur la membrane interne, au niveau du bulbe lui-même, représente peut-être les glandes de FILIPPI dans un état de grande réduction; cette question demande de nouvelles recherches.

La soie se forme exactement comme chez les chenilles; le fil possède une couche de grès moins développée que chez ces dernières.

La zone corticale du cylindre de soie existe jusqu'au fond de la glande.

Le tube chitineux des portions antérieures du tube glandulaire constitue un intéressant objet pour l'étude de la genèse et de la signification de la membrane cellulaire. L'origine et la nature cytoplasmiques de cette partie de la cellule y sont évidentes. Il est dès lors impossible de considérer la membrane cellulaire comme un produit excrété par le protoplasme et solidifié: elle constitue réellement une différenciation périphérique de ce dernier, emprisonnant certaines parties du système réticulé général.



EXPLICATION DE LA PLANCHE IV.

Grossissements : FIG. 1 : obj. A, oc. 1 ZEISS, réduit de moitié. FIG. 3 : trois fois grossi. FIG. 4 : obj. A, oc. 1. FIG. 2, 5 à 10. FIG. 12 à 21 : obj. 112, imm. homogène, oc. 2. FIG. 11 : obj. D, oc. 1.

FIG. 1. *Cossus ligniperda*. Partie antérieure de l'appareil séricigène. *P*, presse; *rF*, rudiment de la glande de FILIPPI; *tF*, tubercule de la cuticule représentant le canal excréteur de la glande rudimentaire de FILIPPI.

FIG. 2. *Id.* Tube cuticulaire avec le rudiment du canal excréteur de la glande de FILIPPI, *tF*.

FIG. 3. *Limnophilus rhombicus* ou *flavicornis*. Représentation élémentaire de l'appareil séricigène dans son ensemble. *P*, presse.

FIG. 4. *Anabdia nervosa*. Partie antérieure de l'appareil séricigène, vue de profil. *P*, presse; *fm*, fibres musculaires; *tg*, tubes glandulaires s'unissant tout près de la presse.

FIG. 5. *Id.* Une cellule de la région moyenne de la portion productrice du tube glandulaire, traitée par le vert de méthyle additionné d'un peu d'acide acétique; *n*, noyau ramifié.

FIG. 6. *Molanna angustata*. Partie d'une cellule de la portion postérieure de la région productrice. Le noyau s'est segmenté en tronçons souvent étirés en un filament, et se colorant d'une façon presque homogène. Vert de méthyle acétique.

FIG. 7. *Limnophilus rhombicus* ou *flavicornis*. Portion de la paroi de la glande examinée sur le vivant dans une goutte de sang de l'individu lui-même et sans addition d'aucun réactif. *m*, membrane cellulaire s'altérant et disparaissant par endroits sous l'action du couvre-objets qui comprimait la pièce.

FIG. 8. Section optique de la paroi de la même glande, observée dans les mêmes conditions. La membrane qui sépare les deux cellules est bien visible et présente une direction oblique.

FIG. 9. *Anabdia nervosa*. Coupe transversale de la région productrice, portion moyenne. *m*, section de la membrane réticulée qui tapisse la face interne du tube; *s*, cylindre de soie; *gr*, amas latéraux de substance corticale ou grès. Solution mercurique, acide carminique aluné de MAYER.

FIG. 10. *Id.* Même traitement. *v*, vacuoles semblables à celles qui entourent le cylindre de soie, *s* dans la FIG. 9. La substance corticale *gr* forme ici une couche complète; *n*, noyau.

FIG. 11. Espèce indéterminée. Partie terminale postérieure du tube glandulaire. *s*, cylindre de soie; *gr*, couche de substance corticale ou grès.

FIG. 12. *Limnophilus rhombicus* ou *flavicornis*. Limites des régions conductrice et productrice; *brc*, bulbe ou renflement basal de la région conductrice; *bry*, bulbe

ou renflement terminal de la région productrice; *csf*, couche striée du cytoplasme tapissant la face interne de la membrane mince du tube; elle correspond à la cuticule *c* de la région conductrice; *e*, étranglement séparant nettement les deux régions. Le cylindre de soie présente une mince couche corticale épaissie par endroits.

FIG. 13. *Anabdia nervosa* Coupe transversale de la région terminale antérieure ou bulbe de la région productrice. La lumière du tube est entourée d'une zone radiée qui n'est autre que la couche *est* de la fig. 12. Ses trabécules sont en continuité avec des travées radiées du cytoplasme.

FIG. 14. *Id.* Portion d'une coupe semblable à la précédente, mais plus voisine de la portion conductrice. La zone striée est peu épaisse et paraît constituée d'un simple dépôt d'une substance d'aspect homogène entre les extrémités des trabécules radiées du cytoplasme.

FIG. 15. *Id.* Coupe passant près de la limite des deux régions; la partie externe appartient à la région conductrice; l'interne à la région productrice. La couche striée présente en *est* une protubérance accompagnée d'un léger enfoncement de la face interne du tube, qui représente peut-être, comme le tubercule du *Cossus*, le canal excréteur de la glande de FILIPPI? *tr*, trachées; *ppp*, cellules à protoplasme opaque de la région productrice; *pre*, cellules à protoplasme clair de la région conductrice.

FIG. 16. Espèce indéterminée, fixée supplément par l'alcool. Coupe de la portion antérieure de la région conductrice, sous le bulbe; *m*, membrane interne réticulée, détachée du cytoplasme; des tronçons des trabécules radiées de ce dernier demeurent fixés sur elle.

FIG. 17. *Anabdia nervosa* Coupe du bulbe basal de la région conductrice. A la zone striée de la région productrice s'est substituée une couche chitineuse ne présentant en section transversale d'autres détails de structure que des couches concentriques. Les travées radiales semblent s'arrêter contre cette couche; mais l'examen d'une série de coupes prises plus haut démontre que leur partie intérieure y est enclavée aussi bien que dans la zone striée du bulbe de la région productrice.

FIG. 18. *Id.* Tronçon du tube chitineux de la région conductrice, bulbe. On y reconnaît un réseau à mailles très allongées et très obliques; les travées de ce réseau sont autant de lames aussi larges que la couche chitineuse de la coupe précédente; mais le tube étant vu de face et chaque lame se présentant à l'œil par son bord, on ne peut mesurer cette largeur.

FIG. 19. *Limnophilus* ou *Anabdia* — incertain. Coupe transversale de la canule fileuse. *P*, presse; *f*, fil de soie engagée dans la lumière *l* de la presse; *mt*, matrice cuticulaire, prolongement en avant de la paroi épithéliale des tubes glandulaires; *ml*, fibres musculaires dont la contraction a pour effet de relever le fond de la gouttière qui déprime la cavité du tube chitineux et par suite de dilater la lumière et de diminuer la pression que cette gouttière fait subir aux fils en vertu de la seule élasticité des parois; *pr*, amas de protoplasme non différencié de la cellule musculaire.

FIG. 20. Soie d'un *Limnophilus* indéterminé; fils assez épais, mince couche de grès.

FIG. 21. Fil de soie extrait de la gaine d'un *Limnophilus rhombicus*.

BIBLIOGRAPHIE

Lépidoptères.

- G. Gilson* : La soie et les appareils séricigènes; La Cellule, tome VI. 1^r fascicule.
- Engelmann & van Lidth de Jeude* : Zur Anatomie und Physiologie der Spinndrüsen der Seidenraupe; Zool. Anzeiger, I. Jahrg., n. 5.
- Louis Blanc* : Étude sur la sécrétion de la soie, etc.; Lyon, Pitrat 1889.
- Helm* : Ueber die Spinndrüsen der Lepidopteren; Zeit. f. wiss. Zool., Bd. 26. 1876.
- Levdig* : Traité d'histologie.

Trichoptères.

- Meckel* : Mikrographie einiger Drüsenapparate des niederen Thiere; Mull. Arch. 1846.
- Pictet* : Recherches pour servir à l'histoire et l'anatomie des Phryganides; Genève. 1834.
- F. Klapàlek* : Untersuchungen über die Fauna der Gewässer von Böhmen; Arch. f. Naturwiss. Landesdurchforschung von Böhmen, V. Band, n. 5. Prag. 1888.
- Wistinghausen* : Ueber Tracheenendigung der Sericteren der Raupe; Zeit. f. wiss. Zool., t. 49, p. 565.
- G. Gilson* : Étude comparée de la spermatogénèse chez les arthropodes; La Cellule, t. II, 1^r fascicule.
- Loew, H.* : Bemerkungen über die anatomischen Verhältnisse der Neuropteren; in Germar's Zeit. f. Entomol. B. 4, 1843.
- Duméril* : Rapport verbal sur un ouvrage de F. G. Pictet, etc.; Ann. d. sc. nat., 2^e série, Zool., t. 2. 1834.
- Hagen* : Phryganea grandis und striata. Linnae entomol.; Bd. 5. 1851.
- Fritz Müller* : Beziehung der Trichopteren zu Schmetterlingen; Zeit. f. wiss. Zool., t. 35.
- Kolbe* : Zur naturgeschichte der Phryganæ grandis, etc; Entomol. Nachrichten, 14. Jahrgang, n. 5.
- Mac Lachlan* : A revised list of British Trichoptera, etc. Trans. entom. Soc. London. 1882; et nombreuses publications dans l'Entom. Monthly. Mag. et dans Soc. belge d'entomologie.
- de Sélys-Longchamps* : Neuroptera Belgica et Soc. belge d'entomologie.

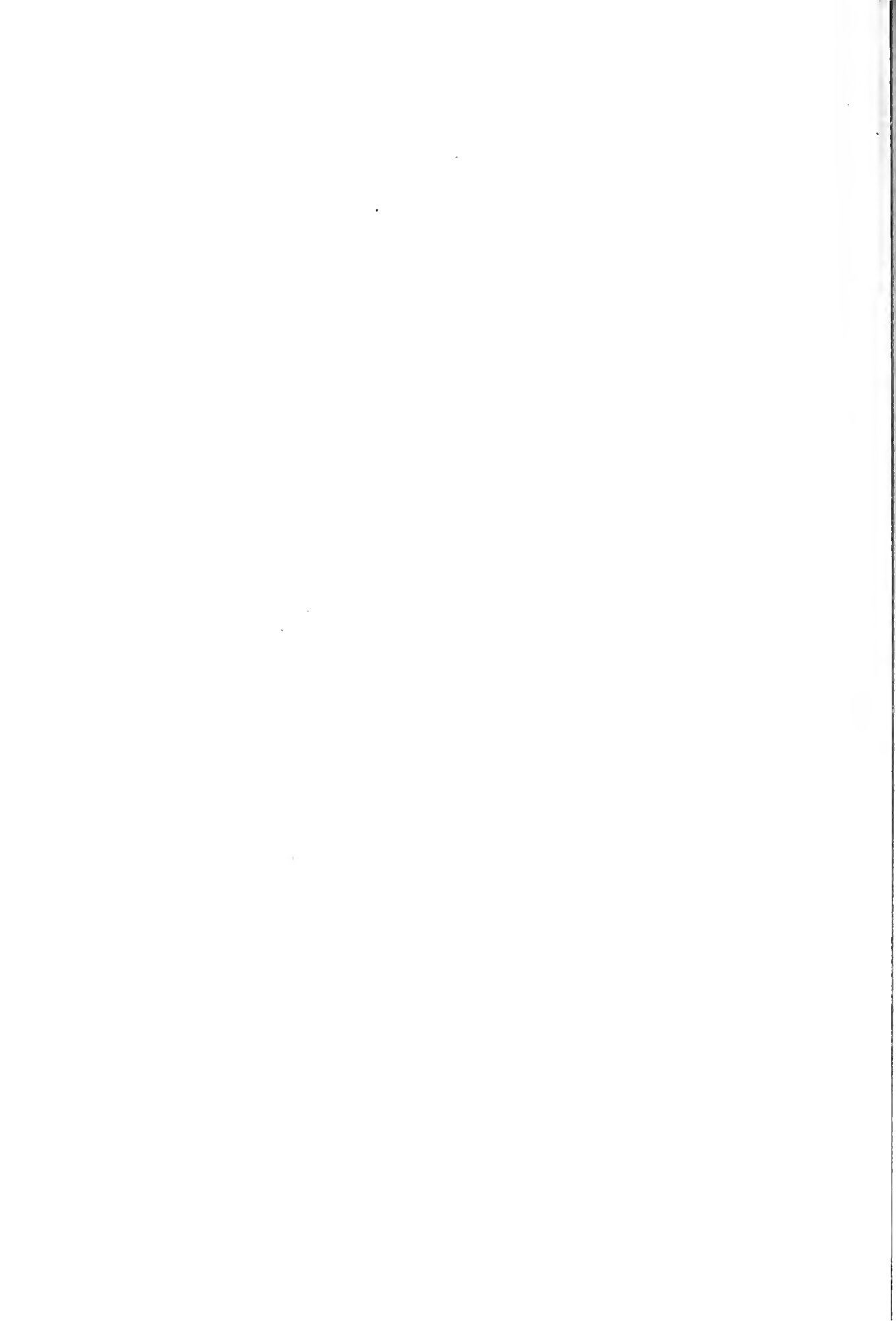


TABLE DES MATIÈRES

I. La Soie et les Appareils sericigènes.

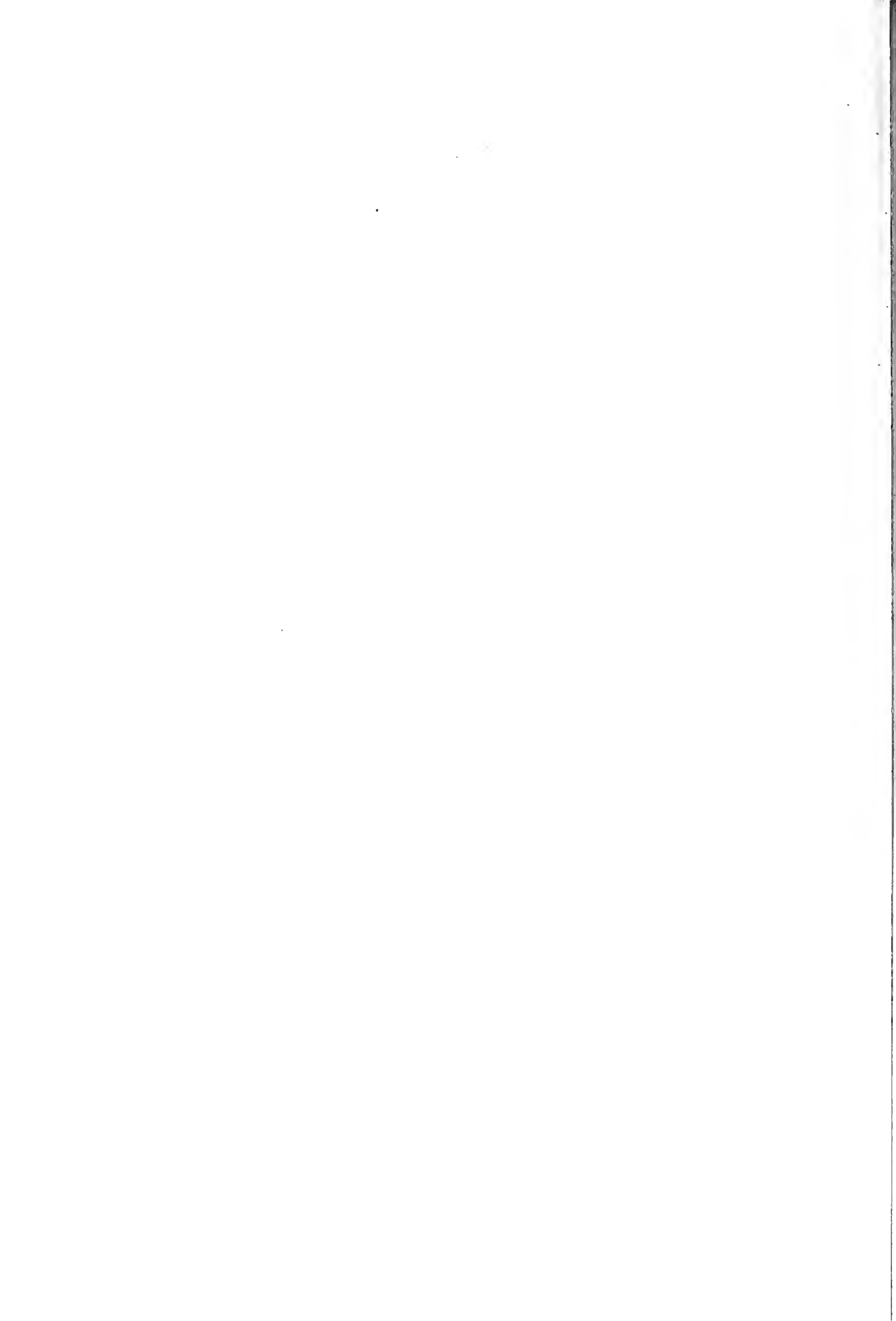
I. GLANDES SÉRICIGÈNES DES LÉPIDOPTÈRES

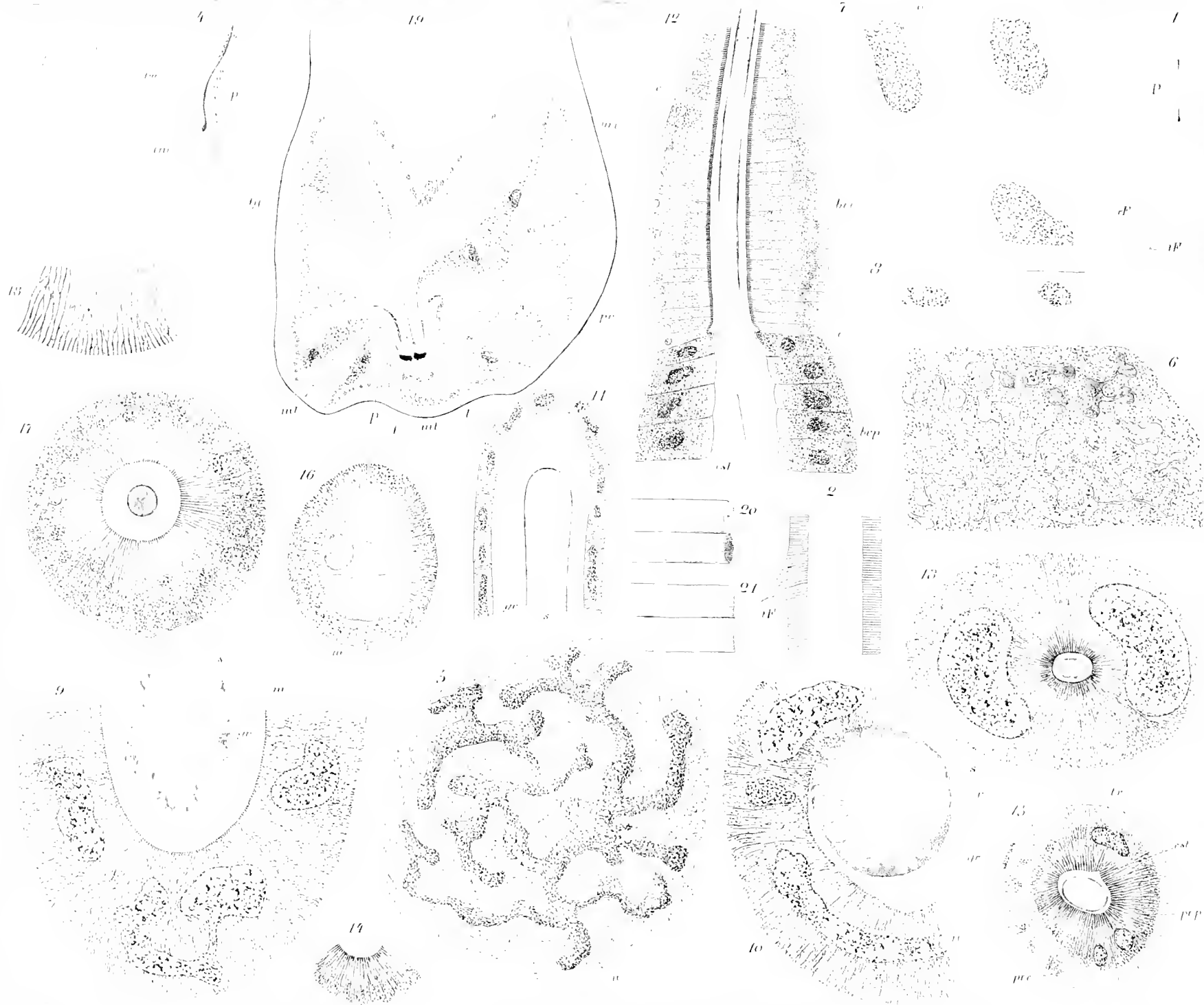
(APPENDICE.)

	PAG.
Première remarque.	30
Deuxième remarque.	41
Troisième remarque	41

II GLANDES SÉRICIGÈNES DES TRICHOPTÈRES

Remarques préliminaires	42
Aperçu anatomique.	44
A. TUBES GLANDULAIRES	44
1 ^o <i>Portion postérieure ou productrice.</i>	44
<i>Noyau</i>	45
<i>Cytoplasme</i>	46
<i>Membrane</i>	47
Remarques sur les particularités du tronçon antérieur	48
2 ^o <i>Portion antérieure ou conductrice.</i>	49
B. TUBE FILEUR	53
<i>Presse</i>	53
<i>Tronçon antérieur</i>	55
Remarques sur la soie et sa production	55
Résumé	56
Explication des planches	59
Bibliographie	61







DU MÉCANISME
DES
SYMPTÔMES GASTRO-INTESTINAUX
DANS LE
CHOLÉRA ASIATIQUE

PAR

J. DENYS

&

CH. SLUYTS

PROFESSEUR D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE

ASSISTANT AU LABORATOIRE

(Mémoire déposé le 27 juillet 1893.)



DU MÉCANISME

DES

SYMPTÔMES GASTRO-INTESTINAUX DANS LE CHOLÉRA ASIATIQUE

Dans un travail paru il y a quelques mois et fait en collaboration avec M^r CH. VAN DEN BERGH(1), l'un de nous étudia le mécanisme des symptômes gastro-intestinaux dans le choléra produit par le *Bacillus coli communis*.

Nous étions arrivés aux conclusions suivantes :

1^o Introduite directement dans les tissus, par exemple dans la plèvre, la toxine de cet organisme produit chez le chien un véritable état cholérique, extrêmement violent. A l'autopsie, on trouve une congestion intense de tout le tractus digestif, des hémorragies interstitielles de la muqueuse et une desquamation épithéliale importante. Celle-ci s'opère pendant la vie même, comme on peut le constater par l'examen des selles.

2^o Si, au lieu d'introduire le poison dans les tissus, on l'injecte dans l'estomac ou dans l'intestin, on n'obtient ni les symptômes gastriques, ni l'intoxication générale, ni les lésions de l'intestin, alors même que l'on emploie des doses plusieurs fois mortelles quand elles sont introduites dans les tissus. Bien plus, on peut, par des ligatures, emprisonner la toxine dans une anse intestinale, et la laisser en présence de la muqueuse pendant des heures, sans que celle-ci soit affectée.

3^o L'absence d'intoxication quand le poison est déposé dans le tube digestif ne trouve pas sa raison d'être dans une neutralisation des produits toxiques par le foie, au fur et à mesure que ces derniers lui sont amenés par la veine-porte.

(1) J. DENYS et CH. VAN DEN BERGH. *Sur le mécanisme des symptômes gastro-intestinaux dans le choléra nostras*; Bull. de l'Acad. de méd. de Belg., 1893.

4^o Il faut admettre que les cellules épithéliales de l'intestin empêchent la pénétration du poison dans l'organisme. D'une sensibilité extrême au poison quand celui-ci leur est apporté par le sang, elles le supportent parfaitement bien quand il se présente à elles par leur pôle intestinal.

Nous avons conclu de ces faits expérimentaux qu'on ne pouvait pas considérer le choléra nostras comme dû à une simple résorption intestinale, mais qu'il fallait admettre dans son développement deux actes successifs : un premier, pendant lequel une certaine quantité de poison, par suite de circonstances encore obscures, passait dans le sang, et un second, commençant au moment où ce poison absorbé déterminait la chute des cellules épithéliales, et ouvrait les portes toutes larges au poison répandu déjà à l'état normal en grande quantité tout le long du tractus intestinal.

On pouvait prévoir dès lors que des recherches portant sur le vibrion du choléra asiatique conduiraient à faire admettre dans cette maladie un processus analogue. Comme on va le voir par la suite, l'expérimentation a confirmé complètement cette conjecture.

MÉTHODE SUIVIE.

La marche, que nous avons adoptée dans nos expériences, ne diffère pas sensiblement de celle qui a été suivie pour étudier le mécanisme du choléra nostras. Au fond, il n'y a de changé que le microbe.

Le bacille-virgule que nous avons employé est le même que celui qui a servi aux recherches de l'un de nous sur les propriétés du poison du choléra asiatique (1). Un essai de virulence, fait avant l'ensemencement de nos milieux de culture, avait démontré que ce vibrion avait conservé sa puissance pathogène, puisqu'un centimètre cube de culture dans le bouillon tuait un lapin adulte et vigoureux en dix heures de temps.

Comme milieu de culture nous avons choisi le bouillon. Nous aurions préféré, comme dans nos études sur le choléra nostras, employer des cultures sur pomme de terre, mais celles-ci sont laborieuses à exécuter et fournissent peu de matériaux, tandis qu'avec du bouillon on peut se procurer le poison facilement et en quantité aussi abondante qu'on le désire (2).

(1) CH. SLUYTS : *Sur les propriétés du poison du choléra asiatique*; La Cellule, t. X, 1893.

(2) CH. SLUYTS : *Op. cit.*

L'addition de gélatine favorisant manifestement le développement du bacille-virgule, nous avons adopté pour notre bouillon la composition suivante :

Peptone	10 gr.
Sel de cuisine	5 "
Extrait de viande	5 "
Gélatine	25 "
Eau	1000 "

Ce bouillon répond au fond à la formule donnée par GAMALEIA (1), sauf que les pieds de veau sont remplacés par la gélatine. Cette substitution simplifie beaucoup la préparation du bouillon. Ce dernier, suivant les conseils de GAMALEIA, a été versé dans des ballons de façon à former une couche de 3-4 centimètres d'épaisseur, et a été inoculé avec une culture de vibron asiatique sur la pureté de laquelle il ne pouvait y avoir le moindre doute.

Les ballons sont restés quinze jours à la couveuse. Pendant les dix premiers jours, il se forma continuellement à leur surface des membranes, que nous fîmes tomber au fond, par agitation, une ou deux fois par jour. A partir du dixième jour, les membranes cessèrent de se former, et le liquide s'éclaircit dans sa partie supérieure. Après que nous nous fûmes assurés, par un examen microscopique, de la pureté de nos cultures, nous les chauffâmes pendant deux heures, au bain-marie, à 58-60°. C'est GAMALEIA encore qui donne ce conseil pour obtenir des bouillons bien toxiques. D'après cet auteur, le chauffage fait sortir le poison des cadavres microbiens et augmente la toxicité des bouillons. Il défend de chauffer à une température supérieure à 60°, dans la crainte de détruire le poison. L'un de nous (2) a démontré que cette crainte n'est nullement fondée, puisque une température de 120° prolongée pendant plus d'une heure est sans action sensible sur la toxine qui est la cause des symptômes cholériques. Néanmoins, nous avons suivi les indications de GAMALEIA, si pas dans la crainte de nuire au poison, du moins pour faciliter, si possible, sa sortie du corps des vibrions. Nous avons du reste eu constamment la précaution d'agiter le bouillon immédiatement avant de l'employer, afin d'avoir en mains, pour nos injections, un liquide absolument identique.

(1) GAMALEIA : Arch. de méd. expérim., 1892.

(2) CH. SLUYTS : Op. cit.

Comme sujet d'expérimentation, nous avons choisi le chien. Le lapin et le cobaye, qui succombent soit au vibrion vivant, soit au vibrion tué, ne présentent pas le tableau cholériforme; ils n'ont jamais de vomissements. Le premier de ces animaux présente à la vérité de la diarrhée, mais elle est inconstante et en général pas profuse comme dans le choléra humain; quant au cobaye, la diarrhée fait presque toujours défaut. Contrairement à ces deux animaux, le chien réagit par des symptômes gastro-intestinaux bien marqués, et se trouve par conséquent désigné tout naturellement pour ce genre de recherches.

Nous avons expérimenté sur une quarantaine de chiens, la plupart tout jeunes. Toutes nos expériences ont été faites avec le même bouillon, et nous avons eu soin d'exécuter le même jour des expériences de diverses sortes, afin de pouvoir mieux comparer l'influence du lieu d'introduction.

Introduction du poison dans les tissus (plèvre, péritoine)

On peut distinguer chez le chien trois degrés de l'intoxication par la toxine du bacille-*virgule*. Il importe de les bien connaître pour juger plus tard sainement les suites de l'introduction du poison par le tube digestif.

Ces divers degrés dépendent avant tout de la dose employée; mais les dispositions individuelles ont aussi leur mot à dire.

1^{er} DEGRÉ. *Intoxication légère*, dose moyenne 1 à 2 cc. de bouillon. Deux à trois heures après l'injection, la température monte au-delà de 40°; l'animal est abattu; il a quelquefois un ou deux vomissements alimentaires et autant de selles, solides ou molles, mais les symptômes gastro-intestinaux occupent l'arrière-plan. Le lendemain, tout est rentré dans l'ordre, et l'autopsie ne fournit que des résultats négatifs.

Voici quelques exemples (1) :

CHIEN I, jeune, pesant 1,6 k.

3,42 heures. T.R. 38°,1. Injection dans la plèvre de 1 cc. de bouillon.

3,56 » Une selle moulée.

4,50 » T.R. 38°,8. Abattement.

6,10 » T.R. 40°,7. Une seconde selle moulée et une mélangée à du mucus.

8,30 » T.R. 40°.

Le lendemain, T.R. 38°,7. L'animal touche à peine au lait qu'on lui présente. Dans la journée, il rentre dans son état normal.

1) Inutile de dire que toutes nos opérations ont été faites avec l'asepsie nécessaire.

CHIEN II, adulte, pesant 3,5 k.

11,30 heures. T.R. 38°₂. Injection dans la plèvre de 2 cc. de bouillon.

12,30 » T.R. 39°₆.

2,30 » T.R. 41°₃. Abattement, une selle moulée et une demi-liquide.

4,30 » T.R. 39°₈. Encore une selle liquide.

Le lendemain. T.R. 39°₃. Se porte bien.

Une opération grave, telle que la laparotomie, à laquelle nous serons souvent obligés de recourir plus tard, n'empêche nullement le mouvement fébrile. En voici la preuve.

CHIEN III, jeune, pesant 2,4 k.

Nous extrayons du ventre une anse de l'intestin, sur laquelle nous jetons une double ligature. L'anse étant replacée et le ventre fermé, nous injectons dans la plèvre 2 cc. de bouillon.

11,45 heures. L'injection est terminée. T.R. 37°₈.

12,45 » T.R. 38°₆.

2,00 » T.R. 40°₇.

3,00 » T.R. 41°₁.

7,00 » T.R. 39°₆.

Ces différentes expériences, que nous pourrions multiplier, nous font voir qu'un à deux centimètres cubes de bouillon suffisent pour produire dans l'organisme une perturbation assez marquée pour être sensible aussi bien au thermomètre qu'à la simple vue.

2^{me} DEGRÉ. *Intoxication moyenne*, dose 5 à 20 cc. de bouillon. La marche de la température ne présente rien de constant; tantôt elle est normale, tantôt elle monte, tantôt elle descend. L'abattement est intense, c'est une véritable prostration; l'animal se plaint continuellement, et la pression sur le ventre rend les gémissements plus aigus, ou les provoque. Les selles et les vomissements sont constants et nombreux, alimentaires d'abord, muqueux ou aqueux dans la suite. Les selles sont quelquefois striées de sang. Après plusieurs jours, l'animal se remet, ou il succombe, après que les symptômes cholériques se sont amendés. A l'autopsie, on ne trouve généralement pas de lésions notables de l'intestin.

Voici deux exemples de ce degré d'intoxication :

CHIEN IV, adulte, pesant 3,6 k.

- 11,20 heures. Injections de 10 cc. dans la plèvre droite. T.R. 37°,6 (1).
 12,15 » L'animal a eu deux vomissements alimentaires.
 12,30 » T.R. 38°,1. Une selle liquide. Prostration.
 2,30 » T.R. 38°,3. Une deuxième selle. Pendant que le thermomètre est dans le rectum, une troisième selle liquide est propulsée sous la forme d'un jet. Ténésme intense; la muqueuse rectale visible est fortement injectée.
 4,30 » T.R. 39°,6. Selle abondante, liquide, avec des flocons blancs. Mucus renfermant beaucoup de cellules. Prostration. L'animal est tué. Pas de lésions intestinales, sauf une petite érosion au commencement du duodénum.

CHIEN V, jeune, pesant 1,9 k.

- 3,30 heures. T.R. 38°,2. Injections dans la plèvre de 15 cc. de bouillon.
 3,35 » Un vomissement et une selle en partie moulée, en partie molle.
 3,44 » Une deuxième selle, liquide. Prostration; l'animal, couché de son long, se plaint sans cesse.
 3,58 » Troisième selle molle, avec fort ténésme, suivie d'une quatrième avec jet.
 4,35 » T.R. 38°,8.
 4,42 » Un deuxième vomissement, alimentaire, très abondant, suivi d'un troisième, aqueux.
 4,44 » Cinquième selle aqueuse, en jet, avec des flocons blancs.
 6,00 » T.R. 39°. Toujours la même prostration.
 6,30 » Sixième selle, d'eau claire, avec quelques rares flocons blancs.
 8,30 » T.R. 38°,6. Septième selle.
 Le lendemain, les symptômes gastro-intestinaux ont disparu, mais l'animal est très abattu; il crie quand on appuie sur son ventre. T.R. 38°,3.
 Il est tué dans l'après-midi; pas de lésions, sauf quelques plis de la muqueuse du rectum congestionnés.

3^{me} DEGRÉ. *Intoxication mortelle*, dose 20 cc. de bouillon et plus; quelquefois moins chez les animaux très sensibles. Au début, la marche de la température varie; plus tard, elle baisse progressivement (algidité). Les phénomènes gastro-intestinaux sont généralement très intenses. Les selles

(1) Le chien a été chloroformé, afin d'établir, comme on devait s'y attendre du reste, que la chloroformisation, employée souvent dans nos expériences, n'influe pas sur la marche de l'intoxication

deviennent sanguinolentes et renferment souvent des lambeaux épithéliaux. Quelquefois cependant on n'observe ni selles, ni vomissements (choléra sec). Dans tous les cas, qu'il y ait des manifestations gastro-intestinales ou qu'elles fassent défaut, l'estomac et l'intestin sont le siège de lésions profondes : congestion intense, hémorragies interstitielles de la muqueuse, érosions, desquamation épithéliale. La mort est l'issue de ce degré.

Comme exemples, nous produisons une injection dans la plèvre, et une autre dans le péritoine.

CHIEN VI, jeune, pesant 1,2 k.

- 3.42 heures. T.R. 38°.4. Injection de 5 cc. dans la plèvre.
 3.44 » Une selle moulée.
 4.20 » Une selle presque muqueuse.
 4.27 » Un vomissement.
 6,5 » T.R. 39°.3. La prostration est profonde.
 8,30 » T.R. 38°.2. Une troisième selle, en partie muqueuse.
 Le lendemain, l'animal est trouvé mort et présente des lésions intenses du tractus digestif.

CHIEN VII, jeune, pesant 1,1 k.

- 4.10 heures. T.R. 39°. Injection de 10 cc. de bouillon dans le péritoine.
 4.21 » Un vomissement.
 4.40 » Un second vomissement.
 4.55 » Un troisième vomissement.
 5,00 » Première selle, moulée.
 5,10 » Deuxième selle, molle, abondante; peu après, une troisième selle. Prostration profonde.
 5,15 » Quatrième selle, aqueuse, s'écoulant par l'anus relâché.
 6,00 » T.R. 37°; un liquide clair s'écoule de temps en temps, en petite quantité, par l'anus.
 8,15 » T.R. 36°.2.
 L'animal est tué et présente des lésions intestinales, surtout marquées dans la partie supérieure de l'intestin grêle et dans le rectum.

Cette dernière expérience nous fournit un exemple typique d'un état cholérique grave. Il n'est pas douteux pour nous, que l'animal aurait succombé pendant la nuit; c'est pour ce motif que nous l'avons tué. L'intensité des symptômes et la marche de la température justifiaient amplement notre pronostic.

Si nous résumons cette partie de notre travail, nous trouvons qu'on peut produire chez le chien, en déposant le poison dans une cavité séreuse, tous les symptômes de l'intoxication, depuis les plus légers jusqu'aux plus graves.

Introduction du poison dans l'estomac ou dans l'intestin.

1° Introduction du poison dans l'estomac.

Nous procédons comme il suit : l'animal est chloroformé; nous introduisons une sonde molle par l'œsophage jusque dans l'estomac et, au moyen d'une seringue, nous injectons le bouillon.

Nous avons administré des doses considérables :

Le CHIEN VIII (P. 0,6 K.)	reçoit	15 cc.	de bouillon.
» IX (P. 1,4 K.)	»	30 cc.	»
» X (P. 1,3 K.)	»	60 cc.	»
» XI (P. 2,1 K.)	»	90 cc.	»
» XII (P. 2,5 K.)	»	100 cc.	»

Aucun de ces animaux ne montra le moindre signe d'intoxication. Revenus de leur court sommeil chloroformique, ils se montraient gais et animés comme avant l'opération. Chez aucun, la température, prise souvent, ne monta au-delà de 39°,5. Généralement, elle oscillait autour de 38°,5. Aucun chien ne fut pris de vomissement, et la défécation ne présenta rien d'anormal.

2° Introduction du poison directement dans l'intestin.

Cette opération nécessite une laparotomie, exécutée sur la ligne médiane avec les soins antiseptiques nécessaires. Une petite anse est tirée hors de l'abdomen et au moyen d'une aiguille de PRAVAZ, nous injectons le bouillon aussi bien vers le bout supérieur que vers le bout inférieur.

Le CHIEN XIII (P. 1,9 K.)	reçoit	45 cc.	de bouillon.
» XIV (P. 1,4 K.)	»	50 cc.	»

Revenus de leur sommeil chloroformique, ces animaux ne montrèrent aucun symptôme rappelant le choléra; ils n'eurent ni accroissement fébrile de la température, ni vomissements. La défécation n'offrit rien de spécial. Ils ne présentaient pas leur vivacité antérieure, mais leur tranquillité s'expliquait naturellement par la plaie qu'ils portaient au ventre. Tout en se tenant tranquilles, ils avaient l'intelligence libre, suivaient de l'œil et de la tête ce qui se passait autour d'eux, ne poussaient pas de gémissements, et ne présentaient pas, dans leurs différentes poses, l'attitude prostrée, passive, paralysée, des animaux injectés dans une séreuse.

Nous tuâmes six heures après l'injection quelques-uns des chiens qui avaient reçu le poison dans l'estomac ou dans l'intestin. Leur tractus digestif

était pâle, et le rectum était rempli de matières fécales, normales pour l'aspect et la consistance.

Nous obtenons ainsi des résultats tout différents, suivant que le poison est introduit directement dans les tissus ou déposé simplement à la surface de la muqueuse digestive.

Dans le premier cas, on reproduit tout le tableau de l'intoxication cholérique. Même avec des doses faibles, 5 cc. (Chien VI), on détermine quelquefois la mort avec les lésions intestinales caractéristiques.

Dans le second cas, une dose vingt fois plus forte non seulement ne tue pas l'animal, mais ne provoque pas la moindre altération de la santé.

Introduction du poison dans une anse intestinale liée.

Dans le paragraphe précédent, nous introduisons le poison dans le tube digestif, et il lui est loisible de se répandre dans toute l'étendue de celui-ci. Il doit par conséquent s'y diluer. Est-ce peut-être pour ce motif qu'il est sans action sur la muqueuse? On peut à priori dire que non, car, quand la toxine est introduite dans la plèvre ou dans le péritoine, elle arrive à la muqueuse intestinale à un degré de dilution certainement plus élevé encore.

Néanmoins, nous avons voulu résoudre le problème par l'expérimentation et dans ce but nous avons emprisonné le bouillon dans une anse intestinale. Après incision de la paroi abdominale, nous tirons une anse de l'intestin au-dehors, nous plaçons sur elle, à la distance de 15 à 20 centimètres, deux fils forts, et dans le segment ainsi isolé nous injectons le poison. L'anse est ensuite replacée, l'animal est tenu en observation, et sa température est prise à des intervalles rapprochés.

Voici nos expériences :

Le CHIEN XV (P. 1,8 K.)	reçoit	10 cc.	de bouillon.
» XVI (P. 1,1 K.)	»	10 cc.	»
» XVII (P. 1,9 K.)	»	15 cc.	»
» XVIII (P. 2,0 K.)	»	15 cc.	»

Aucun de ces chiens ne présenta d'ascension fébrile de la température. Leur état général ne rappelait pas celui des animaux intoxiqués; ils ne furent pas affectés de diarrhée. Deux présentèrent des vomissements, mais ceux-ci s'expliquent très bien par la constriction exercée par les ligatures sur les nerfs de la tunique intestinale.

Les quatre animaux furent tués six heures après l'injection. L'anse liée était plus ou moins distendue par un liquide transparent, mais elle ne présentait ni congestion, ni érosions, ni hémorragie. Elle était pâle, comme le reste de l'intestin. Les villosités avaient conservé leur épithélium. *La muqueuse avait gardé tous ses caractères normaux, après avoir subi, pendant six heures, le contact d'un bouillon éminemment toxique et capable, après injection dans une séreuse, de provoquer aux mêmes doses l'intoxication mortelle, avec des lésions intenses de tout le tractus digestif.* Le contraste devient encore plus frappant, quand on songe que l'anse liée ne représentait pas la dixième partie de la longueur totale de l'intestin. Jamais les conditions naturelles ne pourront placer le poison du choléra dans des circonstances plus favorables pour agir sur la muqueuse, que son emprisonnement dans une anse intestinale. Malgré cela, il se montre d'une impuissance aussi radicale que le poison du *Bacillus coli communis*.

On pourrait peut-être nous objecter que la toxine est détruite par les ferments digestifs : suc gastrique et suc pancréatique. Mais l'un de nous (1) a démontré qu'elle résiste victorieusement à ces deux digestions, même prolongées pendant vingt-quatre heures.

L'absence d'intoxication ne peut pas s'expliquer par une
rétention dans le foie.

Le foie est placé sur le parcours de toute matière qui vient de l'estomac ou de l'intestin et on lui a attribué le pouvoir de retenir certains poisons et d'en débarrasser l'organisme (HEGER, CHARRIN). L'absence des différents symptômes d'intoxication, tels que l'ascension fébrile passagère, ne pourrait-elle être due à une neutralisation exercée par ce viscère sur la toxine du choléra asiatique? Dans cette hypothèse, une certaine quantité de toxine pourrait être résorbée, mais serait incapable de produire ses effets, parce qu'elle ne dépasserait pas l'organe hépatique.

Nous ferons remarquer que dans ce cas on devrait trouver au moins les lésions de la muqueuse intestinale, surtout de celle qui tapisse les anses liées, mais l'expérimentation n'est de nouveau pas d'accord avec cette hypothèse.

Le poison déposé dans le territoire de la veine-porte, et obligé par conséquent de passer par le foie avant d'entrer dans la circulation générale,

(1) CH SLUYTS Op. cit

n'agit pas avec moins d'intensité que celui que l'on injecte dans la plèvre. Au contraire, nous lui avons trouvé une puissance tout à fait extraordinaire, de façon que nous avons vu se produire les intoxications les plus graves avec des doses, qui, introduites dans la cavité pleurale, auraient donné lieu tout au plus à une pyrexie de courte durée, et peut-être à quelques légères manifestations du côté du tube digestif.

Comme endroit d'introduction, nous avons choisi la rate; celle-ci était tirée au-dehors, et l'injection faite dans sa substance même au moyen d'une seringue de PRAVAZ. Le liquide injecté reste sur place pendant un certain temps, comme on peut le constater par la persistance des taches jaunes qu'il produit sous la capsule. Il ne peut donc être question d'un départ brusque et immédiat du poison, qui mettrait le foie devant une tâche à laquelle il ne pourrait suffire. Au contraire, ce départ a lieu lentement et graduellement.

Voici nos expériences :

CHIEN XIX, jeune, pesant 1,8 K. T.R. 38°₁. Injection dans la rate de 2 cc. de bouillon.

12,05 heures. Injection terminée.

2,00 » T.R. 33°₅. Couché en long dans une prostration profonde. Ne sait plus se tenir sur les pattes.

3,00 » Trouvé mort. N'a eu ni selles ni vomissements (choléra sec). Lésions marquées et caractéristiques de l'estomac, de la partie supérieure de l'intestin grêle et du gros intestin.

CHIEN XX, jeune, pesant 2 K. T.R. 38°.

12,25 heures. Injection de 1 cc. Après l'opération, T.R. 37°.

1,45 » T.R. 34°₅. Prostration complète, masses molles à l'anus.

3,00 » Trouvé mort. Lésions comme le précédent.

CHIEN XXI, jeune, pesant 1,2 K. T.R. 38°₁.

11,45 heures. Injection de 0,5 cc. Après l'opération, la température est descendue à 36°₇.

12,00 » Un vomissement.

2,30 » T.R. 39°₅. Deux nouveaux vomissements.

3,30 » Nausées. Fort abattement.

4,30 » Une selle.

5,30 » T.R. 38°₄. Le chien est tué. Lésions caractéristiques du gros intestin.

CHIEN XXII, jeune, pesant 1,7 K. T.R. 38°₁.

12,00 heures. Injection de 0,25 cc. Après l'opération, la température est descendue à 37°.

12,19 » Un vomissement alimentaire et une selle liquide. Abattement.

12,35 » Nausées.

- 12,40 heures. L'état nauséux persiste.
 12,45 » Un deuxième vomissement, aqueux, coloré en vert. Abattement extrême.
 2,30 » Trouvé mort. Lésions intestinales intenses dans la partie supérieure de l'intestin grêle, moindres dans la partie inférieure, bien accusées dans le gros intestin.

Si nous récapitulons ces dernières expériences, nous voyons :

une dose de	2 cc.	tuer en moins de 3 heures,
" "	1 cc.	" " 2 1/2 "
" "	0,25 cc.	" " 2 1/2 "

Rappelons que ces doses déposées dans la plèvre produisent une indisposition légère, et que des doses 10 fois, 20 fois, 40 fois plus fortes, ne déterminent généralement qu'une intoxication moyenne, dont l'animal se remet. Nous voulons bien admettre que la résorption dans la rate est peut-être plus rapide que dans la plèvre; mais nous croyons aussi que l'on doit admettre que le foie n'exerce, comme organe emmagasinant la toxine du choléra, aucune action appréciable. Si ce viscère était chargé de ce rôle, il aurait dû, nous semble-t-il, retenir facilement le poison contenu dans 0,25 cc. de bouillon, ou tout au moins lui enlever son action réellement foudroyante.

Nous concluons : *la rétention de la toxine du choléra asiatique dans le foie ne peut pas expliquer l'innocuité des hautes doses de bouillon introduites dans le tractus digestif.*

Ajoutons que chez deux chiens nous avons injecté dans la rate 0,5 et 1 cc. d'eau salée physiologique, sans voir cette opération suivie d'aucun effet particulier.

CONCLUSIONS.

Nous ne pouvons que répéter ce que nous avons dit plus haut, à savoir que la toxine du vibriion asiatique se comporte dans l'intestin comme celle du coli-bacille. La muqueuse saine se refuse à l'absorber, et supporte son contact sans se laisser entamer, bien entendu si le poison se présente du côté de la lumière du tractus digestif. Quand il peut aborder la muqueuse par sa face profonde, il y exerce au contraire les ravages les plus profonds : congestion, hémorrhagie, desquamation épithéliale.

La conséquence qui se dégage de ces faits, c'est qu'il n'est pas permis de se représenter l'intoxication cholérique comme la résultante d'un acte

unique, d'une simple absorption par la muqueuse digestive d'un poison qui s'est formé accidentellement dans le tube digestif, par suite de la pénétration d'un microbe spécial. Le tractus digestif supporte, chez le chien, des doses plusieurs fois mortelles de poison, sans en laisser pénétrer assez dans le corps pour produire la moindre réaction appréciable. Nous ne pouvons pas douter qu'il en soit de même chez l'homme, car les lois de l'absorption sont des lois générales. Du reste, nous savons que la muqueuse se refuse, à l'état normal, à absorber une toxine pour ainsi dire identique à celle du choléra asiatique, la toxine du *Bacillus coli communis*, qui est l'hôte constant du tube digestif et qui y élabore sans cesse son poison.

La manière dont se comporte la muqueuse digestive est loin d'éclaircir la pathogénie du choléra, elle est plutôt faite pour jeter plus d'obscurité encore sur ce processus. Non seulement l'homme peut avaler impunément, la plupart du temps du moins, comme l'ont démontré des expériences récentes et nombreuses, les bacilles-virgules vivants, mais on doit admettre que son intestin tolère des quantités considérables de toxine, sans que son fonctionnement ou celui de l'économie entière en soit troublé.

Au début de la notion microbienne du choléra, on pouvait se représenter l'explosion de la maladie d'une façon très simple. Le sujet avalait le microbe; celui-ci, arrivé dans l'intestin, y pullulait, y élaborait sa toxine et celle-ci passait dans le sang, absorbée comme le sont la peptone ou le glucose. Depuis quelque temps déjà, on a dû abandonner une partie de cette conception facile, et il a été établi, par des faits nombreux, que le vibrion asiatique peut traverser le tube digestif sans donner lieu à l'explosion de la maladie. Mais voici plus : l'autre partie de la conception, celle de la simple absorption, ne résiste pas davantage à l'expérimentation, et il ne suffit nullement que l'intestin renferme le poison, pour que l'intoxication s'en suive; il faut admettre, au contraire, que ce dernier peut en supporter impunément des quantités extraordinaires. Mais comment se figurer alors la genèse du choléra?

Nous nous permettrons de formuler une *hypothèse*, qui d'un côté a l'avantage de se concilier avec les résultats de l'expérimentation et de l'autre, n'est pas en contradiction avec les faits cliniques. Les expériences sur le chien ne permettent pas d'admettre la résorption du poison par la muqueuse intacte. En outre, rien ne nous autorise à admettre que le vibrion sécrète une substance qui altérerait la muqueuse et lui enlèverait ses qualités protectrices. Car pourquoi ne trouverions-nous pas cette substance dans le bouillon? Il

est donc nécessaire que le microbe parvienne à se développer préalablement sur une surface ou dans un organe qui laisse passer le poison. Où pouvons-nous trouver cette surface ou cet organe? Ne serait-ce pas parmi les glandes annexées au tube digestif : le foie, le pancréas, qui communiquent directement avec la cavité intestinale. Dans cette hypothèse, le vibrion serait à même de développer son action pathogène du moment qu'il pourrait pénétrer dans les canaux excréteurs de ces glandes, s'y développer, et y élaborer son poison. Celui-ci serait résorbé, passerait dans le sang; de là, il agirait *a tergo* sur les cellules épithéliales, les ferait tomber, et, dès lors, les voies d'absorption les plus puissantes de toute l'économie étant ouvertes, le poison ferait irruption par toute la muqueuse digestive et produirait l'intoxication si profonde, si rapide, du choléra asiatique. Il est entendu que l'absorption porterait également sur la toxine du coli-bacille et que celle-ci continuerait, au besoin, l'action du bacille-virgule. Ainsi s'expliquerait la persistance de l'état cholériforme, alors que les bacilles-virgules sont devenus très rares, et que la flore du tube digestif est presque uniquement réduite au *Bacillus coli communis*.

En un mot, l'intoxication par le vibrion asiatique, comme celle du choléra nostras, comprendrait deux actes, dont le premier se jouerait dans un organe laissant filtrer le poison, et le second, dans l'intestin.

Nous le répétons, notre but est de présenter une hypothèse qui tient compte des données de l'expérimentation. Il faudra évidemment de nouvelles recherches pour établir si elle est vraie ou fausse, ou si elle doit être modifiée. Mais elle aura peut-être l'avantage de contribuer à éclaircir le mystère de l'intoxication cholérique.

Tout récemment, EMMERICH et TSUBOI (1) ont attribué l'action toxique du vibrion du choléra asiatique aux nitrites que ce microbe produit par réduction des nitrates. Ces auteurs font remarquer d'abord que cet organisme, mieux que tout autre, possède la propriété d'opérer cette transformation (PETRI); en outre, l'alimentation introduit dans le tube digestif, surtout par certains légumes, des quantités de nitrates relativement considérables et amplement suffisantes pour déterminer, après leur réduction, un empoison-

(1) R. EMMERICH et J. TSUBOI: *Die Cholera asiatica, eine durch Cholerabacillen verursachte Nitritvergiftung*; d'après le Centr. f. Bakt., B. XIV, No 45, 1895.

nement mortel. Opérant sur des lapins, des cobayes et des chiens, ils ont provoqué avec le nitrite de sodium un état cholériforme identique à celui déterminé par le vibron lui-même : vomissements, diarrhée, cyanose, chute de la température, convulsions. L'intestin du chien fut trouvé quelquefois injecté par places et ecchymosé; dans ce cas, le contenu intestinal était légèrement sanguinolent.

Les résultats que nous avons obtenus semblaient peu se concilier avec l'opinion d'EMMERICH et de TSUBOI.

Nous ferons remarquer d'abord que nous obtenons des effets très prononcés, la mort même, avec des doses qui paraissent complètement incompatibles avec un empoisonnement par des nitrites. Ainsi les chiens VI (poids 1,2 k.) et VII (poids 1,1 k.) succombent à l'administration intra-pleurale de 5 cc. et de 10 cc. de bouillon. Soyons larges et admettons que notre bouillon renferme 2 0/00 de nitrite; cela fait pour le premier chien 1 centigramme et pour le second 2 centigrammes du sel. Peut-on admettre que cette quantité ait été suffisante pour produire l'état cholériforme et la mort, alors que les savants de Munich fixent eux-mêmes la plus petite dose cholérigène à 0,3 gr.? La supposition devient encore plus improbable, quand on examine l'effet de l'injection du bouillon dans la rate (chiens XIX, XX et XXII). Nous obtenons dans ce cas le tableau cholériforme et la mort avec 2 cc., 1 cc. et 0,25 cc. En admettant toujours la proportion de 2 0/00 de nitrite dans notre bouillon, nous aurions produit le choléra avec 4 milligr., 2 mill. et un demi-milligramme de nitrite. Tout cela nous paraît invraisemblable et trahit l'action d'une toxalbumine plutôt que celle d'un composé salin inorganique.

Autre considération : le chien, si sensible au poison cholérigène quand il est déposé dans ses tissus, en supporte des quantités considérables, sans le moindre trouble de la santé, quand le poison est introduit dans le tube digestif. Les nitrites étant des cristaalloïdes, c'est-à-dire des corps doués de la propriété de diffuser à travers les membranes, comment expliquerait-on la tolérance pour les fortes doses déposées dans l'estomac et dans l'intestin? Cette tolérance singulière n'indique-t-elle pas plutôt une substance non dialysable, telle qu'une toxalbumine?

Enfin, nous avons fait nous-mêmes quelques empoisonnements avec le nitrite de potassium, sans obtenir cette ressemblance complète avec le choléra, signalée par EMMERICH et TSUBOI.

A trois chiens de 4 k. environ, nous injectons dans l'estomac :

10 cc. d'une solution à 1 o/o.

30 cc. -

40 cc. -

L'injection a lieu vers 2 h. de l'après midi; pendant tout le reste du jour, les animaux sont blottis dans un coin, ils sont abattus et ne prennent pas de nourriture. Ils n'ont ni vomissements, ni diarrhée. Ainsi, ils se comportent tout autrement que les chiens qui reçoivent dans l'estomac le bouillon du choléra asiatique. Revenus de leur sommeil chloroformique, ces derniers se comportent absolument comme des chiens normaux : ils mangent, ils jouent, ils courent à droite et à gauche.

Les chiens précédents ne présentent rien de comparable au choléra. Chez les suivants, de même poids, nous notons un symptôme cholériforme : le vomissement ou du moins les nausées.

CHIEN XXVI.	11,40 heures.	Injection dans l'estomac de 50 cc. d'une solution de nitrite à 2 o/o.
	11,50	» Un vomissement.
	12,7	» Un second vomissement. Abattement.
	12,25	» Meurt sans crampes.
CHIEN XXVII.	11,48	» Injection dans le <i>péritoine</i> de 5 cc. de la même solution.
	12	» Nausées avec salivation. Abattement.
	12,5	» Meurt sans crampes.
CHIEN XXVIII.	11,56	» Injection dans le <i>péritoine</i> de 50 cc. de la même solution.
	11,58	» Une selle moulée.
	12,5	» Trois vomissements alimentaires consécutifs.
	12,12	» Nausées violentes, ataxie des mouvements.
	12,16	» Meurt sans crampes.

Ces chiens nous présentent des nausées et des vomissements, mais la diarrhée fait défaut chez tous. En outre, à l'autopsie, nous n'avons dans aucun cas trouvé les lésions qui ne font jamais défaut dans l'intoxication cholérique mortelle chez le chien et qui se produisent si rapidement : la congestion intense, les hémorragies, la desquamation épithéliale. Chez tous les animaux, la muqueuse était pâle. Nous nous trouvons donc loin de l'identité proclamée par EMMERICH et TSUBOI.

Enfin, disons encore que dans une anse liée nous avons injecté 5 cc.

de la solution à 2 o/o, sans obtenir les altérations de la muqueuse, et à un autre animal 1 cc. de la solution à 1 o/o dans l'épaisseur de la rate, sans produire aucun signe d'empoisonnement, ce qui diffère des effets foudroyants obtenus à cette dose avec la culture de vibrion.

L'hypothèse d'EMMERICH et de TSUBOI est donc loin de s'harmoniser avec les faits. Du reste alors même que ces auteurs auraient prouvé l'identité des symptômes, nous estimons qu'ils n'auraient pas encore établi que la nocivité du vibrion cholérique réside dans les nitrites, car un appareil peut réagir de même façon vis-à-vis de substances très différentes. Contentons-nous de rappeler le choléra dû au tartre stibié et à l'arsenic. Personne ne s'avisera de chercher le principe actif du vibrion cholérique dans l'antimoine ou l'arsenic. Gardons-nous donc de conclure que les nitrites sont l'agent toxique du bacille-virgule, parce que leur action se rapproche ou même serait identique à celle de cet organisme.



CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DU

Développement Organique et Histologique

DU THYMUS,

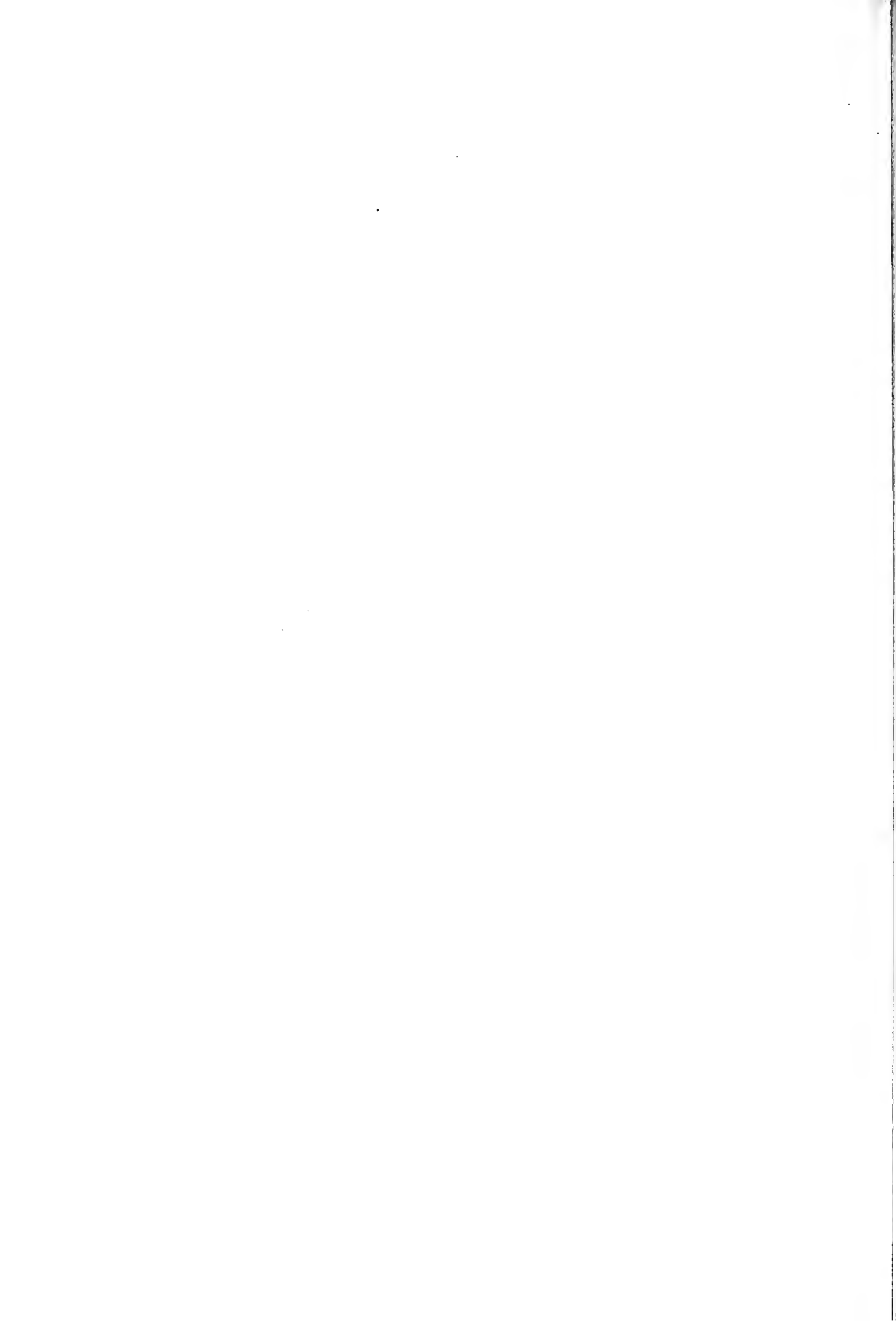
DE LA GLANDE THYROÏDE ET DE LA GLANDE CAROTIDIENNE

PAR

A. PRENANT

AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

(Mémoire déposé le 10 juin 1893.)



CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE DU
DÉVELOPPEMENT ORGANIQUE ET HISTOLOGIQUE
DU THYMUS, DE LA GLANDE THYROÏDE ET DE LA GLANDE CAROTIDIENNE

BUT, MATÉRIAUX D'ÉTUDE ET MÉTHODES.

Le présent travail fait suite à une étude publiée récemment sur l'origine du thymus et de la thyroïde latérale(1). Nous y avons examiné les premiers développements de ces deux organes. Mais nous avons négligé l'examen de leur évolution ultérieure. D'autre part, nous étions entièrement demeuré sur le terrain anatomique, et faute de matériaux traités par des réactifs convenables pour une étude histologique, nous avons dû complètement laisser de côté l'histogénèse des ébauches du thymus et de la thyroïde latérale pour nous limiter à leur organogénèse. Ce n'était pas sans regretter ne pouvoir nous livrer à ces recherches histogénétiques, dont nous faisons ressortir l'intérêt en disant : " L'histologie de ces ébauches a toujours été négligée, et ce ne sont ni les dessins de KASTSCHENKO, ni ceux de DE MEURON, ni ceux même de PERSOL qui peuvent être considérés comme suffisants au point de vue histologique. La question demeure donc entière. Outre qu'elle serait intéressante à traiter au point de vue spécial de la genèse du thymus et de la glande thyroïde latérale, pour lesquels les données histogénétiques nous paraissent inséparables des faits organogénétiques, elle éclairerait singulièrement l'histoire de l'origine des tissus conjonctifs, du tissu lymphoïde en particulier, et permettrait peut-être d'apporter des faits probants à l'appui de la doctrine des tissus apothéliaux, telle que C. RABL l'a récemment formulée. - (*Loc. cit.*, p. 220, note 1.)

(1) A. PRENANT : *Annotations sur le développement du tube digestif des mammifères*, Journal de l'anatomie et de la physiologie, 1892

D'après ce qui précède, le présent travail a été entrepris dans le but de satisfaire à un triple desideratum. Il nous fallait en premier lieu poursuivre le développement organique des formations dont nous ne connaissions que la première apparition. En outre, nous désirions apporter une nouvelle contribution à l'histogénèse des organes dérivés des fentes branchiales, qui n'avait été jusqu'alors l'objet d'aucun travail spécial. Enfin, nous nous proposons de faire servir cette étude histogénétique à la connaissance de la genèse des tissus lymphoïdes, actuellement si controversée.

La question d'organogénèse et celle d'histogénèse spéciale se sont élargies, relativement à ce qu'elles auraient dû renfermer, si elles avaient été simplement la suite des recherches consignées dans notre précédent travail, parce qu'il nous a fallu y comprendre deux organes autres que le thymus et la thyroïde latérale, savoir la glande carotidienne et la thyroïde médiane, à cause des relations étroites qui unissent primitivement ces diverses formations, ou qui s'établissent de bonne heure entre elles.

Par contre, si notre sujet s'élargissait de la sorte, nous avons restreint les matériaux de notre travail, en ce sens que nous avons préféré étudier un seul type aussi complètement que possible, plutôt que de disséminer nos observations sur plusieurs. Nos recherches ont, en effet, porté uniquement sur des embryons de mouton, dont nous avons examiné les stades suivants(1): E. de 8 mm. — 9 mm. — 10 mm. — deux E. de 14 mm. — E. de 15 mm. — 16 mm. — 17 mm. — 18 mm. — 20 mm. — 22 mm. — 24 mm. — quatre E. de 25 mm. — E. de 26 mm. — trois E. de 28 mm. — E. de 30 mm. — 37 mm. — 40 mm. — 55 mm. — 60 mm. — 70 mm. — 77 mm. — 80 mm. — 85 mm. — 90 mm. — 100 mm. — 105 mm. — 110 mm. — 114 mm. — Fœtus de 30 cm. — Fœtus de 40 cm. — Fœtus presque à terme. — Fœtus à terme.

Parmi ces embryons, les uns ont été traités par le liquide de KLEINENBERG, quelques-uns par le bichromate de potasse à 1 0/0 ou par l'alcool; le plus grand nombre ont été fixés par le liquide de FLEMMING, soit *in toto*

1) Comme le lapin est un des animaux sur lesquels la thyroïdectomie est le plus souvent pratiquée, et comme les données embryologiques peuvent être d'un utile secours dans l'appréciation des résultats de la physiologie expérimentale, nous nous proposons de rechercher plus tard si, chez le lapin, le développement du thymus, de la glande carotidienne et de la thyroïde s'opère de la même façon que chez la brebis.

Nous compléterons encore ces recherches, si nous en avons le loisir, par l'examen d'embryons de porc, afin de vérifier les observations des auteurs qui nous ont précédé sur cet objet déjà plusieurs fois étudié.

pour les plus petits embryons, soit le tronc ayant été séparé de la tête pour les embryons plus volumineux, soit enfin après dissection préalable des organes à étudier pour les stades âgés. Les pièces traitées par le liquide chromo-acéto-osmique ont seules été utilisées pour l'étude des dispositions histologiques fines, tandis que les autres ont été réservées à l'examen des relations anatomiques.

Les objets destinés à être examinés au point de vue anatomique, à de faibles grossissements, ont été généralement colorés en totalité par le carmin boracique de GRENACHER. Ceux qui avaient été fixés par la liqueur de FLEMMING et sur lesquels devaient porter les examens histologiques à l'aide d'objectifs forts, ont été colorés sur plaque par différentes méthodes, telle que safranine-orange, safranine-bleu d'aniline, induline-safranine, safranine-vert d'aniline, et le plus souvent par le procédé de triple coloration dû à FLEMMING⁽¹⁾.

(1) FLEMMING : *Neue Beiträge zur Kenntniss der Zelle*, II. Th ; Arch für mikr. Anat., Bd. XXXVII, H. 4, et *Ueber Theilung und Kernformen bei Leukocyten und über deren Attractionssphären*; Ibid.



I.

Thymus et Glande Carotidienne.

Il est aujourd'hui reconnu que le thymus a pour ébauche la troisième poche entodermique branchiale; que la plus grande partie, le corps, de cet organe est fournie par un prolongement coudé de la poche branchiale; que celle-ci même est employée à former la portion proximale ou tête du thymus; qu'enfin la troisième poche branchiale donne encore naissance à une formation spéciale, que plusieurs auteurs ont considérée comme l'ébauche de la glande carotidienne.

Nous examinerons d'abord l'organogénèse et l'histogénèse, encore très controversées, de la glande carotidienne. Viendront ensuite quelques particularités relatives au développement de la tête du thymus. Les premiers développements du corps du thymus, n'ayant plus guère de secrets à livrer, ne nous occuperont que peu. Nous terminerons par l'histogénèse du thymus.

1° *Glande carotidienne (organogénie et histogénie).*

L'organe, formé par la troisième poche branchiale, qui, aux yeux de quelques auteurs et d'après notre opinion, représente l'ébauche de la glande carotidienne, a été découvert par STIEDA (79) chez les embryons de porc et de brebis. C'est un -corps triangulaire- placé sur le trajet de la fente branchiale, à l'endroit où de celle-ci part le diverticule qui donne naissance au thymus. Ce corps, STIEDA l'a parfaitement vu s'isoler de l'épithélium branchial, se placer entre le thymus et la cavité du pharynx, et constituer un organe arrondi, qu'il suppose être la glande carotidienne (*loc. cit.*, p. 19), bien qu'il ne l'ait pas suivi dans son évolution ultérieure. La FIG. 5 de la PL. II montre le rudiment de la glande carotidienne chez un embryon de brebis de 11 mm. STIEDA représente ensuite l'ébauche carotidienne, PL. II, FIG. 8 et 10, chez des embryons de brebis de 15 et de 18 mm., comme attachée à la glande thyroïdienne latérale, laquelle, on le sait depuis STIEDA même, dérive de la quatrième poche branchiale. Les figures 8 et 10 ne peuvent donc se rapporter

au même objet que celui que montre la FIG. 5, puisque ce dernier est en rapport avec le thymus (dérivé de la troisième poche branchiale), tandis que l'organe des FIG. 8 et 10 est en relation avec l'ébauche thyroïdienne latérale. STIEDA, en réalité, a fait une confusion entre deux fentes branchiales successives, ce qui lui a fait confondre en outre deux organes d'aspect identique, produits par l'une et l'autre fente d'une façon indépendante. Ce qu'il nomme et figure tour à tour comme glande carotidienne, c'est d'abord l'organe dérivé de la troisième poche branchiale, PL. II, FIG. 5; puis, un épaissement de la quatrième poche entodermique, annexe à l'ébauche thyroïdienne latérale ou accessoire qui dérive de cette poche, PL. II, FIG. 8 et 10(1).

Ce même organe de la troisième poche branchiale a été retrouvé par C. RABL (50) et par FISCHER (20), qui l'ont désigné comme le rudiment de la glande carotidienne. — Il a été observé aussi par KASTSCHENKO (37) et par PIERSOL (57), qui l'ont fait entrer dans la constitution de la tête du thymus. KASTSCHENKO l'a nommé - nodule thymique - et l'a décrit, précisant sa structure et sa situation, comme une masse d'épithélium, envahie par du tissu conjonctif, située au sommet de la courbe décrite par la troisième fente épithéliale, au voisinage de cette partie du sinus précervical que représente la troisième poche épidermique. — DE MEURON (51) et nous-même (59) dans notre précédent travail avons aussi constaté son existence. C'est à DE MEURON que revient réellement le mérite d'avoir découvert que cet organe est un épaissement de l'épithélium de la poche branchiale; mais, pour n'avoir pas suivi l'évolution ultérieure de cette formation sur des embryons d'un âge suffisamment avancé, il n'a pu que supposer en elle la glande carotidienne. Nous avons dû précédemment être plus réservé encore, nous borner à constater l'origine de ce corps telle que DE MEURON l'avait reconnue, sa constitution toute spéciale, ses rapports étroits avec la tête du thymus. Nous croyons pouvoir affirmer aujourd'hui qu'il n'est autre que la future glande carotidienne.

A côté des auteurs qui soutiennent la participation de l'épithélium branchial soit de la troisième poche entodermique (STIEDA, RABL, DE MEURON, nous), soit de la quatrième poche (STIEDA), à la constitution de la glande carotidienne, se placent des auteurs qui nient cette participation, ou bien qui admettent pour la glande une genèse toute différente.

(1) Cette confusion de STIEDA a passé en général inaperçue. Ainsi DE MEURON, dans son travail d'ensemble sur les dérivés branchiaux, attribue à STIEDA cette opinion exclusive, que la glande carotide dérive de la portion épaissie de l'épithélium de la quatrième fente branchiale (Rec. zool. suisse, t. III, p. 583 et 622.)

BORN, par exemple, dit à ce sujet (*loc. cit.*, p. 309) : „Je n'ai pu trouver d'ébauche épithéliale de la glande carotidienne, telle que la figure et la décrit STIEDA. A l'extrémité dorsale des ébauches paires de la thyroïde, j'ai trouvé... souvent un prolongement épithélial recourbé (comp. FIG. 13 et 14), qui correspond exactement à l'ébauche carotidienne de STIEDA, mais je n'ai pu en observer le développement ultérieur; je suis plutôt disposé, au cas où ce prolongement s'isolerait parfois et s'accroîtrait, à en faire provenir les glandes thyroïdiennes accessoires dorsales. - Ajoutons immédiatement qu'on cherche en vain dans les figures 13 et 14 de l'auteur quelque chose qui corresponde exactement à ce que STIEDA a représenté dans sa figure 10. Dans la description très brève qu'il donne de l'épaississement de la quatrième poche entodermique, dont STIEDA a fait l'ébauche de la glande carotidienne, BORN dit seulement ceci : - Le collet étroit (de la quatrième poche) pousse en arrière un bourgeon cellulaire plein, coudé (embryon de porc de 16 mm.) - (BORN, p. 302).

Ce ne sont là, relativement à l'origine de la glande carotidienne, que des faits négatifs. KASTSCHENKO (37), MARCHAND (47), pour nous limiter à ceux qui ont appuyé leur manière de comprendre la glande carotidienne sur des données embryologiques, apportent au contraire des faits positifs à l'appui d'une opinion toute différente de celles qui précèdent; pour eux, en effet, la genèse de la glande se fait indépendamment de l'épithélium branchial, et de la façon suivante.

KASTSCHENKO (37) a décrit un nodule thymique, qui n'est autre que la prétendue glande carotidienne de STIEDA. STIEDA, dit-il, a décrit exactement la structure de ce nodule épithélial, qui, d'après lui, doit plus tard se séparer de l'ébauche thymique et rester en contact avec la carotide. Selon KASTSCHENKO, cela n'est pas exact. Il n'a jamais vu, en effet, ce nodule séparé de l'ébauche du thymus. Avec le temps, le nodule est enfoncé dans la tête du thymus, et la distance entre ce corps et la carotide devient par conséquent toujours plus grande. La véritable glande carotidienne, KASTSCHENKO l'a rencontrée pour la première fois chez des embryons de porc de 14-15 mm., sous forme d'un nodule elliptique, qui entoure la carotide interne au niveau de la bifurcation de la carotide primitive. Ce nodule se développe comme un épaississement annulaire de l'adventice artérielle, FIG. 9, *gdc* (1). Il est

(1) Disons tout de suite que nous n'avons jamais rien vu qui ressemble au dessin donné par KASTSCHENKO (fig. 9). Ce dessin d'ailleurs nous paraît consacrer une impossibilité matérielle absolue; la glande carotidienne y est, en effet, figurée occupant toute l'épaisseur de la paroi artérielle; il ne reste plus rien pour cette dernière, qui cependant, en quelque point de la carotide qu'on l'observe, est fort puissante.

intimement uni au ganglion plexiforme du nerf vague et au premier ganglion sympathique, et il se montre traversé par un grand nombre de filets nerveux. Chez des embryons de porc de 30 mm., le nodule s'est déplacé latéralement, et plus tard d'avantage encore, vers l'angle de bifurcation de la carotide primitive, FIG. 4 et 9. Il n'entoure plus alors la carotide interne régulièrement, mais il est épaissi du côté de la bifurcation carotidienne et aminci de l'autre côté. En dehors du nodule en question, l'auteur avoue n'avoir trouvé dans la région de la division de la carotide commune aucune formation qui pût rappeler la glande carotidienne. C'est donc en quelque sorte faute d'autre chose qu'il considère comme telle le nodule annulaire périartériel.

MARCHAND (47) a étudié des stades âgés d'embryons humains (le plus jeune ayant quatre mois). Aussi avoue-t-il : - Ich selbst war nicht in der Lage, mir durch systematische Untersuchung früher Entwicklungsstadien ein eigenes Urtheil über die Frage der ersten Entstehung der Glandula carotica zu bilden. - Ses études histologiques de la glande carotidienne déjà complètement formée lui permettent cependant de soutenir une opinion analogue à celle de KASTSCHENKO quant à l'origine et par conséquent à la nature de cet organe.

Le travail de SCHAPER (73bis) conclut à l'existence dans la glande carotidienne de nodules épithéliaux abondamment vascularisés, sans que cependant les vaisseaux y forment des réseaux admirables; les vaisseaux ont une paroi propre, mais les cellules épithéliales ont avec la paroi vasculaire des rapports très intimes. Relevons dans ce travail un fait que nous avons eu aussi l'occasion de constater : c'est la difficulté qu'il y a à conserver les éléments de la glande carotidienne en bon état de fixation; difficulté que l'auteur attribue à la richesse très grande de ces éléments en hyaloplasme.

Nous terminerons cet aperçu bibliographique en mentionnant un récent travail de H. STILLING (80). L'auteur examine la structure du « prétendu ganglion intercarotidien » des anciens auteurs chez plusieurs mammifères et chez l'homme, et de son examen il conclut que cette formation, « quelle que soit son origine embryonnaire, n'est ni un simple lacis vasculaire, ni un organe rudimentaire, mais une glande vasculaire sanguine, d'une structure analogue à celle des capsules surrénales » (p. 3). Sans doute cette conclusion ressort bien des faits constatés par STILLING. Mais elle découlerait cependant bien plus nettement et plus directement encore d'une étude embryologique, l'origine d'un organe pouvant nous renseigner mieux que quoi que ce soit, mieux que les rapports anatomiques et la structure de cet

organe, sur sa véritable nature. Certaines dispositions histologiques, en effet, comme par exemple celle qui consiste dans la relation étroite des cordons cellulaires de la glande et des vaisseaux sanguins, peuvent être interprétées de deux manières, avec un succès presque égal.

Chez l'embryon de la brebis, l'organe carotidien apparaît, ainsi que l'a montré DE MEURON (pl. XXVI, fig. 22) et comme nous l'avons vérifié nous-même après lui (59, pl. XIII, fig. 2, *b*, sous forme d'un épaissement de la paroi de la troisième poche branchiale avec laquelle il fait corps. DE MEURON précise le lieu d'apparition, en disant que c'est la paroi dorsale de la fente qui s'épaissit pour le constituer. Cet épaissement nous paraît, au contraire, situé sur la paroi ventrale de la fente branchiale, c'est-à-dire sur celle qui est tournée du même côté que la cavité laryngienne, sur celle en d'autres termes de laquelle émane la paroi du diverticule, auquel la plus grande partie du thymus doit sur origine. Il dépend particulièrement, et c'est là la situation que KASTSCHENKO avait reconnue à son nodule thymique, de cette portion de la troisième poche entodermique, qui est adossée à la poche ectodermique correspondante.

L'organe se compose, chez des embryons de brebis de 14 et de 15 mm., de travées cellulaires dont le trajet est assez capricieux, mais qui offrent cependant une direction principale longitudinale, c'est-à-dire perpendiculaire au grand axe de la poche branchiale, PL. I, FIG. 1 et 2. En beaucoup d'endroits, la structure trabéculaire de l'organe est beaucoup plus accentuée même que dans la coupe qui a servi à dessiner les FIG. 1 et 2. Les travées principales sont anastomosées ensemble par des travées transversales semblables à elles-mêmes; ou bien elles confluent çà et là pour former des masses plus larges qui se présentent sous forme de nodosités. Les travées sont séparées les unes des autres par des espaces conjonctivo-vasculaires, plus ou moins larges et plus ou moins nets, suivant l'abondance variable des globules sanguins qui s'y trouvent contenus; outre les globules sanguins, ces espaces renferment encore des éléments cellulaires à noyau allongé, qui représentent tantôt des cellules connectives, tantôt des éléments endothéliaux de la paroi des vaisseaux. Les cellules qui composent les travées sont de forme polyédrique, bien que souvent mal limitées; elles sont intimement juxtaposées dans une travée ou une nodosité, si bien qu'elles présentent un arrangement épithélial. Outre ce caractère, elles se distinguent par la constitution très dense de leur protoplasme, de telle sorte que l'ensemble de l'organe se reconnaît à un faible grossissement par son aspect plus sombre

et plus coloré. Par comparaison avec un objet dont l'aspect nous est familier, nous dirions volontiers que les travées cellulaires de notre organe ressemblent par la nature de leur protoplasme, par leur disposition épithéliale, par leurs rapports intimes avec des vaisseaux, aux cordons ou aux îlots sexuels de la glande génitale.

Les rapports des travées avec les tissus ambiants sont les suivants. A la base de l'organe, implantée sur la paroi branchiale, l'extrémité des travées se continue avec cette paroi et se confond avec elle; chaque travée paraît ainsi un bourgeon de l'épithélium de la fente; par suite, l'ensemble de l'organe apparaît comme un épaississement de cet épithélium. Les travées cellulaires qui composent l'ébauche de l'organe ont donc, à en juger par ces relations intimes avec la paroi branchiale, une origine épithéliale. Contre l'idée de cette origine, on ne pourrait opposer que ce fait : l'organe n'est pas délimité nettement partout d'avec le tissu mésenchymateux ambiant, de façon que l'on peut penser que les cellules mésenchymateuses, en prenant des caractères spéciaux, s'unissent en travées qui envahissent l'épithélium. On peut, il est vrai, tout aussi bien penser que les végétations épithéliales ou travées cellulaires poussent d'une manière diffuse et peu à peu dans le mésenchyme. d'où résulte que l'organe ne peut être limité du côté de ce dernier. La plupart de ces détails ont été reconnus déjà par STIEDA, à la description duquel les auteurs qui ont suivi n'ont rien ajouté d'important. Dans son remarquable mémoire, STIEDA, parlant du corps triangulaire (rudiment de la glande carotidienne) chez des embryons de porc de 12-16 mm., s'exprime ainsi : - Les cellules qui constituent ce corps sont rondes ou anguleuses, avec protoplasme délicat et noyau arrondi très bien limité. Les cellules sont très serrées les unes contre les autres, prennent vivement le carmin, ce qui fait que le corps triangulaire paraît plus fortement coloré que le cordon épithélial. Il n'est pas douteux que ce corps soit, comme le cordon, de nature épithéliale; les cellules du cordon et celles du corps triangulaire se continuent partout les unes avec les autres au moyen de formes intermédiaires; il n'y a pas entre les unes et les autres de limites nettes. - (*Loc. cit.*, p. 14.)

La structure réticulée de l'organe va en s'accroissant avec l'âge; elle est par exemple beaucoup plus marquée chez des embryons de 25 et de 28 mm., FIG. 3. Du reste, elle dépend toujours dans une certaine mesure de l'état des vaisseaux et de leur plus ou moins grande distension par le sang. Ainsi chez un embryon, plus âgé, il est vrai, que les précédents (40 mm. de long),

où les capillaires de l'organe carotidien étaient bourrés de globules, la texture trabéculaire et réticulée était des plus manifestes, FIG. 4. Enfin, cette texture me paraît être facteur de la nature du réactif employé pour la fixation et le durcissement de la pièce. J'ai, en effet, toujours trouvé, chez des embryons plus développés à la vérité que ceux dont il vient d'être question (de 70, 77 et 114 mm.), que le traitement soit par le bichromate de potasse, soit par le liquide de KLEINENBERG, exagérât considérablement la constitution réticulée, FIG. 5, tandis qu'à la suite de l'action du liquide de FLEMMING cette constitution était moins évidente.

La texture trabéculaire et réticulée paraît quelquefois remplacée par une texture lobulaire ou même acineuse. En effet, on peut voir les cellules disposées par îlots ou lobules, séparés les uns des autres par des tractus conjonctifs et des vaisseaux. Je crois que cet aspect lobulaire est dû à ce que les travées s'appliquent les unes contre les autres ou se replient sur elles-mêmes, lorsque les vaisseaux sont vides de sang ou à peu près, et sans doute dans d'autres conditions encore et pour d'autres raisons que celle de la vacuité vasculaire. Il en résulte d'abord que l'organe prend une texture beaucoup plus compacte, et en outre que cette texture, qui continue en réalité d'être trabéculaire, peut en imposer pour une constitution acineuse comparable à celle d'une glande en grappe. A un fort grossissement, l'analogie est çà et là plus frappante encore, FIG. 3, *a*, parce que çà et là l'on peut voir au centre d'un îlot cellulaire une petite cavité arrondie ou ovale qui simule le lumen d'un acinus. Je crois cependant que, même dans ce cas, la structure acineuse n'est qu'une apparence, et que les prétendues lumières ne sont autres que des espaces conjonctivo-vasculaires; ceux-ci sont très étroits, parce qu'ils sont englobés, enserrés par le boyau cellulaire qui s'est replié sur lui-même. Ce boyau enferme alors un capillaire sanguin, à peu près comme la partie initiale du tube urinaire est reployée autour d'un peloton vasculaire pour former la capsule de BOWMANN.

La structure de l'organe carotidien, chez des embryons âgés (de 30 et de 40 cm.); chez des fœtus à terme ou presque à terme et chez l'animal adulte, est franchement réticulée.

STIEDA a très bien observé la constitution réticulée de l'organe chez de jeunes embryons. Chez un embryon de brebis de 35 mm., la glande carotidienne est formée, dit-il, par un réseau de cordons cellulaires, qui est traversé par des vaisseaux sanguins; les vaisseaux sanguins et les cordons cellulaires sont à peu près d'égale importance (*loc. cit.*, p. 23). Dans les

conclusions relatives à la glande carotidienne, il dit que la masse cellulaire, dont cet organe est primitivement formée, est pénétrée dans le cours du développement par des vaisseaux sanguins, si bien qu'à une certaine phase la glande carotidienne consiste en un système de cordons cellulaires pleins, ramifiés et de vaisseaux sanguins interposés, PL. I, FIG. 16. » Je ne sais, ajoute-t-il, si plus tard les cordons s'étranglent et s'il se fait ainsi une formation de vésicules ou d'acinis. D'après les faits trouvés par LUSCHKA et d'autres, cela est presque à supposer; des recherches ultérieures seront ici très désirables * (*loc. cit.*, p. 34).

Le réseau formé par les trabécules épithéliales m'est apparu avec des caractères un peu différents suivant les cas. Ou bien il était très régulier, constitué de cordons d'épaisseur à peu près partout égale, contenant chacun deux rangées de cellules polyédriques. Chez d'autres embryons, il présentait un aspect plus irrégulier; certains cordons étaient réduits à une file de cellules, tandis que çà et là les travées cellulaires s'épaississaient pour former de véritables plaques, quelquefois larges de 10-12 cellules. Entre les deux rangées d'éléments d'un cordon cellulaire ou dans l'épaisseur d'une plaque, il ne m'a jamais été possible de déceler une fente ou une cavité arrondie qui pût représenter une lumière glandulaire.

Les mailles du réseau épithélial sont occupées par autant de vaisseaux sanguins, tapissés par une membrane endothéliale. Ces vaisseaux, qui sont par conséquent extrêmement nombreux, communiquent à l'organe, lorsqu'ils sont gorgés de sang, une couleur rouge très foncée. Il m'a semblé que les vaisseaux étaient plus spacieux à la périphérie de l'organe que dans les régions centrales.

Les relations intimes qui existent entre les trabécules épithéliales et les vaisseaux et aussi l'absence de toute lumière dans l'intérieur des travées cellulaires sont deux conditions anatomiques qui font comprendre comment on a pu [ARNOLD (4), PFÖRTNER (56), MARCHAND (47)] considérer ces travées comme n'étant pas autre chose que des cellules périvasculaires ou périthéliales, de forme épithélioïde, mais non de nature épithéliale, disposées autour de la paroi des vaisseaux, dont elles sont un simple épaississement; la glande carotidienne serait alors réductible, comme l'ont soutenu SERTOLI (77) et EBERTH (18) pour la glande coccygienne, à un lacis vasculaire. Mais l'étude des premières phases du développement de la glande carotidienne, en montrant que celle-ci a son origine dans l'épithélium branchial, permet de rejeter la précédente manière de voir et de se rallier à l'opinion que

LUSCHKA (45), HEPPNER (34) et STILLING (80) ont défendue, d'après laquelle il s'agit bien ici d'un organe glandulaire épithélial (1).

Il me reste à signaler un fait qui ne manque pas d'importance; car il est peut-être cause qu'ARNOLD et MARCHAND ont réduit la structure de la glande carotidienne à celle d'un simple - glomérule artériel intercarotidien - (ARNOLD), ou d'un - nodule carotidien - essentiellement formé de vaisseaux (MARCHAND). Le fait histologique auquel il est fait ici allusion consiste dans la présence de formes dégénératives de l'épithélium carotidien chez des embryons âgés de brebis (embr. de 30-40 mm.). Cela donne à supposer, et cette supposition a été faite déjà par STIEDA (79, p. 34), que les éléments épithéliaux pourront complètement disparaître et que la constitution de la glande se réduira ainsi au schéma adopté par ARNOLD, PFÖRTNER et MARCHAND. On voit en effet que, par endroits, les noyaux des cellules épithéliales offrent une coloration beaucoup plus vive par la safranine, FIG. 6 et 14, *n*; leur diamètre est en général devenu moindre; leur forme s'est modifiée, d'elliptique qu'elle était, elle est à présent très irrégulière et souvent bizarre; leur structure a cessé d'être distincte. Finalement, le noyau est transformé en une masse très colorée, sans structure évidente et de forme très variable, FIG. 6 et 14. En même temps, le protoplasme des cellules, dont le noyau est ainsi modifié, est devenu en général beaucoup plus dense et par conséquent plus foncé.

Cette transformation frappe indistinctement les éléments cellulaires qui appartiennent à la périphérie de l'organe et ceux qui occupent les régions centrales. Elle peut atteindre d'une façon isolée quelques noyaux seulement d'un corps cellulaire; ou bien tous les noyaux d'un même cordon l'éprouvent à la fois. Dans ce dernier cas, les noyaux sont habituellement changés en bâtonnets placés transversalement par rapport à l'axe du cordon. La profonde modification que présentent les noyaux en question est peut-être préparée par certains changements qui réalisent des formes de passage entre les corps nucléaires déformés et les noyaux ordinaires. On trouve, en effet, fréquemment des noyaux, la figure 14 de la planche II en offre un, dans lesquels le suc nucléaire s'est vivement coloré par la safranine. Un degré de plus dans la transformation nucléaire est représenté peut-être par des noyaux qui sont remplis à moitié ou aux trois quarts par une sorte de poussière

(1) Voir HEPPNER pour la critique des méthodes employées par ARNOLD et par SERTOLI et pour l'interprétation de leurs résultats.

chromatique, qui leur communique une coloration intense, tandis que le reste du noyau est demeuré beaucoup plus pâle. Le noyau se rétractant ou se contractant ensuite devient semblable au corps *n* des figures 6 et 14.

Il nous semble bien qu'il s'agit là d'un processus de dégénérescence, dont les conséquences pourront être la raréfaction du tissu épithélial et la réduction de l'organe à sa partie vasculaire. Nous nous sommes assuré, en tout cas, qu'il ne peut être question de déformations dues à l'action du réactif. En effet, les parties centrales, tout aussi bien que les portions périphériques de l'organe présentent ces aspects; de plus, tout à côté des noyaux modifiés, s'en trouvent d'autres offrant les caractères habituels, bien qu'ils aient été soumis aux mêmes influences. Si, par conséquent, l'on ne veut pas admettre que le réactif ne nous traduit pas fidèlement, tel qu'il est en réalité, l'état de tous les noyaux, et qu'il déforme un certain nombre de ceux-ci, il faut reconnaître tout au moins une susceptibilité spéciale des noyaux modifiés vis-à-vis du liquide de FLEMMING, par laquelle se trahit encore une différence de constitution entre ces noyaux et les autres. D'autre part, nous sommes convaincu qu'il ne s'agit pas d'avantage de figures de division d'une nouvelle sorte; car on trouve dans la glande carotidienne des mitoses typiques. Elles y sont toutefois extrêmement rares.

Enfin, la glande carotidienne contient en assez grande abondance, chez des embryons âgés, des cellules pigmentaires. Les éléments chargés de granulations pigmentaires sont le plus souvent des cellules connectives ou vasculaires et ont alors des formes allongées ou ramifiées. Mais le pigment peut se déposer aussi dans les cellules du parenchyme épithélial.

Il reste maintenant à examiner les changements anatomiques que subit l'organe carotidien.

Chez des embryons de brebis de 14 et de 15 mm., l'organe est placé tout naturellement en dehors et au côté dorsal de la carotide, puisqu'il est appendu à la troisième poche branchiale, laquelle n'est pas tournée directement en dehors, mais regarde du côté externe et ventral (voir dans notre précédent travail, *loc. cit.*, les coupes *J* et *H* de la figure 3 de la planche III). Il est situé contre la carotide, mais en est cependant séparé par du tissu conjonctif distinct de celui de la paroi artérielle.

Plus tard, chez des embryons de 18, de 20 et de 22 mm., l'ébauche carotidienne tend à s'isoler, en dedans surtout, de la paroi branchiale. Elle constitue maintenant un organe arrondi sur la coupe transversale, mais légèrement échancré ou tout au moins aplati au niveau de la carotide, à

laquelle sa forme est ainsi adaptée; cet organe a une longueur de 0,25 mm.; il a une longueur de 1,27 mm. chez l'embryon de 20 mm., de 2,1 mm. chez celui de 22 mm (la longueur étant calculée d'après l'épaisseur connue des coupes et le nombre de coupes qui l'intéressent). La poche branchiale s'est pendant ce temps considérablement transformée; elle s'est réduite, de telle façon qu'à présent elle paraît une annexe de la glande carotidienne, tandis que primitivement celle-ci était son appendice, FIG. 8. Nous reviendrons tout à l'heure sur ces transformations. Par le fait de la réduction de la poche branchiale, il arrive que la glande carotidienne entre en rapport plus intime avec un organe, le ganglion du vague, dont elle était tout à l'heure très écartée; elle paraît à présent entre la carotide et ce ganglion; le côté ventral du ganglion offre, sur les coupes transversales, une concavité moulée sur la convexité du côté dorsal de la glande; celle-ci à son tour présente une concavité en rapport avec la convexité de la carotide. Examinées dans le sens de la longueur, les relations de la glande avec la carotide sont telles que la plus grande partie de l'organe répond à la carotide primitive, et que la glande n'atteint l'endroit de la bifurcation artérielle que par son pôle supérieur (1).

Lorsque plus tard la poche branchiale se développe en bourgeonnant de tous les côtés pour donner naissance à la tête du thymus, la glande carotidienne ne perd pas avec ce dernier organe les relations qu'elle avait auparavant avec la poche branchiale. Elle demeure adhérente à la tête du thymus, dont elle coiffe en partie l'extrémité supérieure, PL. II, FIG. 15.

Chez un embryon de 45 mm., la glande est située dans l'angle formé par la carotide primitive et le renflement ganglionnaire du pneumogastrique, contre le cordon du sympathique, entre ce dernier et la paroi du pharynx. Elle paraît ainsi s'être déplacée en dedans. Elle semble aussi s'être élevée quelque peu; car elle est visible au-dessus de la division de la carotide sur un plus grand nombre de coupes qu'auparavant.

La glande carotidienne d'un embryon de 77 mm. est portée plus haut encore, son plus grand diamètre étant un peu au-dessous de la division carotidienne; elle est en même temps devenue franchement interne par rapport à la carotide. Elle reçoit de nombreuses branches artérielles qui lui viennent des *vasa vasorum* de la carotide.

(1) Il s'agit ici non pas d'une bifurcation de la carotide primitive en carotides externe et interne, comparable à celle qu'offre l'anatomie humaine, mais d'une division de l'artère principale du cou en une artère faciale antérieure ou carotide externe qui prolonge le tronc carotidien et en une artère faciale postérieure ou occipitale. Auparavant déjà, la carotide a fourni une artère thyroïdienne et une artère laryngée.

Je trouve par contre, sans pouvoir me rendre compte de la raison de ce nouveau déplacement, la glande carotidienne reportée chez un embryon de 114 mm. en dehors de la carotide; c'est un organe long de 2,70 mm. et large de 0,50 mm. En même temps, la glande contracte avec la tête du thymus des rapports très intimes, qui vont amener des changements importants dans sa situation. On voit, en effet, la tête du thymus, qui jusqu'alors était demeurée en dedans de la carotide, s'avancer au-devant d'elle, c'est-à-dire sur sa face ventrale, passer à son côté externe et même se réfléchir sur sa face postérieure ou dorsale, en l'entourant aux trois quarts. La glande carotidienne, qui repose sur la face externe de l'artère, est en même temps englobée; de la sorte, elle n'est plus à nu, visible à l'extérieur, que du côté de la carotide et ne peut être aperçue que si l'on examine la tête du thymus par sa face postéro-interne, celle-là même qui loge l'artère, PL. II, FIG. 13, *gc.*

Dans la suite du développement, la glande carotidienne, chez des embryons de 30-40 cm. et chez le fœtus à terme, perd de plus en plus ses rapports avec l'artère, tandis qu'elle en contracte de plus intimes avec la tête du thymus. Il arrive alors qu'elle devient adhérente à ce dernier organe, avec lequel on l'enlève, quand on prépare les organes du cou chez un embryon âgé. Dès ce moment, elle ne mérite certainement plus le nom de glande carotidienne que lui valaient auparavant ses relations étroites avec la carotide, tandis que ses connexions avec la tête du thymus pourraient lui faire attribuer la dénomination de - glande annexe de la tête du thymus », ou brièvement celle de - glandule thymique -. Remarquons que cette deuxième désignation rend bien mieux compte que celle qui est adoptée habituellement de la communauté d'origine entre la tête du thymus et la glande carotidienne. Ces étroites relations de la glande carotidienne avec la tête du thymus ont été entrevues chez le porc par STIEDA, qui dit à ce sujet (*loc. cit.*, p. 19) : - Les parties supérieures du thymus embryonnaire s'étendent jusqu'au larynx et jusqu'à un corps rond (sphérique) situé latéralement à cet endroit. Ce dernier dérive du corps triangulaire..... -. Plus loin, se demandant quelle est la signification de ce corps, il le considère hypothétiquement comme étant la glande carotidienne.

En résumé donc : *la glande carotidienne est une glande vasculaire sanguine, c'est-à-dire un organe épithélial pénétré par les vaisseaux, qui prend naissance comme la tête du thymus aux dépens de la troisième poche entodermique branchiale, qui, appendu d'abord à la carotide primitive (glande carotidienne), est ensuite réuni à la tête du thymus (glandule thymique).*

2° *Troisième poche branchiale et tête du thymus.*

A l'évolution de la glande carotidienne se lie nécessairement de la façon la plus intime celle de la troisième poche branchiale qui lui a donné naissance. La plupart des transformations dont cette dernière est le siège ont été décrites par les auteurs qui nous ont précédé, en particulier par DE MEURON; nous n'y insisterons donc que pour relever certains détails méconnus par ces auteurs.

Déjà chez des embryons de 15 mm., et plus nettement encore chez des embryons d'un âge plus avancé, on voit que la troisième poche entodermique qui s'est d'ailleurs complètement séparée du pharynx, se compose de deux branches qui forment entre elles un angle droit ou presque droit, ouvert en dehors et du côté ventral. La branche interne donne naissance à la queue du thymus. La branche externe, qui s'adosse au fond de la poche ectodermique (*fundus præcervicalis* de KASTSCHENKO), supporte l'organe carotidien. Celui-ci, examiné chez des embryons de 14 et de 15 mm., a une forme générale arrondie et repose par une large base sur la paroi branchiale. Comme le montrent des coupes frontales pratiquées chez un embryon de 16 mm., il présente sa plus grande largeur au niveau de la pointe externe de la poche branchiale et va en s'amincissant du côté interne.

La série des coupes offre chez des embryons plus âgés (de 18, 20, 22 et 25 mm.) la disposition suivante. La poche branchiale, transversalement dirigée, FIG. 7, est connexe avec la glande carotidienne; ce reste de la poche représente la branche externe seule des stades précédents; elle est située entre le ganglion du vague et l'organe carotidien, et elle émet du côté dorsal un diverticule dont il sera question tout à l'heure. Une coupe pratiquée à un niveau plus inférieur montre que la cavité branchiale a la forme d'une équerre et se compose de deux branches comprenant entre elles l'extrémité inférieure de la glande carotidienne. Plus bas, les deux branches se confondent en une lumière assez spacieuse, de forme triangulaire, qui, plus bas encore, se rétrécit, tandis que sa paroi bourgeonne pour donner lieu à la queue du thymus.

En outre, on peut voir, tant sur des coupes frontales d'un embryon de 16 mm. que sur des coupes transversales d'embryons de 18, 20, 22, 25 et 26 mm., que la poche branchiale donne encore naissance à un autre diverticule, qui se distingue par sa forme, sa situation et ses relations, ainsi que par sa constitution.

Ce diverticule paraît, chez un embryon de 16 mm., comme une émanation de la portion tout à fait externe de la poche branchiale entodermique. Je le crois identique à la -vésicule thymique- de KASTSCHENKO. Sa situation latérale explique pourquoi cet auteur a pensé que la vésicule thymique a une origine ectodermique et dérive du *fundus præcervicalis*. Il me semble au contraire que le fond de la troisième et de la quatrième poche ectodermique disparaît sans laisser de traces (1).

Voici les faits essentiels que KASTSCHENKO (37) décrit quant à la vésicule thymique. Elle est formée par la pointe interne du sinus præcervical. Elle est confondue dans les tout premiers stades, d'une façon très intime, avec le ganglion du nerf vague. Mais déjà chez des embryons de 15 mm., cette vésicule est séparée du ganglion par la couche de fibres nerveuses qui maintenant se développe sur la face antérieure du ganglion. Chez des embryons plus âgés, la vésicule thymique, et par conséquent la tête tout entière du thymus, paraît déjà complètement séparée du ganglion du vague, mais au contraire soudée très intimement avec le nodule thymique (notre glande carotidienne). La vésicule thymique conserve longtemps sa lumière et prend l'aspect d'une ampoule reliée à la tête du thymus par un pédicule relativement grêle, FIG. 7 et 15, *Vtm* (d'après une reconstruction de coupes sériées). Plus tard sa lumière disparaît; le matériel cellulaire se fusionne avec la tête du thymus et on ne peut plus rien distinguer de la vésicule (*loc. cit.*, p. 15 et 19).

PIERSOL (57) a retrouvé la vésicule thymique de KASTSCHENKO; comme lui, il la fait dériver de la troisième poche épidermique et l'identifie même, en raison de ses connexions avec le ganglion du vague, à l'organe de FROBIEP. Il diffère de KASTSCHENKO en ce qu'il n'attribue aucun rôle à cette vésicule dans la formation de la tête du thymus. Le thymus, en effet, selon lui, est une formation exclusivement entodermique, et cette raison lui suffit pour exclure la vésicule thymique à cause de son origine ectodermique.

(1) Toutefois je n'ose nier absolument l'origine ectodermique, épidermoïdale, du diverticule, c'est-à-dire de la vésicule thymique de KASTSCHENKO. C'est qu'en effet, si le plus souvent j'ai pu constater une continuité directe entre la paroi ectodermique de la cavité branchiale et le diverticule, il m'a été impossible d'autres fois de faire cette constatation. C'est ainsi que, chez un embryon de 20 mm., la vésicule était isolée du côté gauche, et réunie du côté droit seulement à la cavité entodermique branchiale. Il est peu probable que la vésicule fût déjà séparée de la paroi branchiale parce que chez des embryons plus âgés on la trouvait encore continue avec elle. Il est par contre possible que cette vésicule, ayant pris naissance dans la poche ectodermique de la branchie, soit devenue naturellement privée de tous rapports immédiats avec la portion entodermique. C'est donc le fait favorable à la manière de voir de KASTSCHENKO.

Voici maintenant nos observations relatives au diverticule branchial que nous croyons identique à la vésicule thymique de KASTSCHENKO et de PIERSON. Elles coïncident en partie avec les données de ces auteurs, que nous avons du reste complétées et précisées sur plusieurs points.

Outre le caractère qu'il emprunte à sa situation, le diverticule en question est encore caractérisé par sa forme; il est, en effet, pédiculisé au niveau de l'extrémité implantée sur la paroi branchiale et se dilate par son autre extrémité.

Il offre encore cette remarquable particularité topographique de s'enfoncer dans le ganglion plexiforme du nerf vague; il y est à demi-enfoui chez des embryons de 17, 20, 22 et 25 mm., FIG. 8 et 9; tandis que plus tard (e. de 26 mm.), je l'ai trouvé isolé, séparé de ce ganglion, FIG. 10.

Non moins remarquable enfin est sa constitution. Tandis qu'en effet, à côté de lui, chez des embryons de 20-26 mm., les restes de la cavité branchiale et de ses dépendances ne présentent plus qu'une lumière très minime et bourgeonnent pour donner lieu à la tête du thymus, au contraire ce diverticule s'agrandit beaucoup, acquiert une cavité très spacieuse, tapissée par un épithélium conformé d'une manière spéciale. Celui-ci, en effet, se montre constamment formé de cellules hautes du côté de la tête du thymus, c'est-à-dire du côté qui est libre de connexions avec le ganglion du pneumogastrique; au contraire, la portion de sa paroi qui s'enfonce dans ce ganglion est constituée par des cellules extrêmement basses, çà et là absolument plates. J'ai vu en outre que la paroi peut être en certains points formée de deux assises cellulaires d'aspect différent, FIG. 9. Lorsque le diverticule est éloigné du ganglion du vague (embryon de 26 mm), la paroi qui était englobée dans ce ganglion redevient haute, tandis que dans la portion de paroi opposée qui est accolée à la tête du thymus les cellules s'aplatissent, FIG. 10.

Par sa cavité considérable, notre diverticule mérite bien le nom de vésicule thymique que lui a donné KASTSCHENKO et que nous conserverons. Il mérite aussi l'épithète de thymique que KASTSCHENKO a accolée au nom de vésicule; car nous croyons, bien que nous n'ayons pu constater directement le fait, qu'il intervient et même joue le plus grand rôle dans la constitution de la tête du thymus. Voici sur quoi nous fondons notre opinion. Chez des embryons de 20 à 25 mm., alors que la vésicule thymique présente les caractères que nous venons de voir, la tête du thymus est constituée par plusieurs îlots cellulaires pourvus de lumières plus ou moins grandes, entre

lesquelles se distingue la vaste cavité de la vésicule thymique. Celle-ci est ainsi contiguë à la tête du thymus, et cette proximité dispose déjà à penser qu'elle en fera plus tard partie. Une autre preuve plus convaincante consiste dans la constatation de proéminences de la paroi, saillantes à l'extérieur, qui font l'effet de bourgeons cellulaires en voie de développement, bourgeons devant prendre part à la formation de la tête du thymus (embryon de 26 mm., FIG. 10). Enfin, chez un embryon un peu plus âgé (28 mm.), nous retrouvons, exactement à l'endroit qu'occupait la vésicule thymique, une cavité très vaste dont la forme est non pas arrondie, mais irrégulière, et dont la paroi très épaisse est garnie sur tout son pourtour de bourgeons cellulaires abondants, desquels dérivera la tête du thymus. Bien que nous manquions de stade intermédiaire entre l'embryon de 26 et celui de 28 mm., et que nous ne puissions passer directement de la vésicule arrondie à paroi mince et non bourgeonnante à la cavité anfractueuse dont la paroi épaissie bourgeonne de tous côtés, cependant l'identité de situation nous fait penser que nous avons dans cette dernière la vésicule thymique des stades précédents; celle-ci par conséquent jouerait dans la constitution de la tête du thymus un rôle important sinon prépondérant.

La vésicule thymique nous semble un organe épithélial de réserve, temporairement inactif, dont la prolifération tardive produira la majeure partie de la tête du thymus. Pour cette raison, la tête du thymus se forme, dans sa plus grande masse du moins, plus tard que le reste de l'organe, contrairement à la plupart des auteurs qui veulent que son développement soit le plus précoce.

La tête du thymus, encore minime chez des embryons de 20 à 25 mm., se développe puissamment chez les embryons à partir du stade de 40 mm. Elle est située à un niveau plus inférieur que la glande carotidienne. Elle répond au côté externe de la carotide primitive, et sa face interne offre une cavité destinée à loger en partie l'artère. La coupe transversale de la tête du thymus a un contour général arrondi (embryons de 70 et 75 mm.), sauf l'échancrure interne qui est en relation avec la carotide. Elle est formée d'un certain nombre de lobes qui irradient autour d'un centre, et qui sont montés chacun sur un pédicule, formé d'une substance plus claire que celle du lobe lui-même, les différents pédicules se confondant en une masse centrale. Déjà chez l'embryon de 40 mm., ces lobes sont en voie de transformation lymphoïde, transformation dont il sera question plus tard.

Chez des embryons de 40 mm., et mieux encore chez des animaux plus

âgés, la tête du thymus non seulement recouvre la carotide du côté externe et l'enferme aux trois quarts en poussant ses lobes en avant et en arrière d'elle; mais encore elle tend à la recouvrir du côté interne, en englobant en même temps, ainsi qu'il a été dit plus haut, la glande carotidienne.

Elle est alors aussi contiguë par sa face externe à la glande sous-maxillaire, dont elle se distingue par le volume de ses lobes, qui ne sont pas décomposés en lobules et en acinis comme dans la glande salivaire. Plus tard, elle tend à être recouverte extérieurement par cette glande et contracte avec elle des rapports tellement intimes qu'il devient difficile de l'en séparer.

Chez le fœtus à terme, la tête du thymus est un organe considérable, complètement adhérent à la glande sous-maxillaire, dont elle se délimite par une différence assez notable dans la constitution macroscopique et dans la couleur; PL. II, FIG. 18.

Ajoutons que, chez des embryons déjà âgés (de 9, 10 et 11 cm.), la tête du thymus paraît se composer de deux parties assez distinctes, PL. II, FIG. 13. L'une, externe, est formée d'une demi-douzaine de lobes volumineux; c'est à cette portion qu'est appendue la glande carotidienne, qui semble être l'un de ces lobes dont elle se distingue cependant par sa forme régulièrement arrondie et par sa couleur foncée. L'autre portion, plus interne, est composée d'un nombre plus considérable de lobes beaucoup plus petits; c'est elle qui loge dans la concavité de sa face interne l'artère carotide et le nerf pneumogastrique; c'est elle aussi qui se continue inférieurement (ou postérieurement) avec le reste du thymus. Les coupes transversales ne montrent cependant pas de différence essentielle dans la texture de ces deux portions. Les gros lobes de la partie externe se montrent formés des deux substances, corticale et médullaire, la première irradiant autour de la seconde. Les petits lobes de la portion interne formés de substance corticale, peuvent être réunis entre eux par des cordons constitués par cette même substance; ils rayonnent irrégulièrement autour d'une substance médullaire qui se prolonge jusqu'à eux sous forme de pédicules. Ces différences permettent-elles de dire que chacun des gros lobes de la partie externe, formés des deux substances, correspond à la partie interne tout entière et représente un thymus réduit? C'est ce que nous ne pouvons affirmer.

En résumé, la tête du thymus se développe aux dépens de la troisième poche entodermique branchiale elle-même et d'un diverticule de cette poche; celui-ci, qui est sans doute identique à la vésicule thymique de Kastschenko,

s'enfonce dans le ganglion du vague. La tête du thymus se développe assez tardivement d'une manière puissante, englobe la carotide primitive et la glande carotidienne, qui dès lors adhère à sa face interne; on peut y distinguer deux parties d'aspect passablement différent.

3° Corps du thymus.

La tête du thymus est rattachée au reste de l'organe par un cordon situé d'abord en dehors et en avant de la carotide primitive, et qui plus bas se place directement en avant, pour se continuer avec le corps principal de l'organe qui répond à la face ventrale de la trachée. Ce - cordon intermédiaire - représente la plus grande étendue de la portion cervicale du thymus. Il est au début extrêmement mince, réduit en certains endroits au point de n'être formé, sur la coupe transversale, que par quelques cellules, PL. I, FIG. 11, *cith*, et PL. III, FIG. 29, *th*; ailleurs il est plus volumineux; sa forme est donc celle d'un cylindre bosselé. Chez des embryons de 30 à 40 mm., on le voit, coupé en travers, pourvu d'une lumière et irrégulièrement bourgeonnant. Son développement est assez précoce, puis il s'arrête, si bien que chez un embryon de 70 mm. et jusqu'au stade de 150 mm., il constitue un filament grêle, moniliforme. Sans doute, le cordon intermédiaire, obligé de suivre l'allongement rapide et considérable du cou, s'étire aux dépens de sa largeur. Plus tard, le cordon se développe beaucoup et se présente, chez le fœtus à terme, sous forme d'un ruban épais, bosselé, de presque 1 cm. de large. Ce cordon a subi une transformation lymphoïde complète chez un embryon de 77 mm.

Nous avons cru tout d'abord, en nous fondant uniquement sur les résultats fournis par les dissections, que le corps du thymus était au début entièrement cervical chez le mouton, et que ce n'était que tardivement, chez des embryons de 70 mm., par exemple, que l'extrémité inférieure du thymus cervical descendait dans le thorax. La dissection nous avait, en effet, montré que le corps cervical se prolongeait inférieurement par deux appendices très grêles, juxtaposés, situés au-devant des deux carotides primitives, qui à ce niveau se sont rapprochées sur la ligne médiane pour se fusionner un peu plus bas en un tronc commun. Nous avons cru primitivement que ces appendices, que nous nous proposons de nommer thoraciques, donnaient, en effet, naissance par un bourgeonnement secondaire puissant à toute la partie thoracique de l'organe. (1)

1) Cette opinion est encore conservée dans la note que nous avons publiée sur le développement du thymus dans les comptes rendus de la Société de Biologie, 27 mai 1893

L'examen de coupes sériées portant sur des embryons de 25 à 30 mm. nous a montré que déjà à cette époque le corps thoracique du thymus est présent, et que les prétendus appendices thoraciques ne terminent pas le thymus, mais sont des cordons d'union entre les portions cervicale et thoracique de l'organe (cordons cervico-thoraciques). Ces cordons offrent une constitution primitive très simple, réduits qu'ils sont à un conduit limité par une paroi épithéliale mince ou à un cordon plein paucicellulaire, PL. I, FIG. 12, et PL. II, FIG. 19. Les deux cordons sont juxtaposés à l'intérieur d'une enveloppe conjonctive commune.

Quand on suit d'avant en arrière la série des coupes des embryons de 30 mm., on voit la partie inférieure du corps cervical du thymus se former impaire et se placer sur la ligne médiane, grâce à la coalescence des corps pairs du thymus. Cette portion cervicale inférieure s'engage alors entre les deux carotides primitives, puis plus bas entre les deux veines jugulaires, plus bas encore entre les deux troncs veineux brachio-céphaliques très courts qui sont le confluent des jugulaires et des sous-clavières. Grâce à ce déplacement, l'extrémité inférieure du thymus arrive à être située sur un plan plus antérieur (plus ventral) que ces deux grosses veines, PL. VI, FIG. 25, *A, thc*; de telle sorte que, quand les deux veines se réuniront un peu plus bas pour former la veine cave supérieure, le thymus sera placé au devant de cette dernière. C'est ce qui est arrivé en *B*. Mais à ce niveau, le thymus n'est plus représenté que par les deux cordons cervico-thoraciques extrêmement grêles, *ccth*, accolés à la paroi antérieure de la veine cave. Ils se retrouvent en *C* dans la même situation, quoique avec une très légère déviation du côté gauche de la ligne médiane. Vient ensuite, de *D* à *H*, le thymus thoracique qui est déjeté franchement à gauche, et qui prend successivement les rapports qui sont donnés par la figure.

Des dissections pratiquées chez des embryons plus âgés, de 70 à 114 mm., m'ont permis de faire les mêmes constatations.

Tandis que chez des embryons de 30 à 40 mm. le thymus est déjà, dans tout le reste de son étendue, en voie de transformation lymphoïde, le cordon cervico-thoracique conserve encore une constitution épithéliale. Plus tard, par exemple chez un embryon de 105 mm., le cordon, macroscopiquement reconnaissable et anatomiquement isolable, ne se distingue plus au microscope par sa constitution histologique; il a perdu, en effet, la structure épithéliale primitive et s'est transformé en un cordon lymphoïde. Plus tard encore, ce cordon s'épaissit considérablement et prend un développement presque semblable à celui du reste de l'organe.

Le cordon cervico-thoracique se présente, à la dissection d'embryons âgés (30—40 cm.) et de fœtus à terme, sous l'aspect suivant. Il est impair et résulte de la fusion des deux cordons primitifs entourés par une gaine conjonctive commune. Il part de l'extrémité inférieure des deux corps cervicaux du thymus, qui, tout à fait en bas, sont aussi confondus ensemble. Il a la forme d'une bande blanche, d'environ 4—5 mm. de large chez le fœtus à terme, mince, qui passe au-devant des troncs veineux brachio-céphaliques et de la veine cave supérieure qui les continue; il adhère intimement à leur paroi. L'aspect de cette bande est différent de celui de la portion cervicale et aussi de la partie thoracique du thymus; sa surface, au lieu d'être bosselée et lobée comme celle du reste de l'organe, est à peu près lisse. J'avais cru d'abord qu'à cette différence d'aspect correspondait une texture dissemblable; mais l'examen microscopique n'a pas justifié cette prévision. Cette bande se prolonge par un épais cordon, la partie thoracique du thymus, qui offre de nombreuses bosselures irrégulières, se déjette entièrement à gauche, décrit une courbure très accentuée, et remonte dans la partie supérieure du thorax et du côté gauche, où il se termine plus ou moins loin suivant l'âge de l'animal.

En résumé : *il existe chez l'embryon de mouton deux parties du thymus, qui par l'accroissement en volume et le développement histologique sont en retard sur les autres portions. Ce sont d'abord le cordon intermédiaire cervical, qui unit la tête du thymus au corps cervical de l'organe; puis le cordon cervico-thoracique, qui relie la partie cervicale à la partie thoracique.*

4° *Histogénèse du thymus. Transformation lymphoïde de l'ébauche épithéliale.*

On sait que de bonne heure le thymus, qui primitivement offrait une structure épithéliale, perd cette constitution pour se transformer en tissu lymphoïde.

Comment s'effectue cette transformation? La question a reçu deux solutions différentes.

HIS, STIEDA, MAURER, GULLAND ont admis que l'ébauche épithéliale est pénétrée par le tissu conjonctif ambiant et par les vaisseaux, envahie particulièrement par les lymphocytes; ceux-ci se substituent aux éléments épithéliaux, qui disparaissent étouffés par les éléments lymphatiques. Il y a substitution des seconds aux premiers. Le processus général peut être

considéré comme une sorte de pseudomorphose lymphoïde d'un organe épithélial.

STIEDA (79), après avoir décrit le thymus épithélial chez un embryon de brebis de 22 mm., suit cet organe dans son développement. Chez un embryon de 35 mm., le thymus épithélial est plongé dans un tissu d'aspect spécial, différent de celui des parties ambiantes et circonscrit par une enveloppe conjonctive condensée. Le tissu inclus fait l'effet de substance adénoïde (substance glandulaire conglobée) : c'est une charpente ou un réseau cellulaire, parcourue par des vaisseaux, dans les mailles de laquelle sont situés des cellules et des noyaux. Dans ce tissu se trouve le thymus épithélial. A ce dernier s'est donc ajouté, pour constituer le thymus, un tissu adénoïde vasculaire. Au-delà de ce stade, l'auteur n'a pu suivre d'une façon sûre les éléments épithéliaux du thymus embryonnaire. Chez des embryons de 50—60 mm., la coupe du thymus offre déjà l'image de l'organe développé, tel qu'il se présente chez le mouton nouveau-né. La coupe transversale dessine une masse plusieurs fois lobée, composée de petites cellules rondes très serrées ; les vaisseaux y sont rares. Que sont devenues les cellules épithéliales ? D'où proviennent les masses à petites cellules qui occupent l'intérieur du thymus ? On est disposé à croire, répond STIEDA, que les masses cellulaires du thymus d'un embryon de 60 mm. sont les descendants des cellules épithéliales. Mais, outre que cela n'est pas démontré, les faits observés sur le thymus développé sont encore contraires. Ce que deviennent enfin les cellules épithéliales, elles se retrouvent, pense STIEDA, dans les éléments constituants des corps concentriques du thymus (p. 23—25). Plus loin (p. 30), il ne trouve rien à objecter à la manière de voir de KÖLLIKER, fondée sur la comparaison des stades successifs du développement. Mais, pour avoir constaté, comme KÖLLIKER, au lieu de l'ébauche épithéliale primitive, la glande complètement transformée des stades âgés, il ne veut pas en conclure à une origine directe des petites cellules du thymus définitif aux dépens des cellules épithéliales de l'ébauche embryonnaire. Il exprime au contraire cette hypothèse, qu'il ne peut appuyer sur des faits, que les cellules épithéliales ne sont représentées à l'état définitif que par les corps concentriques et que par conséquent les cellules lymphoïdes viennent d'ailleurs, par exemple du tissu conjonctif environnant.

MAURER (50), dans un important travail sur le développement du thymus des amphibiens anoures et urodèles, se posant la question de savoir si les petites cellules du thymus proviennent de la division des cellules épi-

théliales primitives, ou si elles sont d'origine mésodermique étant immigrées en même temps que les vaisseaux, incline vers cette deuxième réponse, - parce que, dit-il, il ne m'a jamais été possible de découvrir à côté des petites cellules rondes et des cellules épithéliales de l'écorce éparses entre les précédentes des figures de division ou des formes de passage quelconques - (p. 344).

GULLAND (29—30) compare le phénomène de la transformation lymphoïde à ce qui a été découvert par KOWALEWSKY dans le développement embryonnaire des muscidés, où des organes larvaires inutilisés pour la constitution de l'imago sont détruits par les leucocytes (1).

Voici du reste comment GULLAND décrit ce processus. Le thymus, dit-il, est un vaste conduit épithélial, autour duquel le tissu conjonctif s'épaissit, repoussé et condensé par la progression incessante de l'épithélium. Bientôt, dans ce tissu conjonctif paraissent d'abondants vaisseaux; les leucocytes s'y montrent en même temps en grand nombre, tout d'abord dans les parties du tissu conjonctif voisines de l'épithélium, FIG. 9. Puis ils émigrent dans cet épithélium, qui, longtemps auparavant déjà, s'est transformé en une masse pleine, dendritiquement ramifiée; l'immigration dure encore longtemps après que dans chaque lobule thymique il n'y a plus que des restes d'épithélium, FIG. 10.

D'autres auteurs, au contraire, (KÖLLIKER, MAURER, TOURNEUX et HERRMANN) ont soutenu que les lymphocytes qui constituent la plus grande masse du thymus définitif ne viennent pas du dehors, ne sont pas des éléments immigrés dans l'ébauche épithéliale, mais qu'ils sont formés sur place et dérivent de l'activité proliférative des cellules épithéliales mêmes; il y a transformation lymphoïde de l'organe épithélial (2).

KÖLLIKER (39) s'est borné à constater que, dans les lobes du thymus, on trouve d'abord, dans un premier stade, de grandes cellules à noyaux volumineux, puis, dans les périodes suivantes, des éléments de taille bien

(1) On pourrait aussi, adoptant les vues de GULLAND, rapprocher ce phénomène du fait étudié par HIS, GIACOMINI, CHIARUGI, qui consiste en ce qu'aux éléments qui composent les organes de l'embryon humain se substituent des éléments semblables à des leucocytes, avec conservation des formes extérieures des organes.

(2) Dans le travail de DAHMS (14) cité cependant par TOURNEUX et HERRMANN comme renfermant une opinion analogue et des faits à l'appui, nous ne trouvons aucune donnée précise relative à cette question d'histogénèse. L'auteur, d'après l'examen d'un fœtus de dauphin de 13 cm. de long, dit seulement que de par l'aspect des éléments des follicules du thymus, ces follicules lui paraissent provenir du feuillet interne.

moindre, pourvus de noyaux petits, ces éléments étant d'autant plus abondants que le développement est plus avancé. - C'est entre le 20^{me} et le 23^{me} jour (chez le lapin), que se fait la transformation principale dans l'organe : les cellules deviennent toujours plus petites et plus insignifiantes ; leurs limites, qui auparavant n'étaient pas bien nettes, s'effacent complètement, et elles apparaissent alors comme un amas de petits noyaux arrondis avec peu de substance intermédiaire. La structure de l'organe perd ainsi son caractère épithélial pour prendre celui du thymus adulte. En même temps se produit une autre modification d'importance fondamentale, je veux parler de la prolifération de vaisseaux et de tissu conjonctif dans les parois épaisses de la glande. Ces phénomènes se passent en même temps que se transforment les cellules de la paroi. En premier lieu, de minces bourgeons vasculaires s'insinuent entre les vésicules glandulaires. Ils partent d'une enveloppe extérieure vasculaire, mais non délimitée exactement d'avec le tissu environnant. On ne peut déterminer exactement de quelle manière ces bourgeons entrent dans la substance glandulaire, mais là où auparavant on ne voyait rien en fait de vaisseaux, on en trouve un grand nombre à un certain moment ; on peut donc admettre que, venus du dehors, ils ont envahi la paroi épithéliale transformée. Dans des glandes à cet état, on distingue dès lors une couche corticale plus dense, se colorant mieux par le carmin, et une masse interne plus claire, sans aucune cavité dans son centre ; ces différences entre la couche corticale et le centre proviennent de ce que le nombre des noyaux (cellules?) et peut-être des vaisseaux n'est pas le même dans les deux parties - (p. 916).

Bien que la constatation essentielle de KÖLLIKER, consistant à voir le thymus formé d'abord de grandes cellules épithéliales, constitué ensuite de petits éléments et à ne voir que cela, paraisse prudente à l'excès, tant le résultat semble mince au premier abord, elle est au contraire d'une grande portée, émanant d'une personne histologique telle que KÖLLIKER, qui, s'il n'a pas tout vu complètement à cause de l'imperfection des méthodes qu'il a eues autrefois à sa disposition, a vu la plupart des choses exactement. Le fait d'ailleurs a plus de conséquence qu'on ne lui en attribuerait à première vue. Car si, à l'exemple de KÖLLIKER, on voit paraître à un certain moment, dans les lobes thymiques limités nettement par une enveloppe conjonctive, de petites cellules qui deviennent ensuite innombrables, et si l'on ne constate rien autre que ce fait, on n'est autorisé qu'à une seule conclusion, c'est que les petites cellules, qui sont les éléments lymphatiques, dérivent des

cellules plus volumineuses préexistantes, qui étaient les éléments épithéliaux. Dès à présent, nous pouvons déclarer que, sur des préparations peut-être plus démonstratives que celles dont s'est servi KÖLLIKER alors qu'il étudiait cette question, nous ne sommes cependant arrivé à rien ajouter d'essentiel à son observation, que nous ne ferons donc que confirmer. Cette observation, renforcée par la nôtre, appuyée de celles des auteurs dont les recherches sont analysées ci-dessous, nous suffira, nous pouvons dès à présent l'annoncer, à supposer l'origine épithéliale des lymphocytes du thymus.

Le thymus des téléostéens a fourni à MAURER (49) des conclusions en partie semblables à celles de KÖLLIKER. Les cellules épithéliales de la première ébauche du thymus prennent, selon lui, un aspect lymphoïde; à la limite de l'organe, elles se continuent toutefois directement avec l'épithélium de la cavité branchiale, tandis qu'elles sont séparées comme ce dernier du tissu conjonctif sous-jacent par une membrane propre. Du substratum partent des cellules conjonctives, peu nombreuses d'abord, qui, accompagnées de vaisseaux, perforent la membrane propre et pénètrent l'organe. La masse principale de celui-ci est toujours formée par les cellules à aspect lymphoïde de l'ébauche épithéliale. Ce n'est qu'au bout de plusieurs mois que ces cellules en reviennent à leur caractère épithélial, leurs facultés de prolifération étant alors épuisées. En même temps, le long des vaisseaux et des tractus conjonctifs font irruption dans le thymus une grande quantité de cellules lymphoïdes venues du tissu conjonctif ambiant, qui se fixent dans une zone intermédiaire, où elles forment les follicules lymphatiques. Les restes de l'ébauche épithéliale (corps concentriques) persistent d'une part dans la profondeur, d'autre part en formant le revêtement qui ferme le thymus du côté de la cavité branchiale.

Chez un embryon de mouton de 32 mm., TOURNEUX et HERRMANN (89) ont vu la glande composée de petites masses épithéliales arrondies, absolument dépourvues de vaisseaux, formées uniquement de cellules polyédriques granuleuses, mesurant de 6 à 11 μ , à noyau sphérique relativement volumineux. Ça et là, on aperçoit des sortes de lacunes, au pourtour desquelles les éléments épithéliaux, irrégulièrement prismatiques, atteignent jusqu'à 15 μ de diamètre; le corps de ces grosses cellules est homogène et transparent... - Chez un embryon de 38 mm., les éléments constituant des bourgeons thymiques paraissent rapetissés, en ce sens que ceux de faible dimension (6 à 8 μ) sont de beaucoup les plus nombreux. Dans la plupart

des bourgeons existent des vacuoles bordées de grandes cellules claires et incolores. Ces éléments mesurent jusqu'à 16 et 17 μ et forment aussi çà et là, au sein du parenchyme, des groupes arrondis ou des trainées sans aucune trace de cavité. Il semble que les vacuoles résultent de la disparition par résorption de quelques-unes des grandes cellules. Ces dernières offrent beaucoup d'analogie par leur aspect avec celles qui forment à ce moment la couche superficielle du revêtement œsophagien ou de celui de la peau. On constate, en outre, la pénétration dans l'intérieur des bourgeons épithéliaux de quelques prolongements de la charpente lamineuse, prolongements dont chacun contient une anse capillaire. — Au stade de 50 mm., outre des changements dans la forme générale des lobes, on constate, quant à la structure, que les petits éléments tendent à prédominer de plus en plus, tandis que le nombre des vacuoles et des trainées de grandes cellules claires est bien moindre qu'au stade précédent. — Au stade suivant (embryon de 130 mm.), il devient évident à première vue que c'est bien le thymus définitif que l'on a sous les yeux. Le parenchyme est constitué uniformément par de petits éléments polyédriques dont le diamètre varie de 5 à 8 μ . Les lacunes et les cellules claires ont disparu. — Enfin, sur un embryon de 165 mm., les lobules primitifs montrent nettement une zone périphérique de substance corticale et une portion centrale de substance médullaire; celle-ci est de texture plus lâche.

TOURNEUX et HERRMANN retrouvent les mêmes faits chez des embryons de plusieurs autres mammifères et chez l'embryon humain. — Les faits qui précèdent nous amènent, concluent-ils, à nous rallier entièrement à l'opinion de KÖLLIKER. « Malgré cette conclusion, il semble que les auteurs ne se soient pas entièrement dégagés de l'idée de la participation possible du tissu conjonctif ambiant à la constitution du parenchyme même de la glande définitive, lorsque, quelques lignes plus bas, ils se posent cette question : — Mais dans quelle mesure les deux tissus épithélial et conjonctif participent-ils à la composition du thymus arrivé à sa période de plein développement? — Ne pourrait-on admettre, se demandent-ils même, une substitution lente et graduelle des éléments mésodermiques immigrés aux cellules épithéliales de la glande embryonnaire? — Il est vrai que, pour certaines raisons, ils regardent cette hypothèse comme peu probable. Il n'est pas possible, en définitive, d'après eux, d'affirmer actuellement que tous les éléments propres du thymus chez le nouveau-né soient des descendants directs de l'épithélium

branchial. La provenance exacte des cellules ramifiées constituant le réticulum des follicules reste en particulier à déterminer (1).

Ainsi que nous l'avons indiqué au début de ce mémoire, la question de l'histogénèse du thymus, de la métamorphose lymphoïde de son ébauche épithéliale, n'est qu'un cas particulier du problème d'histogénèse générale qui consiste dans la recherche de l'origine des tissus de substance conjonctive et particulièrement du tissu lymphoïde.

Les objets, à propos desquels le problème a été posé, sont indépendamment du thymus (HIS, STIEDA, GULLAND, KÖLLIKER, MAURER, TOURNEUX et HERRMANN) : les amygdales palatine et pharyngienne [STÖHR (82, 83), RETTERER (63, 66, 67), ZAWARYKIN (93), SCHWABACH (75), GULLAND (29, 30)], la bourse de Fabricius des oiseaux [RETTERER (62)], les follicules clos et les plaques de PEYER [GARBINI (25), v. DAVIDOFF (15), STÖHR (81, 85), PILLIET (58), RÜDINGER (70), RETTERER (64, 65, 66, 67), GULLAND (29), KLAATSCH (38), TOMARKIN (88)], les amas lymphoïdes ou les follicules parfaits des muqueuses œsophagienne et trachéale [FLESCH (23), RUBELI (69), WALDEYER (90)], le mésentère des batraciens [MAURER (50bis)].

L'analyse succincte de ces divers travaux ne nous paraît pas superflue. Aussi la faisons-nous dans les lignes qui suivent.

Les conclusions de STÖHR (81—84), déjà formulées dans son premier travail et reproduites dans ses mémoires ultérieurs, sont les suivantes. Les follicules clos des divers organes étudiés par lui (follicules clos de la base de la langue, amygdales, follicules clos et plaques de PEYER de l'intestin) sont formés de leucocytes. Ceux-ci sortent des vaisseaux par diapédèse; quelques-uns peuvent être surpris en train de traverser la paroi vasculaire. Les leucocytes s'accumulent ensuite entre les travées du tissu conjonctif, distendent les mailles de ce tissu, se divisent par caryocinèse à l'intérieur de ces mailles. Le tissu conjonctif, transformé en un réseau dont les mailles sont occupées par des leucocytes, est devenu tissu adénoïde. Les leucocytes, en traversant l'épithélium, modifient celui-ci, et peuvent ensuite tomber dans la cavité intestinale.

RETTERER résume de la façon qui suit (66) la série de ses travaux sur l'amygdale linguale chez de nombreux mammifères, et sur la plaque de PEYER du côlon (amygdale cœlique) chez le cobaye et chez le lapin.

(1. On peut aussi compter DE MEURON (51) parmi les auteurs qui sont favorables à la seconde manière de voir. Il pense, en effet, que chez les sélaciens on ne doit pas conclure à l'immigration dans le thymus d'éléments mésodermiques, de ce que l'on voit dans cet organe deux sortes de cellules « On doit penser plutôt qu'il y a ici les cellules épithéliales primitives et les produits de leur prolifération » (p. 531).

• Dès 1885, j'ai essayé de montrer que les éléments arrondis qui constituent le tissu des amygdales proviennent de la division des cellules épithéliales. L'épithélium de la surface du canal alimentaire pousse des bourgeons, qui pénètrent dans le tissu mésodermique, comme lorsqu'il s'agit de la formation des glandes en général. Ils produisent des amas de cellules arrondies, à faible corps cellulaire (*cellules basilaires*). Ces amas sont entourés par le tissu mésodermique, qui les sépare complètement de l'épithélium originel.

• Avant cette séparation, la limite (paroi propre ou membrane basilaire) a disparu entre les cellules basilaires et le tissu conjonctif; les prolongements de ce dernier ont déjà pénétré entre les cellules basilaires.

• Tandis que la portion périphérique de cette formation est alors constituée par un tissu dont le réseau est conjonctif et dont les mailles sont remplies par les cellules épithéliales, sa portion centrale est purement épithéliale à ce stade.

• Avec le progrès du développement, le réseau conjonctif s'étend de plus en plus vers le centre, en s'insinuant entre les cellules épithéliales qui se divisent et se transforment en cellules basilaires. C'est ainsi que se forme le tissu nouveau du follicule clos, à charpente conjonctive et à éléments propres, qui sont d'origine épithéliale. Les vaisseaux sanguins et lymphatiques accompagnent le réseau conjonctif.

• Ce tissu nouveau est donc formé de cellules épithéliales incluses dans une trame conjonctive et il est parcouru de vaisseaux sanguins et lymphatiques; pour rappeler cette origine épithéliale des cellules glandulaires et la présence de vaisseaux sanguins et lymphatiques dans le tissu complètement développé, je l'ai appelé *angiothélial*. •

L'examen de la plaque de PEYER du cobaye à la naissance a fourni à l'auteur des résultats analogues.

1° • Les bourgeons épithéliaux traversent la *muscularis mucosæ* et leur fond arrive au contact de la musculuse. Ils se ramifient en bourgeons secondaires, multiples, qui occupent le centre du tissu angiothélial déjà formé à cette époque. Les cellules épithéliales sont le siège de nombreuses divisions par voie karyokinétique et elles forment ainsi des cellules arrondies à faible corps cellulaire (*basilaires*).

2° • Bien limités sur les parties les plus voisines de la surface intestinale, ces bourgeons sont comme égrenés du côté de la musculuse. Sur de nombreux points, on peut voir le tissu conjonctif pénétrer dans l'intervalle des cellules basilaires.

- Il en résulte un tissu à éléments serrés : le réticulum est formé par le tissu conjonctif, et les mailles sont remplies par les cellules basilaires, d'origine épithéliale -.

Dans une nouvelle note (65), se rapportant aux plaques de PEYER des ruminants et des solipèdes, il arrive aux mêmes conclusions.

ZAWARYKIN (63) voit dans l'épithélium de l'amygdale du chien de nombreuses cavités en forme de bouteille, qui lui paraissent être l'œuvre des leucocytes; ceux-ci sortent par ces cavités, en traversant l'épithélium (conformément à STÖHR).

SCHWABACH (75), étudiant l'amygdale pharyngienne, constate, autour des invaginations de l'épithélium pharyngien, la présence de globules blancs, qui ont une origine vasculaire (comme pour STÖHR); la formation des follicules, observe-t-il, débute autour des invaginations épithéliales.

GARBINI (25), examinant les follicules lymphatiques du cœcum du cobaye, était arrivé en 1887 aux résultats suivants. Entre les cellules constituantes de l'épithélium stratifié qui revêt l'infundibulum et les parois de la cavité folliculaire, on trouve des éléments épars, de forme sphérique, qu'il appelle cellules folliculeuses. Dans les points où existent les petites cavités folliculaires et juste au-dessous de l'épithélium stratifié qui en tapisse le fond, se trouvent mêlées aux cellules lymphoïdes beaucoup de cellules folliculaires, qui forment ensemble le substratum de l'épithélium. De par l'existence des cellules folliculaires en ces points, l'auteur croit que les cellules de même forme, qui se trouvent entre les éléments épithéliaux, sont ces mêmes éléments qui émigrent à travers l'épithélium, pour gagner la cavité folliculaire et tomber dans l'intestin (analyse d'après une note du Jahresbericht d'HOFFMANN et SCHWALBE).

v. DAVIDOFF (15) a étudié les rapports de l'épithélium intestinal avec le tissu lymphoïde chez le cobaye et l'homme. Il admet sans réserve des rapports génétiques étroits entre les leucocytes et l'épithélium. Les cellules épithéliales, en effet, ont des prolongements nucléés (noyaux secondaires de l'auteur), qui s'isolent par étranglement du reste de la cellule, et qui donnent naissance aux leucocytes. C'est ce qu'a vu v. DAVIDOFF dans l'intestin humain. — Les observations que lui a fournies l'appendice vermiforme du cobaye sont encore plus intéressantes à notre point de vue. L'épithélium s'y comporte absolument comme dans l'intestin de l'homme. Si l'on suit particulièrement cet épithélium vers le fond des cryptes, on voit qu'il devient plus irrégulier, tant par la forme que par l'état variable des noyaux. Au-

dessous de l'épithélium du fond de la crypte, la membrane basale fait défaut; elle est remplacée par une « zone intermédiaire », qui n'est qu'un réseau de prolongements poussés par les cellules épithéliales et qui établit une transition insensible entre l'épithélium et le tissu lymphoïde sous-jacent. Les cellules de ce tissu sont considérées par v. DAVIDOFF comme dérivant, par la zone intermédiaire, des éléments épithéliaux. Les follicules lymphatiques sont pour lui des endroits, où la formation des cellules lymphoïdes aux dépens de l'épithélium intestinal se fait avec une énergie spéciale.

De la note de PILLIET (58) relevons seulement la constatation du tissu lymphoïde sous forme d'infiltration diffuse autour des glandes de LIEBERKÜHN chez les poissons cartilagineux.

RÜDINGER(70), sur des suppliciés, a vu que les glandes de LIEBERKÜHN de l'appendice vermiculaire sont envahies par les follicules, lorsque ceux-ci se rapprochent de la muqueuse. Les cellules cylindriques de la glande changent alors de forme, deviennent plates; puis elles se rompent, et les leucocytes tombent alors dans l'intestin. L'envahissement de la glande par les leucocytes se fait comme il suit. Ces éléments investissent les extrémités des glandes de LIEBERKÜHN; là où ils abordent la membrane propre de la glande, les cellules cylindriques deviennent plus lâches et se disposent irrégulièrement en s'écartant les unes des autres. Finalement et pour abrégé, toute trace de la glande disparaît, absorbée par le follicule; les noyaux des cellules cylindriques sont conservés cependant. Tels sont les faits, dont l'interprétation paraît à RÜDINGER grosse de difficultés. - Il demeure à établir, dit-il, si les cellules de LIEBERKÜHN, en cédant une partie de leur protoplasme, se transforment en leucocytes, ou bien si les cellules cylindriques se désagrègent par suite de l'action des groupes de leucocytes et si les leucocytes détruisent le matériel cellulaire et l'utilisent pour leur rapide multiplication -. Cependant, ce qu'il a vu jusqu'alors permet à l'auteur de conclure que vraisemblablement - les cellules des glandes de LIEBERKÜHN se transforment et mêlent leurs noyaux à ceux des leucocytes; opinion, ajoute-t-il, qui cependant ne répond pas à la théorie classique. -

Les résultats de GULLAND relatifs au thymus nous sont connus. Dans un travail d'ensemble sur le développement du tissu adénoïde (29) et dans une note propre à l'amygdale (30), l'auteur déclare inadmissibles les idées de RETTERER. Le point de départ de la formation amygdalienne est une invagination épithéliale et un tissu conjonctif ambiant très vascularisé. Les leucocytes émigrent en grand nombre des capillaires dans le tissu conjonctif;

ils sont le plus abondants là où le tissu conjonctif est le plus serré, empêchés qu'ils sont par cette densité du tissu d'aller plus loin; par conséquent, ils s'amassent autour des extrémités des cryptes épithéliales, dont la pénétration dans le tissu conjonctif a irrité et par suite épaissi ce dernier. Les leucocytes traversent ensuite l'épithélium, auquel ils se substituent.

Dans les plaques de PEYER de l'échidné, KLAATSCH (38) constate un rapport très intime entre les glandes de LIEBERKÜHN et les follicules; il n'y a pas de limites nettes entre l'épithélium des unes et les éléments lymphatiques des autres; ces derniers se trouvent dans l'épithélium même. Ces rapports intimes glandulo-folliculaires, la constitution en partie épithéliale des follicules de PEYER et les faits de MAURER, de RETTERER, de v. DAVIDOFF disposent l'auteur à admettre l'origine épithéliale des cellules lymphoïdes.

TOMARKIN (88), étudiant les relations des glandes de LIEBERKÜHN et des follicules chez le cobaye, arrive à une conclusion opposée, favorable à l'opinion de STÖHR. On peut voir, dit-il, les amas de leucocytes qui constituent les follicules s'unir à l'épithélium de la surface intestinale, ou bien grimper le long de la paroi des glandes de LIEBERKÜHN. Celles-ci cependant ne perdent jamais rien de leur limitation vis-à-vis du tissu ambiant (contrairement à RETTERER).

FLESCH (23) observe dans l'œsophage de l'homme et du porc une curieuse pénétration des follicules par les conduits excréteurs des glandes acineuses, et même un mélange des éléments qui constituent les deux organes, mélange qui pour lui a une signification physiologique.

RUBELI (90), sur le même objet, trouve aussi, entre les glandes d'une part, les nodules lymphoïdes circonscrits ou l'infiltration diffuse de la muqueuse d'autre part, des rapports intimes. Le travail se termine par diverses considérations, dont certaines relatives à notre question et que nous ignorons malheureusement, ne connaissant le mémoire que par une analyse.

WALDEYER (90) se borne à la constatation de relations analogues entre les glandes trachéales et les amas cellulaires lymphoïdes de la muqueuse.

MAURER (49), enfin, soutient que les amas de globules blancs qui forment les glandes mésentériques et la rate ont leur source première, chez les amphibiens tout au moins, dans les cellules de l'entoderme intestinal; il est ainsi partisan de l'origine épithéliale des leucocytes.

En résumé, dans tous les cas précités, les formations en présence, dont on cherche à établir les relations génétiques, sont, d'une part un tissu

épithélial (cordon épithélial du thymus, invaginations épithéliales de la muqueuse pharyngienne, épithélium de la bourse de FABRICIUS, glandes de LIEBERKÜHN ou leurs représentants et l'épithélium de revêtement de la surface intestinale même, glandes œsophagiennes et glandes trachéales, entoderme du tube digestif); — d'autre part un amas de leucocytes infiltrant le tissu conjonctif.

Dans certains cas et d'après l'observation de certains auteurs, ces deux formations sont en présence, juxtaposées, avant de se pénétrer, avant que l'on voie la disparition des épithéliums et leur remplacement par les leucocytes. D'autres fois et pour quelques auteurs, cette scène de l'acte histogénétique a fait défaut, et l'on s'est borné à constater d'abord la présence des épithéliums, puis à leur place l'existence des lymphocytes.

Les auteurs, à qui il a été donné de voir les deux formations en présence, et qui sont le plus nombreux, sont aussi ceux en général qui soutiennent l'opinion d'après laquelle les lymphocytes viennent du dehors, des vaisseaux en particulier, pénètrent l'épithélium et se substituent à lui (théorie de la substitution ou de la pseudomorphose lymphoïde) (HIS, STIEDA, GULLAND, STÖHR, ZAWARYKIN, SCHWABACH, GARBINI, TOMARKIN).

Les autres, qui n'ont pu le plus souvent que constater la succession chronologique des deux formations, ou qui, comme quelques-uns, ont réussi à déceler leur continuité parfaite, admettent que l'épithélium disparaît en fournissant les lymphocytes, qui sont produits sur place (théorie de la transformation ou de la métamorphose lymphoïde) (KÖLLIKER, MAURER, TOURNEUX et HERRMANN, v. DAVIDOFF, RÜDINGER, KLAATSCH).

Plusieurs auteurs, bien qu'ayant surpris les deux formations épithéliale et lymphoïde au voisinage l'une de l'autre, ne se prononcent cependant pas pour l'une quelconque des opinions précédentes et se bornent à enregistrer le fait anatomique : tels PILLIET, FLESCH, WALDEYER.

RETTNER, et peut-être aussi FLESCH, occupe une place à part. Pour lui, les deux tissus, épithélial et vasculo-conjonctif, se pénètrent réciproquement de la façon la plus étroite; l'épithélium ne produit pas les leucocytes; les leucocytes ne détruisent pas l'épithélium; les deux tissus se conservent intimement mélangés, quoique dans des proportions inégales avec prédominance toujours croissante des leucocytes; il résulte de ce mélange un tissu nouveau, le tissu angiothélial (théorie du mélange).

Après avoir esquissé la question dans ses grandes lignes, en joignant à cet exposé la bibliographie afférente à la question, nous décrirons les faits que nous avons observés.

Nous avons examiné tour à tour le corps du thymus, la tête et le cordon intermédiaire. Les résultats que nous avons obtenus sur ces trois portions de l'organe sont d'ailleurs identiques; le tissu lymphoïde s'y développe donc de la même façon. Ce serait par conséquent nous exposer à des redites fastidieusement inutiles que de répéter successivement une description à peu près pareille de faits essentiellement les mêmes, à propos des trois portions du thymus. D'autre part, il est aussi superflu que nous reproduisions ici tous les détails de la constitution histologique du thymus embryonnaire; cette constitution a été, en effet, très bien décrite chez l'embryon de brebis même par TOURNEUX et HERRMANN. Nous ne voulons consigner dans les lignes qui suivent que les détails importants au point de vue de la question spéciale qui nous occupe. Sauf indication contraire, notre description est faite d'après l'examen du corps du thymus.

Embryon de 25 mm. -- Les lobes du corps du thymus sont peu développés, constitués par des cellules épithéliales à forme polyédrique bien nette, dont les noyaux sont tous semblables. Çà et là, on observe quelques divisions indirectes.

Sur la tête du thymus, qui se compose de deux cavités à paroi épithéliale stratifiée, renflée en bourgeons qui font saillie à l'extérieur, nous avons noté quelques faits. Les mitoses sont peu nombreuses (1—2 sur chaque coupe). On peut trouver au milieu de l'épithélium, soit un élément ayant le noyau très coloré d'un globule rouge, soit un globule rouge sans noyau, reconnaissable par la coloration jaune que lui a donnée l'orange (procédé de coloration de FLEMMING). Nous avons aussi fait une observation qui, d'après ce qui se passera plus tard, a son importance; il s'agit d'un noyau arrondi, de petites dimensions, renfermant 3—4 fragments chromatiques, qui était situé dans le même corps cellulaire qu'un noyau ordinaire, et qui touchait directement à la cavité de l'organe.

Embryon de 20 mm. — Les lobes du corps du thymus sont de constitution épithéliale. Les mitoses sont nombreuses; il y en a en moyenne une dizaine sur la coupe de chaque corps du thymus, ce qui donne un coefficient d'environ 1/50, la coupe de l'organe comprenant à peu près 500 cellules. Sur cet embryon, j'ai observé certains faits ayant trait à la formation des cavités ou vacuoles que présentent les lobes du thymus et qui ont été signalées par TOURNEUX et HERRMANN; ces faits seront mentionnés plus loin, à propos de l'embryon de 28 mm.

A côté de noyaux dont le contour est régulièrement arrondi ou ellip-

tique, je dois en signaler d'autres qui sont irrégulièrement lobés, quadrilobés par exemple, un tronçon de chromatine volumineux s'engageant dans l'un des lobes, PL. II. FIG. 21, *a* et *b*. On observe aussi de petits noyaux juxtaposés, comme chez l'embryon précédent, à des noyaux plus volumineux.

Embryon de 28 mm. — Les lobes sont plus volumineux, subdivisés déjà en lobules. Ils ont encore une constitution complètement épithéliale. Mais, parmi les cellules qui les constituent, il en est quelques-unes dont les noyaux se font remarquer par leur petitesse et par leur coloration foncée. Beaucoup de noyaux sont en division mitotique.

La coupe transversale offre de nombreuses lumières qui représentent le canal principal du thymus et ses diverticules. En outre, il existe quelques grandes cavités, qui, n'étant pas limitées par des cellules plus ou moins nettement arrangées en un épithélium prismatique, n'appartiennent pas à la catégorie précédente d'espaces, et qui, n'étant pas tapissées par un endothélium, ne sont pas non plus des vaisseaux sanguins; dans ces lacunes sont tombés des éléments pareils aux cellules épithéliales qui forment la masse du thymus. TOURNEUX et HERRMANN ont fait chez l'embryon de 38 mm. une observation qui paraît analogue : - dans la plupart des bourgeons existent des vacuoles bordées de grandes cellules claires et incolores... Il semble que les vacuoles résultent de la disparition par résorption de quelques-unes des grandes cellules -. Chez l'embryon qui précède (26 mm.), j'ai vu que réellement il se fait bien une résorption parmi les éléments qui circonscrivent certaines cavités du thymus. Les éléments se creusent de vacuoles souvent très considérables, FIG. 17, *va*; la pression déterminée par l'extension de ces vacuoles déforme et rapetisse le noyau, *ve*. Les cellules deviennent alors claires et vésiculeuses. Ces transformations ont été comparées très justement par TOURNEUX et HERRMANN, quant à l'aspect qu'elles produisent, à ce qui se passe, à ce même moment, pour les cellules superficielles du revêtement épithélial du pharynx et de l'œsophage. Une cellule ainsi distendue par sa vacuole peut éclater, la paroi qui la séparait de la cavité du thymus étant devenue très mince; la cavité cellulaire s'ouvre alors dans la cavité thymique, qui est agrandie d'autant, FIG. 17, *a*. On pourrait comparer l'aspect alors observé à celui que présente le canal médullaire d'un os long en voie d'agrandissement par résorption localisée de la substance osseuse qui l'entoure. En outre, chez ce même embryon, j'ai constaté, dans une cavité thymique toute petite et sans doute récemment formée, un fin réticulum bleu et une masse chromatique rouge semblable à celle d'une

cellule en division cinétique; la cavité ne donnait pas l'impression d'un simple vide, mais plutôt, à cause d'une certaine réfringence, celle d'un espace cellulaire très distendu. Je suppose en conséquence qu'il s'agit ici d'une formation vacuolaire par une sorte d'hydropisie d'un élément cellulaire peut-être en voie de division, ou bien encore d'un élément cellulaire en voie de dégénérescence. On peut même assister au mode de formation d'une semblable vacuole par dégénération d'un élément central, FIG. 16, a, aplatissement et dégénération des cellules qui l'entourent immédiatement, formation enfin d'une cavité que bordent des éléments irrégulièrement cubiques ou prismatiques atteints à leur tour par la vacuolisation. L'aspect d'une vacuole en voie de formation est comparable à celui d'un corps concentrique; aussi puis-je hasarder l'hypothèse que la production de ces corps n'est peut-être autre chose que la continuation, avec certaines modifications, du phénomène de la formation de vacuoles dans l'épaisseur du thymus. Ce qui vient encore à l'appui de l'idée que le mécanisme auquel sont dues les cavités du thymus consiste souvent et peut-être toujours dans une dégénérescence suivie de fonte cellulaire, c'est que dans ces cavités on rencontre constamment des blocs de substance chromatique rouge, traces évidentes de la présence d'un élément cellulaire, dont la chromatine seule, plus résistante, aurait persisté. Ajoutons que les vacuoles thymiques ne s'observent que là où les lobes du thymus sont déjà très épais, comme dans le corps de l'organe, et non dans les endroits de cordon intermédiaire par exemple) où leur diamètre est beaucoup moindre; ce qui tient peut-être à ce que, en raison de l'épaisseur de la masse épithéliale, les parties centrales de celle-ci sont moins bien nourries dans le premier cas que dans le second (à rapprocher des causes probables de la transformation vésiculeuse des cellules les plus internes dans l'épithélium œsophagien).

La tête du thymus de ce même embryon, dont la paroi irrégulièrement épaisse bourgeonne déjà très loin, a une structure encore épithéliale; les cellules sont polyédriques, mais de forme très irrégulière. Quelques-unes renferment de petits noyaux plus colorés. Il faut noter aussi quelques formes cellulaires sans doute dégénératives, ayant un protoplasme dense, un noyau réduit à quelques gros blocs chromatiques compactes et vivement teints en rouge. Les divisions indirectes sont abondantes (une douzaine par coupe). Ce que l'examen nous a révélé de plus intéressant, c'est une série de figures que l'on ne peut interpréter que comme des stades successifs de la division directe, FIG. 21; ces figures, nous les avons observées aussi dans le corps

du thymus; mais elles se présentaient dans la tête de cet organe avec une abondance et une variété beaucoup plus grandes. Outre des formes banales (noyaux en bissac par exemple), nous avons constaté d'abord la présence de deux noyaux très inégalement gros, le plus petit en général plus coloré (*n*), situés soit dans un même corps cellulaire, soit le plus souvent dans deux corps cellulaires séparés par une ligne limitante plus ou moins évidente. De plus, on pouvait voir un grand nombre de noyaux émettant un petit bourgeon arrondi d'un diamètre 5 — 6 fois moindre que celui du corps même du noyau (*b*); ce bourgeon se détachait quelquefois d'une incisure du noyau. Plusieurs fois aussi, nous avons trouvé, à côté d'un noyau et parfaitement distinct de lui, un petit corps nucléaire arrondi, semblable aux bourgeons émis par d'autres noyaux (*n* dans les cellules isolées de la figure); parfois, il existe deux petits corps nucléaires semblables placés à côté l'un de l'autre. Telles sont les formes que nous avons le plus souvent aperçues, et qui seules, à cause de leur fréquence et de l'aspect constamment analogue qu'elles présentent, méritent de fixer l'attention. Elles ressemblent beaucoup aux formations que STEINHAUS (78bis) a décrites dans l'épithélium intestinal de la salamandre sous le nom de « noyaux secondaires ». Le mode de formation admis par l'auteur et qualifié par lui de « gemmation indirecte » est très analogue à celui que nous avons constaté ici. Enfin, comme STEINHAUS, nous supposons que les corps nucléaires, que nous avons vus se former à côté d'un noyau principal et à ses dépens, sont destinés à remplacer les noyaux anciens. La série des figures très démonstratives que donne STEINHAUS à l'appui de son opinion est très comparable aux dessins que nous avons reproduits dans la FIG. 21.

Embryon de 36 mm. — Quelques lobes du corps du thymus offrent encore une cavité épithéliale. Dans certaines cellules épithéliales, on retrouve, comme au stade précédent, des noyaux petits et foncés. On observe même quelques noyaux, rares il est vrai, qui représentent une masse colorée (au procédé de FLEMMING) en violet foncé, plus ou moins rouge ou plus ou moins bleue, sur laquelle se détachent, avec une netteté variable, trois ou quatre corpuscules chromatiques rouges. Disons tout de suite que ces noyaux formeront dans le thymus définitif l'immense majorité. Ça et là, on observe dans un même corps cellulaire deux corps nucléaires très colorés, plan-convexes, se regardant par leurs faces planes et très voisins l'un de l'autre; il ne paraît pas s'agir d'un des stades habituels de l'anaphase. Les mitoses sont du reste nombreuses.

Embryon de 40 mm. — Les lobes du thymus, qui sont volumineux, paraissent, à un faible grossissement, avoir subi en grande partie la transformation lymphoïde. En étudiant avec les objectifs forts les caractères nucléaires de leurs cellules constitutives, on observe toutes les transitions entre le noyau épithélial des stades précédents, grand, pâle, elliptique, à structure réticulée manifeste, et d'autre part un noyau très petit, très coloré, arrondi en partie, dont le suc nucléaire fortement teinté masque en partie la constitution intime. Le second, par comparaison avec les noyaux des globules blancs qui se trouvent dans les vaisseaux, appartient bien certainement à un lymphocyte. La transformation lymphoïde du thymus achevée, l'immense majorité des noyaux auront cette constitution. Les divisions mitotiques sont peu nombreuses.

La tête du thymus du même embryon permet de faire une distinction dans chaque lobe entre une zone corticale presque entièrement épithéliale et une zone centrale riche en cellules à petits noyaux ou cellules lymphoïdes. Çà et là, on observe quelques formes dégénératives probables, semblables à celles dont il a été question déjà chez l'embryon de 2,8 mm. De même, nous avons retrouvé ici les éléments à corps nucléaires jumeaux très colorés, signalés chez l'embryon précédent. Plusieurs fois, nous avons pu faire l'observation suivante. En étudiant attentivement les caractères des noyaux d'un lobe de thymus et les rapports que ces noyaux ont entre eux, on constate qu'ils appartiennent à deux types principaux, les uns plus grands et plus clairs, les autres plus petits et de coloration plus foncée; on s'aperçoit ensuite que ces deux types nucléaires sont en maint endroit accouplés d'une manière assez évidente; chaque couple comprend un noyau clair et un noyau sombre (PL. II, FIG. 20, 1, 2, 3, 4). Il est possible qu'il y ait entre ces deux formes nucléaires une relation génétique, tout comme c'était le cas pour les grands noyaux et les petits corps nucléaires *n* de la FIG. 21.

Embryon de 55 mm. — Les résultats de l'observation sont les mêmes que chez l'embryon de 40 mm. Les mitoses sont assez fréquentes.

Embryon de 85 mm. — Pour la première fois paraît dans la masse du thymus la distinction déjà faite par plusieurs auteurs (KÖLLIKER, DAHMS, TOURNEUX et HERRMANN) entre une substance centrale (substance médullaire de TOURNEUX et HERRMANN) et une substance corticale ou périphérique. La substance centrale, plus claire, se prolonge extérieurement en formant autant de pédicules aux lobes constitués exclusivement par la substance corticale

plus foncée. L'existence de ces pédicules est connue depuis J. SIMON (78). La couche corticale paraît correspondre à la masse thymique tout entière des stades précédents. La substance corticale contient en abondance les éléments à petit noyau arrondi et foncé, que nous avons déjà comparés, assimilés même aux lymphocytes. Quant aux grands noyaux pâles, ils sont en nombre beaucoup moindre que les autres, la proportion étant de 1/30 au plus; ils ont pris des caractères spéciaux que nous retrouverons plus tard; ils paraissent appartenir à des cellules de soutien, auxquelles les petits éléments seraient annexés, disposés par îlots ou par rangées. De nombreuses formes mitotiques sont visibles. De plus, dans cette substance on rencontre certaines formes nucléaires qui peuvent passer pour des figures de division directe : ainsi des noyaux en bissac ou des noyaux étranglés annulairement, l'étranglement pouvant être parcouru par un pont de substance chromatique qui réunit les deux fragments nucléaires; en outre, de grands noyaux auxquels est accolé un petit noyau qui semble en être une portion détachée. La substance médullaire (pédicules des lobes et masse centrale en laquelle confluent ces pédicules) a une structure beaucoup plus lâche que la précédente; les éléments qui la constituent ont des noyaux de grandeur variable, les uns grands et clairs, les autres petits et très colorés; l'importance numérique de ces deux sortes de cellules est à peu près égale; les éléments à petit noyau sont donc bien moins nombreux que dans la substance corticale. Les cellules sont disposées par îlots, séparées par des tractus conjonctifs et par des vaisseaux souvent considérables. Les mitoses y sont plus rares que dans la substance corticale.

La tête du thymus offre une différenciation analogue en deux substances corticale et médullaire. Les mitoses sont abondantes dans la substance corticale qui constitue les lobes; sur la totalité de la coupe transversale de la tête, comprenant une vingtaine de lobes, on peut évaluer à une centaine le nombre de ces mitoses. Cette proportion n'est cependant pas supérieure à celle des stades précédents, puisqu'il ne faut pas oublier que le diamètre de l'organe a plus que décuplé, comparé à ce qu'il était par exemple chez un embryon de 28 mm.; elle serait bien plutôt inférieure. Les figures de division sont du reste bien différentes de ce qu'elles étaient dans les stades jeunes, alors que l'organe avait encore une structure complètement et manifestement épithéliale. Tandis que dans ce dernier cas, les mitoses, qui appartenaient à des cellules épithéliales, offraient de longs chromosomes bien isolés les uns des autres, ici au contraire les éléments chromatiques se

montrent agglomérés en une masse bosselée; en d'autres termes, au lieu du type cinétique que l'on pourrait, eu égard à l'état des chromosomes, caractériser comme - type distinct et disséminé, „ nous avons ici “ un type confus et compact. - Quant à dire si les cinèses, qui sont d'ailleurs de taille variable, appartiennent aux grands ou aux petits noyaux, c'est chose impossible; la variation de grandeur ferait supposer que les deux sortes de noyaux sont en cause. Toutefois les mitoses de petite taille sont en nombre beaucoup plus considérable.

Embryon de 11 cent. — Déjà chez l'embryon précédent, on pouvait constater, mais mieux encore chez celui-ci l'on peut voir que la substance corticale qui constitue les lobes se montre elle-même décomposée en une zone extérieure plus pâle, quoique plus compacte, et une masse intérieure, intermédiaire à la précédente et au pédicule, et qui est très foncée. Autrement dit, chaque lobe a différencié à sa périphérie une couche spéciale; le reste correspond au lobe tout entier du stade précédent. On peut donc distinguer une substance périphérique (zone extérieure des lobes), une substance moyenne (masse principale des lobes), une substance centrale (pédicules et axe central). Les substances périphérique et centrale sont claires, la seconde surtout. La substance centrale doit sa coloration faible à sa texture très lâche; la substance périphérique, bien que dense, est peu colorée, parce qu'elle ne renferme pour ainsi dire aucun des éléments de la substance moyenne, qui valent à cette dernière son aspect foncé. Cette substance moyenne renferme en effet une quantité de petits éléments à noyau très coloré (cellules lymphatiques); elle offre en outre quelques grands noyaux, qui, par rapport aux petits, sont dans la proportion indiquée pour l'embryon précédent. Les substances périphérique et centrale, peu riches en éléments cellulaires, sont surtout pauvres en cellules micronucléées; dans les cellules à grand noyau, celui-ci offre une ou plusieurs incisures parfois très profondes. Ces deux substances sont à peu près exclusivement le substratum des figures de division indirecte.

Embryons de 30 et de 40 cent. Fœtus presque à terme et à terme. — Dans ces stades, le thymus a acquis sa constitution définitive; il a donc pris complètement, examiné du moins à un faible grossissement, l'aspect d'un organe lymphoïde. Une étude complète des stades avancés du thymus ne rentre pas dans le cadre de ce travail. Nous avons surtout l'intention de donner ici les faits qui permettent la comparaison du thymus parvenu à cette période avec l'organe des stades précédents.

On peut retrouver dans le corps du thymus les mêmes zones, périphérique, moyenne et centrale, qu'antérieurement, FIG. 24, PL. II. La zone périphérique, parfois très distincte, forme autour de l'organe une bande bien limitée, très compacte, plus claire, semblable à un épithélium stratifié, ζp . La substance médullaire, riche en vaisseaux, est formée de travées étroites, anastomosées irrégulièrement en un réseau à larges mailles, sm . Le passage de la substance médullaire à la masse corticale se fait par l'élargissement des travées en cordons plus considérables, épais de plusieurs cellules, lesquels à leur tour dans la substance corticale folliculeuse, ζcf , s'élargissent en îlots. En somme, dans la substance médullaire, la structure de l'organe est franchement réticulée, tandis que cette réticulation nous a paru indistincte dans la substance corticale. Aussi bien la méthode de fixation que nous avons employée (liquide de FLEMMING) n'est-elle pas favorable sans doute à ce genre de recherches.

Les éléments cellulaires constitutifs du parenchyme sont variés et forment des catégories bien tranchées. Ces catégories sont pour la plupart comparables à celles qu'ont établies FLEMMING (21, 22), HEIDENHAIN (33) et H. HOYER (36), pour d'autres organes lymphoïdes.

On trouve d'abord, particulièrement abondants dans la substance médullaire centrale, de grands éléments à corps protoplasmique assez volumineux, de forme irrégulière et parfois ramifiée, finement granuleux. Le noyau de ces éléments est caractéristique; il est de deux à trois fois plus volumineux que celui des autres cellules, de forme elliptique ou arrondie, souvent échancré en un ou deux endroits, parcouru par un réticulum délicat, mais net: il contient de un à trois corpuscules chromatiques principaux ou pseudo-nucléoles, vivement teints par la safranine; les autres corpuscules colorables qu'il renferme ne sont pas visibles à première vue et n'atteignent pas à la dignité de pseudo-nucléoles. Je suppose que ces éléments, qui correspondent, sans doute, à une partie des cellules géantes de WATNEY (91), sont des cellules appartenant à la charpente de l'organe. La comparaison de ces éléments avec les cellules que représente H. HOYER, (36, PL. XI, FIG. 4), appliquées sur le réticulum des ganglions lymphatiques et dont il fait des éléments conjonctifs ou endothéliaux, me fortifie dans l'idée que les cellules que je signale dans le thymus font partie de la charpente du parenchyme. Cette comparaison pêche cependant sur deux points: d'abord, en ce que je n'ai pas pu voir les cellules du thymus dans la situation qu'assigne HOYER à ses éléments endothéliaux conjonctifs; en second lieu, parce que HOYER ne décrit pas ces éléments, et ne donne pas les caractères de leur

noyau. En tout cas, l'aspect du noyau des cellules de charpente du thymus rappelle celui du noyau des cellules pédieuses ou cellules de soutien du testicule, sans que j'aie pu cependant déceler dans ce noyau les détails de structure que HERMANN a découverts dans celui de la cellule pédieuse.

A côté de ces éléments de grande taille, il en est d'autres, volumineux aussi, qui se présentent avec les caractères de cellules géantes, bien que je n'aie pu leur trouver plus de deux noyaux; elles ont une forme arrondie, un protoplasme sombre, quoique criblé de petites vacuoles; les noyaux sont gros, vivement colorés. Ces éléments, qui correspondent sans doute à une autre partie des cellules géantes de WATNEY, sont peut-être identiques à ceux qu'a signalés SCHEDEL (74), et aussi à ce que CUÉNOT décrit (13) comme de petites plaques protoplasmiques à un ou deux noyaux.

En beaucoup d'endroits, on trouve des formations qui répondent à la description des corps concentriques; car elles présentent autour d'une masse centrale semée de petits grumeaux chromatiques rouges plusieurs noyaux aplatis très colorés. Il peut arriver que deux corps semblables soient appliqués l'un contre l'autre, adossés par leurs faces planes, ce qui est évidemment un passage à la formation de corps concentriques composés. Je rapproche volontiers ces productions de celles que j'ai signalées dans le thymus d'animaux beaucoup plus jeunes et qui aboutissaient à la création de vacuoles. Les corps concentriques, d'après ces recherches, devraient peut-être leur origine à des dégénérescences et à des fontes de cellules épithéliales; ce seraient donc des productions de l'épithélium. CAPOBIANCO (8) a fait récemment encore intervenir ici la métamorphose régressive des éléments épithéliaux primitifs; il attribue toutefois une double origine aux corps concentriques, qui seraient formés de cellules lymphoïdes au centre et d'éléments épithéliaux à la périphérie. Ne voulant pas traiter la question de la genèse des corps concentriques, je ne prétends pas que ces formations ne puissent être d'une autre nature. Les observations d'AFANASSIEW (1 et 2), qui les a fait dériver de vaisseaux sanguins obturés par leur endothélium, sont très probantes. Il me semble en tout cas que l'on a dû confondre souvent avec les corps concentriques certaines coupes de vaisseaux sanguins. MONGUIDI (53) a du reste été conduit à distinguer entre les vrais et les faux corps concentriques, ces derniers n'étant que des sections vasculaires.

Les préparations colorées par la méthode de FLEMMING montrent une assez grande quantité de cellules que distingue leur contenu protoplasmique, fig. 23, *b*. Leur protoplasme est, en effet, constellé de grains volumineux, colorés en bleu par le violet de gentiane et dits - grains gentianophiles. -

Ces éléments rentrent dans la catégorie des « cellules granuleuses » d'HEIDENHAIN et de H. HOYER, bien que, par la constitution habituelle de leur noyau, ils diffèrent des cellules granuleuses figurées par exemple par HOYER, PL. XII, FIG. 3. Une partie des cellules grenues décrites par WATNEY correspond sans doute à nos éléments gentianophiles. Il est possible aussi que ce soient ces cellules à grains gentianophiles que CUÉNOT (13) a vues dans le thymus du surmulot et qui renfermaient « quelques gros granules clairs qui ne ressemblent point au ferment albuminogène. » Dans les ganglions lymphatiques, FLEMMING a vu des éléments semblables (*loc. cit.*, FIG. 11, *g, h*). Comme FLEMMING, je trouve ces éléments dispersés partout, aussi bien dans la substance médullaire que dans la substance corticale et jusque sous l'enveloppe fibreuse du thymus; c'est même à la périphérie d'un lobe de l'organe que je les ai observés en plus grande abondance. FLEMMING a constaté un grand nombre de fois que ces cellules sont situées au voisinage des vaisseaux sanguins, sans qu'il ait osé en conclure cependant que ce sont des cellules migratrices sorties des vaisseaux; la nature de ces cellules lui est d'ailleurs restée inconnue. J'ai vu pour mon compte de tels éléments loin des vaisseaux et loin des trabécules conjonctives. Du reste, les cellules dont le protoplasme est farci de grains gentianophiles ne sont pas toujours de même aspect ni de même nature. Presque constamment toutefois, les cellules qui sont le substratum de ces grains sont ces éléments de charpente, dont nous venons tout à l'heure de caractériser le noyau; FLEMMING également a trouvé que les grains avaient souvent pour support des cellules fixes ramifiées et étalées, FIG. 11, *h*. Quant à la nature des grains, elle m'échappe absolument. HOYER n'a pas pu davantage se prononcer catégoriquement à ce sujet. Dans quelle mesure, par exemple, les grains éosinophiles, dont SCHAFFER (73) a fait connaître l'existence dans le thymus d'animaux de différents âges, sont-ils identiques aux granules gentianophiles, c'est ce qui reste à établir. N'ayant pas d'observations personnelles qui permettent de comparer les uns aux autres, nous nous bornerons à rappeler que les grains éosinophiles des leucoblastes se sont montrés également gentianophiles entre les mains de v. DER STRICHT (87, p. 91). On sait toutefois qu'il existe, d'après les données histochimiques d'EHRlich, une différence fondamentale entre les granules éosinophiles, qui sont acidophiles (granules α d'EHRlich), et les grains gentianophiles, qui sont basophiles (granules γ et δ d'EHRlich); cette différence histochimique paraît exclure toute identité.

Les cellules à grains pigmentaires, que FLEMMING trouve en abondance dans les ganglions lymphatiques, ont fait défaut dans le thymus. Elles ne

manquent pas cependant dans la glande carotidienne d'embryons du même âge, où les grains sont colorés en brun olivâtre à la suite de l'action du liquide et du colorant de FLEMMING.

Mes recherches ont été infructueuses aussi à l'égard de ces formations que l'on rencontre, d'après FLEMMING (21) et ses élèves, d'après MÖBIUS par exemple (52), en nombre variable à côté du noyau dans les cellules des ganglions lymphatiques et des corpuscules malpighiens de la rate, ainsi que de l'amygdale et de certains autres organes; SCHEDEL (74) a retrouvé ces formations aussi dans les éléments du thymus. Il s'agit des - corps colorables - (tingible Körper) de FLEMMING. Je n'ai pu observer ni dans le thymus d'embryons âgés et d'animaux à terme, ni dans celui d'un agneau de quatre mois, des corps colorables identiques et concordant exactement avec ceux de FLEMMING, c'est-à-dire offrant les formes, la coloration et toutes les qualités regardées par FLEMMING comme distinctives et présentant de plus le caractère d'être bien certainement enfouis dans le protoplasme d'un élément cellulaire. Mes observations ont été plus heureuses sur des ganglions lymphatiques de ce même agneau, que j'avais mis en coupes pour faire sur ce point et sur quelques autres la comparaison avec le thymus. J'ai pu y voir, en effet, des productions que je rapproche des corps colorables; ce sont de petits corps arrondis, de 5 à 10 fois plus petits que les noyaux à côté desquels ils sont situés, colorés en bleu par le procédé de FLEMMING, homogènes ou plus clairs au centre et offrant à leur périphérie quelques masses chromatiques sombres.

Quel rapport y a-t-il entre les - corps tingibles - de FLEMMING et les - noyaux secondaires - de STEINHAUS (78bis), dont il a été question plus haut et dont nous avons rapproché les petits noyaux que nous avons vus se former dans le thymus jeune? STEINHAUS assimile ces noyaux secondaires aux corps colorables de FLEMMING, ainsi qu'à d'autres formations décrites par divers auteurs. Nous devrions, ayant identifié nos petits noyaux aux noyaux secondaires de STEINHAUS, en faire aussi des corps colorables. Cette identification nous paraît cependant ne pas être contenue dans nos observations, et nous préférons provisoirement distinguer entre les uns et les autres. On sait que des corps identiques ou analogues aux corps colorables de FLEMMING ont été trouvés par plusieurs auteurs et dans différentes conditions. Rappelons entre autres les observations de MARTINOTTI (18), de FIRKET (19), et même celles de CAZIN (9), de RUSSEL (71), qui ont décrit dans les tissus pathologiques des formations - lobes hyalins - de CAZIN comparables aux

corps colorables. — On peut encore leur rattacher les « boules hyalines » que l'on a trouvées (DITTRICH (16), CORNIL et ALVAREZ (10), et d'autres) dans les éléments constitutifs du rhinosclérome. — LÖWIT (43), dans le protoplasma des leucocytes de l'écrevisse, a observé des « corps pyrénogènes », qu'il considère comme provenant du noyau des leucocytes et qu'il regarde comme voisins des corps colorables de FLEMMING. — GULLAND (31), qui a vu lui aussi des formations ressemblant aux corps colorables, les interprète tout autrement. Ce sont pour lui des fragments de leucocytes ou de noyaux de leucocytes absorbés par des cellules macrophages ou phagocytes. « I have no doubt that FLEMMING, in describing the « tingible Körper » in and among the cells of his lymph glands, had under his eyes these fragments of degenerate nuclei » (p. 128). Ces corps, GULLAND les trouve dans les organes lymphatiques et particulièrement dans le sinus lymphatique et dans la portion médullaire, moins fréquemment dans les centres germinatifs (contre FLEMMING). — Si l'on admet l'identité des fragments leucocytaires intracellulaires de GULLAND et des corps colorables de FLEMMING, il faut faire de même pour les formations décrites par HEIDENHAIN (33) avant GULLAND et interprétées aussi par lui comme détritiques cellulaires soumis à la phagocytose. — Il faut en faire autant pour les « boules » considérées par NICOLAS (55) comme semblables aux débris cellulaires de HEIDENHAIN, mais ayant selon lui une origine toute différente, et formant le produit de l'élaboration des cellules où on les trouve. — On est ainsi amené encore à rapprocher des corps colorables certaines d'entre les formations décrites par LUKJANOW (44), telles que les « sphères mucinoïdes » ou les « plasmosomes » de cet auteur. On va jusqu'à songer à un rapprochement vers les « corps » ou « noyaux accessoires » (*Nebenkörper*, *Nebenkern*) et vers les « noyaux secondaires » de STEINHAUS, dont il a été question plus haut.

On le voit, cette question est difficile et complexe. Aussi ne disposant que d'observations incomplètes, ai-je voulu la soulever seulement, mais non la traiter. D'après ce que j'ai vu ou plutôt entrevu dans le thymus et dans les ganglions lymphatiques, il y existe nombre de formations variées, encore énigmatiques, qui offrent au cytologiste un vaste champ de recherches, insuffisamment exploré.

Il me faut encore indiquer dans le thymus l'existence de cellules situées dans la zone périphérique de la substance corticale et renfermant des enclaves de forme ovale, plus ou moins vivement teintées par l'orange. On pourra leur comparer les cellules figurées par H. HOYER, PL. XII, FIG. 5, *a* et *b*.

Toutes les formes cellulaires, dont il vient d'être question, ne sont en somme qu'exceptionnelles dans le thymus. L'immense majorité des cellules constitutives de cet organe est formée par des éléments de taille variable, généralement petite, dont les caractères sont ceux qu'on a coutume d'attribuer aux cellules lymphatiques. Ces cellules, très clairsemées dans la substance médullaire, sont au contraire très serrées dans la substance corticale des lobes. Leur corps cellulaire est très peu abondant, de forme polyédrique et souvent ne peut être reconnu qu'avec une grande difficulté. Le noyau, généralement petit, offre des caractères variables. On en voit en effet de toutes tailles. Il offre toutes les constitutions, étant tantôt clair et nettement réticulé, et dans ce cas plus volumineux, tantôt au contraire de structure indistincte, à cause de la coloration foncée que lui communiquent les réactifs. Les noyaux de la zone périphérique de la masse corticale se distinguent par leur état clair, d'où l'aspect général de cette zone. Si dans ces noyaux petits et fortement colorés, la chromatine, rassemblée en 3-4 fragments volumineux, est constamment colorée en rouge ou en rouge violacé à la suite de l'application du procédé de FLEMMING, l'enchylème, qui remplit le noyau, est très diversement coloré (bleu, violet, gris, rose, rouge, orangé); de là, un mélange de couleurs qui est loin d'être désagréable à l'œil. H. HOYER, dans les ganglions lymphatiques traités aussi par une méthode de coloration (la méthode d'EHRLICH-BIONDI), a trouvé pareillement les noyaux nuancés dans tous les tons depuis le violet - mat - (clair?) jusqu'au bleu verdâtre. Il paraît donc exister, entre les diverses cellules des ganglions lymphatiques, des différences de constitution nucléaire, traduites par des variations de couleur, analogues à celles qui distinguent les éléments lymphoïdes du thymus. On peut être certain que, dans le procédé de FLEMMING, en raison de la durée d'immersion dans les différents colorants, de la coloration et de la décoloration à fond, les différentes parties d'une coupe histologique n'ont pas été colorées au hasard par la substance tinctoriale qui les a rencontrées, mais que leur coloration est l'expression fidèle de leur constitution et en est caractéristique.

Ces cellules sont juxtaposées les unes aux autres dans les cordons de la substance médullaire, séparées par une ligne limitante intercellulaire souvent bien nette; elles forment en certains endroits ces cordons à elles seules, les grandes cellules ou éléments de charpente paraissant alors situées librement dans les mailles du réseau de cordons; ailleurs, ces dernières cellules sont mélangées aux éléments lymphoïdes et participent à la consti-

tution de la trabécule. Dans la substance corticale, il m'est impossible de reconnaître un arrangement quelconque des éléments cellulaires.

Les différences de taille et de structure nucléaires permettraient d'établir deux catégories au moins parmi les cellules lymphoïdes, les deux types nucléaires étant reliés du reste par des formes intermédiaires nombreuses. Ces deux catégories correspondent peut-être à celle des lymphoblastes et à celle des lymphocytes, ou au type leucoblaste de LÖWIT et au leucocyte parfait (comp. FIG. 22 et 23, *l* et *l'*). Les éléments à noyau *l'*, qui sont de beaucoup les plus nombreux, et que je considère comme les cellules définitives, ont un noyau arrondi, petit; l'enchylème est en général coloré, mais d'une couleur variable; deux, trois ou quatre gros blocs chromatiques sont plongés dans cet enchylème, reliés à la membrane par des fils très fins, FIG. 2. Les éléments pourvus du noyau *l*, plus rares, que je suis disposé à regarder comme des cellules jeunes, ont un noyau elliptique, volumineux; l'enchylème est coloré par l'orange d'une façon banale; leur réticulum est net et supporte un certain nombre de grumeaux chromatiques de grosseur et de forme très variables. Je n'irai pas plus en avant dans la description des caractères structuraux intimes de ces éléments, non plus que dans l'établissement de leur filiation, ces questions étant à côté de l'objet de ce travail.

Quant aux figures de division, il sera question plus loin des cinèses que l'on trouve dans cette période du développement du thymus. Bornons-nous à dire ici que les figures cinétiques sont petites, du type confus, de forme ramassée et ne paraissent jamais appartenir aux cellules dites de charpente. Ces figures siègent presque exclusivement dans les substances périphérique et centrale et paraissent manquer (cela avec une presque entière certitude) dans la masse corticale intermédiaire aux deux substances précédentes. Outre les cinèses, nous avons trouvé quelques figures de sténose. Mais, de même que l'affirme FLEMMING pour les ganglions lymphatiques, ces figures sont ici très rares et ne présentent certainement pas le mode habituel de multiplication cellulaire. Il est possible que ces figures résident dans les lymphocytes; en tout cas, nous avons vu une fois une forme nucléaire en biscuit étiré, avec chromatine condensée, semblable à celles figurées par FLEMMING (21, FIG. 9, *l*) et par ARNOLD (3, FIG. 18, *c*), et qui appartenait à une cellule endothéliale ou peut-être à un leucocyte migrateur.

J'ai examiné le thymus d'un jeune agneau. Mais je me contenterai de dire, relativement à cet objet, que j'y ai retrouvé essentiellement les mêmes formes cellulaires que chez des animaux plus jeunes, savoir, des éléments lymphatiques comparables aux cellules I et II de la FIG. 23, et des cellules de charpente typiques.

Les observations qui précèdent ne seraient pas complètes, si nous n'ajoutions quelques mots relativement à l'état du tissu conjonctif dans lequel le thymus est situé. Si l'on examine chez de jeunes embryons, longs de 25 à 85 mm., c'est-à-dire pendant la période où les lobes épithéliaux du thymus, subissant la transformation lymphoïde et se remplissant de lymphocytes, deviennent les follicules ou nodules lymphatiques de l'organe définitif, quelle est la constitution du tissu conjonctif capsulaire et intracapsulaire du thymus, on n'y découvre dans la plupart des cas rien de particulier. Dans tout le champ conjonctif qui entoure les lobes du corps du thymus (tissu intracapsulaire), dans la bande annulaire qui circonscrit ce champ et qui est formée d'une trame plus serrée (tissu de la capsule), l'examen le plus attentif ne peut rien révéler en fait de leucocytes immigrés en masse dans cet espace, ou en fait de leucocytes sortant des vaisseaux sanguins. Je ne trouve ni vaisseaux abondants dans le tissu conjonctif qui enveloppe immédiatement le thymus épithélial, ni amas de leucocytes dans les parties de ce tissu voisines de l'épithélium, contrairement à GULLAND, FIG. 9, et semblablement à TOURNEUX et HERRMANN. Le tissu conjonctif s'est toujours montré (sauf dans un cas) (1), très lâchement constitué, renfermant parfois quelques leucocytes semés çà et là, mais nulle part un amas de pareils éléments. L'aspect clair, désert, du tissu conjonctif contrastait le plus souvent d'une manière très frappante avec l'état foncé, dense, des lobes du thymus, à la période d'accumulation lymphoïde maxima. par exemple chez un embryon de 55 mm.

A propos de la texture du thymus et de sa décomposition en plusieurs zones d'aspect différent et différemment constituées, je ne manquerai pas de faire observer combien les faits que j'ai constatés sur le thymus sont semblables à ceux que l'on connaît depuis longtemps pour les ganglions lymphatiques et en général les organes lymphoïdes, et que FLEMMING a consciencieusement et méthodiquement décrits (21).

(1) Dans la tête d'un embryon de 40 mm., j'ai trouvé les lobes épithéliaux déhiscentes en dedans du côté de l'axe de l'organe, comme s'ils étaient pénétrés par le tissu conjonctif ambiant. Celui-ci, tout aussi bien dans ses parties interfolliculaires que dans sa région centrale, renfermait beaucoup d'éléments lymphoïdes.

FLEMMING a retrouvé dans la plupart des formations lymphoïdes qui ont un certain volume les régions centrales plus claires décrites par HIS sous le nom de " vacuoles "; il les nomme " nodules secondaires "; ou bien encore, pour rappeler leur propriété physiologique essentielle, il les désigne sous la dénomination, introduite par BRÜCKE dans la science, de " centres germinatifs ". L'expression de nodules secondaires signifie que ce sont des nodules de second ordre, structurés d'une manière qui leur est propre et situés dans les nodules principaux. Celle de centres germinatifs doit marquer que ces régions sont, comme dit FLEMMING, l'expression anatomique de l'accumulation locale des divisions cellulaires; autrement dit, c'est là que l'on trouve à peu près exclusivement les mitoses dans les organes lymphoïdes.

Les auteurs qui ont étudié la texture du thymus, comme SIMON (78), comme WATNEY (91), comme SCHEDEL (74), élève de FLEMMING, et bien d'autres, ont été à même de constater la différenciation de la substance de cet organe en deux parties, centrale et périphérique, médullaire et corticale. Mais ils n'ont pas été au-delà. Nous avons vu, au contraire, que la substance périphérique ou corticale du thymus se différencie à son tour, à partir d'un certain stade, en une bande étroite de parenchyme plus claire qui est extérieure, et un massif intérieur dense et foncé. Une disposition analogue a été figurée cependant par SCHEDEL (*loc. cit.*, FIG. 21) sans qu'elle ait attiré l'attention de l'auteur. FLEMMING, au contraire, a attribué à divers organes lymphatiques, aux ganglions mésentériques entre autres, une constitution semblable à celle que nous avons décrite pour le thymus. Dans ces organes, en effet, il distingue d'abord le centre germinatif ou nodule secondaire formant substance médullaire plus claire; autour de lui se trouve une écorce composée elle-même de deux couches, l'une interne, mince, très sombre, ou zone intermédiaire, l'autre extérieure, claire, plus large, ou zone périphérique. Je ne crois pas qu'il soit nécessaire d'insister sur la ressemblance du thymus avec le ganglion lymphatique; la seule différence que l'on puisse signaler entre les deux organes réside dans la puissance de la zone intermédiaire pour le premier, son faible développement par contre pour le second.

Au point de vue morphologique et au point de vue physiologique, la désignation de la substance médullaire centrale par les noms de nodule secondaire et de centre germinatif me paraît applicable au thymus.

Morphologiquement, en effet, cette substance est bien un nodule secon-

claire. Il y a à cela une raison embryologique qui manquait à FLEMMING : cette substance apparaît secondairement dans le thymus, dont la constitution, avant la période où la substance médullaire se forme, était celle de la substance corticale.

Physiologiquement, elle représente un centre germinatif, contrairement à SCHEDEL et conformément à la thèse générale défendue par FLEMMING. Elle est, en effet, comme la substance centrale des autres organes étudiés par FLEMMING, le siège de nombreuses figures mitotiques. Ces figures, SCHEDEL, au contraire, ne les trouve que dans la substance corticale (1) et les refuse à la substance médullaire. De là, FLEMMING, dans une note complémentaire de son travail (22), conclut nécessairement que la régénération cellulaire a dans le tissu thymique une autre distribution topographique que celle qu'elle offre dans les autres organes. Je suis d'avis que la formule générale peut être conservée : la substance centrale est un centre germinatif riche en mitoses. Mais cette formule a besoin, pour le thymus, de deux correctifs. Chronologiquement, la substance centrale n'est pas le premier foyer germinatif du thymus, déjà parce qu'elle fait défaut dans les premières périodes du développement de l'organe, puis, parce qu'alors qu'elle est déjà différenciée, ce n'est pas tout d'abord en elle, mais dans la substance corticale qu'on trouve les mitoses les plus abondantes. De plus, dans le thymus développé, elle n'est pas le seul lieu de multiplication; car, ainsi que l'a constaté du reste FLEMMING pour les ganglions lymphatiques, ce n'est que dans les zones sombres et à cellules serrées, que les mitoses font complètement défaut ou sont tout au moins très rares; on en trouve au contraire presque sur chaque coupe dans la zone périphérique de la substance corticale. Les centres germinatifs ne sont d'ailleurs pas, comme je les ai trouvés pour le thymus, étant une fois de plus d'accord avec FLEMMING sur ce point, des formations nécessaires dans un organe lymphoïde. C'est ainsi que le cordon cervical du thymus, intermédiaire à la tête et au corps, manque de substance médullaire; celle-ci fait également défaut dans le cordon qui relie le corps cervical à la partie thoracique. Mes observations ne me permettent pas d'ailleurs de dire avec FLEMMING que ces formations sont en voie de lente fluctuation, c'est-à-dire sujettes à disparition et à réapparition (21, p. 71; 22, p. 361).

(1) L'un des deux dessins, FIG. 21, qui accompagnent le travail de SCHEDEL, est d'ailleurs absolument schématique. Dans un organe de structure aussi compacte que l'est le thymus, il me paraît difficile de voir aussi nettement, au milieu des myriades d'éléments qui encombrant la préparation, les figures mitotiques à un faible grossissement.

Les résultats précédents relatifs à la distribution topographique des mitoses paraîtront peut-être un peu vagues; on aimerait, dans une question de ce genre, trouver une numération exacte des mitoses observées, puis une moyenne des chiffres notés dans les diverses coupes examinées. Une telle précision est malheureusement impossible à atteindre, à cause de la forme même des figures mitotiques, qui est telle, dans les stades âgés, qu'il est quelquefois très difficile de dire si c'est bien une telle figure que l'on a sous les yeux. Un observateur rompu comme FLEMMING à la reconnaissance des figures de division a cru devoir se tenir sur la réserve à cet égard en plusieurs endroits de son travail précité, et particulièrement quand il dit de la zone intermédiaire que les mitoses y manquent totalement ou y sont du moins très rares : correctif sans doute nécessité par la signification problématique de certaines formes cellulaires.

Le thymus se compose donc anatomiquement d'un certain nombre de « nodules lymphatiques - différenciés ou non en substances médullaire et corticale. Ces nodules ou bien sont isolés, comme dans la partie externe de la tête du thymus, ou bien confluent par leur substance médullaire, comme dans tout le reste de l'organe, en formant une masse lobée et même dendritiquement ramifiée. On pourrait croire, à première vue, et en bornant son examen aux stades avancés, que dans le nodule lymphatique la substance médullaire est réellement centrale et intérieure. Ce serait là cependant une façon erronée de se représenter la constitution d'un nodule thymique et du thymus tout entier. En réalité, la substance médullaire est marginale, soit pour un nodule élémentaire, soit pour l'ensemble des nodules que présente la coupe transversale du thymus; c'est ce que montre l'examen d'un embryon de brebis suffisamment jeune (7 cent., par exemple). Seulement cette substance occupera, par rapport à un certain organe, tel que la carotide, une situation plus interne que la substance corticale. Dans la suite du développement, elle tendra à être entourée de plus en plus par la substance corticale, jusqu'à ce qu'il ne reste plus qu'un ou plusieurs hiles ménagés entre les nodules élémentaires, par où les vaisseaux et le tissu conjonctif peuvent venir des parties environnantes, spécialement de la carotide, pour pénétrer dans l'intérieur de l'organe. On remettra les parties en leur situation respective véritable et primitive, en déroulant le nodule ou l'ensemble nodulaire et en l'étalant autour de la carotide.

Nous venons d'employer l'expression de « nodules lymphatiques », à la place de celle, plus usitée en France, de « follicules lymphatiques », que

FLEMMING et la plupart des auteurs allemands, à la suite de HENLE, proposent d'abandonner. Le terme de follicules n'est cependant pas aussi condamnable qu'il le paraît au premier abord. Ne doivent être nommées follicules, selon HENLE et FLEMMING, que les formes d'organes lymphoïdes, telles que l'amygdale, les nodules lymphatiques de la bouche et du pharynx, qui sont pénétrés par de véritables invaginations de la muqueuse. Les autres organes lymphatiques qui ne satisfont pas à cette condition anatomique ne méritent pas le nom de follicules. Il est bon d'observer à cet égard, que le nombre des organes lymphoïdes qui, dépourvus d'invaginations épithéliales, doivent être rayés de la liste des follicules, va diminuant de jour en jour. Déjà, le thymus remplit les conditions exigées, puisqu'il loge, au moins au début, des diverticules de l'épithélium branchial; les glandes de PEYER et bon nombre de ganglions de la trachée et de l'œsophage sont dans le même cas, étant pénétrés par des culs-de-sac de l'épithélium digestif ou respiratoire.

Pour terminer, nous ajouterons quelques remarques sur les figures de division que nous avons observées. Il est hors de doute que les élégantes cinèses que l'on trouve dans les premiers temps du développement du thymus appartiennent à des cellules épithéliales, puisque la structure de l'organe est encore à cette époque complètement épithéliale. Dès les premiers indices de la transformation lymphoïde, et lorsque plus tard cette transformation est centrale, surgit une difficulté. Que sont les divisions cinétiques que l'on a sous les yeux et dont les caractères sont du reste autres que ceux des cinèses observées précédemment? Doit-on les attribuer exclusivement à des lymphocytes?

La question revient à se demander quel est le mode de multiplication des lymphocytes. L'accord ne s'est pas encore fait quant aux aptitudes mitotiques des lymphocytes. FLEMMING (21) pense que les lymphocytes se développent dans les glandes lymphatiques aux dépens d'éléments plus jeunes ou lymphoblastes et qu'ils continuent ensuite à se multiplier par mitose. GRAWITZ (1), HANSEMANN (32) sont d'un avis analogue. Selon LÖWIT, au contraire (40, 41), selon RIBBERT (68) et BAUMGARTEN (5), les figures cinétiques que l'on trouve dans les ganglions lymphatiques n'appartiennent ni aux lymphocytes, ni à leurs ancêtres cellulaires, les lymphoblastes. La division des leucoblastes de LÖWIT (précurseurs des leucocytes et

(1) Je ne sais dans quel travail GRAWITZ, qui est ici cité d'après HANSEMANN, a soutenu cette opinion.

identiques aux lymphoblastes qui forment les lymphocytes) ne se fait pas d'après lui par mitose, tandis que ce mode de division est celui des érythroblastes (précurseurs des érythrocytes ou globules rouges). RIBBERT et BAUMGARTEN soutiennent d'autre part que les figures mitotiques appartiennent aux cellules fixes des glandes lymphatiques : savoir, soit aux cellules du réticulum (BAUMGARTEN), soit aux cellules de l'endothélium lymphatique (RIBBERT). GRÜNBERG (28) a adopté une opinion mixte : les globules blancs se forment d'après lui dans les ganglions lymphatiques par la division tant des cellules lymphatiques libres dans le réticulum que des cellules endothéliales de ce réticulum.

Pour les auteurs qui admettent la division mitotique des lymphocytes, il s'agissait alors de distinguer les figures de division de ces lymphocytes de celles qui appartiennent aux cellules fixes. FLEMMING et GRAWITZ, pour faire la distinction, se sont fondés uniquement sur la grandeur des figures : les plus petites sont celles des cellules lymphatiques. HANSEMANN a fait plus ; il a donné pour les ganglions lymphatiques de l'homme les caractères différentiels des mitoses des cellules du réticulum, de celles des cellules de l'endothélium lymphatique, de celles des lymphoblastes enfin. Selon lui, les différences entre les cellules endothéliales et les lymphoblastes sont les suivantes : dans les lymphoblastes, le cytoplasme est très transparent pendant la division, réduit souvent à un simple réticulum ; l'aurole claire qui entoure la figure mitotique n'est que peu ou point visible ; la division du corps cellulaire est souvent déjà terminée alors que le noyau est encore en état de dispirème ; les chromosomes sont courts, épais, souvent très tortueux, tendant à s'agglutiner ; le fuseau est très petit et aplati, si bien qu'il peut être complètement recouvert par les chromosomes lors de l'expansion du monaster ; les corpuscules centraux ne sont pas visibles. Les mitoses des cellules endothéliales ont des caractères opposés. Les figures de division des cellules endothéliales et des cellules de réticulum peuvent aussi être distinguées entre elles. Se fondant sur ces observations, HANSEMANN dit que ni les cellules du réticulum ni celles de l'endothélium ne fournissent les lymphocytes, mais que ceux-ci dérivent de lymphoblastes spéciaux ayant des mitoses caractéristiques.

Plusieurs des caractères reconnus par HANSEMANN aux lymphoblastes, nous les trouvons aussi dans les éléments en division indirecte que présente le thymus déjà transformé lymphatiquement ; ce sont en somme des caractères négatifs : ainsi, l'absence de l'aurole claire, la brièveté, l'épaisseur

des chromosomes et leur agglomération en une masse compacte à détails le plus souvent indistincts, l'absence de fuseau. Les mitoses des cellules épithéliales dans le thymus plus jeune avaient des caractères inverses : présence d'un fuseau, le plus souvent court, mais net; chromosomes distincts, fréquemment tortueux et alors coupés en plusieurs tronçons; auréole claire; corpuscules centraux et corpuscules polaires, les premiers représentés par deux ou même trois grains juxtaposés (ces corpuscules n'étant pas visibles dans les mitoses du thymus lymphoïde). Nous ajouterons à ces faits concernant la division des cellules épithéliales les détails suivants : la couronne équatoriale est souvent incomplète, en fer à cheval (1); le dyaster et le dispirème sont rares, le monaster est la forme la plus fréquente; les pro-phases présentent les caractères habituels.

En somme, ce qui permet d'opposer les divisions des cellules épithéliales à celles qu'on rencontre dans le thymus devenu lymphoïde, c'est la présence chez les premières des particularités de structure qu'on a coutume de constater dans les éléments cinétiques et leur absence chez les autres, conformément à SCHEDEL (74) qui a trouvé indistinctes dans leurs détails les mitoses du thymus. A ce propos, le thymus différerait considérablement des autres organes lymphoïdes, puisque dans ces derniers, dans les ganglions lymphatiques en particulier, FLEMING a réussi non seulement à trouver les mitoses (ce qui est tout ce qu'il m'a été possible de faire dans le thymus définitif), mais encore à suivre leurs étapes et à déceler leurs caractères.

On conçoit maintenant comment, l'opposition que nous établissons entre les cellules épithéliales et les lymphoblastes en division indirecte étant la même que celle qu'a faite HANSEMANN entre les cellules du réticulum et les lymphoblastes en état mitotique, il s'en suit tout naturellement un rapprochement entre les cellules épithéliales de l'ébauche et les cellules du réticulum de l'organe définitif. C'est une preuve de plus en faveur de l'idée que nous soutenons, à savoir que les cellules de charpente représentent ce qui reste des éléments de l'épithélium primitif. Par suite, si les cellules de réticulum se divisaient dans le thymus définitif, on devrait leur trouver vraisemblablement les mêmes caractères qu'aux cellules de l'ébauche épithéliale. Et comme on n'observe pas de figures offrant ces caractères, il en résulte que probablement toutes les formes cinétiques que l'on aperçoit sont des divisions de lymphoblastes. L'absence de division dans les cellules

(1) FLEMING, qui a eu de semblables images sous les yeux, FIG. 14, c, les considère (p. 78) comme des figures déformées par une mauvaise fixation.

dites de charpente n'a rien de singulier. L'état quiescent absolu caractérise les cellules de soutien d'un autre organe, j'ai nommé le testicule. Ici aussi, les cellules de soutien, qui sont, comme les cellules de charpente du thymus, le résidu de l'ébauche épithéliale primitive, ne se divisent plus une fois différenciées. Dans les éléments propres à la glande, les cellules séminales, que l'on peut mettre sur le même rang que les lymphocytes propres au thymus, les divisions se succèdent au contraire très activement.

Des observations qui précèdent se dégagent les principaux faits suivants, qui confirment essentiellement les données de KÖLLIKER et de TOURNEUX et HERRMANN pour l'histogénèse du thymus, celles de FLEMMING pour l'arrangement anatomo-microscopique du parenchyme thymique, celles de HANSEMANN pour la cytogénèse des éléments du thymus.

Dans la période de transformation lymphoïde du thymus (embryons de 25 à 85 mm.), on voit paraître dans les lobes, à côté des cellules épithéliales primitives et peut-être formés à leurs dépens, des éléments à noyau de plus en plus petit et de plus en plus coloré, semblables à des lymphocytes. C'est chez des embryons de 28 à 40 mm. de long, c'est-à-dire au fort de l'accroissement des lobes thymiques et au début de la transformation lymphoïde, que les divisions mitotiques s'observent le plus abondamment. Plus tard (embryons de 85 mm. et au-delà), le thymus se différencie en une masse extérieure ou corticale et une substance centrale ou médullaire, celle-ci plus claire, plus lâchement texturée, beaucoup plus pauvre en éléments lymphatiques. Dans la substance corticale à son tour se différencie une zone périphérique moins foncée, qui est sans doute une zone prolifératrice, car elle offre des figures de division mitotique qui manquent par contre dans le reste de la substance corticale. Rien dans l'entourage conjonctif des lobes du thymus n'autorise à dire que c'est de ce tissu conjonctif et de ses vaisseaux que proviennent les lymphocytes qui remplissent l'organe. Il est probable que les cellules épithéliales, après s'être multipliées activement par cinèse, donnent naissance à des lymphoblastes soit par cinèse, soit par sténose nucléaire, car on trouve les deux modes de division. Dans la sténose, on voit se faire de petits bourgeons nucléaires; on constate d'autre part l'existence de petits noyaux voisins de noyaux plus grands ou placés dans le même corps cellulaire; les deux figures sont vraisemblablement les deux stades successifs d'un même processus. Les cinèses des cellules épithéliales d'autre part se distinguent par plusieurs caractères de celles que présenteront plus tard les lymphoblastes à leur tour. Ceux-ci, en effet, chez les embryons plus âgés, se

divisent cinétiquement pour donner lieu aux lymphocytes ou cellules lymphoïdes définitives. Il est vraisemblable qu'un certain nombre de cellules épithéliales persistent dans l'organe complètement développé sous forme de cellules de charpente. On pourrait comparer ces cellules tant par leur destinée que pour leur forme et pour la constitution de leur noyau aux cellules de soutien du testicule, tandis que les courées de lymphocytes seraient comparables aux grappes d'éléments séminaux.

II.

Glande thyroïde.

L'historique des découvertes relatives à l'organogénie de la glande thyroïde peut se résumer ainsi, particulièrement pour les mammifères. W. MÜLLER (54) et KÖLLIKER (39) trouvent que la thyroïde prend naissance par une ébauche médiane issue de la paroi ventrale du pharynx. WÖLFLE (92) et STIEDA (79) soutiennent au contraire qu'elle doit son origine à deux ébauches latérales parties des fentes branchiales. BORN (6) concilie les deux opinions en montrant que les ébauches latérales concourent avec le rudiment médian à constituer la glande thyroïde : manière de voir confirmée depuis par tous les auteurs [FRORIEP (24), FISCHLIS (26), HIS (35), DE MEURON (51), KASTSCHENKO (37), PIERSOL (57), nous (56)] que cette question a occupés.

Les ébauches latérales de la thyroïde avaient été vues avant WÖLFLE et STIEDA, ailleurs que chez les mammifères, par REMAK (61), dont l'attention fut attirée par la présence chez le poulet de vésicules épithéliales provenant de la quatrième poche branchiale, et qui les considéra déjà comme des thyroïdes accessoires; chez le même animal, ces vésicules furent retrouvées par GOETTE (27bis), SEESSEL (76), KÖLLIKER (39); elles furent convenablement décrites entre autres par REMAK et par SEESSEL.

Les résultats de STIEDA (79) marquèrent d'emblée un grand perfectionnement dans l'état de nos connaissances sur cette question. Il suffit pour s'en convaincre de jeter un coup d'œil sur les figures 8, 10, 11, qui sont d'une fidélité remarquable. Il fit dériver la glande thyroïde de deux ébauches qu'il vit se former aux dépens des deux dernières fentes branchiales (4^{mes} fentes); mais il ne sut pas montrer de quelle façon les ébauches en question fournissent la glande thyroïde, et c'est faute d'avoir trouvé une autre source de matériel cellulaire, pour le développement de cet organe,

qu'il fit intervenir celle-là. Quant au développement ultérieur de la glande, ses recherches l'ont conduit à confirmer en grande partie les faits découverts soit par W. MÜLLER, soit par KÖLLIKER, savoir : le bourgeonnement de la glande, la formation de cordons épithéliaux, l'anastomose de ces cordons, l'apparition d'une fente, d'une lumière dans l'intérieur du cordon, la transformation de ces lumières çà et là en cavités arrondies, et du même coup la formation des vésicules thyroïdiennes, l'immigration des vaisseaux dans la thyroïde et, comme conséquence, l'égrènement des cordons épithéliaux en îlots creux ou vésicules, découpés par les vaisseaux. Les figures 7, 8, 10 de STIEDA représentent chez le mouton une formation connexe avec l'ébauche thyroïdienne latérale (seul rudiment de la thyroïde d'après l'auteur); il la considère comme la glande carotidienne (p. 22), après avoir (p. 21) nommé glande carotidienne une autre ébauche. Nous avons déjà laissé entendre (voir p. 92) que STIEDA avait en réalité confondu deux organes différents, l'un en connexion avec la troisième poche branchiale, l'autre dépendant de la quatrième poche. Nous avons déjà étudié le premier comme glande carotidienne. Nous retrouverons le second tout à l'heure.

BORN (6), après avoir constaté chez un embryon de porc de 11 mm. des diverticules pharyngiens correspondant à la quatrième paire de poches entodermiques, nomme ces diverticules ébauches thyroïdiennes latérales. Chez un embryon plus âgé (13 mm.), ces évaginations se sont allongées et à présent incurvées de façon à offrir une concavité interne; - elles montrent une lumière nette et quelquefois à leur extrémité aveugle certaines proéminences, — comme pour la formation d'acinis - (p. 295).

Après avoir décrit les déplacements des ébauches latérales, BORN fait connaître le fait important de leur fusion avec la glande thyroïde médiane (embryon de plus de 2 cm.) et continue : - ces formations paires qui, après leur fusion, se laissent encore reconnaître par leur structure histologique distincte, se transforment en un réseau trabéculaire épithélial de même aspect que celui de l'ébauche impaire -. Il les nomme donc - thyroïdes latérales - en raison du lieu de leur origine, ou - postérieures - à cause de leur situation dans l'organe total et par rapport à l'ébauche médiane (p. 300). - Le collet, par lequel l'ébauche thyroïdienne latérale tubuleuse est rattachée au pharynx, paraît à présent très aminci; cependant on peut y reconnaître le plus souvent une lumière encore nette. Ce collet mince pousse en arrière un bourgeon cellulaire plein, coudé. L'extrémité ventrale renflée en massue a épaissi ses parois, mais ne paraît pas modifiée pour le reste -

(embr. de 18 mm.) (p. 302). Chez des embryons de 19 à 20 mm., le réseau formé par la thyroïde médiane s'est rapproché du fond des tubes, qui représentent les thyroïdes latérales, jusqu'à entrer en contact avec ces tubes. Ceux-ci sont séparés du pharynx; leur paroi s'est très épaissie. Leur extrémité ventrale plus épaisse paraît çà et là bosselée. Il se fait chez des embryons de 21 mm. une union complète des deux formations qui deviennent entièrement continues. Toutefois les portions dorsale et externe de la thyroïde latérale sont encore libres; elles ont une lumière nette, qui n'existe plus dans les parties internes, celles qui subissent la fusion; celles-ci ne présentent plus que quelques espaces irréguliers dans leur masse formée de noyaux serrés. C'est alors que la surface de l'extrémité ventrale de l'organe se couvre de saillies et de dépressions dans lesquelles pénètrent des capillaires; c'est là l'indice de la transformation trabéculaire et réticulaire de la thyroïde latérale. Plus tard, on peut encore, malgré la similitude d'aspect, distinguer le réseau de la thyroïde latérale de celui de la thyroïde médiane par sa plus grande coloration. Chez un embryon de 26 mm., alors que la glande forme un organe unique, on reconnaît la provenance des parties latérales du réseau à leurs mailles étroites et à leurs travées épaisses. Chez un embryon de 37 mm., la distinction des portions latérales et médiane ne peut plus être faite.

DE MEURON (51), suivant l'évolution de la quatrième poche branchiale, prétend que celle-ci fournit un diverticule plus ou moins aplati qui l'accompagne du côté ventral et un peu en dedans, puis dépasse le fond même de cette poche. C'est évidemment ce diverticule, bientôt transformé en une vésicule, qui, dit-il, a été décrit comme origine latérale de la thyroïde par BORN et que STIEDA considérait comme l'ébauche unique de cet organe. Quant à l'extrémité de la poche branchiale qui se trouve placée du côté dorsal de ce diverticule, l'épithélium qui en tapisse le fond est légèrement épaissi et présente en cet endroit les mêmes caractères que dans le prolongement dorsal de la troisième fente (embryon de mouton de 11,5 mm.). C'est, ajoute DE MEURON, cet épaississement terminal qui a été décrit et figuré par STIEDA comme l'origine de la glande carotidienne (p. 583) (1). En résumé (p. 584), la quatrième poche branchiale donne naissance à deux parties distinctes: un diverticule ventral arrondi, qui se détache plus tard pour se joindre à l'ébauche de la thyroïde primitive; — un épaississement

(1) Nous savons (v. p. 62) que STIEDA a aussi nommé glande carotidienne autre chose

dorsal et latéral du fond de la poche. Poursuivant l'évolution de l'une et de l'autre formation, DE MEURON montre comment le prolongement ventral de la quatrième poche devient une ébauche thyroïdienne latérale et accessoire, en s'unissant à l'ébauche médiane et principale; il ne faudrait cependant pas croire que les lobes latéraux de la thyroïde définitive proviennent exclusivement des thyroïdes latérales. Le phénomène de la réunion des rudiments latéraux et médian est ensuite décrit un peu autrement par DE MEURON que par BORN; l'objet d'étude de ces auteurs est différent d'ailleurs, l'un ayant examiné le mouton, l'autre le porc. La thyroïde accessoire ou latérale, après avoir perdu sa communication avec le fond de la quatrième poche, et après que celle-ci à son tour s'est séparée du pharynx, est isolée de toutes parts; mais elle ne tarde pas à être enveloppée par les boyaux cellulaires, auxquels entre temps la thyroïde médiane a donné naissance. Elle-même subit d'importants changements. Ses cellules prolifèrent rapidement, de sorte que sa lumière ne tarde pas à disparaître ou devient tout à fait irrégulière. En même temps, on voit partir de sa surface des boyaux cellulaires qui s'étendent de plus en plus, sont entourés par le tissu conjonctif et qui donneront naissance à des follicules pareils à ceux de la thyroïde primitive (p. 588 et 589). La fig. 23 représente très fidèlement les dispositions réalisées actuellement. Les boyaux issus de la thyroïde latérale se mêlent à ceux partis de la thyroïde médiane sans s'anastomoser avec eux, contrairement à BORN et conformément à l'observation de FISCHELIS.

Quant à l'épaississement du fond de la poche, il constitue une masse solide arrondie, placée en arrière du lobe latéral de la thyroïde et comme incrustée dans sa surface postérieure. Les boyaux cellulaires du corps thyroïde l'entourent de tous côtés sauf en arrière..... Il est alors constitué par de petites cellules arrondies, d'aspect plus ou moins lymphatique et groupées en masses secondaires séparées par des trabécules de substance conjonctive. Sa structure est donc la même que celle de la partie supérieure du thymus formé par épaississement de l'épithélium dorsal de la troisième fente branchiale - (p. 589). Chez des embryons humains de 16 et de 28 mm., l'auteur a trouvé les mêmes dispositions. Des embryons plus avancés (de 20 et 18 mm.) lui ont montré l'organe dorsal (épaississement du fond de la quatrième poche) structuré comme le thymus.

Dans ses conclusions (p. 619 et 620), l'auteur homologue chez les mammifères aux ébauches du thymus du poulet la partie qu'il a désignée comme portion supérieure du thymus (mais qu'il suppose être ailleurs la

glande carotidienne), ainsi que l'organe qui provient du fond de la quatrième poche branchiale et qui reste dans le voisinage de la glande thyroïde et particulièrement de la thyroïde latérale; la nature histologique de ces organes correspond d'ailleurs, prétend-il, à celle du thymus. L'auteur n'est pas embarrassé pour expliquer que l'organe dorsal de la quatrième poche, bien que partie intégrante véritable du thymus, demeure en connexion avec la thyroïde; il explique même par ce rapport, de cause purement mécanique, que quelques observateurs, ignorant sa véritable signification, l'aient pris pour une glande thyroïde accessoire.

KASTSCHENKO (37, p. 22) s'exprime comme il suit à propos de ce dernier organe. « Pour ce qui concerne la - portion dorsale du thymus - décrite par DE MEURON, qui doit phylogénétiquement appartenir au thymus, mais dériver de la quatrième poche épithéliale et se séparer plus tard de l'ébauche latérale de la thyroïde, je n'ai pu en trouver trace. La petite évagination de l'ébauche latérale de la thyroïde, que j'ai considérée hypothétiquement comme la pointe de la quatrième poche épithéliale proprement dite, partage le sort du tube tout entier ». Pour KASTSCHENKO, les ébauches latérales de la thyroïde ne se placent ni au côté dorsal, ni au côté externe, mais sur la face interne de l'ébauche médiane; celle-ci, avant de se fusionner avec les ébauches latérales, entoure en effet ces dernières du côté externe. Comme DE MEURON, l'auteur soutient, contre HIS, que les ébauches latérales ne fournissent pas exclusivement les lobes latéraux de la thyroïde définitive; elles ne jouent même qu'un faible rôle dans l'édification de la masse totale de la glande, au moins chez le porc. Avec les progrès du développement, la cavité de l'ébauche latérale diminue de longueur, tandis que sa paroi s'épaissit, en poussant de nombreux bourgeons pleins, qui se transforment peu à peu en un conglomérat de cordons épithéliaux avec tissu conjonctif interposé très vasculaire. C'est alors que les parties latérales de l'ébauche médiane s'accroissent fortement en arrière et entourent les deux conglomérats symétriques en avant et en dehors. Puis se fait la fusion des deux ébauches, dont la structure devient identique à tel point qu'elles ne peuvent plus être distinguées.

PIERSOL (57) décrit chez le lapin l'ébauche thyroïdienne latérale comme se formant aux dépens de la quatrième poche entodermique branchiale; mais il ne donne aucun fait nouveau relativement à l'évolution ultérieure de cette formation.

Quant à FISCHELIS (20), son travail renferme, ainsi que déjà nous le faisons observer dans notre mémoire antérieur, des résultats contradictoires

relativement au lieu d'origine de la thyroïde latérale; tour à tour en effet, il fait dériver celle-ci de la quatrième (p. 435) et de la troisième poche (p. 438).

Dans notre travail antérieur (59), nous avons assigné la quatrième poche entodermique branchiale comme point de départ de la thyroïde latérale; mais nous n'en avons pas suivi le développement ultérieur. Nous avons observé aussi l'épaississement de sa paroi, dont nous avons dit (p. 216) : « Quant à l'épaississement dorsal et latéral de la quatrième poche branchiale, décrit par DE MEURON et considéré par cet auteur comme prenant part à la constitution du thymus, il est vraisemblablement représenté par l'amas cellulaire lymphoïde qui renforce la paroi externe de l'ébauche thyroïde latérale; nous n'avons pas vu cependant cet amas se séparer de cette ébauche et devenir indépendant. »

Chez un embryon de 10 mm., la quatrième poche branchiale se comporte de la façon suivante. Elle arrive dans le pharynx au niveau de l'endroit où celui-ci se prolonge de chaque côté de la fente laryngée par les deux gouttières dites *fundus branchialis*; c'est ce *fundus branchialis* même qui lui sert de pédicule. La portion de cette poche, qui prolongée irait rejoindre la dépression correspondant à la quatrième poche épidermique, fait avec le reste de la poche un angle presque aigu, de sorte que l'ensemble de la quatrième cavité branchiale entodermique est représenté par deux conduits branchés l'un sur l'autre, de manière à laisser entre eux une masse triangulaire de tissu. Si maintenant on suit la série des coupes, on voit que cette masse de tissu disparaît de plus en plus complètement, laissant à sa place une cavité spacieuse, en laquelle confluent les deux branches dont il vient d'être question. Cette cavité, que nous appellerons désormais, avec sa paroi, ébauche thyroïdienne latérale, présente, sur ces coupes, deux prolongements dorsaux : l'un, interne, dont la lumière très étroite communique avec la cavité du pharynx; l'autre, externe, qui n'est que l'extrémité externe de la quatrième poche. Plus bas, les coupes ne montrent plus rien de la communication de l'ébauche thyroïdienne latérale avec le pharynx. Cette ébauche se montre alors comme une cavité piriforme, à grosse extrémité ventrale et interne tournée vers la fente laryngée, et dont la petite extrémité ou queue forme un prolongement dirigé en dehors et du côté dorsal.

Il y a de plus quelques dispositions anatomo-microscopiques et histologiques intéressantes à signaler. L'extrémité externe et ventrale de la dilatation piriforme, qui représente l'ébauche thyroïdienne latérale, présente un renflement volumineux de sa paroi épithéliale fortement saillant au-

dehors; cette paroi, qui partout ailleurs a la structure d'un épithélium stratifié à plusieurs assises de cellules prismatiques, perd ici sa structure épithéliale régulière et se montre composée d'une accumulation dense de cellules irrégulièrement agencées. Les divisions indirectes sont nombreuses dans la paroi épithéliale, notamment dans le renflement de cette paroi; à signaler aussi des cellules à noyau grand et clair, semblables à des ovules primordiaux. Au niveau du renflement en question, la *membrana prima*, limite de l'épithélium et du tissu connectif ambiant, a disparu. En d'autres points, sur d'autres coupes de la thyroïde latérale, on observe que çà et là, particulièrement du côté externe et ventral, la paroi épithéliale s'épaissit localement, de façon à former de petits prolongements en pointe; la *membrana prima* est soulevée par ces prolongements et a même pu disparaître à leur sommet; la paroi épithéliale se confond alors avec le tissu conjonctif embryonnaire. Celui-ci, qui d'une manière générale est épaissi et condensé autour de la thyroïde latérale, notamment sur la face externe de cette dernière, présente de nombreux noyaux en division, qui m'ont paru particulièrement abondants dans les points où l'épithélium est confondu avec le tissu conjonctif; le tissu est vasculaire, surtout sur la face externe de la thyroïde latérale.

Les dispositions que présente un embryon de 14 mm. diffèrent déjà beaucoup de celles offertes par l'embryon précédent. La poche branchiale n'est plus rattachée au pharynx par un canal, mais seulement par un cordon assez étroit. Les deux branches dont se composait cette poche se retrouvent encore, laissant entre elles un angle qui de haut en bas devient de plus en plus aigu; le sinus de cet angle ne regarde plus en dehors et du côté ventral, mais au contraire un peu du côté dorsal et toujours en dehors; les deux branches, sans perdre leur rapport réciproque, ont donc effectué un mouvement de rotation de moins de 90°. La principale modification consiste en ce que l'angle qu'elles laissent entre elles est à présent rempli par un corps volumineux, de section oblongue, qui adhère intimement à la paroi épithéliale et qui en paraît être un épaississement externe; nous appellerons désormais ce corps, en raison de sa destinée, la *glandule thyroïdienne*; il se comportera plus tard, en effet, comme un corps annexe de la glande thyroïde et particulièrement de l'ébauche thyroïdienne latérale, à laquelle nous le voyons rattaché dès son origine. Nous reviendrons du reste plus loin sur les caractères structuraux et sur les connexions exactes de cette glandule. La poche branchiale se continue, comme chez l'embryon précédent, par une vésicule

spacieuse, de coupe ovale, qui dirige du côté ventral et vers la ligne médiane sa grosse extrémité.

Chez un embryon de 15 mm., les dispositions ne sont que peu modifiées. La branche externe de la poche branchiale a beaucoup diminué. Elle forme à présent avec la branche interne une sorte de T. La glandule thyroïdienne est toujours à la place qu'elle occupait auparavant, c'est-à-dire au côté dorsal et externe de la poche branchiale, FIG. 26.

Quelle est la structure, quelles sont les connexions intimes de l'organe nouveau que nous venons de voir se produire?

La glandule thyroïdienne est un corps arrondi, formé par un ensemble de trabécules irrégulièrement épaisses, anastomosées en réseau, les mailles du réseau étant occupées, dès l'apparition de la glande, par des capillaires sanguins, semblablement unis en un réseau. Les cellules qui constituent ces trabécules sont de nature épithéliale, de forme polygonale sur la coupe. Ces cellules se distinguent par la densité et par suite l'aspect sombre de leur corps protoplasmique, ce qui fait que la glandule attire immédiatement les regards par sa coloration foncée, aussi bien que par sa forme arrondie bien délimitée.

La limite de la glandule est, en effet, partout nette, excepté du côté interne; là, sur une étendue assez restreinte, la glande se confond avec la paroi épithéliale de la quatrième poche branchiale, ou, si l'on veut, de l'ébauche thyroïdienne latérale. Nous avons cherché à nous rendre compte exactement des rapports qu'à ce niveau les deux organes présentent entre eux, et, dans ce but, nous avons dessiné la FIG. 27. On y reconnaît que les cellules épithéliales de l'ébauche thyroïdienne latérale, *glt*, présentent à l'endroit de l'insertion de la glandule une disposition irrégulière: que des cellules, qui font partie du tractus épithélial, sont déjà douées de la coloration foncée qui est le caractère des éléments de la glandule; qu'en certains points, en *a* par exemple, les trabécules de cette glandule se continuent directement avec l'épithélium; que les vaisseaux de la glandule, enfin, pénètrent jusque sous l'épithélium même. Il est certain, par conséquent, que les deux formations sont unies de la façon la plus intime, et comme, chronologiquement, l'ébauche latérale de la thyroïde précède la glandule, il est très vraisemblable que celle-ci dérive de la première par une modification profonde, mais graduelle, et par un arrangement particulier des éléments épithéliaux.

Du reste, la provenance épithéliale de la glandule thyroïdienne nous

est prouvée par l'examen d'un stade plus jeune d'une façon plus péremptoire. Nous avons examiné à cet effet l'embryon de 10 mm.; mais l'épaississement que nous avons signalé au côté externe et ventral de la paroi épithéliale de l'ébauche latérale de la thyroïde, bien que très analogue par sa forme à celui que constituera plus tard la glandule thyroïdienne, ne nous paraît pas d'autre part correspondre à cette glandule par sa situation, qui est trop ventrale; ce n'est donc que d'une manière hypothétique que nous pouvons voir dans cet épaississement le premier rudiment de la glandule. Chez l'embryon de 14 mm., il en est tout autrement; nous trouvons là un renflement de la paroi, formé de cellules épithéliales qui sont groupées par ilots, tandis que des tractus vasculo-conjonctifs ont pénétré dans son épaisseur et séparent les ilots les uns des autres, PL. IV, FIG. 41. De chaque côté, c'est-à-dire à l'extrémité dorsale et à l'extrémité ventrale de cet épaississement, l'épithélium branchial se reconstitue avec sa forme habituelle. En ces points, l'épithélium s'amincit de plus en plus, jusqu'à se perdre en tant que couche distincte au niveau du renflement lui-même; en même temps ses cellules constitutives s'inclinent vers le renflement. Il en résulte l'impression d'un double fait : c'est que d'abord l'épithélium aminci, puis disparu même à l'endroit de l'épaississement nodulaire, forme celui-ci aux dépens de sa substance; c'est qu'ensuite le nodule, une fois constitué et à mesure qu'il se développe, refoule l'épithélium latéralement. Comme maintenant, en suivant la série des coupes qui intéressent le nodule glandulaire, on le voit sur les premières comme sur les dernières sous la forme d'un ilot séparé de l'épithélium par du tissu conjonctif et des vaisseaux, il faut en conclure que l'organe a la forme d'une sorte de champignon implanté sur l'épithélium branchial.

Tels sont les premiers moments du développement de la glandule thyroïdienne. Cette glandule est vraisemblablement connue depuis longtemps; il est possible, en effet, que quelques uns des corps signalés par REMAK (61) et par KÖLLIKER (39) et demeurés pour eux énigmatiques correspondent à cet organe (voir KÖLLIKER, p. 919). En tout cas, elle a été réellement découverte par STIEDA, quoique confondue par lui avec une autre formation; depuis, son existence a été soupçonnée par BORN, confirmée par DE MEURON et par nous (59, p. 216—219, PL. II, FIG. 3). (1)

1) CRISTIANI indique dans une note (2) que chez les rongeurs « les organes connus sous le nom de glandules ne sont autre chose que les bourgeons latéraux » de la glande thyroïde. Il est possible qu'il en soit ainsi chez les rongeurs; mais le fait serait contraire à tout ce que l'on connaît du développement de la glande thyroïde d'autres types de mammifères, où les bourgeons latéraux donnent non seulement les glandules qui n'existent pas seules, mais encore les thyroïdes latérales, qui sont autre chose que les glandules.

Tout dans l'histoire de la glandule thyroïdienne, l'origine analogue, le mode de formation et l'aspect de l'ébauche en ses premiers débuts, les connexions avec l'épithélium d'une poche entodermique branchiale, la structure trabéculaire épithéliale et la vascularisation précoce, rappelle la glande carotidienne. Nous reviendrons plus loin sur le rapprochement que l'on peut faire entre les deux organes.

Les changements subis par la glande thyroïde latérale et par la glandule qui lui est annexée consistent dans un embryon de 17 mm., en ce que les deux organes tendent à se séparer l'un de l'autre; la séparation procède de bas en haut, c'est-à-dire du côté ventral à la face dorsale.

L'examen d'un embryon de 18 mm. offre des modifications très importantes. La glandule occupe toujours le côté dorsal et externe de l'ébauche thyroïdienne latérale. Elle est située d'autre part juste en dehors d'un petit tronç nerveux, placé dans l'angle de l'œsophage et de la trachée, qui est vraisemblablement le nerf récurrent. De toute la formation thyroïdienne, elle est l'organe qui a la situation le plus proximale. — Des coupes passant un peu plus bas montrent au côté ventral et interne de la glandule une vésicule, dont la cavité a une forme irrégulièrement triangulaire et à laquelle elle est intimement unie: cette vésicule représente l'ébauche thyroïdienne latérale. — Plus bas, la glandule a diminué de diamètre. La cavité de la thyroïde latérale est devenue plus irrégulière; sa face ventrale est occupée par les bourgeons cellulaires dépendant de la thyroïde médiane, qui s'élèvent sur la face externe de la thyroïde latérale et tendent à l'englober. — Puis, suivant toujours la série des coupes, on voit à la lumière principale de la thyroïde latérale s'adjoindre un autre lumen, situé au côté externe de la précédente et indépendant d'elle, pourvu d'une paroi nettement épithéliale; les deux lumières se confondent plus bas. — Ensuite, sur des coupes plus distales, la thyroïde latérale a augmenté d'importance, sa lumière s'étant par contre réduite; elle forme à présent un gros corps de coupe triangulaire, dont l'angle dorsal est presque contigu au nerf récurrent. — La lumière de la thyroïde latérale redevient ensuite spacieuse, irrégulièrement triangulaire, avec un angle dorsal et externe aigu, effilé en pointe; elle affecte la forme de l'osselet marteau, dont le manche correspondrait à cet angle dorsal et externe. — Plus bas, la cavité étant devenue de nouveau de plus en plus considérable, la thyroïde latérale est entourée par les bourgeons de la thyroïde médiane, non seulement en dehors, mais encore du côté dorsal; la thyroïde médiane figure alors une

bande en fer à cheval lobée autour de la thyroïde latérale, dont elle est séparée par un interstice conjonctif minime. — Enfin, la cavité de la thyroïde latérale elle-même est devenue beaucoup moindre, tandis que la thyroïde médiane puissamment développée se montre dans toute son étendue, avec son isthme et avec ses lobes latéraux qui enveloppent les restes de la thyroïde latérale presque complètement.

Sur une série de coupes d'un embryon de 20 mm., les images sont essentiellement les mêmes⁽¹⁾, PL. III, FIG. 28. Nous trouvons d'abord quelques bourgeons de la thyroïde médiane; puis paraît la thyroïde latérale avec une cavité linéaire, curviligne, inclinée en bas et en dedans. — Plus bas, la courbe de cette cavité se prononce davantage; dans la cavité de la courbe se trouve un vaisseau dont la lumière a une courbure analogue. — De l'extrémité dorsale de la cavité de la thyroïde latérale naît un diverticule, qui se détache de la cavité principale à angle aigu, de manière à laisser entre elle et lui un éperon de tissu, de forme triangulaire. — La glandule apparaît alors coiffant l'extrémité borgne de ce diverticule. Nous croyons retrouver par conséquent, chez cet embryon, les deux branches, externe et interne, de l'ébauche thyroïdienne latérale des stades précédents, représentées l'une par la fente principale, l'autre par le diverticule de cette fente, avec la glandule qui lui est appendue. — Le diverticule ayant disparu plus bas, l'extrémité dorsale de la lumière de la thyroïde latérale se bifurque encore une fois, puis la languette triangulaire de tissu, placée entre les deux branches de bifurcation, s'isole en une presqu'île presque complète. — Sur des coupes passant à un niveau plus inférieur, la glandule s'est complètement séparée de la thyroïde latérale, pour disparaître un peu plus loin. La protubérance arrondie, qui formait jusqu'alors la paroi concave de la lumière arquée de la thyroïde latérale, s'isole en un îlot, qui disparaît ensuite, laissant à sa place une cavité arrondie très spacieuse. — Finalement, la lumière de la thyroïde latérale n'est plus visible; cette thyroïde cesse à son tour d'exister, et la glande médiane persiste seule. Les rapports de la thyroïde médiane avec l'ébauche latérale sont d'ailleurs les mêmes que dans le cas précédent. Nous avons essayé, sur cet embryon fixé au liquide de KLEINENBERG, d'étudier de plus près l'état histologique de la glande thyroïde latérale. Mais les résultats de cette étude, soit à cause de la fixation, soit pour toute autre raison, ne sont pas absolument certains. Ce qui est évident, c'est que la paroi épithéliale de l'ébauche latérale est formée

(1) Il est certain qu'une part des légères différences que l'on peut noter entre des embryons d'âge voisin tiennent en partie à une orientation différente des coupes.

d'un épithélium stratifié, à cellules cylindriques, et qu'elle est inégalement épaisse suivant les endroits. En certains points, nous avons cru voir que, la limite profonde de l'épithélium cessant d'être nette, cet épithélium devenait ainsi continu avec une bande cellulaire épaisse, qui double sur une grande étendue la face externe de la paroi épithéliale et qui l'élargit d'autant. Il nous a semblé même que de deux points correspondant respectivement aux extrémités dorsale et ventrale de l'ébauche partaient des fusées cellulaires, qui d'une part faisaient le tour de la paroi externe et convexe de la thyroïde, et qui d'autre part se confondaient dans la paroi interne et concave, pour constituer la proéminence arrondie qui soulève cette paroi, PL. IV, FIG. 42. Il s'en suivrait qu'un tissu mésenchymateux et vasculaire prendrait ici naissance aux dépens de l'épithélium; nous n'osons toutefois garantir ni le fait, ni la conclusion qui en découle. En tout cas, l'aspect produit est semblable à celui que nous avons décrit plus haut pour la formation de la glandule (v. p. 152). On pourrait, plus exactement encore à tous les points de vue, le comparer à celui que donne la formation du noyau protovertébral et des fusées mésenchymateuses qui constituent le sclérotome.

Les dispositions que nous a offertes l'embryon de 22 mm. sont trop semblables à celles de l'embryon précédent pour qu'il soit nécessaire de les décrire en détail. Disons seulement que, dans son ensemble, la formation thyroïdienne s'est accrue; l'accroissement a porté surtout sur la thyroïde médiane.

Chez un embryon de 25 mm., l'ébauche latérale est complètement entourée par la glande médiane, aussi bien en dedans qu'en dehors et du côté dorsal que du côté ventral. Elle l'est en bas également, comme cela résulte de l'examen des embryons précédents, où la glande médiane était encore visible sur les coupes distales, après le départ de la thyroïde latérale. Nous voyons ici qu'elle est aussi enveloppée en haut par la thyroïde médiane, qui se montre sur les coupes les plus proximales à l'endroit où paraît plus loin seulement la thyroïde latérale. Celle-ci est donc complètement enchassée dans la thyroïde médiane. La cavité de l'ébauche latérale a beaucoup diminué.

Chez un autre embryon de 25 mm., fixé non plus comme les précédents par le liquide de KLEINENBERG, mais par le bichromate de potasse, on constate sur les coupes proximales les bourgeons de la thyroïde médiane, dont l'ensemble forme une masse arrondie. — Puis, à cette masse s'adjoint la glandule qui est contiguë à la carotide primitive. — Ensuite, au centre de

la masse formé par la thyroïde médiane paraît un noyau plus clair, paraissant formé de cellules unies par leurs prolongements en un réseau. — Cette masse d'apparence réticulée se montre plus loin creusée de deux cavités à paroi épithéliale bientôt réunies en une seule. Celle-ci est la cavité de la thyroïde latérale des stades précédents, plus réduite. Elle a conservé sa forme incurvée; une protubérance arrondie forme toujours sa paroi interne. -- Plus bas, la cavité s'amointrit; plus bas encore apparaît une masse d'aspect réticulé; puis la thyroïde médiane persiste seule. Il vient à l'esprit que le tissu central n'est autre que la paroi épithéliale de la thyroïde latérale, et que l'illusion d'un réseau est due à la coupe tangentielle de la paroi épithéliale. Cette idée a cependant contre elle l'observation de l'embryon suivant. — Sur les dernières coupes intéressant la thyroïde médiane seule, on voit nettement que chacun des lobes de celle-ci est déhiscent du côté dorsal et en dedans, et qu'il existe là une fente conduisant dans un espace central vasculo conjonctif et parcouru par des vaisseaux; cet espace central réside à l'emplacement occupé plus haut par la thyroïde latérale; la fente est située sur le prolongement distal du trajet suivi par la thyroïde latérale. Cette fente représente le hile du lobe du corps thyroïde; le hile loge la thyroïde latérale, et plus bas du tissu conjonctif et des vaisseaux; la glande occupe la lèvre externe du hile.

L'examen d'un embryon de 20 mm. montre les dispositions dont il vient d'être question déjà chez l'embryon précédent. fig. 29. On voit sur cette figure la masse centrale de tissu constituée par la thyroïde latérale, *tol*, la cavité de cette dernière, les bourgeons de la thyroïde médiane, *tom*. Cette figure est la condamnation de la supposition formulée ci-dessus, d'après laquelle la masse centrale réticulée ne serait que la coupe tangentielle de la paroi épithéliale de l'ébauche thyroïdienne latérale. Ici en effet, cette masse est très étendue; ce qui, pour l'interprétation précédente, est une difficulté. Elle borde une cavité considérable, et on peut la voir par conséquent en un endroit correspondant à la partie moyenne, la plus développée, de la glande latérale; ce qui tend à infirmer encore l'interprétation en question. Enfin, comme nous le verrons tout à l'heure, l'hypothèse se trouve définitivement condamnée par l'examen des stades plus avancés. En somme, je suis porté à croire que ce tissu dérive de la transformation de l'épithélium primitif.

Les relations exactes de la thyroïde médiane et de la thyroïde latérale sont importantes à préciser, pour décider si les deux ébauches se fusionnent réellement, et de quelle façon dans ce cas se fait le fusionnement; si en

outre la thyroïde latérale est susceptible, comme la thyroïde médiane, ainsi que l'ont dit BORN, DE MEURON, KASTSCHENKO, de pousser des bourgeons, desquels dériveront en fin de compte les vésicules thyroïdiennes; si enfin, comme on l'a dit aussi, le mélange des deux ébauches est tellement intime que les bourgeons de l'une s'anastomosent avec ceux de l'autre.

La thyroïde latérale est nettement séparée de la thyroïde médiane du côté interne, où une bande de tissu conjonctif lamelleux s'insinue entre les deux organes, FIG. 30, c.

Du côté externe, on peut avoir, suivant les endroits que l'on considère, deux aspects différents. Ou bien la cavité épithéliale de la thyroïde latérale n'est limitée que par une mince couche de cellules épithéliales irrégulièrement disposées sur 2—4 assises; encore l'arrangement épithélial de ces cellules est-il loin d'être évident, et ces assises paraissent-elles plutôt continuer la masse de tissu cellulaire réticulé qui renforce la paroi interne (voir FIG. 29 à gauche). Ou bien cette couche donne insertion à plusieurs bourgeons de tous points semblables à ceux qui constituent à cette époque la thyroïde médiane. C'est ainsi que l'on peut voir, FIG. 35, un bourgeon ou lobule, *b*, de la thyroïde médiane implanté par une base pédiculisée sur la masse centrale réticulée appartenant à la thyroïde latérale; on constate même que dans le pédicule les noyaux des cellules sont disposés suivant deux rangées de part et d'autre de l'axe de ce pédicule, qui d'ailleurs est plein.

Sur un autre embryon de 26 mm., nous retrouvons la couche cellulaire réticulée; elle entoure la paroi épithéliale de la thyroïde latérale, FIG. 31. Cette couche, qui a une épaisseur variable, tantôt est nettement distincte de la paroi épithéliale, tantôt se confond insensiblement avec elle. Elle est formée de cellules serrées, dont les noyaux sont plus petits en général que ceux de l'épithélium de la thyroïde latérale et que ceux aussi des lobules de la thyroïde médiane. La FIG. 31 montre encore les relations de la glandule thyroïdienne, *glt*, avec la thyroïde latérale; elles sont très intimes, la paroi de celle-ci se continuant insensiblement avec les cordons cellulaires de celle-là; ces relations sont sans doute le vestige des connexions génétiques primitives.

Nous avons dessiné, FIG. 36, chez un embryon de 28 mm., une partie de la glande thyroïdienne latérale, afin de faire voir une disposition comparable à celle de la FIG. 35 et qui peut recevoir la même interprétation. La paroi de la cavité thyroïdienne est formée par un tissu cellulaire réticulé et en certains endroits seulement prend une constitution épithéliale. A cette

paroi sont appendus, notamment du côté ventral et en dehors, plusieurs bourgeons ou lobules. Le gros bourgeon qui est dessiné dans la figure paraît se continuer absolument avec le tissu de la thyroïde latérale; son axe est en effet formé par une masse cellulaire qui se confond avec le tissu réticulé de l'ébauche thyroïdienne latérale; à sa périphérie, les éléments cellulaires prennent une disposition épithéliale et sont plus serrés, leurs noyaux ayant une coloration plus foncée; sa limite externe est sur le prolongement de la *membrana prima* qui borne extérieurement la thyroïde latérale. Sur l'embryon suivant (30 mm.), nous avons pu faire une constatation analogue. — La FIG. 36 montre encore un fait qui est assez fréquent, c'est-à-dire la présence dans la lumière de la thyroïde latérale de plusieurs cellules à noyau déformé, à corps cellulaire clair et comme vésiculeux; ces cellules ressemblent beaucoup à celles que nous avons signalées dans les cavités dont se creuse le thymus embryonnaire, ou encore aux cellules qui forment les couches internes de la lumière œsophagienne.

Comment convient-il d'interpréter les connexions, FIG. 35 et 36, qui existent entre les bourgeons plus ou moins semblables à ceux de la thyroïde médiane et le réticulum cellulaire de l'ébauche latérale? Deux explications peuvent en être données. Celle qui a été soutenue par les auteurs, c'est que le tissu de la thyroïde latérale bourgeonne pour donner naissance à des lobules identiques à ceux fournis par le rudiment médian. La continuité parfaite de ce tissu avec les bourgeons est favorable à cette première manière de voir. La deuxième explication consiste à dire que les bourgeons de la thyroïde médiane, en enveloppant la masse intérieure constituée par la thyroïde latérale, s'abouchent avec celle-ci par leur extrémité centrale, rétrécie en un pédicule. En faveur de cette opinion, on peut faire valoir deux faits : d'abord, c'est que les divisions cinétiques sont rares dans la thyroïde latérale, alors qu'elles sont fréquentes dans les lobules de la thyroïde médiane, ce qui ne dispose pas à croire au bourgeonnement de la première; ensuite, c'est la ressemblance le plus souvent complète entre les lobules adhérents à la thyroïde latérale et par conséquent d'origine douteuse, et ceux qui en sont éloignés et qui font partie évidemment de la thyroïde médiane. En présence de l'incertitude où nous laissent les faits étudiés de près, incertitude que ne ferait pas disparaître, croyons-nous, l'examen le plus attentif, il nous semble qu'il faut s'en rapporter à l'impression produite par l'observation à un faible grossissement. Cette impression, que pourra procurer la vue de la FIG. 29, est favorable à l'idée de l'abou-

chement des lobules de la glande médiane sur l'axe central formé par la thyroïde latérale.

A cette époque déjà, la glandule thyroïdienne a pris des caractères structuraux qu'elle conservera jusque dans une période assez avancée de l'évolution embryonnaire. Nous ne pouvons malheureusement dire si ce sont encore ceux du nouveau-né et de l'adulte; car le stade le plus avancé qu'il nous ait été donné d'examiner est celui d'un embryon de 114 mm.

La glandule, examinée chez un embryon de 26 mm., est formée de travées cellulaires plus ou moins épaisses et comprenant de 1 à 5 rangées de cellules, PL. III, FIG. 32. Les travées cellulaires sont anastomosées en un réseau. La constitution trabéculaire et réticulée de la glande est surtout évidente à un faible grossissement et dans des stades un peu plus avancés (embryon de 70 mm. p. ex.), FIG. 38, *gl.* Les cellules qui constituent ces travées sont polyédriques; leurs noyaux ne présentent rien de particulier, sinon que quelques-uns sont colorés d'une façon un peu plus intense; le protoplasme, au contraire, se fait remarquer par sa densité et son aspect sombre, FIG. 32. Entre les travées épithéliales serpente un réseau de capillaires sanguins, limités par une paroi endothéliale. Les travées m'ont paru toujours pleines, sauf dans un cas où j'ai pu apercevoir dans l'intérieur d'une trabécule une lumière entourée par des cellules.

D'après ces faits, il est inutile d'insister sur la très grande similitude ou même l'identité structurale de la glandule thyroïdienne et de la glande carotidienne. Une très légère différence entre les deux organes consiste peut-être, au point de vue de la texture, en ce que les travées de la glandule paraissent plus tortueuses et plus larges, ce dont on se rend bien compte sur des coupes un peu épaisses d'objets fixés par le liquide de KLEINENBERG ou par le bichromate de potasse. Au point de vue de la structure proprement dite, il resterait à voir (ce que je n'ai pas pu faire, faute d'objets convenablement traités), si la glandule présente chez des embryons un peu âgés les mêmes transformations, les mêmes dégénérescences que celles qu'offrait la glande carotidienne.

La constitution histologique de la glandule thyroïdienne est donc semblable à celle de la glande carotidienne. La structure de l'une et de l'autre est absolument spéciale et diffère complètement et de celle du thymus et de celle de la glande thyroïde. Aussi ai-je peine à comprendre comment DE MEURON, qui a d'ailleurs remarqué la ressemblance histologique de l'épaississement dorsal de la troisième fente et de l'épaississement

correspondant de la quatrième, a trouvé ce dernier formé - de petites cellules arrondies d'aspect plus ou moins lymphatique -. l'a rapproché par conséquent du thymus au point de vue histologique et même l'a rattaché anatomiquement à ce dernier organe. Il est tout aussi difficile de concevoir comment plusieurs auteurs, SANDSTRÖM (72), GLEY (26 bis), GLEY et PHISALIX (27), CRISTIANI (11 et 12), ont attribué à la glandule thyroïdienne la constitution de la thyroïde embryonnaire. Sa structure, disent par exemple GLEY et PHISALIX, est "analogue à celle de la glande thyroïde fœtale-"; elle est formée, ajoutent-ils, d'amas qui - sont constitués par des cellules embryonnaires, serrées les unes contre les autres -. Sans doute, la glandule thyroïdienne et la glande thyroïde ont en commun ce caractère d'être composées de travées anastomosées en un réseau laissant entre ses mailles un réseau capillaire sanguin. Mais bien d'autres organes, que l'on n'a jamais songé à identifier histologiquement à la thyroïde, le foie par exemple, sont dans ce cas. Les cellules de la glandule sont nettement délimitées les unes des autres; leurs noyaux sont relativement petits. Les cellules de la thyroïde ont des caractères opposés. La glandule présente une texture trabéculaire et réticulée, alors que cette constitution n'est pas acquise encore à la glande thyroïde. Il suffit, en un mot, d'avoir sous les yeux les deux organes, dans leurs rapports naturels, pour être frappé non de leur similitude, mais tout au contraire de leur dissemblance histologique. Mes recherches toutefois ayant porté sur la glandule embryonnaire du mouton, et celles des auteurs précités ayant eu pour objet la glandule annexée à la thyroïde adulte chez l'homme, le cheval, le bœuf, le lapin, le rat, la souris, le campagnol, on comprend la réserve que je dois apporter à ma critique.

L'étude d'un embryon de 30 mm. ne nous a pas offert de changements notables dans l'anatomie de la formation thyroïdienne. Sur les coupes proximales, chaque lobe de la glande est largement ouvert par en haut; le hile dorsal ainsi réalisé est occupé par la glandule, par un prolongement connectif et vasculaire et par une vésicule épithéliale qui appartient à la thyroïde latérale. - Puis, la vésicule disparaît, remplacée par la masse cellulaire caractéristique de la thyroïde latérale. — Plus loin paraît la cavité principale de cette glande, avec une paroi épithéliale et des bourgeons appendus à cette paroi, dont ils semblent émaner. — Cette cavité disparaît à son tour et la thyroïde médiane demeure seule. Il faut observer que sur cet embryon, comme d'ailleurs sur les précédents, les bourgeons qui sont insérés dans la paroi de la vésicule thyroïdienne latérale forment sur nombre de coupes une zone concentrique située en dedans d'une autre

zone constituée par des lobules appartenant indubitablement à la thyroïde médiane.

Chez un embryon de 45 mm., nous notons, outre le développement considérable du corps thyroïde tout entier, l'orientation très nette des lobules qui le constituent autour de la masse thyroïdienne latérale et de la cavité dont elle est creusée, et même la continuité des lobules avec cette masse. Dans celle-ci se forment çà et là des groupes cellulaires condensés, des nodules, qui sont peut-être le point de départ de lobules thyroïdiens. La masse thyroïdienne latérale et sa cavité ont d'ailleurs conservé leur forme et leur situation caractéristiques. Ajoutons que le centre du corps thyroïde est occupé, sur les coupes proximales, par un réseau de cordons, qui diffèrent des travées du reste de la glande par leur coloration plus grande et par leur étroitesse, qui est telle qu'ils peuvent être réduits à une seule rangée de cellules. Ce sont là des faits qui parlent évidemment en faveur de la participation de l'ébauche thyroïdienne latérale à la constitution du parenchyme lobulaire et plus tard vésiculaire de la glande thyroïde.

L'extrémité inférieure de la glandule est située chez un embryon de 60 mm. sur un plan horizontal un peu supérieur à celui qui raserait le bord supérieur de l'isthme du corps thyroïde. La glandule ne correspond donc plus à l'extrémité supérieure du lobe de l'organe. Le tissu thyroïdien proprement dit s'est, en effet, accru du côté proximal en une pointe ou corne, jusqu'à dépasser de beaucoup le lieu où est située la glandule. Celle-ci est comprise dans une enveloppe conjonctive qui lui est commune avec la glande thyroïde elle-même; l'une et l'autre sont aussi entourées par une sorte de sinus sanguin annulaire, dans lequel on voit déboucher un grand nombre de capillaires thyroïdiens. Sur les coupes qui passent par l'extrémité inférieure de la glandule, l'axe du corps thyroïde est occupé par un tout petit canal à paroi épithéliale, autour duquel irradiant et les vaisseaux sanguins et les travées épithéliales de la thyroïde. Il en résulte un aspect très comparable à celui que fournit la coupe du lobule hépatique. Des coupes proximales montrent que le canal central s'est élargi considérablement; sa forme est irrégulièrement elliptique, à grand axe dorso-ventral. Sa paroi est formée de 2—3 couches de cellules; les cellules les plus externes sont prismatiques et sont disposées sur une ou deux rangées régulières; les plus internes sont polyédriques et distribuées irrégulièrement; ces dernières font une saillie plus ou moins forte dans la cavité, où quelques-unes d'entre elles sont tombées; les cellules internes sont claires et ont éprouvé une transfor-

mation semblable à celle qui frappe les cellules superficielles de l'épithélium œsophagien. — Sur des coupes plus rapprochées encore de la tête, on voit la lumière du canal central devenir anfractueuse; il se forme des diverticules profonds, tapissés par un prolongement de la paroi épithéliale du canal, PL. IV, FIG. 40. Dans ces diverticules viennent s'aboucher, autant que j'en puis juger par des coupes malheureusement un peu épaisses, les cordons cellulaires de la glande thyroïde. Cette description s'applique plus particulièrement à la paroi ventrale et externe du canal. La paroi dorsale et interne offre une constitution un peu différente. On n'y trouve pas de couches régulières à cellules prismatiques; mais les cellules, de forme générale plutôt polyédrique, constituent une couche épaisse, qui se continue dans l'épaisseur de la thyroïde et du côté dorsal avec un tissu de même nature, dans lequel la délimitation des cordons thyroïdiens est peu nette, et qui par contre est extrêmement riche en vaisseaux plus gros que partout ailleurs. — Des coupes plus proximales montrent que ce tissu remplit le hile de la thyroïde et qu'il se prolonge du côté dorsal jusque dans la région des vaisseaux sanguins principaux; elles font voir encore que le canal central, de plus en plus spacieux, devient aussi de plus en plus anfractueux. Sur les coupes les plus proximales, ce canal a disparu. — La comparaison de ce stade avec le précédent nous permet d'affirmer que le canal central de la thyroïde n'est autre que la thyroïde latérale. Le tissu qui prolonge sa paroi du côté dorsal est la masse cellulaire caractéristique de la thyroïde latérale aux stades précédents.

La FIG. 37 reproduit la succession des dispositions anatomo-microscopiques que l'on trouve chez un embryon de 70 mm. On voit d'abord la thyroïde seule, dont les cordons sont orientés autour d'un hile dorsal. — Dans ce hile paraît bientôt la glandule, FIG. 37, 1. Puis sur la coupe 2, le hile, devenant de plus en plus évident, se prolonge dans l'intérieur de l'organe par un espace plus clair, qui est en partie rempli par une masse de tissu d'aspect et de constitution autres que pour le restant du tissu thyroïdien, adhérente à l'extrémité ventrale de la glandule. — En suivant la série des coupes, on voit apparaître une cavité anfractueuse que les grossissements suffisants montrent tapissée d'une paroi épithéliale et à laquelle est appendue du côté dorsal la masse cellulaire dont il vient d'être question. Cette cavité grandit; la masse cellulaire annexée à sa paroi se prolonge dans son intérieur en formant une saillie très irrégulière, de forme bizarre, 3. — Cette saillie s'allonge et se pédiculise de plus en plus; elle finit par

former, pour sa plus grande part, un ilot dans la cavité centrale, tandis qu'une petite partie demeure adhérente à la paroi, 4. — Plus loin, cette masse a disparu, la cavité persiste seule, 5. — Enfin, elle n'est plus visible à son tour, et sa place est occupée par un noyau central de tissu thyroïdien, séparé du reste par un espace annulaire clair, vasculo-conjonctif.

L'examen histologique de cette thyroïde donne des faits qui sont d'un grand intérêt. On voit, en effet, FIG. 38, que le tissu thyroïdien a subi des modifications importantes, telles que l'aspect définitif lui est acquis partiellement. C'est que dans l'épaisseur des cordons cellulaires pleins qui le constituaient jusqu'alors se sont formées des vésicules, *ve*, dont quelques-unes (vésicules géantes) atteignent de très grandes dimensions. Ces vésicules, sauf les plus grandes, sont encore mal creusées; leurs cellules de bordure épithéliale n'ont pas encore la forme régulièrement cubique, caractéristique des éléments de la thyroïde adulte; leur cavité est encore encombrée par les cellules centrales du nodule dont la vésicule dérive. D'ailleurs, dans beaucoup d'endroits, l'état trabéculaire primitif a persisté complètement, *tr*. Il peut arriver même en quelques points, qu'une portion du réseau thyroïdien, isolée sous forme d'un anneau, en impose pour une vésicule; le critérium distinctif d'avec une vésicule est alors dans ce cas la présence au centre de l'anneau d'un capillaire sanguin, coupé en travers, occupant la maille circonscrite par le réseau. — La cavité centrale, FIG. 39, est tapissée par un épithélium formé d'une seule couche de cellules cubiques; à cette couche, on peut voir s'ajouter çà et là du côté interne quelques cellules polyédriques claires (compar. avec l'état de l'épithélium au stade précédent). Le tissu, qui est annexé à cette paroi et qui proémine dans la cavité, diffère entièrement du tissu thyroïdien; il n'est ni trabéculaire, ni vésiculaire; mais il est constitué par un parenchyme cellulaire serré, assez pauvre en vaisseaux sanguins. Les cellules de ce parenchyme ont du reste le même aspect que celles qui forment les travées et qui bordent les vésicules du tissu thyroïdien, si bien que ce parenchyme paraît dû à ce que ces travées sont devenues confluentes, ou bien à ce que la transformation trabéculaire et réticulaire ne s'y est pas faite. Sur une même coupe transversale, on trouve dans cette masse parenchymateuse un certain nombre de nodules arrondis, *n*, composés d'un amas de cellules semblables à celles du reste de la masse; ces amas paraissent logés dans l'intérieur d'un vaisseau sanguin; car, autour d'eux, on voit un espace annulaire clair, limité par l'endothélium caractéristique. Du reste, ce n'est là qu'une apparence, car certaines coupes montrent

que le nodule se relie en réalité au reste du tissu par une sorte de pédicule et que le vaisseau sanguin ne l'entoure pas complètement, mais manque au niveau de l'insertion du pédicule, *n'*. Il en résulte une disposition très semblable, avec des rapports inverses entre vaisseau et organe épithélial, à celle qu'offrent les glomérules du rein. J'ai même vu deux et trois contours endothéliaux concentriques autour du nodule, *n'*, représentés chacun par une ligne circulaire et par des noyaux aplatis placés sur cette ligne.

L'examen d'un embryon de 77 mm. nous a fourni, relativement à la situation de la glandule, des résultats analogues.

On retrouve chez un embryon de 10 cm. le canal central de la thyroïde avec ses caractères habituels. Mais, contrairement aux observations que nous venons de faire chez un embryon de 70 mm., on ne trouve plus ici de grandes vésicules thyroïdiennes complètement formées et absolument creuses. Au contraire, les vésicules paraissent être seulement en voie de formation; on aperçoit, en effet, de petits nodules, riches du reste en mitoses, qui sont creusés d'une minime lumière.

La glandule est située chez un embryon de 114 mm. sur la face dorsale et interne de la glande thyroïde. Elle répond toujours au bord du hile conjonctivo-vasculaire de l'organe. Elle est superficielle et recouverte seulement sur une faible étendue par une très mince couche de tissu thyroïdien qui passe comme un pont de l'un des bords du hile à l'autre. Les travées dont la glandule se compose se confondent avec le tissu thyroïdien, de sorte que la glandule fait partie intégrante du corps thyroïde(1). La cavité épithéliale centrale de la thyroïde est plus réduite que précédemment; elle est anfractueuse et pousse au loin et jusque dans le hile des diverticules profonds et étroits.

Au-delà de ce stade, je n'ai pu étudier que des embryons beaucoup plus développés (de 30 à 40 cm.). Je n'y ai plus retrouvé, sur des coupes sériées, le canal central de la thyroïde, reste de la thyroïde latérale. Toute trace de cette dernière formation ayant disparu, l'étude de ces embryons ne présentait plus pour moi d'intérêt, puisque le but de ce travail est exclusivement le développement de l'ébauche latérale de la glande thyroïde. Néanmoins, je relèverai sur la structure de la glande thyroïdale chez ces embryons âgés deux faits relatifs à des dispositions histologiques dont l'existence est encore aujourd'hui controversée.

(1) Je fais des réserves cependant sur la réalité de cette continuité, parce qu'il s'agit ici d'une pièce durcie dans le bichromate de potasse et dont par conséquent la fixation a laissé à désirer.

Il s'agit d'abord de la différenciation de deux zones sur la coupe transversale du corps thyroïde. La zone externe se distingue par la petitesse de ses vésicules, bien que çà et là on y puisse trouver aussi des vésicules de grande taille; en certains endroits même, la structure trabéculaire primitive peut persister. La zone externe, qui est d'ailleurs assez mince et ne représente guère que le quart du rayon de la coupe d'un lobe thyroïdien, a donc les caractères d'une couche jeune, vraisemblablement la dernière formée. Cette observation confirme donc la donnée déjà ancienne de WÖLFLE (92), récemment rejetée par LUSTIG (46). Je ne veux pas prétendre cependant que la zone externe soit le seul lieu de formation de nouvelles vésicules, et j'accorde volontiers à LUSTIG qu'il peut s'en produire dans les parties centrales de l'organe.

Le second fait, sur lequel j'attire l'attention, est l'existence d'amas de cellules lymphoïdes dans l'intérieur de l'organe entre les vésicules. Ces amas ont généralement une forme quadrangulaire, correspondant à celle de l'intervalle laissé par plusieurs vésicules voisines; les angles du quadrilatère se prolongent au-delà sous forme de cordons courts, qui se perdent bientôt. La présence de cellules lymphoïdes dans la glande thyroïde, leur accumulation en masses compactes, sont des faits connus depuis longtemps. Découverts par VIRCHOW, niés ensuite par WÖLFLE (92), ces amas ont été considérés par LUPO (44) comme de véritables glandes lymphatiques, surtout bien développées chez les animaux et chez l'enfant, présentant un type particulier, distinct de celui des follicules qui entrent dans la constitution des ganglions et des autres organes lymphatiques. LUPO a été jusqu'à admettre que la glande thyroïde se composait de deux parties, l'une épithéliale, l'autre lymphoïde. C'est peut-être accorder trop d'importance à une formation qui quantitativement n'intervient que pour une part très faible dans la constitution de l'organe. On sait que LUSTIG, qui a retrouvé les éléments lymphoïdes du corps thyroïde, ne les a vus qu'épars et nullement organisés en nodules.

Les conclusions que nous croyons pouvoir tirer de nos observations sur le développement de la glande thyroïdale et spécialement de l'ébauche latérale de cet organe sont les suivantes :

La quatrième poche branchiale entodermique est formée de deux branches, une externe et une interne; celle-ci, qui est en quelque sorte un diverticule de la poche proprement dite, se prolonge et se dilate en une vésicule piriforme, qui est l'ébauche thyroïdienne latérale. Dans l'angle des deux branches se

forme, par épaissement de la paroi épithéliale de la poche, un corps qu'on peut nommer glande thyroïdienne. Par sa texture trabéculaire et réticulée, par la nature histologique de ses éléments épithéliaux, à cause aussi de sa grande et précoce vascularisation, enfin et surtout par son mode de formation, ce corps est comparable à la glande carotidienne. Il n'a rien de commun avec le thymus. Dans la suite du développement, l'ébauche thyroïdienne latérale, longtemps reconnaissable par sa paroi épithéliale au sein de la thyroïde déjà volumineuse, se transforme en une cavité anfractueuse, prolongée en tous sens par de profonds diverticules (canal central de la thyroïde). La paroi de cette cavité est formée par un épithélium d'abord stratifié, puis simple, les cellules superficielles ayant disparu après avoir éprouvé une transformation semblable à celle qui frappe les assises internes de l'épithélium œsophagien. Cette paroi produit autour d'elle un tissu dense d'aspect cellulaire et réticulé, qui plus tard disparaît. Il m'est impossible de trancher la question de savoir si le rudiment latéral bourgeonne pour donner des cordons ou lobules qui se mêlent ou s'anastomosent avec ceux de la thyroïde médiane et se transformeront ultérieurement en vésicules thyroïdiennes, ou bien si les lobules de l'ébauche médiane ne font que se souder au tissu de la thyroïde latérale. La thyroïde latérale et ses restiges occupent le hile vasculo-conjonctif de l'organe; la glandule est située au bord externe de ce hile.

III. CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

C'est avec raison que l'on considère comme homologues ou mieux comme homodynames les fentes branchiales successives. Cette homodynamie cependant n'est admise que pour les premiers temps du développement, n'est valable que pour la période d'état des fentes branchiales.

Il nous semble, au contraire, résulter de ce travail, que l'équivalence évolutive des fentes branchiales, particulièrement de la troisième et de la quatrième, se poursuit chez les mammifères, puisque les produits dérivés de ces deux fentes sont équivalents, et même au début sont semblables.

Voici ce que nous apprend, en effet, l'histoire embryologique de ces deux formations.

La troisième poche branchiale entodermique est composée, comme la quatrième, de deux branches; l'étude des coupes sériées montre que la forme est identique dans l'une et l'autre poche. Leurs produits sont égale-

ment semblables, au début tout au moins. Toutes deux donnent, en effet, naissance à un puissant diverticule ventral, creux; en outre, dans l'angle de leurs deux branches se forme, par épaissement de leur paroi, un organe arrondi, plein, de texture semblable, de structure cellulaire identique, ayant des rapports analogues. Le diverticule parti de la troisième poche est le thymus. Celui qui prolonge la quatrième poche est l'ébauche thyroïdienne latérale. L'organe annexé à la troisième poche est la glandule thymique (glande carotidienne). Celui qui est appendu à la quatrième poche est la glandule thyroïdienne.

A ce stade, les dérivés respectifs des deux fentes branchiales sont encore parfaitement homodynames, et le sont non seulement par leur origine, mais encore par leur constitution; ils sont donc de plus homotypiques. Plus tard, l'homotypie se conservera parfaite entre la glande carotidienne et la glandule thyroïdienne; non seulement leur constitution, mais leurs rapports mêmes continueront d'être analogues, puisque nous savons que, de même que la glande thyroïdienne demeure en connexion avec l'ébauche de la thyroïde latérale issue de la quatrième poche, la glande carotidienne est incorporée à la tête du thymus dérivée de la troisième poche branchiale.

Il est vrai que plus tard l'ébauche thyroïdienne latérale subira une évolution très différente de celle du thymus. Il n'y a pas cependant entre les deux organes que des différences; il existe aussi entre eux des ressemblances. Elles se manifestent, à la vérité, non pas dans le développement organogénique des deux ébauches, qui est tout autre, à cause des relations que de bonne heure la thyroïde latérale contracte avec la thyroïde médiane. Elles résident surtout dans leurs aptitudes histogénétiques; dans la thyroïde latérale, on voit se former un tissu qui, s'il ne ressemble pas à celui du thymus et s'il ne subit pas comme ce dernier la transformation lymphoïde, diffère néanmoins totalement du tissu thyroïdien, où il est plongé. Il ne faudrait pas du reste, pour éloigner la thyroïde latérale du thymus, la rapprocher trop de la thyroïde médiane; car il n'est rien moins que prouvé que la thyroïde latérale se comporte comme la thyroïde médiane et fournisse comme elle des bourgeons plus tard creusés en vésicules.

Il y a ainsi chez l'embryon de mouton et sans doute aussi chez celui des autres mammifères, peut-être même chez la larve d'autres vertébrés, au moins deux séries bilatérales d'organes dérivés des poches entodermiques branchiales, chaque poche donnant naissance à l'un des termes de chaque série. Chez les mammifères, chaque série n'a que deux termes, correspon-

dant respectivement à la troisième et à la quatrième poche branchiale. L'une des séries est formée par le diverticule central issu de chacune des poches et aussi par la poche elle-même. L'autre est représentée par un organe glandulaire annexe de chaque poche. La série des diverticules branchiaux comprend : le diverticule thymique et le diverticule thyroïdien. La série des organes glandulaires renferme : la glande carotidienne ou glandule thymique annexée au diverticule thymique, et la glandule thyroïdienne, appendue au diverticule thyroïdien.

On peut établir une formule branchiale, dans laquelle on mettra en numérateur les épaissements dorsaux ou nodules épithéliaux, n , des fentes branchiales et en dénominateur, fd , ces fentes elles-mêmes ainsi que les diverticules qui en partent. Pour préciser la qualité anatomique ou histologique de n ou fd , on pourra leur ajouter des lettres, th , gc , etc., leur servant de qualificatif. Un chiffre placé comme exposant indiquera le numéro de la fente branchiale. La formule générale des dérivés branchiaux sera donc : $\frac{n}{fd}$. La formule spéciale aux mammifères s'écrira :

$$\frac{n^3 gc}{fd^3 th} + \frac{n^4 gl}{fd^4 tol}$$

Elle se traduit par : $\frac{\text{troisième nodule branchial (glande carotidienne)}}{\text{troisième fente et troisième diverticule (thymus)}} +$
 $\frac{\text{quatrième nodule branchial (glandule thyroïdienne)}}{\text{quatrième fente et quatrième diverticule (thyroïde latérale)}}$

La systématisation que nous venons de donner des dérivés branchiaux s'applique aux mammifères. Mais la comparaison des mammifères avec d'autres vertébrés, loin d'infirmes le principe du système précédent, le fortifie au contraire, en montrant qu'il est valable aussi pour d'autres groupes que les mammifères.

J'avais essayé, par une représentation diagrammatique en couleurs des dérivés branchiaux connus dans les différents groupes de vertébrés par les recherches de divers auteurs, de serrer de près cette comparaison. Mais j'ai dû y renoncer, la question n'étant pas mûre pour une comparaison détaillée. Des homologues générales peuvent au contraire être établies, en se fondant tant sur les travaux anatomiques anciens que sur les recherches embryologiques récentes, par exemple de DE MEURON (51) (toutes les classes de vertébrés), de MAURER (49 et 50) (téléostéens et amphibiens), de VAN BEM-

MELEN (7) (oiseaux, tous les ordres de reptiles), etc. Les mémoires de ces deux derniers auteurs méritent surtout de fixer l'attention à ce point de vue.

L'examen de ces travaux et, grâce à eux, le coup d'œil jeté sur l'ensemble des dérivés branchiaux dans les différentes classes de vertébrés nous apprennent les faits généraux suivants.

a) En premier lieu, chez tous les vertébrés, une ou plusieurs poches entodermiques branchiales donnent naissance à autant de diverticules épithéliaux, plus ou moins complètement fusionnés plus tard, pour produire un organe, le thymus, que caractérisera sa transformation lymphoïde ultérieure.

b) Partout aussi [sauf chez le poulet (FISCHELIS) (20), chez les tortues et le crocodile (VAN BEMMELEN)], aux dépens de la dernière poche branchiale existant chez l'animal considéré, ou même d'une évagination issue de la partie du pharynx située immédiatement en arrière de cette poche et représentant, suivant l'hypothèse de DE MEURON acceptée par MAURER, la dernière poche branchiale vraie qui aurait dû se former, se forme une vésicule, qui est le « corps suprapéricardique » des sélaciens (VAN BEMMELEN), le « corps postbranchial » des amphibiens (MAURER), la « glande thyroïde latérale » des autres groupes(1). Ces diverses formations ne sont pas homologues, dérivant de fentes branchiales différentes chez les différents vertébrés; mais elles sont homodynames, et comme telles méritent d'être confondues (DE MEURON) sous la dénomination commune de thyroïdes latérales. La poche branchiale qui fournit la thyroïde latérale échappe à la destinée qui entraîne les autres poches dans la formation thymique, pour en suivre une autre. Elle ne subit pas de transformation lymphoïde, mais elle forme une vésicule lobée et prolongée en diverticules acineux, qui se réunit ou non, suivant les cas, à la thyroïde médiane. L'union n'a lieu que chez les mammifères, exception à la règle qui a déjà attiré l'attention de PIERSON (57, p. 183). La fusion n'est peut-être chez eux, ainsi que DE MEURON l'a supposé, l'effet d'une cause mécanique. Chez les mammifères, en effet, la thyroïde latérale, qui, grâce à la diminution numérique des fentes branchiales et au raccourcissement de la région branchiale, prend naissance sur la quatrième poche entodermique, s'est trouvée reportée très en avant, au voisinage de la thyroïde médiane. En elle, la thyroïde des mammifères a ainsi trouvé

(1) Les observations contraires de FISCHELIS et de VAN BEMMELEN ont peu d'importance. Celle de FISCHELIS a contre elle les constatations de VAN BEMMELEN et de DE MEURON. D'autre part, VAN BEMMELEN n'a pu étudier que quelques exemplaires de chéloniens et un seul embryon de crocodilien.

secondairement un canal excréteur pharyngien latéral, pair, d'origine branchiale. Ce canal ne fonctionne d'ailleurs pas plus que le canal excréteur médian, impair, plus ancien que lui, et méritant le nom de conduit primaire. Son orifice pharyngien s'est, en effet, oblitéré à l'époque où les lobules de la thyroïde médiane pourraient s'ouvrir dans la lumière du canal ou de ses diverticules. Une fois de plus, la thyroïde a été réduite à l'état de glande close; son canal excréteur, prématurément essayé, puis inutilisé, s'atrophie. L'état histologique de la thyroïde latérale, qui, en quelque groupe de vertébrés que nous la considérons, et spécialement chez les mammifères, est une vésicule ramifiée, incapable d'une production colloïde comparable à celle qui caractérise chez tous les gnathostomes la glande thyroïde, vient à l'appui de l'interprétation phylogénétique de la thyroïde latérale comme canal excréteur de la thyroïde médiane. Du reste, l'accolement d'un canal épithélial à une glande n'a pas d'autre explication plausible.

Il existe entre les diverticules thymiques des fentes branchiales et le diverticule thyroïdien latéral une homodynamie parfaite. Il est digne de remarque à cet égard : d'abord, qu'il n'y a de chaque côté qu'une seule thyroïde latérale, tandis que l'ébauche thymique est le plus souvent multiple; en second lieu, que la thyroïde latérale est toujours placée derrière le thymus le plus reculé. Dans la suite de l'évolution, les deux organes se comportent très différemment : le diverticule thymique devient une glande (glande lymphoïde), dont le canal excréteur disparaît avant le fonctionnement de la glande; le diverticule thyroïdien latéral devient un canal excréteur, privé de glande et par conséquent sans emploi, qui chez les mammifères paraît se mettre au service d'une autre formation glandulaire. En troisième lieu, d'autres dérivés branchiaux se présentent sous la forme d'épaississements pleins des parois des fentes branchiales ou des points divers de la cavité branchiale : de la quatrième fente (lézard, poulet, mammifères, d'après DE MEURON); — de la troisième (mammifères, d'après DE MEURON, KASTSCHENKO et nous; poulet, tortue, selon VAN BEMMELEN); — de plusieurs fentes branchiales ou de plusieurs points de la paroi pharyngienne (amphibiens d'après MAURER, reptiles selon VAN BEMMELEN), etc. Certains auteurs ont fait intervenir de pareils épaississements dans la constitution du thymus, sans prendre garde à la différence de structure qui les en distingue dès le début et qui a fixé cependant l'attention de VAN BEMMELEN et de MAURER particulièrement. D'autres observateurs ont fait de certains de ces épaississements des thyroïdes accessoires, confondant leur structure avec celle de

la thyroïde proprement dite. Rien ne permet cependant de rapprocher ces corps du thymus non plus que de la glande thyroïde, sinon les relations qu'ils peuvent contracter secondairement avec l'un ou l'autre de ces organes. Toutes les fois, en effet, que mention a été faite de leur constitution histologique, on les trouve décrits comme étant au début des nodules épithéliaux d'un aspect qui leur est propre. Il en est ainsi des - restes épithéliaux - de MAURER (amphibiens), des - corpuscules épithéliaux - du même auteur (amphibiens), des nombreux corps trouvés en différents endroits par VAN BEMMELEN chez des types de reptiles appartenant à tous les ordres, de la - glande carotidienne - des reptiles (VAN BEMMELEN), des amphibiens (MAURER), des mammifères (RABL, DE MEURON, nous), de la - glandule thyroïdienne - du mouton (nous). Tous ces corps, dont le plus connu et le plus constant est la glande carotidienne, forment une série autonome de dérivés branchiaux, développés sur les poches branchiales elles-mêmes et ayant (VAN BEMMELEN, MAURER) des rapports remarquables avec les arcs aortiques.

APPENDICE.

Il me reste à signaler plusieurs organes constitués différemment les uns des autres, que j'ai trouvés adhérents au corps du thymus. Je n'ai pas voulu les mentionner dans le cours de la description, parce que je ne suis pas certain de l'autonomie de certains d'entre eux, et que la nature des autres m'échappe.

L'un de ces organes, que j'appellerai organe *a*, était à moitié enfoui dans le corps du thymus, à la face interne ou profonde de ce dernier. Je l'ai observé chez un fœtus à terme et chez un embryon de 30 cm. de long. Il se présentait sous la forme d'un corps rougeâtre, ayant la même coloration que la glande thyroïde, de forme arrondie, du diamètre de 2 mm. environ; sa structure était identique à celle du corps thyroïde. J'ai coupé en série le corps du thymus d'autres embryons, sans pouvoir y retrouver l'organe thyroïdien en question. Il s'agit ici sans doute d'une glande accessoire thyroïdienne.

L'organe *b* se présentait, à la dissection du corps du thymus d'un embryon de 9 cm., comme un très petit corps piriforme, situé sur la face profonde du corps de l'organe, et se continuant en haut (en avant) par un filament. Bien que la pièce ait été fixée par le bichromate de potasse et

que par conséquent la conservation des éléments laisse un peu à désirer, la structure de cet organe a des caractères évidents; j'insiste particulièrement sur les suivants : constitution de l'organe par des cellules polyédriques assez grosses; arrangement de ces cellules en travées épaisses et irrégulières, anastomosées en un réseau, riche vascularisation. La structure de ce corps l'éloigne et du thymus et d'un ganglion lymphatique. Il ne ressemble pas non plus à la glande thyroïde embryonnaire. Il est plutôt constitué comme la glande carotidienne ou la glandule thyroïdienne. J'ai cru d'abord avoir à faire à cette dernière, entraînée mécaniquement avec le thymus et séparée du corps thyroïde. Mais la glandule est située non pas sur la face externe et ventrale du corps thyroïde, sur celle qui est en rapport avec le thymus, mais sur sa face dorsale et interne. En outre, la forme de l'organe ne correspond pas à celle de la glandule. En effet, l'organe *b* se continue supérieurement par un filament qui, comme le montre les coupes, va s'amincissant de plus en plus, tout en conservant la structure du corps principal. Je n'ai pas eu, du reste, la série complète des coupes intéressant cet organe. Dans les coupes les plus proximales, on remarque une disposition très évidente des cellules en acinis ou vésicules. Sur toute sa longueur, cet organe est entouré par du tissu conjonctif, façonné en enveloppe, grâce à une orientation concentrique des faisceaux de fibres. J'ai cherché en vain cet organe chez un embryon d'un âge voisin (8 cm.), débitant en une série de coupes la totalité du corps du thymus. La signification de cet organe est demeurée pour moi complètement inconnue.

L'organe *c* et l'organe *d* paraissent n'être que des ganglions lymphatiques, malgré certaines particularités de structure qui les en éloigneraient. C'étaient de petits corps rouges, ovoïdes, situés l'un dans la partie profonde du corps du thymus, l'autre dans la portion la plus élevée du thymus thoracique chez un fœtus à terme. ELLENBERGER et BAUM (17) ont cru, comme moi, trouver dans la région cervicale du chien des organes spéciaux, qui à l'examen histologique n'étaient que de petites glandes lymphatiques.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE.

- 1 *Afanassiew* : Ueber die concentrischen Körper der Thymus; *Arch. für mikr. Anat.*, Bd. XIV, 1877.
- 2 *Id.* : Weitere Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Thymus und der Winterschlagdrüse der Säugethiere; *Ibid.*
- 3 *Arnold* : Ueber die Theilungsvorgänge an den Wanderzellen, ihre progressiven und regressiven Metamorphosen; *Arch. für mikr. Anat.*, Bd. XXV, 1887.
- 4 *Id.* : Ueber die Structur des Ganglion intercaroticum; *Virchow's Arch.*, Bd. XXXIII, 1865.
- 5 *Baumgarten* : Ueber die Herkunft der in Entzündungsherden auftretenden lymphkörperartigen Elemente (Lymphocyten); *Centr. f. allg. Path. und path. Anat.*, Bd. I, 1890, n° 24.
- 6 *Born* : Ueber die Derivatcn der embryonalen Schlundbogen und Schlundspalten bei Säugethieren; *Arch. für mikr. Anat.*, Bd. XXII, 1883.
- 7 *Van Bemmelen* : Over de ontwikkeling en de metamorphose der kieuw of visceraalspalten, etc.; *Akad. van Wetensch., Afd. Natuurk.*, 1886, Amsterdam. — Over de ontwikkeling en vervorming der kieuwspalten bij de embryonen der vogels; *Tijdschr. d. Nederl. Dierk. Vereen.*, 1886. — Die Visceraltaschen und Aortenbogen bei Reptilien und Vögeln; *Zool. Anzeiger*, nos 231 et 232, 1886. — Die Halsgegend der Reptilien; *Ibid.*, n° 244, 1887.
- 8 *Capobianco* : Contribuzioni alla morfologia del timo; *Giorn. dell'ass. dei naturalisti e medici di Napoli*, 1891, II, et *Arch. de biologie ital.*, t. XVII, 1892.
- 9 *Caçin* : Contribution à l'étude des dégénérescences cellulaires; *Journ. de l'Anat. et de la Phys.*, XXVI. — Sur un mode de dégénérescence hyaline des cellules du tissu conjonctif; *Bull. de la Soc. anat. de Paris*, 1891.
- 10 *Cornil et Alvarez* : Mémoire pour servir à l'histoire du rhinosclerome; *Arch. de Phys.*, 1885, t. VI, 3^e série.
- 11 *Cristiani* : Remarques sur l'anatomie et la physiologie des glandes et glandules thyroïdiennes chez le rat; *Arch. de Physiologie*, t. IV, 5^e série, n° 1, 1893.

- 12 *Cristiani* : Nouvelles recherches sur les organes thyroïdiens des rongeurs; *Soc. de biologie*, n° 1, 1893.
- 13 *Cuénot* : Étude sur le sang et les glandes lymphatiques; *Arch. de Zool. expér.*, 2^e série, t. VII, 1889.
- 14 *Dahms* : Étude sur le thymus. Paris. Diss. inaug., 1877.
- 15 *v. Davidoff* : Untersuchungen über die Beziehungen des Darmepithels zum lymphoiden Gewebe; *Sitz. d. Ges. f. Morph. u. Phys., in München*, t. II, 1886. — *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XXIX, 1887.
- 16 *Dittrich* : Zur Etiologie des Rhinoscleroms; *Cent. für Bakteriologie und Parasitenkunde*, t. V, 1889.
- 17 *Ellenberger et Baum* : Anatomie des Hundes; Berlin, Parey, 1891.
- 18 *Eberth* : *Stricker's Handbuch*, 1871.
- 19 *Firket* : Note sur les corps colorables de Flemming observés dans les tissus pathologiques; *Bull. de l'Acad. royale de Belgique*, 1891.
- 20 *Fischelis* : Beiträge zur Kenntniss der Entwicklung der Glandula thyroïdea und Glandula Thymus; *Arch. für mikr. Anat.*, Bd. XXV, 1885.
- 21 *Flemming* : Studien über Regeneration der Gewebe. I. Die Zellvermehrung in den Lymphdrüsen und verwandten Organen, und ihre Einfluss auf deren Bau; *Arch. für mikr. Anat.*, Bd. XXIV, 1885.
- 22 *Id.* : Studien über Regeneration der Gewebe. VII. Schlussbemerkungen über die Zellvermehrung in den lymphoiden Drüsen; *Ibid.*
- 23 *Flesch* : Ueber Beziehungen zwischen Lymphfollikeln und secernirenden Drüsen im Oesophagus; *Anat. Anzeiger*, 1888, n° 10.
- 24 *Froriep* : Ueber Anlagen von Sinnesorganen am Facialis, Glossopharyngeus und Vagus, etc.; *Arch. für Anat. und Phys., Anat. Abth.*, 1885.
- 25 *Garbini* : Note istologiche sopra alcune parti dell' apparecchio digerente nella Cavia e nel Gatto; *Acc. di agricoltura, arti e commercio di Verona*, Vol. LXIII.
- 26 *Gley* : Glande et glandules thyroïdes du chien; *Société de Biologie*, t. V, n° 8, 1893.
- 26 bis *Id.* : Effets de la thyroïdectomie chez le lapin; *Arch. de physiologie*, 1891, n° 1.
- 27 *Gley et Phisalix* : Sur la nature des glandules thyroïdiennes du chien; *Ibidem*.
- 27 bis *Goette* : Beiträge zur Entwicklungsgeschichte des Darmkanals des Hühchens. Tübingen, 1867.
- 28 *Grünberg* : Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Blutkörperchen in den Lymphdrüsen. *In. Diss.* Dorpat, 1891.
- 29 *Gulland* : The Development of Adenoid Tissue, with special reference to the Tonsil and Thymus; *Laboratory reports issued by the Royal College of Physicians*, Vol. III; Edinburgh, 1891.

- 30 Gulland : On the function of the tonsils; *Edinburgh med. journ.*, 1891.
- 31 *Id.* : The Nature and Varieties of Leucocytes; *Reports of the*
Labor. of royal College Physicians, Edinburgh, Vol. III, 1891.
- 32 Hansemann : Ein Beitrag zur Entstehung und Vermehrung der Leukocyten;
Verh. d. anat. Ges. in München, 1891.
- 33 Heidenhain : Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleim-
 haut; *Pflüger's Arch.*, Bd. XLIII, Suppl., 1888.
- 34 Heppner : Ueber den feineren Bau der Glandula Carotica; *Virchow's*
Arch., Bd. XLVI, 1869.
- 35 W. His : Anatomie menschlicher Embryonen. III. Zur Geschichte der
 Organen. Leipzig, 1885.
- 36 H. Hoyer : Beitrag zur Kenntniss der Lymphdrüsen; *Arch. für mikr.*
Anat., Bd. XXXIV, 1889.
- 37 Kastschenko : Das Schicksal der embryonalen Schlundspalten bei Säugethieren;
Arch. f. mikr. Anat., Bd. XXX, 1887.
- 38 Klaatsch : Ueber die Beteiligung von Drüsenbildungen am Aufbau der
 Peyer'schen Plaques; *Morph. Jahrbuch*, Bd. XIX, 1892.
- 39 Kölliker : Embryologie de l'homme et des animaux supérieurs. Paris, 1882.
- 40 Löwit : Ueber Neubildung und Zerfall weisser Blutkörperchen; *Sitz. d.*
k. Ak. d. Wiss., Wien, XCII.
- 41 *Id.* : Die Anordnung von Leukoblasten und Erythroblasten in den
 Blutzellenbildenden Organen; *An. Anzeiger*, 1891, n° 12;
Arch. für mikr. Anat., Bd. XXXVIII, 1891.
- 42 *Id.* : Ueber Neubildung und Beschaffenheit der weissen Blutkör-
 perchen; *Beiträge z. path. Anat.*, Bd. X, 1891.
- 43 Lukjanow : Beiträge zur Morphologie der Zelle; *Arch. für Anat. u. Phys.*,
Phys. Abth., 1887.
- 44 Lupo : Contribuzione all' istologia della tiroide, etc.; *Progr. med.*
Napoli, 1888.
- 45 Luscha : Ueber die drüsenartige Natur der sogenannten Ganglion inter-
 caroticum; *Arch. f. Anat. und Phys.*, *Anat. Abth.*, 1862.
- 46 Lustig : Contribution à la connaissance de l'histogénèse de la glande
 thyroïde; *Lo Sperimentale*, XLV; et *Arch. ital. de Biologie*,
 t. XV, 1891.
- 47 Marchand : Beiträge zur Kenntniss der normalen und pathologischen Ana-
 tomie der Glandula carotica und der Nebennieren; *Intern.*
Beiträge zur wiss. Medicin. Festschrift zur R. Virchow,
 Berlin, 1891.
- 48 Martinotti : Sul « corpi tingibili » del Flemming; *Gaz. delle cliniche*,
 1885, n° 8.
- 49 Maurer : Schilddrüse und Thymus der Telcostier; *Morph. Jahrbuch*,
 Bd. XI, 1885.
- 50 *Id.* : Schilddrüse, Thymus und Kiemenreste der Amphibien; *Morph.*
Jahrbuch, Bd. XIII, 1888.

- 50 bis *Maurer* : Die erste Anlage der Milz und das erste Auftreten von lymphatischen Zellen bei Amphibien; *Morph. Jahrbuch*, Bd. XVI, 1, 1890.
- 51 *de Meuron* : Recherches sur le développement du thymus et de la glande thyroïde; *Rec. Zool. Suisse*, t. III, 1886.
- 52 *Möbius* : Studien über Regeneration der Gewebe. IV. Zellvermehrung in der Milz beim Erwachsenen; *Arch. für mikr. Anat.*, Bd. XXIV, 1885.
- 53 *Monguidi* : Sulla glandula timo. Parma, 1885.
- 54 *W. Müller* : Ueber die Entwicklung der Schilddrüse; *Jenaische Zeits.* Bd. VI, 1871.
- 55 *Nicolas* : Recherches sur l'épithélium de l'intestin grêle; *Intern. Monatschrift für Anat. und Phys.*, t. VIII, 1891.
- 56 *Pförtner* : Untersuchungen über das Ganglion intercaroticum und die Nebenniere; *Zeitschrift f. ration. Medicin*, Bd. XXXIV, 1869.
- 57 *Piersol* : Ueber die Entwicklung der embryonalen Schlundspalten und ihre Derivate bei Säugethieren; *Zeitschrift f. wiss. Zool.*, Bd. XLVII, 1888.
- 58 *Pilliet* : Note sur la distribution du tissu adénoïde dans le tube digestif des poissons cartilagineux; *Soc. de Biologie*, 1890, n° 32.
- 59 *Prenant* : Annotations sur le développement du tube digestif chez les mammifères; *Journal de l'Anat. et de la Phys.*, 1892.
- 60 *Rabl* : Zur Bildungsgeschichte des Halses; *Prager med. Wochenschrift*, n° 52, 1886.
- 61 *Remak* : Untersuchungen über Entwicklung der Wirbelthiere. Berlin, 1855.
- 62 *Retterer* : Contribution à l'étude du cloaque et de la bourse de Fabricius chez les Oiseaux; *Comptes rendus Ac. Sc. et Journal de l'Anat. et de la Phys.*, 1885.
- 63 *Id.* : Origine et évolution des amygdales; *Comptes rendus de l'Ac. des Sc. et Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1885-86, *passim*; et *Journal de l'Anat. et de la Phys.*, t. XXIV, 1888.
- 64 *Id.* : Origine et développement des plaques de Peyer chez le lapin et le cobaye; *Soc. de Biologie*, n° 38, 1891.
- 65 *Id.* : Origine et développement des plaques de Peyer chez les ruminants et les solipèdes; *Soc. de Biologie*, n° 12, 1892.
- 66 *Id.* : Du tissu angiothélial des amygdales et des plaques de Peyer; *Mém. Soc. Biologie*, 1892.
- 67 *Id.* : Sur la part que prend l'épithélium à la formation de la bourse de Fabricius, des amygdales et des plaques de Peyer; *Journal de l'Anat. et de la Phys.*, XXIX, n° 1.
- 68 *Ribbert* : Ueber Regeneration und Entzündung der Lymphdrüsen; *Beiträge z. path. Anat. u. allgem. Pathol.*, Bd. VI, H. 3.

- 69 *Rubeli* : Ueber den Oesophagus des Menschen und verschiedener Haus-
thiere. Diss. Bern, 1889; et *Arch. f. wiss. u. prakt. Thier-
heilk.*, Bd. XVI.
- 70 *Rüdinger* : Ueber die Umbildung der Lieberkühn'schen Drüsen durch
die Follikel im Wurmfortsatze des Menschen; *Verh. d. anat.
Ges. in München*, 1891.
- 71 *Russel* : Note sur les corpuscules à fuchsine (fuchsine bodies) du cancer;
Semaine médicale (analyse), 1890.
- 72 *Sandström* : *Upsala läkareförenings förhandlingar*, 1880, t. XV, anal. in
Schmidt's Jahrb., 1880.
- 73 *Schaffer* : Ueber das Vorkommen eosinophiler Zellen in der menschlichen
Thymus; *Centr. f. d. med. Wiss.*, nos 22 et 23, 1891.
- 73 bis *Schaper* : Beiträge zur Histologie der Glandula carotica; *Arch. f. mikr.
Anat.*, Bd. XL, 1892.
- 74 *Schedel* : Studien über Regeneration der Gewebe. Zellvermehrung in
der Thymusdrüse; *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XXIV, 1885.
- 75 *Schwabach* : Zur Entwicklung der Rachentonsille; *Sitz. d. bay. Akad.
et Arch. f. mikr. Anat.*, Bd. XXXII, 1888.
- 76 *Seessel* : Zur Entwicklungsgeschichte des Vorderdarms; *Arch. f. Anat.
und Phys.*, *Anat. Abth.*, 1877.
- 77 *Sertoli* : Ueber die Structur der Steissdrüse des Menschen; *Virchow's
Arch.*, Bd. XLII, 1868.
- 78 *J. Simon* : A physiological Essay on Thymus gland. London, 1845.
- 78 bis *Steinhaus* : Les métamorphoses et la gemmation indirecte des noyaux
dans l'épithélium intestinal de la Salamandra maculosa; *Arch.
de Physiologie*, 1888.
- 79 *Stieda* : Untersuchungen über die Entwicklung der Glandula Thymus,
Glandula thyroïdea und Glandula carotica. Leipzig, 1881.
- 80 *Stilling* : Du ganglion intercarotidien; *Rec. inaug. de l'Univ. de Lau-
sanne*, 1892.
- 81 *Stöhr* : Ueber die Lymphknötchen des Darmes; *Arch. f. mikr.
Anat.*, Bd. XXIII.
- 82 *Id.* : Die Entwicklung des adenoïden Gewebes, der Zungenbälge
und der Mandeln des Menschen; *Festschrift f. Nägeli und
Kölliker*, 1891.
- 83 *Id.* : Ueber die Mandeln und deren Entwicklung; *Corresp.-Blatt
f. Schweizer Aerzte*, 1890.
- 84 *Id.* : Ueber die Mandeln und deren Entwicklung. Die Entwicklung
des adenoïden Gewebes, der Zungenbälge und der Mandeln
des Menschen; *Anat. Anzeiger*, n° 19, 1891.
- 85 *Id.* : *Verh. d. anat. Gesells. in München*, 1891.
- 86 *v. d. Stricht* : Division mitotique des érythroblastes et des leucoblastes à
l'intérieur du foie embryonnaire des mammifères; *Anat. Anzeiger*,
n° 21, 1891.

- 87 *v. d. Stricht* : Nouvelles recherches sur la genèse des globules rouges et des globules blancs du sang; *Archives de Biologie*, t. XII, 1892.
- 88 *Tomarkin* : Lieberkühn'sche Krypten und ihre Beziehungen zu den Follikeln beim Meerschweinchen; *Anat. Anzeiger*, nos 6-7, 1893.
- 89 *Tourneux et Herrmann* : Article Thymus; *Dict. encycl. d. sc. méd.*, 1887, et *Soc. de Biologie*, 1887.
- 90 *Waldeyer* : *Verh. d. anat. Ges. in München*, 1891.
- 91 *Watney* : The minute Anatomy of the Thymus; *Phil. Trans.*, 1882.
- 92 *Wölfler* : Ueber die Entwicklung und den Bau der Schilddrüse. Berlin, 1880.
- 93 *Zawarykin* : Ueber das Epithel der Tonsillen; *Anat. Anzeiger*, 1889, n° 15.
-

EXPLICATION DES PLANCHES.

PLANCHE I.

FIG. 1. Troisième poche branchiale; épaissement de sa paroi, ébauche de la glande carotidienne. Embryon de 15 mm. — Liquide de FLEMMING. Safranine et induline. ZEISS, oc. 6, obj. 16,0 mm. *en*, poche entodermique; *ec*, poche ectodermique; *gc*, glande carotidienne.

FIG. 2. Autre coupe appartenant au même objet et vue à un fort grossissement, pour montrer les détails structuraux d'une partie de l'ébauche carotidienne et la continuité de cette ébauche avec l'épithélium branchial. — ZEISS, oc. 4, LEITZ, imm. hom. 112. *en*, cavité de la poche entodermique; *v, v*, vaisseaux dans l'ébauche carotidienne.

FIG. 3. Glande carotidienne. Embryon de 28 mm. — Liquide fixateur et coloration de FLEMMING. ZEISS, oc. 6, obj. 4,0 mm. *a*, pseudo-acini de la glande; *v*, vaisseaux sanguins.

FIG. 4. Glande carotidienne. Embryon de 40 mm. — Liquide et colorant de FLEMMING. ZEISS, oc. 6, obj. 4,0 mm.

FIG. 5. Glande carotidienne. Embryon de 70 mm. Constitution trabéculaire et réticulée. — Liquide de KLEINENBERG. Carmin boracique à l'alcool. ZEISS, oc. 6, obj. 16,0 mm.

FIG. 6. Glande carotidienne. Embryon de 40 mm. — Trabécules formées d'une seule rangée de cellules. Noyaux contractés, *n*, dégénérés(?). — Liquide de FLEMMING. Safranine, induline. ZEISS, oc. 4, LEITZ, imm. hom. 112.

FIG. 7. Huit coupes séries à travers la troisième poche branchiale, la glande carotidienne, les ganglions du vague et du sympathique et la carotide primitive. Rapport de ces différents organes; forme de la poche branchiale. Embryon de 20 mm. Les coupes dessinées sont prises de deux en deux. *A* est la coupe proximale, *H* la coupe distale. En *A*, le pharynx et le larynx ont été figurés pour faciliter l'orientation. En *H*, les deux côtés ont été représentés pour la même raison. — Gross. 10 *D*. *br*, troisième poche branchiale; *v*, ganglion plexiforme du nerf vague; *s*, ganglion cervical supérieur du sympathique; *gc*, glande carotidienne; *c*, carotide primitive; *d*, diverticule de la troisième poche branchiale; *th*, corps ou queue du thymus; *to*, thyroïde médiane.

FIG. 8. Glande carotidienne, reste de la troisième poche branchiale, diverticule de cette poche ou vésicule thymique, ganglion du vague chez un embryon

de 25 mm. — *c*, carotide; *gc*, glande carotidienne; *br*, troisième poche branchiale; *d*, diverticule de cette poche; *v*, ganglion du vague; *j*, veine jugulaire. — Liquide et colorant de FLEMMING. ZEISS, oc. 4, obj. 16,0 mm.

FIG. 9. Mêmes organes, même objet. Les lettres comme précédemment. Traitement identique. — ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

FIG. 10. Mêmes organes d'un embryon de 26 mm. Mêmes lettres. Le diverticule ou vésicule thymique a perdu ses relations avec le ganglion du vague. Le reste de la poche branchiale est en voie de devenir la tête du thymus par bourgeonnement de son épithélium. — Liquide de FLEMMING, coloration de FLEMMING. ZEISS, oc. 6, obj. 16,0 mm.

FIG. 11. Cordon intermédiaire du thymus chez un embryon de 26 mm. *cith*, ce cordon; *v*, nerf vague. — Liquide et colorant de FLEMMING. ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

FIG. 12. Cordons cervico-thoraciques du thymus chez un embryon de 25 mm. — *en*, enveloppe conjonctive du thymus. — Liquide de FLEMMING. Safranine, induline. ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

PLANCHE II.

FIG. 13. Embryon de 110 mm. Tête du thymus nettement formée de deux portions : une externe, dont la glande carotidienne, *gc*, paraît un des lobes, est grossièrement lobée; l'autre, interne, lobulée, est en rapport avec la carotide et le nerf vague et se continue inférieurement avec le cordon intermédiaire. Gross. 10 D.

FIG. 14. Glande carotidienne. Fœtus à terme. Noyaux rétractés (dégénérés?), *n*; *v, v*, vaisseaux sanguins remplis de globules déformés par pression réciproque. On voit aussi un noyau dont l'enchylème est très coloré. — Liquide de FLEMMING. Safranine, orange. ZEISS, oc. 6, LEITZ, obj. imm. hom. 1/12.

FIG. 15. Rapports de la glande carotidienne avec la tête du thymus chez un embryon de 26 mm.; adhérence de l'une à l'autre. — *gc*, trabécule de la glande carotidienne; *tth*, tête du thymus. — Liquide de FLEMMING; coloration par la méthode de FLEMMING. ZEISS, oc. 4, LEITZ, obj. imm. hom. 1/12.

FIG. 16. Corps du thymus. Embryon de 26 mm. Cavité en voie de formation. — *a*, une cellule centrale devenue vésiculeuse et renfermant des globules chromatiques; autour de cette cellule plusieurs éléments disposés concentriquement d'une façon irrégulière. — Liquide et colorant de FLEMMING. ZEISS, oc. 4, LEITZ, imm. hom. 1/12.

FIG. 17. Une cavité du thymus renfermant des globules chromatiques et des débris épithéliaux. Cellules vésiculeuses, *ve*; cellules avec vacuoles, *va*. En *a*, cellule vésiculeuse dont la cavité paraît continuer la cavité thymique. En *r* a été représentée une partie de la deuxième rangée de cellules épithéliales qui entoure la cavité. Embryon de 26 mm. — Liquide et colorant de FLEMMING. ZEISS, oc. 4, LEITZ, imm. hom. 1/12.

FIG. 18. Dissection de la partie supérieure du cou chez un fœtus à terme. Grand. nat. *th*, tête du thymus recouverte en partie par la glande sous-maxillaire à laquelle elle adhère intimement; *gm*, glande sous-maxillaire; *gl*, ganglions lymphatiques; *to*, corps thyroïde; *cith*, cordon intermédiaire du thymus; *c*, carotide primitive; *j*, veine jugulaire interne; *m*, muscle sterno-sous-occipital(?); *m'*, muscle crico-thyroïdien; *m''*, muscle thyro-hyoïdien.

FIG. 19. Cordons reliant la portion thoracique à la partie cervicale du thymus et correspondant aux appendices thoraciques de l'organe plus jeune. 1, 2, cordons droit et gauche; *e*, enveloppe conjonctive; *v*, paroi de la veine-cave supérieure à laquelle l'enveloppe du thymus est soudée. Embryon de 30 mm. — Liquide de KLEINENBERG. Carmin boracique alcoolique. ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

FIG. 20. Tête du thymus. Embryon de 40 mm. Noyaux géminés. 1, 2, 3, 4, quatre couples de noyaux, l'un clair et l'autre foncé. — Fixation et coloration de FLEMMING. ZEISS, oc. 6, LEITZ, imm. hom. 1/12.

FIG. 21. Figures de division directe (?) chez un embryon de 28 mm. Dans la partie supérieure de la figure, les cellules sont représentées dans leurs rapports respectifs. *n*, noyaux petits à côté des noyaux plus grands; *b*, bourgeon émis par une cellule en voie de sténose. — Dans la partie inférieure de la figure, les noyaux sont représentés seuls, sans corps cellulaire, et isolés les uns des autres, les lettres ayant la même signification que ci-dessus. Tout à fait en bas de la figure, *a* et *a'* appartiennent à un embryon de 26 mm.; *a* est un noyau bilobé; *a'* un noyau quadrilobé.

FIG. 22. Éléments de la substance corticale du thymus. Embryon de 30 cent. — Liquide de FLEMMING. Safranine, thionine. — ZEISS, oc. 2, LEITZ, obj. imm. hom. 1/12. — *cs*, cellules à grand noyau ou cellules de soutien (cellules épithéliales?); *l*, lymphoblastes; *l'*, lymphocytes. Cette figure est destinée moins à donner les caractères intimes de structure des cellules constitutives du thymus que la proportion des diverses variétés cellulaires dans une certaine surface de la coupe.

FIG. 23. Éléments de la substance médullaire de la tête du thymus. Embryon de 30 cent. — Liquide de FLEMMING, coloration de FLEMMING. ZEISS, oc. 6, LEITZ, obj. imm. hom. 1/12. — Mêmes lettres que ci-dessus; de plus, *v, v*, vaisseaux sanguins. Les noyaux désignés par les lettres *cs* n'appartiennent pas d'une façon certaine à des cellules de soutien. Par contre, l'élément isolé représenté en *a* est une cellule de charpente typique. En *b* est figurée une autre cellule de charpente, prise sur un embryon de 40 cm., dont le protoplasme renferme de gros grains gentianophiles. En *c*, cellule de charpente chez un agneau nouveau-né. En *d* sont représentés à un plus fort grossissement, le tube de l'oculaire étant tiré, trois lymphocytes (à gauche) et deux lymphoblastes (à droite).

FIG. 24. Texture de la tête du thymus. Embryon de 85 cm. — *ec*, enveloppe conjonctive; *γp*, zone périphérique; *γcf*, zone corticale ou substance folliculeuse; *sm*, substance médullaire. — Liquide de FLEMMING. Safranine, orange. ZEISS, oc. 4, obj. 16,0 mm.

FIG. 25. Série de coupes à travers la région inférieure du cou et l'extrémité supérieure du thorax d'un embryon de 30 mm. A est la coupe la plus proximale;

thc, partie inférieure du thymus cervical; *ccth*, cordon cervico-thoracique; *tht*, thymus thoracique; *mp*, muscles prévertébraux; *gs*, ganglions du sympathique; *cs*, cordon du sympathique; *tr*, trachée-artère; *oe*, œsophage; *v*, nerf vague; *ca*, carotide primitive; *cac*, tronc commun des carotides primitives; *vj*, veine jugulaire; *sc*, veine sous-clavière; *vbc*, troncs veineux brachio-céphaliques réunis; *vc*, veine-cave supérieure; *a₇*, veine azygos; *pe*, cavité du péricarde; *pl*, cavité de la plèvre; *p*, poumon; *c, c*, cœur; *cc*, cartilages costaux. — Liquide de KLEINENBERG. Carmin alcoolique boracique. — Gross. 10 D. Les coupes ne sont représentées que dans la proportion d'une sur vingt en moyenne.

PLANCHE III.

FIG. 26. Ébauche thyroïdienne latérale et glandule thyroïdienne chez un embryon de 15 mm. — *tol*, ébauche thyroïdienne latérale; *gltto*, glandule thyroïdienne; *th*, thymus. — ZEISS, oc. 6, obj. 16,0 mm. — Liquide de FLEMMING. Safranine, induline.

FIG. 27. Même objet, vu à un fort grossissement. Connexion de la glandule thyroïdienne avec la paroi épithéliale de l'ébauche thyroïdienne latérale. — *tol*, cavité de la thyroïde latérale; *gltto*, portion de la glandule thyroïdienne; *a*, endroit où la paroi de la thyroïde latérale et le tissu de la glandule sont en continuité. ZEISS, oc. 4, LEITZ, obj. imm. hom. 1/12.

FIG. 28. Embryon de 20 mm. Coupe d'ensemble de toute la formation thyroïdienne. — *oe*, œsophage; *tr*, trachée; *tom*, thyroïde médiane; *tol*, thyroïde latérale; *gltto*, glandule thyroïdienne; *th*, thymus; *ca*, carotide primitive; *r*, nerf récurrent. — ZEISS, oc. 4, obj. 16,0 mm. — Liquide de KLEINENBERG. Carmin alcoolique boracique.

FIG. 29. Embryon de 26 mm. Vue d'ensemble des deux ébauches thyroïdiennes. — *tom*, thyroïde médiane; *tol*, thyroïde latérale; *oe*, œsophage; *tr*, trachée; *th*, thymus; *ca*, carotide primitive; *vj*, veine jugulaire; *pn*, nerf pneumo-gastrique; *r*, nerf récurrent. — Liquide de FLEMMING. Coloration de FLEMMING. — ZEISS, oc. 4, obj. 16,0 mm.

FIG. 30. Embryon de 26 mm. Rapports de l'ébauche thyroïdienne latérale et de la thyroïde médiane. Constitution de la thyroïde latérale. — *tol*, cavité de la thyroïde latérale; *b*, bourgeons de la thyroïde médiane; *r*, réticulum cellulaire qui constitue la thyroïde latérale; *e*, enveloppe conjonctive partielle qui sépare les deux ébauches thyroïdiennes. — Liquide et colorant de FLEMMING. — ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

FIG. 31. Même embryon. Autre coupe. Rapports de la thyroïde médiane, de la thyroïde latérale et de la glandule thyroïdienne. — *tol*, cavité de la thyroïde latérale; *ep*, paroi épithéliale de cette cavité; *r*, tissu cellulaire réticulé qui constitue la majeure partie de la thyroïde latérale; *b, b*, bourgeons de la thyroïde médiane; *gltto*, glandule thyroïdienne; ses connexions avec l'épithélium de la thyroïde latérale; *tc*, tissu conjonctif ambiant. — Liquide et colorant de FLEMMING. — ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

FIG. 32. Glandule thyroïdienne. Embryon de 26 mm. Dans un espace vasculaire sanguin, une hématie en division. La figure est prise à la périphérie de l'organe. — Liquide et coloration de FLEMMING. — ZEISS, oc. 4, LEITZ, obj. imm. hom. 1/12.

FIG. 33. Glandule thyroïdienne. Embryon de 28 mm. — Lumière d'un acinus glandulaire; *v*, capillaire sanguin. — Liquide de FLEMMING. Safranine, induline. — ZEISS, oc. 6, obj. 4,0 mm.

FIG. 34. Embryon de 85 mm. Vue dorsale du corps thyroïde et de la trachée pour montrer la glandule thyroïdienne. Celle-ci n'est visible que du côté droit, grâce à ce que le lobe droit de la glande thyroïde a été récliné en dehors et éloigné de la trachée, de façon à découvrir sa face interne qui loge la glandule. — Gross. 10 diam.

PLANCHE IV.

FIG. 35. Embryon de 26 mm. Rapports de la thyroïde latérale et de la thyroïde médiane. Abouchement des bourgeons de la thyroïde médiane, *b*, avec le tissu cellulaire réticulé, *r*, de la thyroïde latérale. Cette figure pourrait aussi être interprétée comme montrant un bourgeonnement de la thyroïde latérale. — Liquide de FLEMMING, coloration de FLEMMING. — ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

FIG. 36. Embryon de 28 mm. Rapports de la thyroïde latérale avec la thyroïde médiane. — *tol*, cavité de la thyroïde latérale; *b*, bourgeon épithélial poussé par la thyroïde latérale ou venu de la thyroïde médiane et branché sur la paroi épithéliale de l'ébauche latérale; *c*, cellules devenues vésiculeuses, tombées dans la cavité. — Mêmes traitement et grossissement que précédemment.

FIG. 37. Embryon de 7 centimètres. Série de coupes à travers un lobe de la glande thyroïde. — 1 est la coupe la plus proximale; *gl*, glandule; *tol*, thyroïde latérale et sa cavité; *h*, hile de la glande. — Gross. 10 diam.

FIG. 38. Même embryon. Coupe transversale d'un lobe entier du corps thyroïde. — *gl*, glandule thyroïdienne; *tol*, diverticule de la cavité de la thyroïde latérale; *v*, *v*, vaisseaux sanguins et tissu conjonctif; *ve*, grandes vésicules thyroïdiennes; *tr*, *tr*, régions où l'état trabéculaire du tissu thyroïdien existe encore. — Liquide de KLEINENBERG. Carmin alcoolique boracique. — ZEISS, oc. 4, obj. 16,0 mm.

FIG. 39. Même embryon. Portion de la coupe 4 de la figure vue à un plus fort grossissement. Tissu et cavité de la thyroïde latérale; masse cellulaire faisant saillie dans la cavité, avec nodules caractéristiques, *n*, *n'*, dont un pédiculisé; épithélium de la paroi, simple, sauf en certains endroits où des cellules polyédriques claires le renforcent. — Même traitement. ZEISS, oc. 6, obj. 16,0 mm.

FIG. 40. Embryon de 6 centimètres. Cavité de la thyroïde latérale; ses diverticules; sa paroi épithéliale. Abouchement des travées cellulaires du tissu thyroïdien avec les diverticules; capillaires sanguins très dilatés et bourrés de globules. En haut et à gauche, la paroi épithéliale de la thyroïde latérale se continue avec un tissu différent du parenchyme thyroïdien. — Liquide de KLEINENBERG. Carmin alcoolique boracique. ZEISS, oc. 4, obj. 4,0 mm.

FIG. 41. Coupe de l'ébauche thyroïdienne latérale d'un embryon de 20 mm. montrant, outre cette ébauche, *tol*, la partie externe de la thyroïde médiane, *tom*; *c*, végétation conjonctive paraissant partir de la paroi interne de la thyroïde latérale. (Figure demi-schématique.) — ZEISS, oc. 4, obj. 16,0 mm. Liquide de KLEINENBERG. Carmin alcoolique boracique.

FIG. 42. Coupe de l'ébauche thyroïdienne latérale, *tol*, et de la glandule thyroïdienne, *glt*, chez un embryon de 14 mm. — Liquide de FLEMMING. Safranine. ZEISS, oc. 6, obj. 16,0 mm.

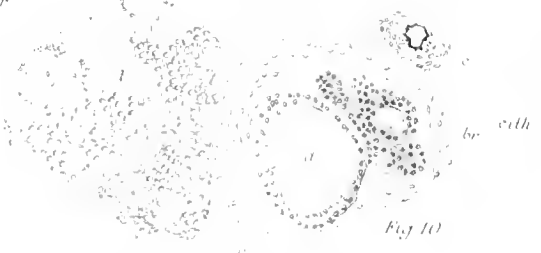
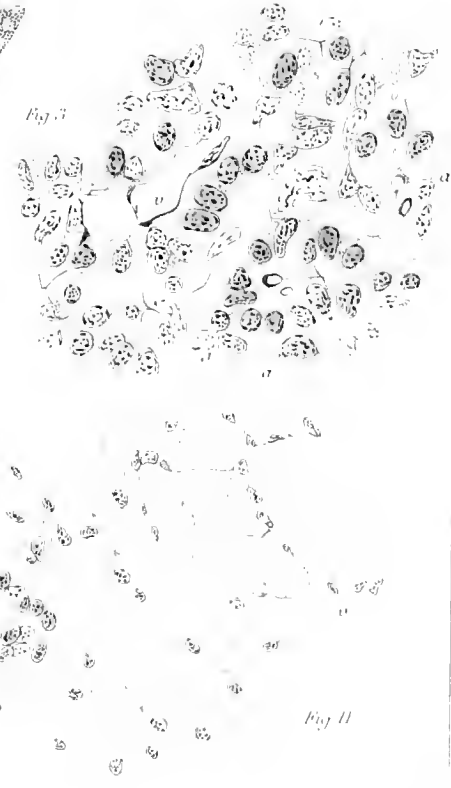
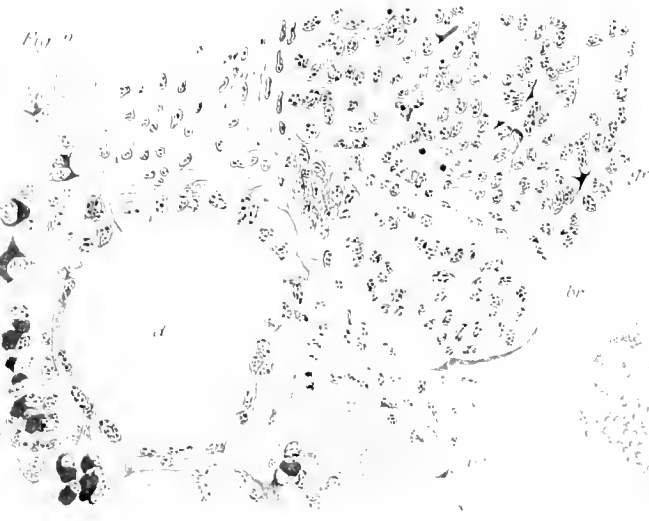
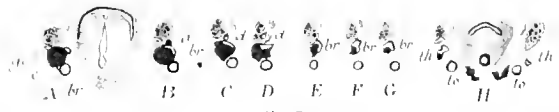
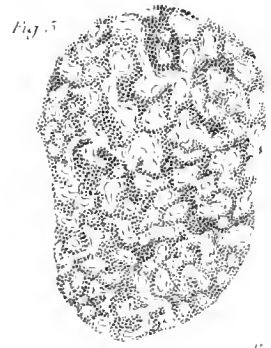
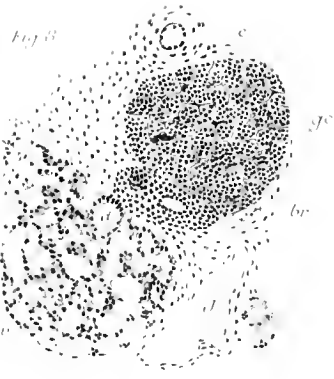
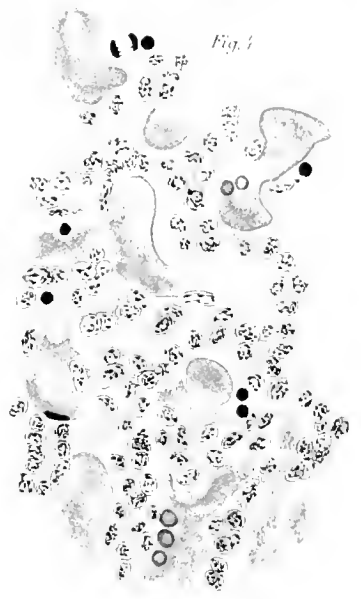
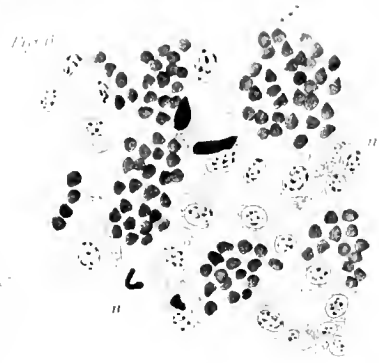


Fig 11



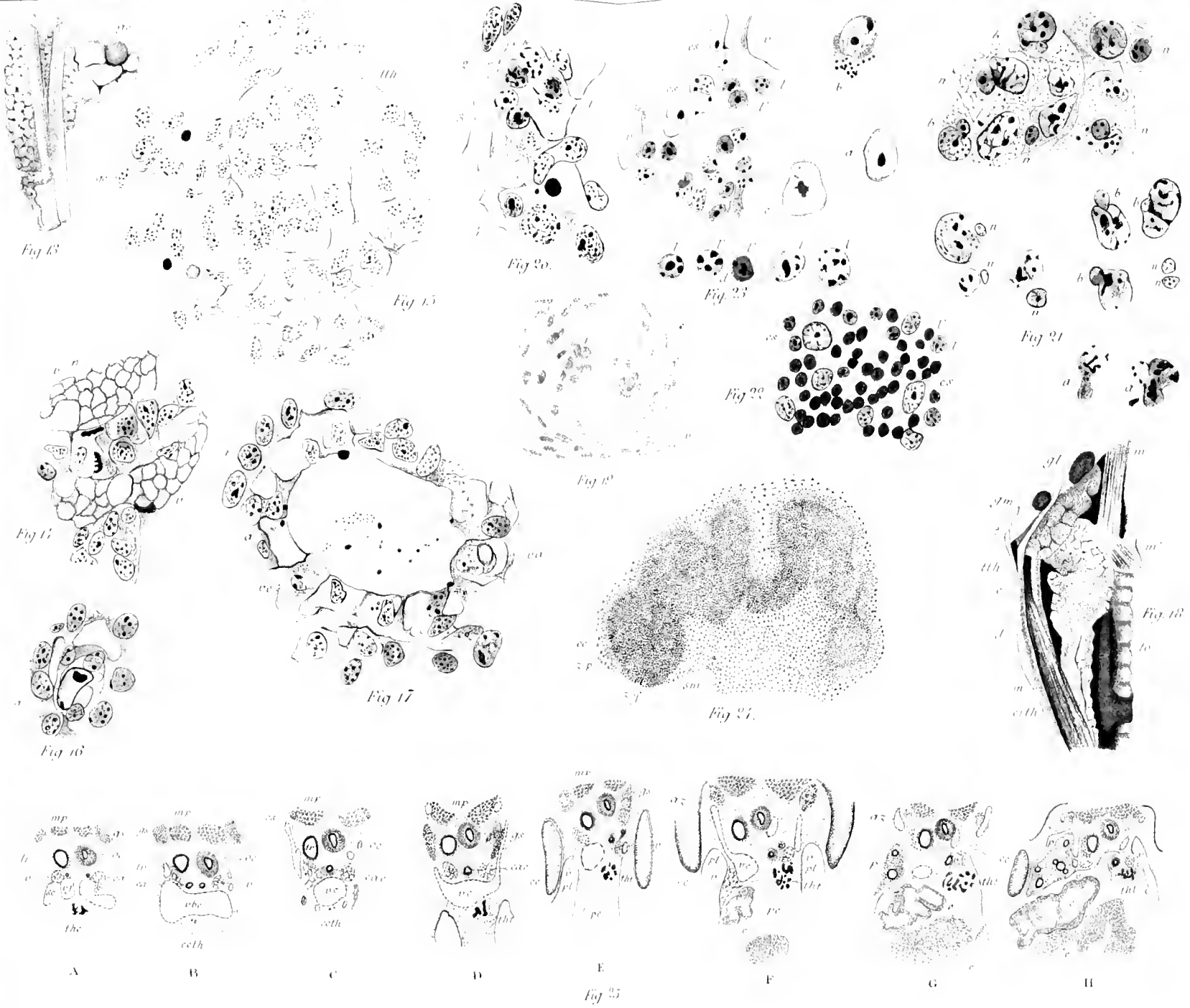


Fig 13

Fig 15

Fig 20

Fig 23

Fig 21

Fig 14

Fig 19

Fig 22

Fig 18

Fig 17

Fig 24

Fig 16

A

B

C

D

E

F

G

H

Fig 25



Fig. 28



Fig. 26

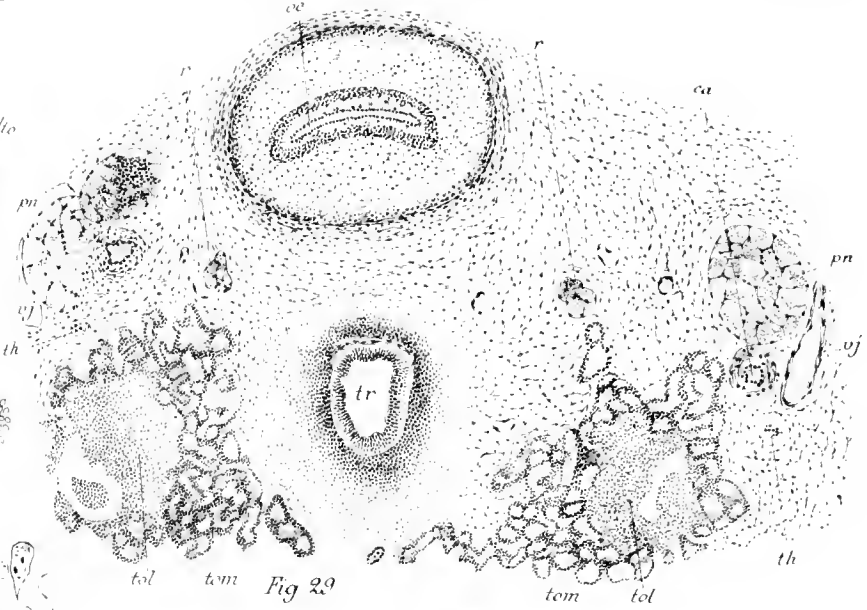


Fig. 29



Fig. 32

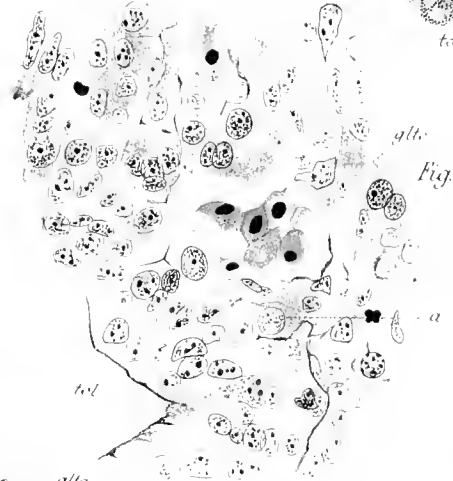


Fig. 27



Fig. 33

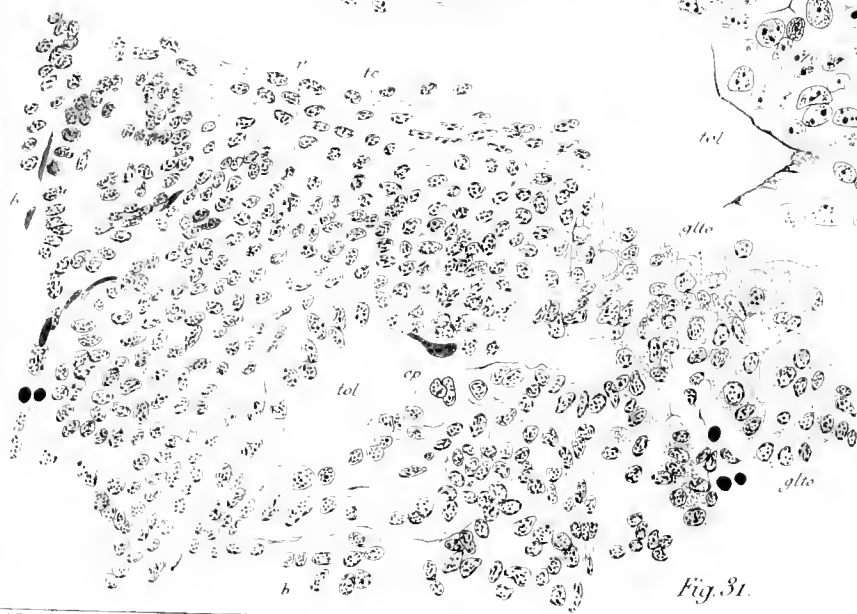


Fig. 31



Fig. 31

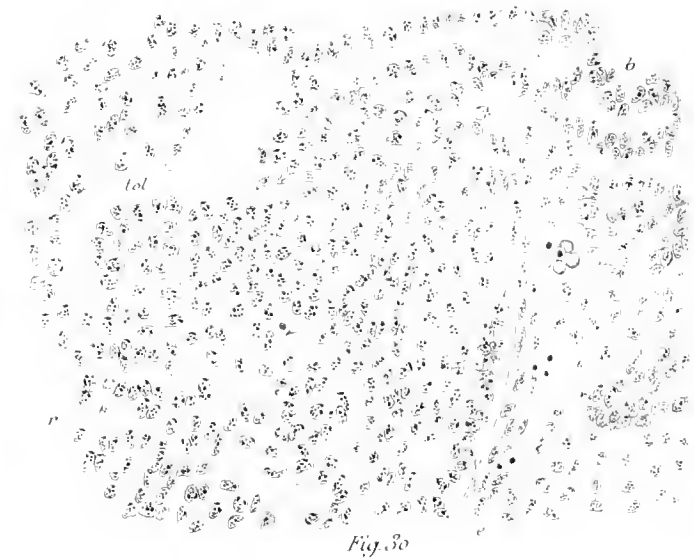


Fig. 30

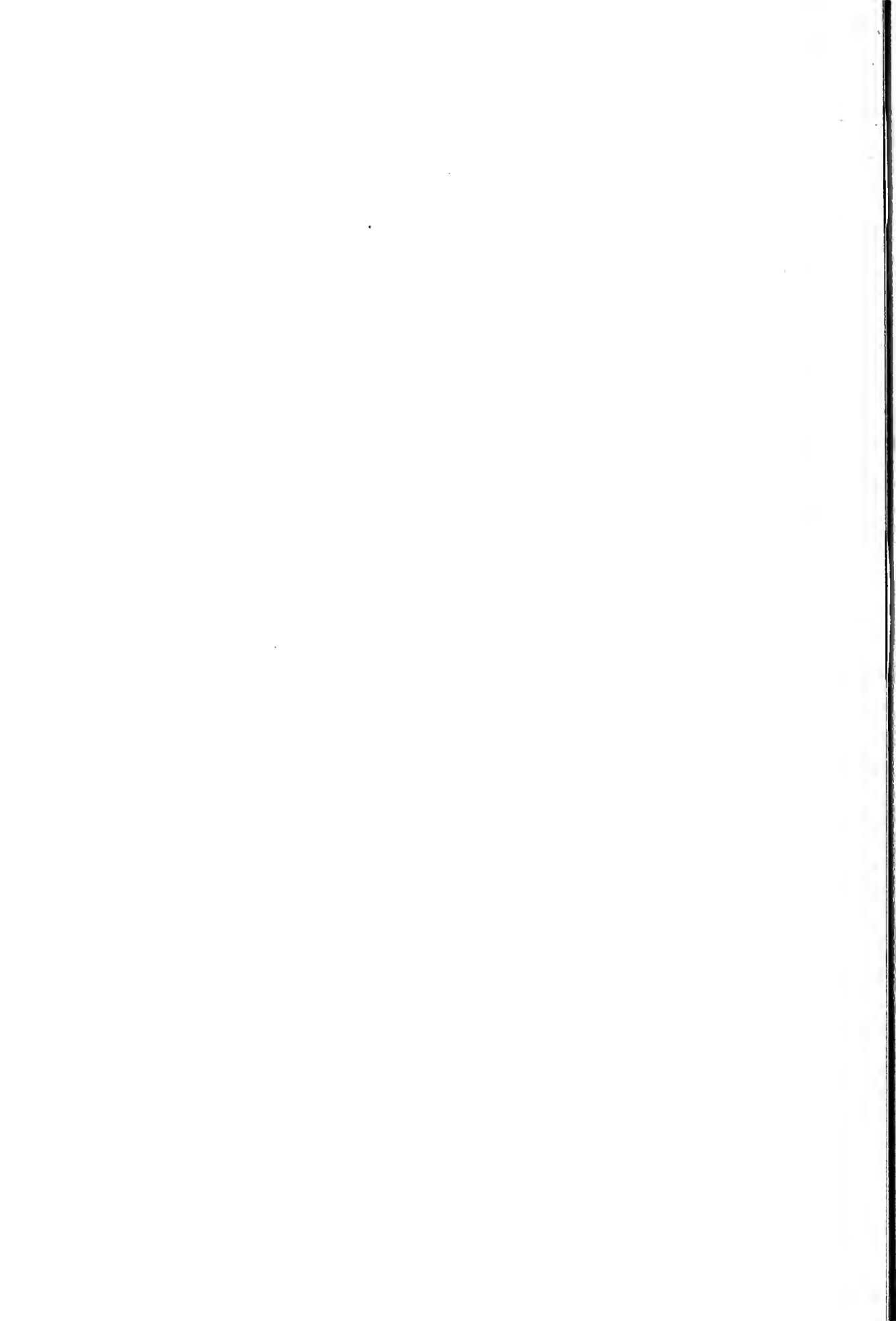




Fig. 36

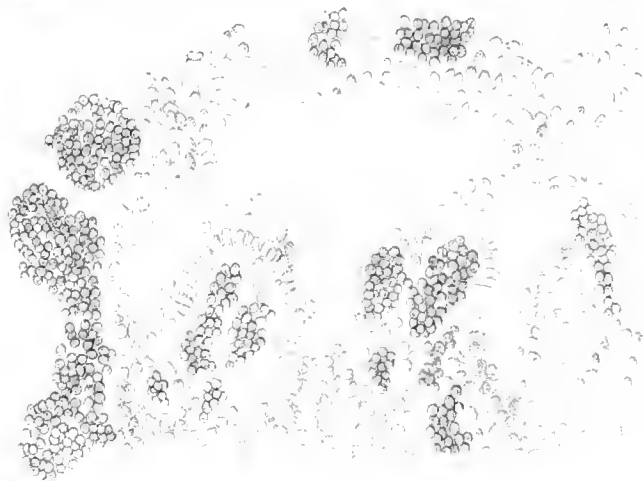


Fig. 40

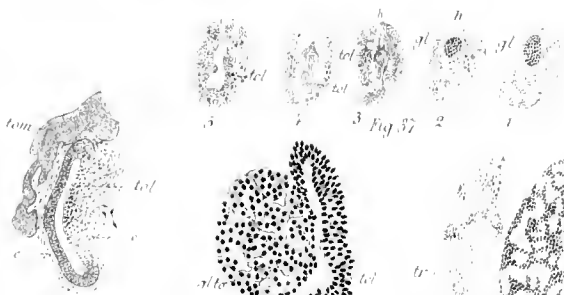


Fig. 37

Fig. 34



Fig. 39

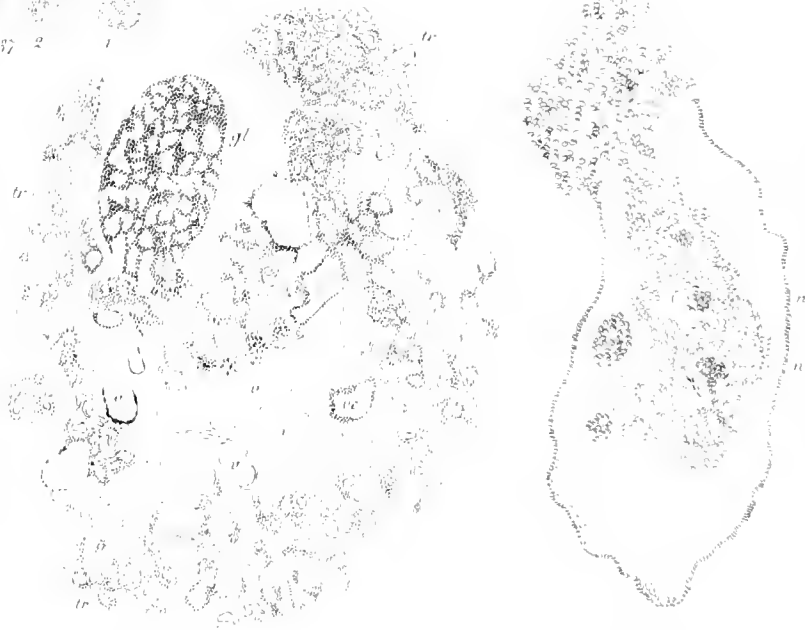


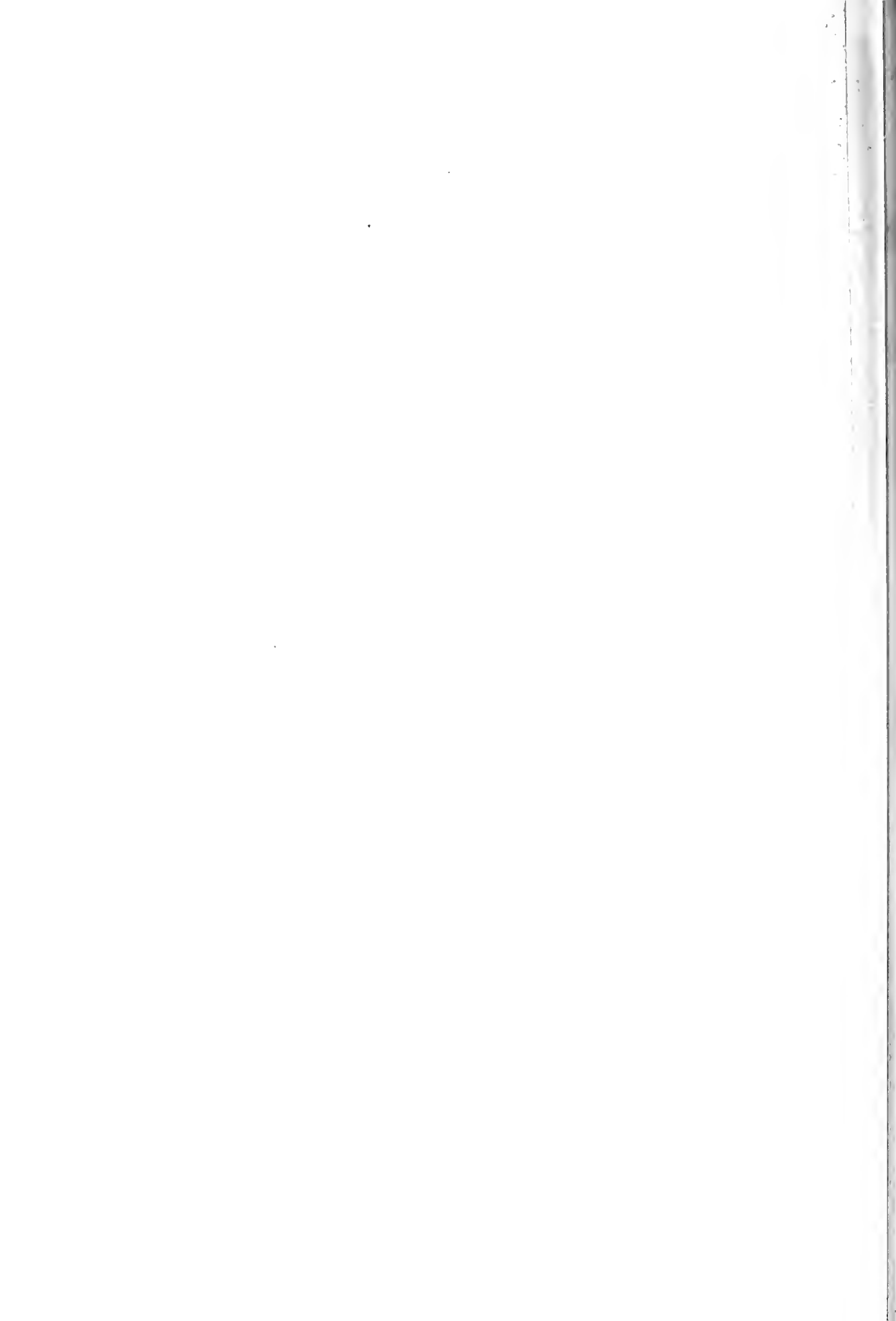
Fig. 38



Fig. 35



Fig. 39



É T U D E

sur les propriétés du poison du

CHOLÉRA ASIATIQUE

PAR

Charles SLUYTS

DOCTEUR EN MÉDECINE, ASSISTANT AU LABORATOIRE.

(Mémoire déposé le 30 juin 1893.)

(TRAVAIL DU LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET DE PATHOLOGIE
EXPÉRIMENTALE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.)



Étude sur les propriétés du poison
DU
CHOLÉRA ASIATIQUE

HISTORIQUE.

Au fur et à mesure que la science bactériologique s'est développée, l'attention s'est fixée de plus en plus sur les poisons formés par les microbes. C'est, en effet, à l'action de ces substances qu'on doit attribuer les troubles causés par les microorganismes, et alors même que leur nature intime se dérobe encore aux investigations, la connaissance de leurs propriétés les plus générales, telles que leur solubilité, leur résistance à la chaleur et à l'oxygène, etc., présente une importance très grande. La nécessité de ces recherches n'a fait que croître quand on a reconnu que l'on peut conférer l'immunité au moyen de cultures mortes et même de cultures filtrées.

Malgré les recherches multipliées qui ont porté sur le poison du choléra asiatique, de nombreuses contradictions règnent encore sur sa nature et sur les conditions dans lesquelles il se produit.

Le présent travail a pour but d'apporter de nouveaux éléments à la solution de ce problème, dont l'intérêt n'a fait qu'augmenter depuis que l'on tend à chercher dans les produits solubles du bacille virgule un moyen de vaccination contre la maladie.

Les premiers savants qui s'occupèrent du vibrion du choléra purent déjà constater que ses milieux de culture étaient toxiques. NICATI et RIETSCH tuèrent des cobayes avec des bouillons stérilisés. KOCH, VAN ERMENGEM, FERRAN, CATTANI, KLEBS et HUEPPE produisirent les mêmes effets, VAN ERMENGEM(1), entre autres, en injectant dans le péritoine ou le duodénum des cultures stérilisées par la filtration ou le chauffage à 60°.

(1) Bulletin de l'académie de Belgique, 1884

Mais à cette époque on ne s'occupait guère encore de la nature du poison. Les recherches à ce sujet sont venues plus tard et on peut les classer en deux grandes catégories.

Dans la première, nous mettons tous les travaux qui ont pour objet la recherche d'un ou de plusieurs alcaloïdes, auxquels on aurait pu attribuer les différents symptômes de la maladie. Nous rencontrons ici les travaux de POUCHET(1), de VILLIERS(2), de NICATI et RIETSCH(3), de KLEBS(4), et enfin de BRIEGER(5). Quelles qu'aient été les tendances de ces différents auteurs, leurs analyses ont eu pour résultat de démontrer que, si la formation de ptomaines dans les cultures du bacille-virgule ne peut être mise en doute, le rôle joué par ces produits n'a pas d'importance, soit parce qu'ils sont dépourvus de toxicité, soit parce que ceux qui sont toxiques ne se forment pas en quantité suffisante. Aussi, l'hypothèse de la nature alcaloïdique du poison du choléra a été abandonnée par tout le monde.

Dans la deuxième catégorie, nous pouvons grouper tous les travaux qui attribuent au poison du choléra la nature d'une substance albuminoïde : globuline, peptone, nucléo-albumine, nucléine, etc.

Nous rencontrons ici, en premier lieu, DE SIMONE(6), qui trouve que les bouillons renferment un poison inactif pour les cobayes, mais actif pour les chiens.

BRIEGER et FRENKEL(7) considèrent ce poison comme une substance albuminoïde, une globuline, insoluble dans l'eau et l'alcool, inoffensive pour le lapin, mais mortelle pour le cobaye.

D'après PÉTRI(8), qui a étudié les échanges chimiques que le vibrion cholérique produit dans les milieux contenant de la peptone, cet organisme engendre un poison qui présente presque toutes les réactions de la peptone et qu'il considère par conséquent comme une toxo-peptone. La substance,

(1) POUCHET : Sur la présence des sels biliaires dans le sang des cholériques et l'existence d'un alcaloïde dans leurs déjections; *C. R. Ac. des sc.*, t. C.

(2) VILLIERS : Sur la formation des ptomaines du choléra; *C. R. Ac. des sc.*, t. C., p. 9.

(3) NICATI et RIETSCH : *C. R. Ac. des sc.*, 24 nov. 1884.

(4) KLEBS : Ueber Cholera-ptomain; *Central. der schweizer Aerzte*, n° 13, 1885.

(5) BRIEGER : Zur Kenntniss der Stoffwechselproducten des Cholera-bacillus; *Berl. kl. Woch.*, n° 14, 1887.

(6) DE SIMONE : Altre ricerche sul cholera; *Giornale intern. delle scienze mediche*, 1886, cité d'après le *Jahresbericht* de BAUMGARTEN.

(7) BRIEGER et FRENKEL : Untersuchungen über Bacteriengifte; *Berl. klin. Woch.*, 1890, n°s 11-12. *Jahresbericht*, tome II.

(8) PÉTRI : D'après les comptes rendus du *Jahresbericht* de BAUMGARTEN, Tome VI, 1890.

qu'il obtient par précipitation alcoolique, tue les cochons d'Inde; ceux-ci présentent du tremblement, de l'abattement, de la faiblesse, de la paralysie des membres postérieurs, etc.; et à l'autopsie, on trouve des lésions intestinales, rougeur de la muqueuse, petites ecchymoses sous le péritoine. Le poison qui est en somme peu toxique, puisqu'il faut, pour produire cet empoisonnement, administrer jusqu'à 1 gr., résiste à la température de 100°.

SCHOLL(1), dans ses recherches sur ce sujet, part d'un point de vue spécial : il estime que les insuccès de beaucoup d'auteurs dans la recherche du poison cholérique sont dus à ce que leurs cultures se développent au contact de l'air; et il pense que, en obligeant le vibrion à vivre d'une vie anaérobie, il réalisera les conditions nécessaires pour obtenir le poison. Dans ce but, il fait la culture dans des œufs après avoir perforé la coquille avec une aiguille stérilisée. L'ouverture est refermée avec du collodion. Après un certain nombre de jours, il parvient à isoler de l'albumine de l'œuf, deux poisons : un premier qui se laisse précipiter par le sel de cuisine et qu'il considère comme une globuline : ce poison tue les cochons d'Inde après des convulsions intenses et n'a pas d'action sur l'intestin; le second poison, qui n'est pas précipité par le sulfate d'ammoniaque ni par le sulfate de magnésie, serait une peptone et tue les cochons d'Inde avec des symptômes de paralysie et des convulsions; à l'autopsie, on trouve l'intestin congestionné. Ce second poison est très peu résistant à la chaleur. Un chauffage d'une demi-heure à 75° le détruit, et même une température de 40°-45° a le même effet quand elle dure 24 heures.

HUEPPE(2) confirme en général les données de SCHOLL, sans admettre pourtant que le poison soit complètement détruit par le chauffage au-delà de 70°; ce chauffage ne ferait qu'affaiblir le poison.

Nous arrivons maintenant à un travail important de GAMALÉIA(3). Cet auteur applique au poison du choléra sa théorie générale sur la nature des poisons microbiens, qui seraient des nucléo-albumines se transformant très facilement en d'autres poisons : les nucléines. Il distingue pour le vibrion de KOCH deux substances toxiques.

(1) SCHOLL : D'après les comptes rendus du *Jahresbericht* de BAUMGARTEN, Tome VI, 1890.

(2) HUEPPE : Ueber die Ätiologie und Toxicologie der Cholera asiatica; *Deut. med. Woch.*, n° 53, 1891.

(3) GAMALEIA : Recherches expérimentales sur les poisons du cholera; *Arch de méd. exp.*, Tome IV, 1892, n° 2.

Une première qui serait la nucléo-albumine de cet organisme et qui produirait les symptômes et les lésions caractéristiques du choléra : vomissement, diarrhée, hyperhémie et transsudation intestinale. Ce poison oppose peu de résistance à la chaleur et se détruit par le chauffage au-delà de 60°.

La seconde substance, qui correspondrait à la nucléine du vibron de KÖCH, dériverait de la première par décomposition. Ce poison n'a pas d'action sur l'intestin et résiste très bien à une température prolongée de 120°.

D'après GAMALÉIA, le vrai poison du choléra, la nucléo-albumine, se trouverait surtout dans les cultures anciennes.

PFEIFFER (1), dans ses études sur le même sujet, s'adressa à des cultures jeunes, se développant au contact de l'air. Il distingue, lui aussi, deux poisons : un premier qui ne résiste pas à l'ébullition, et un second dérivant du premier, mais beaucoup moins toxique. En somme, l'auteur, en admettant deux poisons, l'un dérivant de l'autre, se rapproche des idées de GAMALÉIA.

Enfin, nous devons encore citer un travail de OUCHINSKY(2), paru il y a un mois à peine. Cet auteur a obtenu des cultures virulentes et toxiques dans des milieux artificiels absolument dépourvus de substances albuminoïdes. D'après lui, le poison n'est pas une nucléo-albumine, mais un corps albuminoïde à composition peu complexe.

Si nous résumons cet exposé de l'état de la question, nous trouvons que les auteurs sont actuellement d'accord pour reconnaître la nature albuminoïde du poison cholérique; mais les divergences sont aussi prononcées que possible non seulement sur le groupe des substances albuminoïdes dans lequel il faudrait le ranger, mais aussi sur ses propriétés générales.

Ainsi, pour BRIEGER et FRENKEL, le poison est une *globuline*;

Pour PÉTRI, une *peptone*;

Pour SCHOLL et HUEPPE, également une *peptone*;

GAMALÉIA y voit une *nucléo-albumine*;

Et OUCHINSKY, un *corps albuminoïde* de composition peu complexe.

(4) PFEIFFER : Untersuchungen über das Cholera Gift; *Zeitsch. f. Hyg.*, Band XI, n° 3.

(5) OUCHINSKY : Étude sur le poison du choléra; *Arch. de méd. exp.*, 1903.

I. TECHNIQUE DU TRAVAIL.

Disons d'abord quelques mots sur divers milieux de culture que nous avons employés.

1° *Les bouillons.* Nous avons employé fréquemment un bouillon de composition ordinaire, renfermant : 1 o/o de peptones, 1/2 o/o d'extrait de viande et 1 o/o de sel de cuisine; alcalinisation légère par le carbonate de sodium.

GAMALÉIA vante beaucoup, pour la culture du choléra, un bouillon qu'il prépare comme il suit : des pieds de veau hachés sont additionnés de 3 fois leur poids d'eau et chauffés à 120° pendant 2 heures; on dilue la masse avec un volume d'eau, on ajoute 1 o/o de peptones, 1 1/2 o/o de sel de cuisine, et on passe à travers un linge. On neutralise avec le carbonate de potassium; on met en ballon de 300 centimètres cubes qu'on remplit à moitié et on stérilise définitivement. Nous avons fréquemment employé ce bouillon en suivant les indications de GAMALÉIA, et nous devons reconnaître qu'il permet un développement plus abondant que le bouillon ordinaire. Soupçonnant qu'il devait ses qualités à la gélatine qu'il renfermait, nous avons préparé des bouillons à la gélatine, en ajoutant simplement 3 o/o de ce produit au bouillon ordinaire, dont nous avons donné la composition plus haut. Il nous a semblé que ce bouillon, ainsi modifié, rendait le même service que celui des pieds de veau, tout en ayant sur ce dernier l'avantage d'une préparation commode et rapide.

2° *Les pommes de terre.* Nous tenions beaucoup à avoir des cultures sur pommes de terre, parce que ce milieu fournit une masse microbienne, exempte de peptones, de gélatine, d'extrait de viande, et que l'on peut considérer comme pure. En outre, la masse des bacilles se laisse facilement peser et par conséquent doser exactement. Malheureusement, il est de notoriété que le bacille du choléra se développe peu abondamment sur la pomme de terre. Nous nous sommes demandé si, en faisant subir aux tubercules une préparation spéciale, nous ne les améliorerions pas avantageusement. Dans ce but, nous les avons mis à tremper dans plusieurs

solutions, et nous avons trouvé que plusieurs d'entre elles favorisent d'une façon indéniable le développement du vibrion de Koch.

Parmi elles, nous rangeons les solutions à 1 o/o de carbonate sodique ou potassique, de potasse et de soude caustiques, de carbonate d'ammoniaque et de peptones.

Tous ces principes conférant aux pommes de terre des qualités nutritives excellentes, nous les avons combinés dans un mélange composé comme il suit :

Carbonate de sodium	.	1/2 o/o.
Sel de cuisine	1 o/o.
Peptone	1 o/o.

En général, nous opérions de la manière suivante.

Après une première stérilisation à 120°, les pommes de terre sont coupées en tranches de 1 centimètre d'épaisseur, et mises à tremper dans le bain dont nous donnons la composition plus haut; le séjour dans le bain dure de 2-6 heures et peut être prolongé plus longtemps sans inconvénient. Les morceaux sont retirés, mis à égoutter et introduits dans de larges tubes fermés par un tampon d'ouate; ils sont stérilisés alors une seconde fois à 120°. Ensuite, ils sont inoculés avec une culture de choléra dans du bouillon et portés à la couveuse. Pour éviter la dessiccation, qui nous semblait nuisible, nous placions les tubes dans des bocalux fermés et renfermant un doigt d'eau.

Si nous donnons tous ces détails, c'est parce que les auteurs nous semblent souvent embarrassés pour obtenir un bon développement du choléra sur les pommes de terre. Entre les pommes de terre employées telles quelles et les pommes de terre préparées comme nous venons de le décrire, nous avons toujours trouvé, au point de vue du développement, une différence considérable. Sur les premières, quelle que fut leur origine ou leur âge, nous avons à peine obtenu un mince enduit; les secondes, au contraire, présentaient, après deux ou trois jours de couveuse, un enduit assez épais, dont la coloration variait du blanc au brun.

Pendant le cours de notre travail, nous avons reçu un travail de VOGES(1) qui préconise la macération dans une solution de sel de cuisine à la concentration de 2 à 5 o/o. Nous avons essayé ce procédé, il donne également

(1) VOGES : *Ueber das Wachstum der Cholera-bacillen auf Kartoffeln*; Centralblatt für Bacteriol., 24 avril 1893.

de bons résultats, mais ceux-ci ne sont nullement supérieurs à ceux que nous avons obtenus par la macération dans des bains de carbonate, de phosphate ou de peptone.

Quand nous jugions nos cultures assez développées, c'est-à-dire, après 3-4-5 jours de couveuse, nous enlevions la couche de microbes avec un couteau mousse, de façon à entamer la pomme de terre aussi peu que possible; la masse était ensuite pesée et délayée dans l'eau salée physiologique, de façon à constituer une émulsion au dixième (eau : 90 gr., bacilles 10 gr.); dans les cas où nous ne nous servions pas immédiatement de notre suspension, nous ajoutions un peu de chloroforme afin d'éviter la putréfaction.

Nos autres milieux de culture, agar-peptone, gélatine-peptone, ne méritent pas de mention spéciale.

Enfin, notons qu'avant de nous servir d'une culture, nous avons établi sa pureté par l'examen microscopique et au besoin par des cultures.

Quant aux espèces animales sur lesquelles nous avons opéré, citons les souris blanches, les cobayes, les lapins et les chiens. Le nombre d'animaux sacrifiés a été d'environ deux cents.

II. VIRULENCE DE NOTRE MICROBE.

Un point capital dans les recherches microbiennes en général est la qualité du virus employé. On a, en effet, plusieurs exemples d'organismes qui, très toxiques à l'état virulent, ne sécrètent plus de poisons ou n'en sécrètent que peu à l'état atténué.

Le vibrion que nous avons employé nous a été fourni très obligeamment par Monsieur METCHNIKOFF; il provient de Calcutta et possédait, au moment où nous l'avons reçu, une virulence marquée. Néanmoins, avant de l'employer, nous avons tenu à pousser cette virulence à ses dernières limites, et dans ce but nous avons soumis notre vibrion à une série de passages à travers le lapin. Les inoculations étaient faites dans la plèvre. Quand le lapin succombait, nous faisons une culture dans le bouillon, soit avec le sang, soit avec le contenu pleural; nous la portions à la couveuse et le lendemain nous l'injections de nouveau dans la plèvre d'un ou de plusieurs lapins.

Lors des derniers passages, nous nous sommes parfois passé de tout intermédiaire et nous avons injecté directement d'animal à animal l'exsudat, riche en organismes, de la plèvre.

Le tableau suivant résume ces passages à travers les lapins.

TABLEAU I.

NUMÉROS DU PASSAGE	NUMÉROS DES LAPINS	QUALITÉ DU LIQUIDE INJECTÉ	QUANTITÉ	RÉSULTATS DE L'INJECTION
I	Lap. 1	Bouillon	5 cc.	Meurt après 10 heures.
	» 2		5 »	Malade après 10 heures et tué.
II	» 3	»	6 »	Meurt après 9 heures.
	» 4		6 »	Meurt après 9 heures.
III	» 5	»	2 »	Pas mort après 11 heures } tués.
	» 6		1 »	
IV	» 7	»	2 »	Meurt après 10 heures.
V	» 8	»	2 »	Vit encore le lendemain, mais meurt à midi.
	» 9		1 »	Meurt le lendemain à 11 heures.
VI	» 10	»	1 »	Meurt le lendemain matin.
	» 11		1 2 »	Trouvé mort à 11 heures du matin.
VII	» 12	Épanchement pleurétique	1 »	Meurt après 4 heures.
VIII	» 13	Bouillon	1 »	Meurt après 10 heures.
	» 14		1 4 »	Meurt après 12 heures.
IX	» 15	Liquide pleur.	1 2 »	Meurt après 10 heures.
X	» 16	»	1 2 »	Meurt après 10 heures.
XI	» 17	»	2 5 »	Meurt après 12 heures.
XII	» 18	»	1 2 »	Malade et tué après 9 heures.
XIII	» 19	»	1 2 »	Meurt après 10 heures.
	» 20		2 10 »	Meurt après 12 heures.
XIV	» 21	»	3 10 »	Meurt après 10 heures.
	» 22		4 10 »	Meurt après 8 heures.
XV	» 23	»	1/10 »	Meurt après 10 heures.
	» 24		1 10 »	Meurt après 10 heures.
XVI	» 25	»	1 10 »	Meurt après 10 heures.
	» 26		1 10 »	Meurt après 10 heures.
XVII	» 27	Bouillon	1 10 »	Survit.
	» 28		2 10 »	Meurt le lendemain.

Ainsi, dès le huitième passage, nous étions en possession d'un organisme bien virulent, puisqu'il tuait le lapin à la dose de 1/4 cc. de bouillon.

A partir du seizième passage, la virulence de notre microbe ne paraissait plus augmenter et semblait avoir atteint sa limite extrême : il tuait à la dose de 1/10 cc. de liquide pleural et de 2/10 cc. de bouillon. C'est avec le microbe de notre dernier passage que nous avons institué nos cultures. Les résultats que nous avons obtenus sont donc à l'abri du reproche suivant : l'organisme employé n'était pas virulent ou il ne l'était que très peu, par conséquent, il était peut-être dépourvu de sa toxicité spécifique.

III. LE POISON CHOLÉRIQUE PRÉEXISTE EN ABONDANCE DANS LES DIFFÉRENTS MILIEUX DE CULTURES DU VIBRION ASIATIQUE.

Avant de commencer l'étude d'un poison microbien, il faut être bien sûr que ce poison se trouve dans les cultures sur lesquelles on expérimente. Or, on ne peut acquérir cette certitude que si l'on produit, en injectant aux animaux les cultures stérilisées, les mêmes symptômes qu'en déterminant chez eux une infection par le microbe vivant.

Le premier point sur lequel notre attention devait porter était donc la comparaison entre les animaux qui mouraient d'intoxication et ceux qui mouraient d'infection. Commençons par ce que nous avons observé chez le lapin.

La série des symptômes que produit chez lui l'inoculation dans la plèvre est la suivante : après un stade d'incubation qui peut durer plusieurs heures, les animaux deviennent tranquilles et apathiques; ils ne mangent plus; quelquefois, ils ont des selles molles; puis se manifeste une faiblesse générale intense qui se transforme peu à peu en paralysie. Ils présentent de la dyspnée et succombent sans convulsions ou après avoir eu quelques convulsions finales.

A l'autopsie, on trouve le ventre ballonné, l'intestin grêle rempli d'un liquide abondant. Tout le tube intestinal est plus ou moins congestionné, aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur. La congestion est plus marquée au niveau des plaques de PEYER et de l'appendice vermiculaire. Très souvent, elle y a déterminé de petites extravasations de sang, qu'on remarque assez communément dans d'autres parties de l'intestin. Le rectum était tantôt vidé, tantôt renfermait encore de petites boules de matières dures.

Tels sont les symptômes que nous avons observés chez nos nombreux lapins ayant succombé à l'infection, soit par la plèvre, soit par la voie sanguine.

Les lapins auxquels nous injections des cultures tuées, soit par le chloroforme, soit par le chauffage à 60°, nous ont donné les même symptômes fonctionnels et les mêmes lésions anatomiques. Chez eux aussi, on pouvait noter l'apathie, l'abattement, le refus de nourriture, la paralysie, et enfin la mort, avec ou sans convulsions. Quelquefois, ils avaient un peu de diarrhée, mais c'était l'exception. A l'autopsie, on trouvait absolument les mêmes lésions.

Nous pouvons conclure sans crainte de cette identité d'action à l'identité des sécrétions toxiques. Nos cultures mortes, stérilisées avec ménagement, renferment sans aucun doute les mêmes poisons que ceux que les bacilles vivants élaborent au sein de l'organisme.

Nous devons néanmoins reconnaître que le lapin est loin de fournir le tableau des symptômes de l'infection cholérique tel qu'il se présente chez l'homme. Il accuse les symptômes généraux, l'intestin offre des altérations manifestes, mais la diarrhée est peu marquée ou fait complètement défaut. Faut-il en déduire que chez l'homme le vibrion du choléra fabrique un poison spécial qu'il n'élabore pas chez le lapin et qui ne se trouve pas dans nos cultures?

Nous ne le croyons pas; au contraire nous pensons que la différence des symptômes tient uniquement à la nature, nous pourrions dire à l'idiosyncrasie du lapin. Un autre poison, celui du coli-bacille, qui exerce chez l'homme une action marquée sur l'intestin et qui y produit les troubles les plus graves (choléra nostras), ne provoque habituellement pas de diarrhée chez le lapin, quoiqu'il détermine dans son intestin des lésions accusées. Du reste, personne ne tire de l'absence du vomissement chez le lapin un argument contre la présence du poison cholérique dans les cultures.

Pourquoi n'admettrait-on pas également que l'intestin du lapin ne réagit pas vis-à-vis du poison de la même façon que celui de l'homme?

Les mêmes remarques s'appliquent au cobaye; lui non plus ne réagit pas par de la diarrhée, soit qu'on dépose dans ses tissus des microbes vivants, soit qu'on injecte des cultures mortes. Néanmoins, cet animal a été beaucoup employé dans les recherches sur les poisons du choléra; et nous croyons que c'est ce choix qui a fait considérer la question de cette toxine comme difficile par beaucoup de savants. Nous avons également fait quelques inoculations de cultures virulentes au cobaye soit dans la plèvre, soit dans le péritoine, soit dans le tissu cellulaire, et nous avons

trouvé, comme les auteurs, que cet animal ne présente pas de diarrhée, quoique son intestin soit le siège de lésions manifestes semblables à celles du lapin.

Le chien est un animal beaucoup plus favorable pour cette étude. En effet, comme nous le verrons plus bas, il présente le tableau presque complet du choléra tel qu'il existe chez l'homme; et dans nos expériences, nous avons trouvé une concordance parfaite entre le mode d'action des cultures vivantes, c'est-à-dire de l'infection, et celui des cultures stérilisées avec ménagement, c'est-à-dire de l'intoxication. Dans les deux cas, on observe les symptômes suivants.

Au bout d'un temps variable, suivant qu'il s'agit d'intoxication ou d'infection, les animaux perdent leur vivacité, ils sont abattus et présentent des vomissements; ceux-ci sont d'abord alimentaires, puis formés par du mucus spumeux, plus tard encore les efforts de vomissements n'amènent plus rien. En même temps, il se déclare une diarrhée plus ou moins abondante; les selles sont molles, composées des restes d'aliments, plus tard formées de mucus, colorées quelquefois en rouge par du sang. Dans l'intervalle des défécations, l'animal fait souvent de nombreux efforts pour expulser une selle; mais il ne parvient à ramener à l'extérieur que quelques gouttes de liquide. L'abattement devient de plus en plus considérable; le chien reste couché en poussant des cris plaintifs, qui deviennent plus aigus dès qu'on comprime le ventre. Il meurt dans une prostration complète, en présentant de l'hypothermie.

A l'autopsie, on trouve, d'une façon constante, des lésions du tube digestif. Dans l'intestin grêle, c'est une rougeur plus ou moins prononcée, généralement plus accusée dans les parties supérieures. Quand elle est bien marquée, on peut la voir à travers les parois intestinales. Quelquefois, elle colore toute la muqueuse d'une teinte rouge, violacée, foncée; alors, on ne manque jamais de trouver l'épithélium desquamé. Dans le rectum la rougeur n'a pas le caractère diffus qu'elle présente dans l'intestin grêle; elle existe surtout au sommet des plis, qui présentent souvent des érosions. Quand les lésions sont très prononcées, on observe de la rougeur de l'estomac. Il est à peine besoin de dire que le tube digestif est vide d'aliments.

Nous répétons que tous ces troubles et que toutes ces lésions existent au même degré chez l'animal qui meurt d'infection et chez celui qui meurt d'intoxication. En voici quelques exemples.

Expérience I.

A un jeune chien du poids de 1100 gr., nous injectons dans la plèvre 1 cc. d'une émulsion vivante de vibrions venus sur pommes de terre (1 gr. de culture pour 9 d'eau salée physiologique). L'injection a lieu à 2 1/2 h. de l'après-midi. Le soir il était malade: il avait eu 4 vomissements et 3 selles. Nous le tuons. A l'autopsie, nous trouvons une congestion peu marquée de l'intestin grêle et des stries rouges dans le rectum. Dans la plèvre, choléra pur et vivant.

A un second chien du poids de 1150 gr., nous injectons, à la même heure, 2 cc. de la même émulsion; l'animal meurt le lendemain à 11 h., après avoir eu 4 vomissements et 4 selles. A l'autopsie, lésions habituelles très marquées. Dans la plèvre, choléra pur.

A un troisième chien pesant 1200 gr., nous injectons 4 cc. de la même émulsion, mais après avoir tué les vibrions par le chloroforme. Tous les symptômes du choléra se développent chez lui plus rapidement que chez les 2 chiens précédents; il a 5 vomissements et 4 selles. A 7 1/2 h. du soir, sa température n'est plus que de 34°,3 et il est trouvé mort à 9 h. du soir. A l'autopsie, nous trouvons des lésions prononcées, à tel point qu'on aperçoit la rougeur de la muqueuse par transparence à travers les parois de l'intestin. Les plis de la muqueuse rectale offrent des suffusions sanguines.

En résumé, dans cette expérience, nous observons le même ordre de phénomènes, aussi bien chez les chiens qui ont eu les cultures vivantes que chez celui qui a reçu les cultures mortes. Comme ces phénomènes présentent au plus haut degré les caractères cholériformes, il faut bien admettre que le vrai poison du choléra préexistait dans nos cultures sur pommes de terre.

En opérant sur des chiens, on peut se convaincre que le même poison préexiste dans les cultures faites au moyen de bouillons. Nous en donnons également quelques exemples.

Expérience II.

Injections de cultures dans le bouillon de Gamaleïa, stérilisées par le chloroforme ou par le chauffage à 60°.

CHIEN 1 Poids 1000 gr. A 11 h., nous lui injectons dans la plèvre 5 cc. de bouillon de GAMALEÏA, âgé de 5 jours et stérilisé par le chloroforme. L'anesthésique a été au préalable chassé, comme toujours, par une douce chaleur (45°). L'animal présente bientôt les mêmes symptômes qui suivent l'inoculation de vibrions vivants. Il a 4 vomissements et 6 selles, dont quelques-unes ont un caractère riziforme bien prononcé, c'est-à-dire qu'elles sont formées d'un liquide dans lequel nagent des flocons de mucus. L'animal succombe pendant la nuit. Lésions caractéristiques du gros intestin.

CHIEN II. Poids 950 gr. A 11 h., nous lui injectons dans la plèvre 8 cc. du bouillon précédent, mais chauffé 2 heures à 60°. Il a 2 vomissements et 2 selles qui lui souillent l'anus. A 212 h., T° 34°,9; il meurt le soir à 5 heures. Lésions très prononcées de l'intestin : la muqueuse, à partir du pylore jusque vers le milieu de l'intestin grêle, présente une rougeur diffuse intense.

Le poison préexiste non seulement dans le bouillon de GAMALÉIA, mais encore dans le bouillon ordinaire additionné de 3 o/o de gélatine.

En voici la preuve :

Expérience III.

Injection de culture dans du bouillon ordinaire additionné de 3 o/o de gélatine et stérilisé à 60°.

L'exemple que nous choisissons se rapporte à un chien adulte qui s'est rétabli complètement de son injection. *Chien de 4950 gr.* injecté à midi avec 10 cc. de bouillon dans la plèvre. Il présente en tout 5 vomissements et 7 selles, dont les dernières sont diarrhéiques. Le lendemain, il est rétabli.

L'action du poison à première vue peut paraître plus faible; mais remarquons qu'il s'agit d'un chien de près de 5 kilos et que la dose injectée n'a été que de 10 cc.

Le bouillon sans gélatine produit chez le chien les mêmes symptômes que le bouillon de GAMALÉIA et le bouillon avec gélatine.

Nous avons ainsi prouvé que les cultures sur pommes de terre et les cultures dans les différents bouillons renferment un poison qui reproduit chez le chien les symptômes essentiels du choléra : vomissements, diarrhée, prostration, hypothermie. Si certains de ces symptômes, comme la diarrhée, sont peu prononcés chez le lapin et le cobaye, ce n'est pas parce que le poison ne préexiste pas dans les cultures, mais uniquement parce que ces animaux réagissent autrement que le chien et l'homme. N'oublions pas du reste que si, pendant la vie, les symptômes intestinaux sont peu accusés ou même font défaut chez les rongeurs, ces animaux présentent néanmoins à l'autopsie des lésions incontestables.

Nous pourrions du reste continuer le parallèle entre la symptomatologie présentée par le chien et celle présentée par l'homme. Ce dernier succombe quelquefois au choléra sans présenter ni vomissement, ni diarrhée : c'est le choléra sec. Cette forme est considérée comme un choléra à intoxication extrêmement rapide. Chez nos chiens qui succombaient en peu de temps, nous avons observé un état, si pas tout à fait

identique, du moins très analogue : les vomissements ou les selles manquaient complètement ou ne se produisaient qu'une fois; mais malgré cette absence apparente de sensibilité de l'intestin à l'intoxication, on trouvait à l'autopsie les lésions les plus profondes, comme l'expérience qui suit le démontre.

Expérience IV.

Injection de cultures dans du bouillon gélatinisé et stérilisé à 60°.

A un chien de 2 kilogr., nous injectons à 2 1/2 heures dans la veine jugulaire externe une culture âgée de 3 jours; l'injection était de 20 cc. de bouillon stérilisé 2 heures à 60°. Une demi-heure après, il présentait un petit vomissement; puis après survinrent rapidement de l'abattement, de la paralysie, de l'hypothermie, et le chien mourut 2 1/2 h. après l'injection. A l'autopsie, l'intestin grêle était fortement congestionné, surtout près de l'estomac; le rectum présentait des traînées hémorragiques sur les plis longitudinaux.

IV. ACTION DE LA CHALEUR.

Nous avons vu en faisant l'exposé historique de la question, qu'il règne des divergences sur la nature du poison du choléra. D'après PÉTRI, le poison supporte bien la température de l'ébullition; d'après SCHOLL, HUEPPE, GAMALÉIA et PFEIFFER, il est détruit bien en dessous de cette température. D'après GAMALÉIA, il se décomposerait déjà à une température de 70°; d'après SCHOLL, un chauffage de 40°-45° pendant 24 heures aurait le même effet.

Voyons les résultats auxquels nous sommes arrivé de notre côté. Nos expériences se laissent grouper en deux catégories :

- 1° Celles faites avec les cultures chauffées à 100°.
- 2° Celles faites avec les cultures chauffées à 120°.

Remarquons qu'elles ont été faites avec les mêmes produits que les précédentes, et que nous n'avons jamais négligé de faire, à côté de nos expériences avec les cultures chauffées à haute température, des contrôles avec les cultures stérilisées à 60°.

A. Recherches avec les cultures chauffées à 100°.

Expérience V.

Une émulsion de vibrions venus sur pommes de terre est divisée en deux parties : l'une est chauffée à 60 degrés pendant 10 minutes, l'autre à 100° pendant le même temps.

Nous injectons deux lapins dans la plèvre avec 2 cc. et 4 cc. de chaque émulsion ; les lapins ont la même taille ; les résultats se trouvent consignés dans le tableau suivant :

TABLEAU II.

ANIMAUX ET LEURS POIDS	NATURE DU LIQUIDE INJECTÉ	DOSE	ÉPOQUE DE LA MORT
I. Lapin de 1600 gr.	Émulsion des pommes de terre chauffée 10 min. à 60°.	4 cc.	L'animal meurt après 6 heures.
II. Lapin de 1400 gr.		2 »	» » » 36 »
III. Lapin de 1600 gr.	Même émulsion chauffée 10 min. à 100°.	4 »	» » » 4 »
IV. Lapin de 1400 gr.		2 »	» » » 28 »

Dans cette expérience, les deux émulsions produisent sensiblement le même effet. Si l'on voulait s'en tenir strictement à la durée de survie, il faudrait même admettre que la portion chauffée à 100° est plus active que celle qui a été chauffée à 60°; mais nous croyons que cet accroissement de puissance n'est pas réel et que la mort un peu plus rapide doit s'expliquer par les conditions individuelles dans lesquelles se trouvent les lapins. Nous avons eu, en effet, fréquemment l'occasion de remarquer que les différents animaux, tout en appartenant à la même espèce et en ayant le même âge, opposaient à l'intoxication une résistance variable. Nous avons même vu, quand nous donnions aux mêmes animaux des doses doubles l'une de l'autre, survivre celui qui avait eu la plus forte dose, et mourir celui qui avait reçu la plus faible. Dans l'étude du poison cholérique, comme dans les recherches bactériologiques en général, il est indispensable de tenir compte non de faits isolés, mais de l'ensemble des expériences.

Nous pouvons ajouter que les symptômes présentés par nos quatre lapins concordaient entre eux, et ne différaient pas de ceux qu'offraient les

lapins inoculés avec des cultures vivantes. Le lapin III, qui avait reçu 4 cc. de l'émulsion chauffée à 100°, présenta un léger écoulement de sang par l'anus. A l'autopsie des quatre animaux, nous trouvâmes une forte congestion de tout l'intestin grêle, avec une foule de points hémorragiques, surtout dans les plaques de PEYER et l'appendice vermiculaire.

Dans ces expériences, la diarrhée fait défaut, mais nous la retrouvons chez un chien qui reçut 4 cc. d'une émulsion semblable, chauffée également à 100° pendant 10 minutes.

Expérience VI.

Jeune chien d'un kilogramme; injection dans la plèvre de 4 cc. d'émulsion chauffée pendant 10 minutes à 100°.

L'animal devient rapidement malade.

1/4 d'heure après l'injection, il a un vomissement et une selle.

1/4 d'heure plus tard, deux selles très molles, constituées presque uniquement d'eau et de mucus. Fort ténésme et efforts pour aller à selle.

1/4 d'heure après, il a encore deux vomissements et une selle riziforme. Le ténésme persiste.

Dans la suite, il présente encore trois vomissements et fait continuellement des efforts pour aller à selle, mais sans expulser autre chose que quelques gouttes de liquide; vers le soir, il a une selle mélangée d'un peu de sang. Les efforts pour aller à selle sont constants. L'animal est tué le soir; l'intestin renferme un liquide noir (sang altéré); au niveau du gros intestin, congestion des plis longitudinaux.

Malgré la haute température à laquelle l'émulsion a été soumise, ce petit chien nous présente un tableau complet et intense de l'intoxication cholérique. Concurrément avec cette expérience, nous en avons fait une autre sur un chien de même taille, avec les mêmes doses de cultures non chauffées, mais stérilisées par le chloroforme. Ce petit chien fut affecté comme le précédent, mais avec une intensité sensiblement égale.

Nous concluons de ces deux expériences sur les lapins et les chiens *qu'un chauffage à 100° pendant 10 minutes n'affaiblit pas sensiblement l'énergie du poison cholérique.* Cette conclusion est absolument contraire aux résultats obtenus par SCHOLL, HUEPPE, GAMALÉIA et PFEIFFER.

B. Recherches avec les cultures chauffées à la température de 120°.

Les premières expériences que nous allons rapporter ont été faites en même temps que les expériences avec les cultures sur pommes de terre chauffées à 100°, sur des animaux de mêmes poids et dans les mêmes conditions.

Nous commençons par les expériences sur les lapins.

TABLEAU III.

ANIMAUX ET LEURS POIDS	NATURE DU LIQUIDE INJECTÉ	DOSE	DATE DE LA MORT
Lapin de 1600 gr.	Émulsion des pommes de terre chauffée 10 min. à 120°.	4 cc.	Meurt après 22 heures.
Lapin de 1500 gr.		2 »	» 52 »

Malgré un chauffage à 120° pendant 10 minutes, notre poison est resté actif; à en juger par cette seule expérience, il aurait pourtant perdu un peu de son énergie; mais nous ne trouvons plus cet affaiblissement dans les expériences suivantes. Aussi croyons-nous que la plus grande durée de survie est un simple effet du hasard. Du reste, les animaux présentaient les mêmes symptômes que les témoins. A l'autopsie, celui qui reçut la forte dose montra une forte congestion avec des taches hémorrhagiques.

En même temps que nous avons injecté au petit chien de l'expérience VI (pag. 202) la culture sur pomme de terre chauffée à 100° pendant 10 minutes, nous avons injecté à un chien de même taille la même culture chauffée à 120° pendant 10 minutes également. Nous trouvons dans notre cahier d'observations les notes suivantes :

- A midi. Injection de 4 cc. dans la plèvre.
- A midi 20. Un vomissement et 1 selle; l'animal est abattu.
- A midi 35. 2^e vomissement.
- A 1 h. 2 nouveaux vomissements et 1 selle molle.
- A 2 h. 5^e vomissement.
- A 6,15 h. Région anale souillée de matières fécales, ténésme continu; l'animal gémit sans cesse.
- A 9 h. Prostration profonde.
- Le lendemain. Le chien est trouvé mort au matin. A l'autopsie, les intestins sont extérieurement rouges; à leur ouverture, nous trouvons une congestion excessivement marquée; l'intestin grêle est rouge foncé dans toute sa longueur, le rectum présente des érosions hémorrhagiques.

Nous pouvons dire que ce chien présente des troubles fonctionnels et des lésions au moins aussi intenses, que les deux petits chiens précé-

dents, dont l'un avait reçu la culture tuée par le chloroforme, et l'autre la culture chauffée pendant 10 minutes à 100°. *Un chauffage à 120° pendant 10 minutes est par conséquent sans action sensible sur la toxicité des cultures sur pommes de terre.*

Ce ne sont pas seulement les cultures sur pommes de terre qui supportent cette haute température; les bouillons se comportent absolument de la même façon. Voici une expérience faite avec le bouillon de GAMALÉIA, chauffé non plus pendant 10 minutes, *mais pendant une demi-heure à 120°.*

Expérience VII.

Jeune chien de 1 kilogr.

Nous injectons à 11 h. dans la plèvre 8 cc. de bouillon.

11 1/2 h., l'animal a déjà eu 2 vomissements dont un très abondant; faiblesse et prostration considérables.

1 h. selle molasse, couverte de mucosités.

Nous le tuons le lendemain dans l'après-midi; dans le gros intestin, nous trouvons les lésions ordinaires, mais peu accentuées.

Le lendemain, nous soumettons l'émulsion, qui avait été chauffée pendant 1/2 h. à 120°, à un nouveau chauffage à la même température, mais cette fois-ci pendant une heure, de sorte que nous avons une émulsion soumise à cette température pendant 1 1/2 h. Malgré ce chauffage prolongé, nous obtenons encore les mêmes effets cholériformes, comme le prouvent les deux chiens de l'expérience suivante :

Expérience VIII.

CHIEN I du poids de 1600 gr.

A 3,30 h. injection de 13 cc. dans la plèvre. Presque immédiatement une selle.

A 4 h. l'animal gémit presque continuellement; il a du ténésme qui détermine l'expulsion de quelques gouttes de liquide.

A 6 h. 2 vomissements très abondants.

A 7 h. 2 nouveaux vomissements; les efforts de défécation et de ténésme persistent; mais ils ont uniquement pour effets la sortie de quelques gouttes de liquide; l'animal meurt pendant la nuit. A l'autopsie, congestion très marquée de l'intestin grêle, qui renferme un liquide hémorrhagique dans toute sa longueur. Par contre les lésions dans le rectum sont peu prononcées.

CHIEN II du poids de 1000 gr.

A 3,40 h. Injection de 14 cc. de l'émulsion dans la plèvre.

A 3,45 h. 2 selles liquides, l'animal commence à gémir et à présenter de l'abattement.

A 4 1/2 h. troisième selle liquide, expulsée en jet.

A 7,15 h. un vomissement et 2 selles liquides; pendant que le thermomètre est introduit dans l'anus, de nouvelles matières liquides s'écoulent le long de l'instrument.

A 7 1/2 h. nouvelle selle liquide.

Le lendemain matin, l'animal est encore en vie, mais il meurt vers midi. A l'autopsie, congestion très marquée dans plusieurs segments de l'intestin grêle, nulle dans d'autres. Une invagination. Lésions très prononcées de la muqueuse rectale.

Les effets que nous avons obtenus avec les bouillons chauffés à 120° ne sont pas un effet du hasard; nous disposons d'autres expériences de ce genre, et la question nous semble assez importante pour rapporter brièvement les deux suivantes.

Elles se distinguent des précédentes en ce que l'injection a été poussée non plus dans la plèvre, mais directement dans la veine jugulaire externe.

Expérience IX.

CHIEN I, de 2 kilogrammes.

Injection de 10 cc. de bouillon ordinaire gélatinisé dans la jugulaire externe. *Le bouillon a été stérilisé pendant 1 h. à 120°.*

A 12,43 h. injection du liquide.

A 12,48 h. un premier vomissement.

A 2,00 h. 6 nouveaux vomissements alimentaires ou muqueux et 2 selles molles.

A 3,15 h. 2 autres vomissements de mucosités verdâtres et 2 autres selles muqueuses; prostration profonde.

A 6,00 h. température rectale, 36°,5.

A 6,30 h. le chien meurt. A l'autopsie, congestion extraordinairement forte depuis le pylore jusqu'au rectum; suffusions sanguines de la muqueuse dans toute son étendue; lésions habituelles de la muqueuse rectale. L'estomac lui-même participe à la congestion et présente des points hémorragiques et des suffusions sanguines.

CHIEN II, poids 2 kilogrammes.

A 12,30 h. injection dans la jugulaire externe de 20 cc. du même bouillon gélatinisé, *chauffé à 120° pendant 1 heure.*

A 12,33 h. 3 vomissements et 2 selles molles.

A 12,40 h. nouvelle selle.

A 2,00 h. 6 vomissements nouveaux et 3 selles.

A 3,00 h. un nouveau vomissement suivi d'une selle et d'un vomissement de liquide spuméux. Prostration profonde.

A 7,00 h. l'abattement diminue.

Le lendemain, l'amélioration continue.

(matin) Le chien se remet complètement de son injection. Deux jours après, nous le tuons et nous lui ouvrons l'intestin. Pas de congestion, pas d'hémorragies.

Si nous faisons le bilan de cette dernière expérience, nous y rencontrons l'histoire de deux chiens injectés dans le sang avec un bouillon chauffé à 120° pendant une heure.

Le premier présente neuf vomissements et quatre selles en l'espace de trois heures.

Le second a onze vomissements et sept selles dans le même espace de temps.

Les premières déjections sont constituées par les aliments, les dernières par des masses liquides ou muqueuses; les deux animaux présentent une prostration profonde. Ils poussent des cris perçants au moindre attouchement du ventre; le premier meurt avec une hypothermie marquée et il présente à l'autopsie une localisation intestinale des plus intenses. N'est-ce pas là un tableau frappant du choléra et une reproduction de la maladie aussi parfaite qu'on pourrait le souhaiter chez l'animal?

Au moyen de bouillon pur injecté dans les vaisseaux, nous nous sommes assuré que les symptômes décrits doivent être attribués au vibrion du choléra et nullement aux substances qui entrent dans la composition du bouillon.

Nous concluons que la substance qui produit les symptômes cholériformes résiste, non seulement à une température de 100°, mais à celle de 120° prolongée pendant 1 heure et même 1 1/2 heure, sans que ses effets soient atténués d'une façon sensible. Mais pour bien mettre ceux-ci en évidence, il est nécessaire de recourir à des animaux appropriés, tels que le chien, et non aux lapins.

V. ACTION DE LA LUMIÈRE ET DE L'OXYGÈNE.

Il n'est pas sans intérêt de savoir quelle est l'action de la lumière et de l'oxygène sur les poisons microbiens, car comme ceux-ci s'introduisent de plus en plus dans les expériences du laboratoire comme dans les vaccinations sur l'homme, il importe d'être fixé sur l'influence qu'exercent sur eux ces deux agents, au contact desquels ils peuvent être continuellement exposés. Cette connaissance est surtout nécessaire quand on voit certains poisons, comme ceux de la diphtérie et du tétanos, être d'une sensibilité extrême vis-à-vis de ces facteurs.

Pour étudier l'action de la lumière, nous avons versé une émulsion de vibrions cultivés sur pommes de terre, stérilisée par le chloroforme, dans un matras à large fond, de façon à ce que la couche n'ait qu'un millimètre

d'épaisseur et que les rayons solaires puissent l'impressionner dans toute sa masse. La durée d'insolation de notre matras fut de 24 heures. Le matras était fermé hermétiquement au moyen d'un bouchon en caoutchouc.

Nous injectâmes cette émulsion à deux lapins à des doses que la pratique nous permettait de considérer comme suffisantes pour produire la mort. En effet, il fallait éviter de donner des doses plusieurs fois mortelles, sinon un affaiblissement peu notable du poison aurait passé inaperçu. Or, une expérience préliminaire, qui avait porté sur cinq lapins et avait été faite dans le but de fixer la toxicité de notre émulsion, avait donné les résultats suivants :

Injections de 0,25 cc.	L'animal survit.
» 0,50 cc.	Idem.
» 1,00 cc.	Mort après 4 jours.
» 2,00 cc.	Trouvé mort le lendemain.
» 4,00 cc.	Meurt après 6 heures.

Nous avons donc choisi, pour étudier l'action de la lumière, des doses d'émulsion de 2 et 4 cc.

Comme contrôle, nous avons injecté à deux lapins les mêmes doses, mais d'une émulsion mise dans un matras conservé dans l'obscurité.

TABLEAU IV.

POIDS DES ANIMAUX	NATURE DU LIQUIDE INJECTÉ	DOSE	DATE DE LA MORT
1400	Non exposé au soleil.	4 cc.	Meurt après 19 heures.
1300		2 »	» 11 »
1470	Exposé pendant 24 h. au soleil.	4 »	» 11 »
1400		2 »	» 14 »

L'expérience nous a paru suffisamment décisive pour que nous ayons jugé inutile de la recommencer, d'autant plus que les lapins présentaient la localisation intestinale habituelle, telle que : congestion, points hémorrhagiques, gonflement des plaques de PEYER.

Nous pouvons conclure que le poison cholérique est résistant vis-à-vis de la lumière. Il se distingue, à ce point de vue, d'autres poisons microbiens, tels que ceux de la diphtérie et du tétanos, qui présentent une instabilité aussi marquée vis-à-vis de cet agent que vis-à-vis des températures dépassant 60°.

Comment notre poison se comporte-t-il vis-à-vis de l'oxygène? La question est d'autant plus intéressante que, d'après SCHOLL⁽¹⁾ et HUEPPE⁽²⁾, ce produit ne se formerait dans les cultures qu'à l'abri de l'oxygène. C'est même pour ce motif que ces auteurs ont fait leursensemencements à l'intérieur d'œufs.

D'après nos diverses expériences, nous devons considérer cette crainte comme exagérée. Dans le but de nous fixer aussi bien sur la virulence que sur la toxicité du vibron cholérique cultivé à l'abri de l'oxygène, nous avons fait desensemencements dans des bouillons, les uns sucrés, les autres non sucrés, et soustraits à l'action de l'oxygène de l'air par une couche d'huile d'olive.

Dans les derniers, nous n'avons obtenu qu'un développement extrêmement faible et après stérilisation à 60°, ils ne montrèrent qu'une toxicité bien inférieure à celle des bouillons aérobie. Dans les bouillons sucrés et maintenus à l'abri de l'air, le développement microbien et la toxicité n'étaient pas plus marqués.

Nous pouvons ajouter à ce propos que les vibrions, qui se sont développés dans ces conditions, ne sont pas plus virulents; car, les ayant ensemencés pendant cinq générations successives dans des bouillons couverts d'huile, et les ayant injectés vivants à des lapins, nous ne les trouvâmes pas plus meurtriers que des vibrions venus au contact de l'air.

Les expériences de GAMALÉIA et d'autres permettent, du reste, de conjecturer que le bacille virgule fabrique très bien son poison en présence de l'air. En effet, cet auteur emploie surtout pour ses expériences les membranes qui se forment à la surface du bouillon, et PFEIFFER se sert de cultures bien aérées. Mais la meilleure façon de résoudre la question reste celle qui consiste à soumettre à un courant d'air continu une solution de toxine cholérique.

Voici comment nous avons procédé.

En possession d'un bouillon de GAMALÉIA qui tuait un lapin en moins de 24 heures, à raison de 10 cc. injectés dans la plèvre, et un autre après 5 jours à raison de 5 cc., nous avons fait passer à travers ce bouillon un courant continu d'air pendant 16 heures. L'opération s'est faite à la température du corps, la réaction étant alcaline. Nous avons injecté :

- 1° *Un lapin* avec 10 cc. dans la plèvre; il est mort 18 heures plus tard présentant à l'autopsie une congestion marquée de l'intestin grêle.
- 2° *Un autre lapin* avec 5 cc.; ce lapin devint malade, mais il se rétablit.

1 et 2 : Op. cit.

CONCLUSION. *Malgré l'aération prolongée, le poison ne s'est pas sensiblement affaibli; les conditions pour cette atténuation étaient pourtant favorables, car le passage de l'air s'opérait à la température du corps et dans un milieu à réaction alcaline.* Il est vrai que le lapin qui a eu la dose faible du bouillon aéré a survécu, tandis que le lapin qui a reçu la dose faible du bouillon non aéré est mort, mais après une survie telle (5 jours) que la différence est négligeable.

Du reste, nous avons conservé des émulsions et des bouillons stérilisés au contact de l'air pendant longtemps, sans leur voir perdre de leur toxicité.

VI. ACTION DES SUCS DIGESTIFS : SUC GASTRIQUE ET SUC PANCRÉATIQUE.

L'étude de l'action des sucs digestifs sur le poison du choléra nous a paru intéressante à deux points de vue :

1° A un point de vue théorique. GAMALÉIA prétend d'un côté que ce poison est une nucléo-albumine; d'un autre, il concède que les nucléo-albumines, même celles des microbes, sont décomposées par les sucs digestifs, particulièrement par le suc pancréatique. Si son hypothèse sur la nature des toxines microbiennes est exacte, la digestion doit leur imprimer des modifications profondes.

2° A un point de vue plus pratique : l'organisme possède-t-il, dans ses sucs digestifs, une arme pour se défendre contre l'intoxication cholérique?

Nous allons d'abord nous occuper de la digestion gastrique.

A. Action du suc gastrique sur le poison du choléra.

Avant tout, nous avons voulu nous assurer si l'acide chlorhydrique, nécessaire à ces digestions, exerçait quelque influence sur le poison cholérique. Dans ce but, nous avons soumis le poison, soit sous forme d'émulsion de pommes de terre, soit sous forme de bouillon, à l'acide chlorhydrique à 2 0/00. Le mélange était maintenu à la température de la couveuse.

Expérience X.

LAPIN I. Poids 1200 gr.

Injection dans la plèvre de 3 cc. de l'émulsion à 10 00 de culture sur pommes de terre, renfermant 2 0/00 d'acide chlorhydrique, restée 5 heures à la couveuse.

Meurt le lendemain après 14 heures. A l'autopsie, pas de congestion: dans la partie supérieure, près de l'estomac, quelques points hémorragiques.

Le témoin succombe pendant la nuit (10 heures).

LAPIN II. Poids : 700 gr.

Injection de 7 cc. de bouillon GAMALÉÏA. Meurt le lendemain.

CHIEN I. Poids : 1100 gr.

Injection dans la plèvre de 10 cc. de bouillon gélatinisé âgé de 2 jours, c'est-à-dire d'une culture jeune. L'animal devient rapidement malade; il a deux vomissements; la région anale est souillée de matières fécales, et le ventre est très douloureux à la pression; il est encore très malade le lendemain et meurt le surlendemain. Congestion peu marquée dans l'intestin grêle, manifeste dans le rectum.

Le bouillon injecté, quoique ayant séjourné 12 heures à la couveuse après acidification à 2 0/00, a développé encore une action manifeste.

Nous pouvons conclure de ces quelques expériences que le poison du choléra supporte pendant quelques heures au moins, c'est-à-dire pendant un temps amplement suffisant pour une digestion, la présence de l'acide chlorhydrique à 2 0/00.

Arrivons maintenant à nos expériences de digestion proprement dite.

Nous avons employé un extrait aqueux d'estomac de porc; 2 cc. de cet extrait additionnés à 8 cc. d'acide chlorhydrique à 2 0/00 dissolvent un morceau de fibrine au bout de 10 minutes à la température du laboratoire (par un temps chaud). Le suc est donc extrêmement actif. Nous l'ajoutons à notre produit microbien dans la proportion de 1 pour 5.

Avant d'injecter le liquide, nous le neutralisons par le carbonate de sodium et nous le portons à 100° pour détruire la pepsine.

Expérience XI.

LAPIN I. Poids : 800 gr. *Durée de la digestion : 4 h.*

Injection de 10 cc. dans la plèvre. Meurt le lendemain au commencement de l'après-midi. A l'autopsie, congestion intestinale, plaques de PEYER saillantes.

Le témoin meurt le même jour.

LAPIN II. Poids : 1300 gr. *Durée de la digestion : 4 h.*

Injection à 5 h 2 h. du soir de 3 cc. d'une émulsion de pommes de terre vieille de plusieurs jours; nous recueillons la partie superficielle de cette émulsion, qui ne renferme pas de cadavres bactériens, mais uniquement les produits dissous. Le suc gastrique a donc toute facilité d'agir sur le poison.

L'animal succombe le lendemain matin (avant 7 heures, après 14 h.).

Le témoin meurt pendant la nuit (après 10 h.).

Ces deux lapins, pas plus que tous ceux qui précèdent, ne présentent de symptômes cholériques, mais nous les retrouvons chez le chien suivant.

CHIEN I. Poids : 1900 gram.

Injection dans le sang (veine jugulaire externe) de 13 cc. de bouillon gélatinisé soumis à la digestion pendant 16 heures.

L'animal présente rapidement le tableau des symptômes cholériques ordinaires chez le chien.

Il a 4 vomissements et 3 selles; les efforts de vomissement sont continuels. Il succombe en moins de 4 heures.

A l'autopsie, nous trouvons les lésions habituelles de l'intestin bien marquées.

CONCLUSION : Ces différentes expériences, mais surtout la dernière, digestion de 16 heures, nous permettent de voir dans le poison cholérique une substance réfractaire à la digestion gastrique.

B. Action du suc pancréatique sur le poison du choléra.

Dans l'étude de ce point, nous avons procédé exactement comme pour le suc gastrique, c'est-à-dire que nous avons étudié à part l'action du carbonate de sodium, que nous ajoutons à nos digestions, pour permettre au suc pancréatique de déployer toute sa puissance.

Pour ne pas nous répéter toujours, disons que les injections faites aux lapins et aux chiens avec le poison qui avait subi pendant plusieurs heures, à la température du corps, le contact du carbonate de sodium à 1 o/o, démontrèrent que ce contact est sans action sur le poison.

Ce fait établi, nous avons répété les injections, en nous servant, pour nos digestions, d'un extrait de pancréas de porc qui, dilué au cinquième, dissolvait, en présence du carbonate de sodium à 1 00, un fragment de fibrine en une demi-heure. C'est à cette concentration que nous nous en sommes servi.

Nous passons sous silence nos expériences sur plusieurs lapins, toutes en faveur de la conservation du poison cholérique dans les milieux soumis à la digestion pancréatique.

Les chiens nous ont donné les mêmes résultats. Ils méritent d'être signalés.

Expérience XII.

CHIEN I. Poids : 900 gram. *Durée de la digestion : 10 heures.*

Injection dans la plèvre de 10 centim. cubes de bouillon, âgé, digéré, après une courte ébullition pour détruire les ferments pancréatiques.

Tableau choléiforme aussi prononcé que chez le témoin. Mort pendant la nuit.

Lésions intestinales très prononcées.

CHIEN II. Poids : 2800 gr. *Durée de la digestion : 20 heures.*

Injection dans la veine jugulaire externe de 18 cc. de bouillon, après une courte ébullition. Vomissements nombreux, d'abord alimentaires, ensuite muqueux; plusieurs selles, les dernières liquides.

Le chien se rétablit, probablement parce que notre bouillon qui n'était âgé que de 2 jours n'était pas encore saturé de poison. Un des deux témoins est du reste aussi resté en vie.

Avant d'aller plus loin, les résultats que fournissent les digestions méritent de fixer notre attention pendant un instant.

Rappelons que nous avons fait ces digestions dans les meilleures conditions possibles. Nos bouillons avaient été, au préalable, chauffés à 60° pendant 2 heures, afin d'extraire le poison des cadavres bactériens et de le fournir, sous forme moléculaire, aux sucs digestifs. Quand nous nous sommes servi de nos émulsions de vibrions venus sur pommes de terre, nous avons eu soin de prendre la partie superficielle claire et limpide; d'un autre côté, nous avons fait usage de sucs digestifs actifs, surtout le suc gastrique; nous les avons fait agir à la température du corps, dans des milieux aussi favorables que possible à leur action; le contact a été prolongé pendant une période qui dépasse de plusieurs fois la durée de la digestion dans le tube intestinal; et, malgré tout cela, le poison s'est conservé avec sa puissance originelle.

Le fait est d'autant plus curieux que pendant toute la durée de la digestion les ferments jouissaient de toute leur activité. C'est ainsi que dans une de nos expériences (chien II de l'expér. XII) nous avons constaté, à la fin de la digestion, que le mélange dissolvait un fragment de fibrine aussi rapidement qu'au début. On ne peut donc pas nous objecter que le liquide avait perdu de sa puissance digestive.

Ces faits nous paraissent incompatibles avec l'hypothèse de GAMALÉIA sur la nature de la substance qui produit les symptômes cholériformes. Du reste, cette substance serait détruite dans la digestion pour laisser la place libre à un poison cachectisant, qu'on ne serait pas encore en droit de conclure que ce dernier dérive du premier. En effet, on peut très bien supposer que l'existence de ce second poison, à action lente, est masquée par l'action du poison qui produirait les symptômes intestinaux.

Enfin, ces faits nous apprennent que nos glandes digestives ne peuvent nous venir en aide dans la lutte contre l'intoxication cholérique, comme on aurait pu le supposer, si l'hypothèse de GAMALÉIA était vraie.

VII. NATURE DU POISON CHOLÉRIQUE.

Il n'entre pas du tout dans nos intentions de préciser la nature intime du poison. Nous pensons, avec DUCLAUX et d'autres chimistes, que cette question est insoluble à l'heure actuelle. En effet, grâce à la propriété

qu'ont les poisons microbiens de se laisser entraîner par toute espèce de précipités, il est impossible de les obtenir à l'état de pureté et même de savoir approximativement dans quelle proportion ils sont mêlés aux substances étrangères.

Il va sans dire que nous ne pouvons être de l'avis de GAMALÉIA qui veut faire des poisons microbiens des nucléo albumines et des nucléines. Cette manière de voir nous paraît inconciliable avec les faits suivants.

1° Le poison cholérique oppose une résistance considérable à la chaleur.

2° Il est réfractaire aux digestions gastrique et pancréatique. Ajoutons que toutes les réactions invoquées par GAMALÉIA nous semblent beaucoup trop vagues et qu'aucun chimiste ne saurait les considérer comme étant aptes à justifier les conclusions qu'il en tire.

S'il est impossible de spécifier exactement dans quel groupe de substances il faut ranger le poison cholérique, nous devons pourtant reconnaître qu'il possède une nature albuminoïde. En effet, comme nous avons pu nous en assurer par quelques expériences, les vibrions cholériques ne cèdent des substances toxiques, ni à l'alcool pur, ni à l'alcool aiguisé par un peu d'acide chlorhydrique. Et quand ils ont séjourné dans ces liquides, ils développent leur toxicité propre, dès qu'on les suspend de nouveau dans l'eau (2 expériences). L'insolubilité du poison dans l'alcool a du reste été reconnue par plusieurs auteurs. C'est même sur cette propriété qu'ils se sont fondés pour obtenir le poison plus ou moins pur.

RÉSUMÉ

des diverses propriétés du poison cholérique et explication des contradictions qui regnent entre nos recherches et celles des auteurs

Les recherches exécutées jusqu'à présent sur les poisons microbiens nous permettent d'entrevoir deux classes de toxines.

Les unes, très instables, se décomposent facilement par la chaleur, la lumière solaire, les ferments digestifs. Ce sont par exemple les toxines du tétanos et de la diphtérie.

Les autres, au contraire, jouissent d'une grande stabilité. Elles peuvent subir pendant longtemps l'action de ces divers agents, sans faiblir dans leur énergie. Comme type, nous pouvons citer la toxine du coli-bacille (J. DENYS et E. BRION) (1).

(1) J. DENYS et E. BRION : *Etude sur le poison du Bacillus lactis aerogenes*; La Cellule, 1892.

La toxine du vibrion asiatique se rattache évidemment à ce dernier groupe, c'est-à-dire aux toxines stables.

Est-il possible d'expliquer, du moins jusqu'à un certain point, les contradictions qui règnent entre nos recherches et celles de nos prédécesseurs, ainsi que celles qui règnent entre ces derniers?

Nous pensons que oui.

D'après nous, les hésitations et les tergiversations de beaucoup d'auteurs proviennent du choix de leurs animaux. Ils se sont obstinés à opérer sur des rongeurs, et particulièrement sur des cobayes.

Or, comme nous l'avons vu en toute suffisance, les produits qui développent chez le chien l'état cholériforme le plus accentué donnent à peine chez le lapin un peu de diarrhée et encore cette dernière fait-elle ordinairement défaut. Chez le cobaye, son apparition est une rare exception. Ne pouvant pas produire chez les animaux les symptômes qu'ils considéraient comme essentiels au choléra, les auteurs arrivaient à méconnaître l'existence de ce poison, même dans les milieux où il était très abondant. S'ils avaient employé le chien, nous ne doutons pas qu'ils auraient vite reconnu sa présence.

Une autre cause de contradiction réside peut-être dans ce fait, que la plupart d'entre eux ont voulu, par des manipulations chimiques diverses, isoler le poison dans un état de pureté plus ou moins parfait. Il n'est pas improbable que leurs opérations aient attiré le poison, ou bien que ce dernier ait présenté des réactions de solubilité, variant d'après le milieu dans lequel on voulait le dissoudre ou le précipiter. Ici de nouveau, les intéressantes expériences de DUCLAUX (1) montrent combien tous ces phénomènes doivent être jugés avec circonspection.

Une simple réflexion nous fait du reste comprendre que le poison du choléra *doit* exister dans tous les milieux de culture. En effet, l'opinion d'après laquelle les poisons microbiens dérivent de la substance même du microbe trouve tous les jours de nouvelles confirmations. Là où il y a développement du microbe virulent, il y a par conséquent production du poison. Citons à ce propos les observations de GUINOCHE (2) sur la toxicité des cultures du bacille de la diphtérie dans l'urine.

Cet auteur a trouvé que cet organisme produisait aussi bien son poison spécifique dans ce liquide que dans les milieux renfermant des peptones. Mais pourquoi invoquer le bacille de la diphtérie, quand nous voyons

(1) DUCLAUX : *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892.

(2) GUINOCHE : Contribution à l'étude de la toxine du bacille de la diphtérie; *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 1892.

OUCHINSKY (1) démontrer pour le vibrion du choléra lui-même, qu'il fournit des cultures très toxiques dans des milieux artificiels absolument dépourvus de matières albuminoïdes? Pourquoi n'en produirait-il pas dans les différents milieux qui renferment des substances azotées très complexes.

VIII. PARALLÈLE ENTRE LA TOXINE DU BACILLE DE L'INTESTIN ET LA TOXINE DU VIBRION ASIATIQUE.

Tout le monde sait que les symptômes du choléra nostras, qui est produit par le bacille commun de l'intestin, ressemblent avec une telle perfection aux symptômes du choléra asiatique que, sans l'examen microscopique et la notion de la contagiosité, il est impossible de faire un diagnostic entre ces deux maladies. Il est inutile d'insister sur ce point.

La même analogie s'observe entre les différents animaux en usage dans les laboratoires.

1° Chez les chiens, l'action est tellement identique que l'observateur le plus expérimenté en ce genre de recherches est tout à fait incapable de distinguer si l'intoxication est produite par le vibrion asiatique ou par le coli-bacille. Vis-à-vis des deux organismes vivants ou vis-à-vis de leurs poisons, le chien réagit absolument de la même façon. Il présente un malaise général, de l'abattement et de la prostration; les vomissements sont nombreux, amenant d'abord les aliments, puis du liquide spumeux coloré souvent par de la bile. Quoique l'estomac soit vidé, il n'est pas rare de voir des efforts de vomissement se déclarer à tout instant. La diarrhée est constante, les déjections ressemblent d'abord aux déjections normales, puis elles deviennent fluides. Après l'expulsion des résidus alimentaires, elles sont exclusivement muqueuses; le mucus est souvent coloré par du sang et, examiné au microscope, il montre parfois des lambeaux de cellules épithéliales desquamées. Dans l'intervalle des selles, les animaux sont souvent pris d'efforts de défécation, mais ils n'expulsent que quelques gouttes de liquide.

Du côté de l'appareil de la calorification, on observe les mêmes modifications: les doses faibles produisent de l'hyperthermie, les doses mortelles, de l'hypothermie, précédée ou non d'hyperthermie.

A l'autopsie, les lésions sont absolument les mêmes, et ici non plus l'œil le plus exercé ne saurait dire si les lésions sont produites par le vibrion asiatique ou par le coli-bacille, l'un et l'autre produisent, quand

(1) OUCHINSKY : Op. citat.

les lésions de la muqueuse sont intenses, une desquamation de l'épithélium des villosités et souvent aussi de la muqueuse rectale. Cette exfoliation s'observe sur des intestins enlevés chez des animaux mourants et fixés immédiatement dans l'alcool fort. La chute de l'épithélium ne peut donc être attribuée à une altération cadavérique.

2° Chez le lapin, nous avons également identité d'action. Le fait est d'autant plus curieux à constater que le bacille commun, comme le vibron cholérique, tout en déterminant des lésions intestinales manifestes et constantes, est loin de produire toujours des symptômes de diarrhée. Si nous résumons les symptômes présentés par ces animaux, nous trouvons qu'ils consistent en apathie, perte d'appétit, prostration, dyspnée, paralysie générale avec ou sans tendance à la diarrhée. Nous devons pourtant faire remarquer que le stade de convulsions, qui précède souvent la mort dans l'empoisonnement ou l'infection par le coli-bacille, est plus prononcé que dans les cas d'empoisonnement ou d'infection par le bacille-virgule.

Les lésions sont absolument les mêmes : distension et congestion de l'intestin, taches hémorragiques plus ou moins nombreuses siégeant surtout au niveau du tissu adénoïde, gonflement des plaques de PEYER.

Les deux organismes, injectés à petites doses, produisent la cachexie.

3° Chez les cobayes, l'identité d'action est parfaite. Malgré la congestion intestinale qu'on trouve à la mort, la diarrhée fait presque toujours défaut.

Voilà pour ce qui regarde les symptômes et les lésions déterminées chez les animaux.

Si nous examinons à présent les propriétés des deux poisons, nous trouvons une ressemblance des plus complètes.

Tous les deux opposent une grande résistance à la chaleur; ils supportent tous les deux un chauffage prolongé à 120°.

Tous les deux se conservent à la lumière solaire.

Tous les deux se maintiennent en présence de l'oxygène.

Tous les deux résistent à la digestion gastrique, comme à la digestion pancréatique.

Enfin, ils ne cèdent de principes toxiques ni à l'alcool simple, ni à l'alcool acidulé.

On peut supposer que des nouveaux points de ressemblance surgiront à mesure que nos connaissances sur les propriétés de ces poisons deviendront plus complètes.

Tous ces multiples points de ressemblance nous font ranger les deux toxines dans une même classe que l'on pourrait définir celle des poisons

intestinaux par opposition au poison pyogène proprement dit (staphylocoque pyogène, streptocoque pyogène).

Le bacille commun de l'intestin et le bacille virgule présentent des liens intimes non seulement à cause de l'identité de leurs propriétés, mais aussi à cause de la similitude de leur action.

Il n'est pas douteux, en effet, pour nous que l'intoxication par le coli-bacille complique fréquemment, si pas toujours, l'intoxication par le vibrion cholérique.

C'est également l'avis de LESAGE et MACAIGNE (1) qui ont examiné, au point de vue bactériologique, les matières fécales d'un grand nombre de cholériques. Ils n'ont jamais observé le bacille virgule pur, mais ils l'y ont fréquemment trouvé mélangé au bacille coli, et dans quelques cas ils ont même rencontré celui-ci à l'exclusion du bacille virgule. Fait important au point de vue de la thèse que nous défendons, ils ont constaté qu'il n'existe aucun rapport entre le nombre des bacilles virgules et la gravité de la maladie. PETTENKOFER, EMMERICH et GUTTMAN étaient arrivés aux mêmes conclusions. D'après LESAGE et MACAIGNE, l'explication de ces faits sera fournie probablement par l'étude de la virulence du bacille virgule. Nous croyons qu'ils peuvent parfaitement s'expliquer par la présence constante dans l'intestin d'un bacille qui a absolument les mêmes propriétés pathogènes que le vibrion de KOCH. A l'état normal, comme J. DENYS et C. VAN DEN BERGH (2) l'ont démontré, la toxine du coli-bacille qui se trouve en quantité considérable dans tout intestin n'est pas absorbée grâce à l'intégrité de la couche épithéliale. Or, nous avons vu que le poison cholérique détermine la chute de cette couche. L'épithélium étant tombé, la toxine du coli-bacille est soumise à l'absorption, et même après la disparition complète des bacilles virgules, on comprend que la symptomatologie du choléra puisse persister dans ses moindres détails.

Nous nous sommes assuré plusieurs fois par des cultures avec du sang des chiens, que les lésions intestinales qu'ils présentaient dans l'empoisonnement par le poison du choléra asiatique n'étaient pas dues à une invasion secondaire du bacille de l'intestin. En effet, quand nous faisons ces cultures immédiatement après la mort, nous n'obtenions aucun développement.

(1) LESAGE et MACAIGNE : Étude bactériologique du choléra observé à l'hôpital Saint Antoine en 1892; *Ann. de l'Institut. Pasteur*, 1893.

(2) J. DENYS et CH. VAN DEN BERGH : Sur le mécanisme des symptômes gastro-intestinaux dans le choléra-nostras; *Bull. de l'Acad. royale de med. de Belg.*, 1893.

Voici à quelles conclusions nos expériences nous ont conduit.

CONCLUSIONS.

1^o Il est inutile de recourir à des milieux de culture particuliers pour obtenir le poison. Il se produit en quantité abondante aussi bien sur les pommes de terre, dans le bouillon ordinaire, dans le bouillon gélatinisé, que dans le bouillon de GAMALÉIA.

2^o Les lapins et les cobayes ne sont pas favorables pour l'étude de ce poison; il faut recourir au chien.

3^o En opérant sur ce dernier animal, on peut établir, contrairement à GAMALÉIA, que le poison du choléra résiste très bien à la température prolongée de 120°.

4^o Le poison n'est pas affaibli par une exposition prolongée aux rayons solaires, ni par le passage prolongé d'un courant d'air.

5^o Il est réfractaire aux digestions gastrique et pancréatique.

6^o On doit le classer parmi les substances albuminoïdes complexes, sans que l'on soit à même de préciser davantage sa nature.

7^o Rien ne nous autorise à admettre avec GAMALÉIA que le vrai poison du choléra serait constitué par une nucléo-albumine, qui se transformerait en une nucléine qui serait sans action sur l'intestin; au contraire, plusieurs faits s'élèvent contre cette manière de voir.

8^o Le poison du coli-bacille et celui du choléra ont les mêmes actions pathogènes sur l'homme et sur les animaux. Pour autant qu'on peut en juger, ils présentent la plus grande affinité au point de vue de leurs propriétés chimiques. Enfin, il n'est pas douteux que le poison du coli-bacille ne joue un rôle considérable dans le choléra indien, soit en ajoutant son action à celle du vibrion de KOCH, soit en continuant l'action de ce dernier, quand les bacilles virgules sont devenus rares ou qu'ils ont disparu.

Dans nos recherches, nous avons été dirigé et aidé par les conseils de Monsieur le Professeur DENYS; qu'il nous soit permis de lui présenter ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

DU RAPPORT

ENTRE LE

Pouvoir Bactéricide du Sang de Chien

ET SA

RICHESSE EN LEUCOCYTES

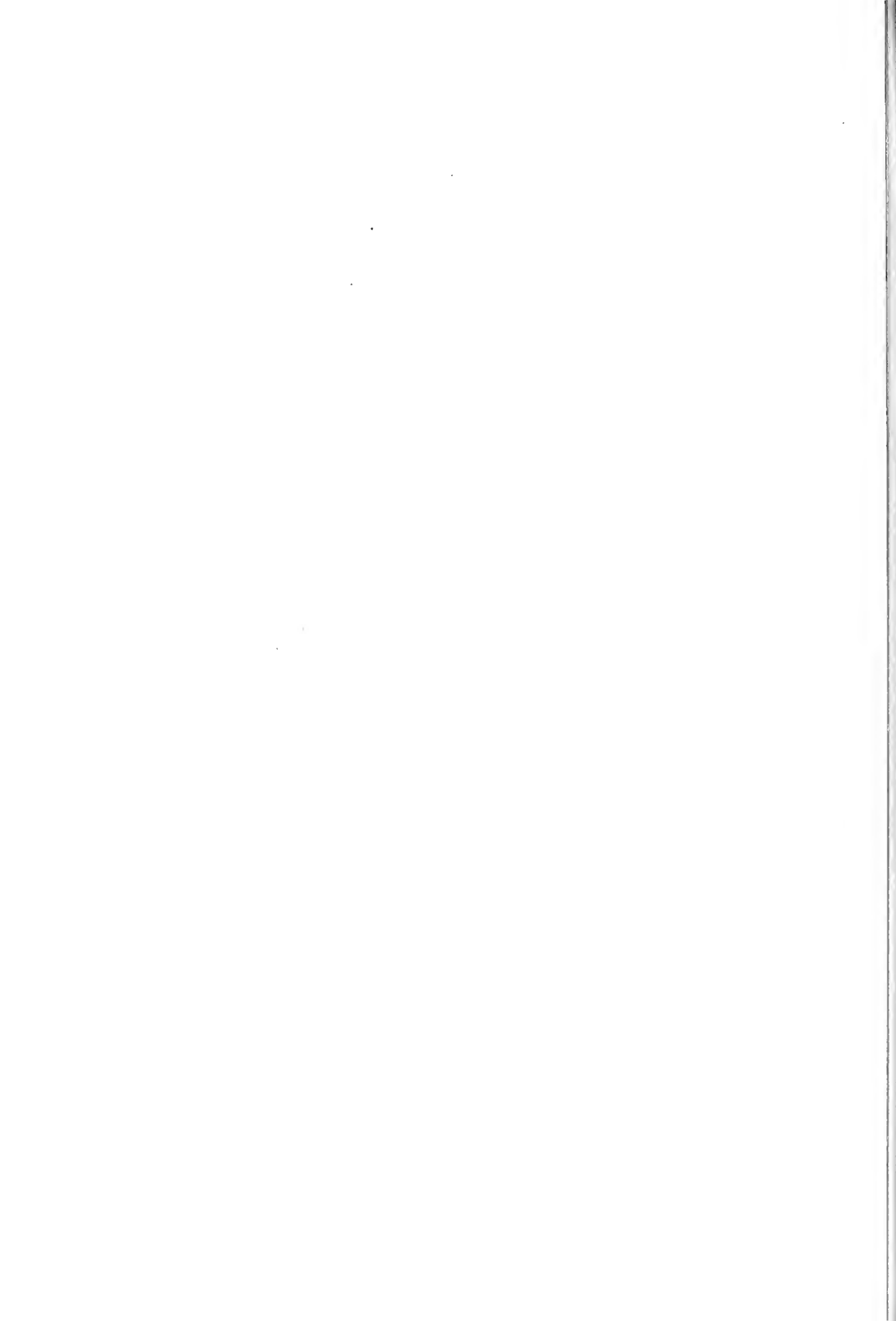
PAR

J. HAVET

DOCTEUR EN MÉDECINE.

(Mémoire déposé le 30 juin 1893.)

(TRAVAIL DU LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET DE PATHOLOGIE
EXPÉRIMENTALE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.)



DU RAPPORT ENTRE LE POUVOIR BACTÉRICIDE DU SANG DE CHIEN

ET SA

RICHESSSE EN LEUCOCYTES

PREMIÈRE PARTIE.

HISTORIQUE ET TECHNIQUE.

Depuis plusieurs années déjà, une vive discussion règne sur la question de savoir si la résistance des animaux supérieurs aux microbes doit être attribuée à une propriété inhérente à leurs cellules, particulièrement aux leucocytes, ou à une propriété inhérente à leurs humeurs : sang et lymph. Ce problème difficile a divisé les savants en deux camps : les partisans de la phagocytose et les partisans du pouvoir bactéricide des humeurs. Nombreux sont les arguments qui ont été invoqués de part et d'autre, mais on peut dire que chacun d'eux a été attaqué et infirmé par la partie adverse. A ceux qui voulaient expliquer par l'influence des humeurs la diminution subie par les organismesensemencés dans le sang, les défenseurs de la phagocytose faisaient remarquer avec raison que cette diminution pouvait s'expliquer par le changement brusque du milieu, et ils faisaient ressortir le manque de relation entre le pouvoir bactéricide des humeurs et l'immunité naturelle ou acquise, relation qui aurait dû exister, si le mécanisme de l'immunité résidait réellement dans les humeurs. Mais les arguments des partisans de la phagocytose ne prétaient pas moins le flanc à la critique que ceux de leurs adversaires. Ils s'appuyaient surtout sur le phénomène assez général dans les infections se terminant par la défaite des microbes : l'englobement de ceux-ci par les leucocytes. Mais on leur objecta que cet englobement n'atteignait que les microbes morts et ne servait par conséquent pas à préserver l'organisme contre l'envahissement

Et en faveur de cette explication, on apportait des arguments séduisants : la dégénérescence du microbe dans le sérum ou la lymphe, en dehors de tout élément cellulaire.

Dès lors, les efforts des partisans de la phagocytose tendirent à prouver que les leucocytes sont aptes à s'emparer des organismes vivants; et ils réussirent, en effet, en poursuivant au microscope le sort des microbes à l'intérieur des globules blancs, à prouver qu'ils s'y multipliaient et que par conséquent ils vivaient au moment de leur absorption. Mais si la démonstration était péremptoire au point de vue de l'état du microbe, elle était sans portée au point de vue de la doctrine phagocytaire, ou plutôt elle lui était contraire, les observations faites établissant la suprématie du microbe sur le leucocyte, plutôt que la suprématie du leucocyte sur le microbe.

Les partisans de la phagocytose invoquèrent un autre argument pour démontrer l'état de vitalité des microbes englobés : leurs mouvements dans le phagocyte; mais cet argument n'est pas plus heureux; car, en premier lieu, il est difficile de décider si ces mouvements sont spontanés ou imprimés au microbe par les contractions du protoplasme; et en second lieu, en admettant que les mouvements soient spontanés, ils indiquent que le leucocyte est mort, car la constitution visqueuse de son protoplasme doit opposer un obstacle insurmontable à la motilité microbienne.

Dans un précédent travail, nous avons rapporté, M^r DENYS et moi (1), des faits qui nous paraissent établir péremptoirement que la prépondérance du pouvoir bactéricide du sang de chien revient aux leucocytes. Les expériences sur lesquelles nous nous sommes appuyés pour attribuer ce rôle important aux globules blancs sont des plus simples; on peut les résumer dans les propositions suivantes.

A. *Expériences faites avec le sang.* 1^o Le sang de chien complet, c'est-à-dire composé de son sérum, de ses globules rouges et de ses globules blancs, possède un pouvoir bactéricide considérable. Par contre, le sérum obtenu soit par dépôt après défibrination, soit par expression du caillot après la coagulation, ne possède qu'un pouvoir faible.

2^o Si l'on filtre le sang complet, tel que nous venons de le définir, à travers du papier buvard, celui-ci laisse passer le sérum, les globules rouges

(1) J. DENYS et J. HAVET : *De la part des globules blancs dans le pouvoir bactéricide du sang de chien*; La Cellule, t. X, 1894.

et les leucocytes à noyau rond, mais il retient tous les leucocytes à noyau polymorphe, c'est-à-dire ceux qui sont vraiment doués des propriétés amiboïdes. Or, le sang ainsi filtré a perdu presque tout son pouvoir. Comme il ne diffère du sang primitif que par l'absence de certains leucocytes, on doit considérer ces derniers comme les agents de l'influence microbicide.

3° L'action bactéricide peut être constatée directement au microscope. Pour la mettre en évidence, onensemence avec un organisme quelconque le *sang filtré*, et on met celui-ci à la couveuse. Par la confection des plaques, aussi bien que par l'examen microscopique, on constate dans les premières heures une pullulation microbienne. Si, à ce moment, on ajoute à la culture sanguine du sang complet, c'est-à-dire pourvu de ses globules blancs, on voit qu'après un temps souvent très court (dix à vingt minutes) les leucocytes englobent les microbes et les détruisent à leur intérieur en les faisant passer par divers stades de dégénérescence. Aucune dégénérescence n'atteint les organismes libres. Les plaques faites à partir du moment où s'accomplit cette digestion intracellulaire fournissent un nombre de colonies de plus en plus faible.

B. Expériences faites avec les exsudats. Les exsudats renfermant des leucocytes ou globules de pus se comportent comme le sang. Filtrés ou centrifugés, ils perdent une partie considérable de leur puissance bactéricide ; mais on leur restitue ce pouvoir en leur rendant leurs leucocytes.

De même, par l'addition du dépôt leucocytaire qu'ils ont abandonné, on enraye le développement commencé dans l'exsudat ou le sang filtré.

Par ces diverses expériences, on parvient à démontrer d'une façon aussi simple que décisive que les globules blancs jouent chez le chien le rôle le plus puissant dans la destruction des microbes, et on peut asseoir la théorie phagocytaire de METCHNIKOFF sur des faits qui ne supportent d'autre interprétation que celle de l'intervention prépondérante de l'élément leucocytaire.

Le présent travail a pour but d'apporter une nouvelle contribution à l'appui de cette même doctrine. Si elle est vraie, il doit exister une relation entre la richesse du sang en leucocytes et son pouvoir bactéricide. Constaté cette relation, tel est le but que nous nous sommes proposé dans les expériences suivantes.

Il y a différents moyens de faire varier le nombre des globules blancs en circulation ; ceux que nous avons mis en œuvre sont au nombre de deux. Ce sont :

1° L'injection de microbes vivants ou morts dans le sang.

2° L'injection des mêmes microbes dans les tissus : tissu cellulaire sous-cutané, plèvre, péritoine, etc.

Ces deux modes au fond se réduisent à un seul : la pénétration de poisons microbiens dans le torrent circulatoire. Nous les avons choisis, en premier lieu parce qu'ils constituent un moyen puissant pour modifier le nombre des leucocytes, et en second lieu parce qu'ils permettent d'appliquer les résultats obtenus au phénomène de l'infection naturelle.

Nous donnerons successivement les résultats fournis par ces deux procédés; mais avant tout, nous devons dire quelques mots de la technique que nous avons suivie.

Comme nous l'avons dit plus haut, nos expériences ont porté sur le chien, animal dont le sang est doué de propriétés bactéricides éminentes. Comme microbe d'épreuve, nous avons employé le plus souvent le bacille commun de l'intestin, quelquefois un microbe que nous avons rencontré par hasard dans une culture de sang et que nous n'avons pas cherché à identifier. Le bacille commun nous paraît bien indiqué pour notre genre de recherches : d'un côté, il appartient à la classe des organismes pathogènes, et la fréquence des conflits, qui doivent résulter de l'intimité dans laquelle il vit avec nos tissus, le désigne tout naturellement comme objet d'expériences; d'autre part, tout en possédant des propriétés infectieuses bien marquées, il n'appartient pas à ce groupe d'organismes hautement virulents qui tuent à dose infime et contre lesquels les organismes supérieurs se trouvent presque désarmés. En un mot, il est doué d'un pouvoir pathogène moyen, qui en fait un excellent objet d'étude.

Point important, pour éviter toute objection touchant le changement brusque de milieu, nous n'avons employé pour nosensemencements que des cultures dans le sang de chien.

Pour étudier le sort des organismes introduits dans le sang, nous avons eu recours à la confection des plaques et au microscope.

1. *La confection des plaques.*

La description détaillée du procédé est superflue; contentons-nous de dire que la matière employée fut l'agar-peptone, et que pour chaque plaque nous avons prélevé deux anses de sang. La valeur de notre anse est d'environ 0,007 gr. de sang.

2. *Le microscope.*

Si les plaques nous donnent des données précises sur le nombre d'organismes vivants dans un milieu donné, elles ne nous renseignent nullement sur la nature intime de la destruction microbienne. Pour étudier cette dernière, il est absolument nécessaire de recourir au microscope. Afin d'avoir des préparations comparables, nous prélevions au moyen de l'anse du fil de platine une quantité déterminée de sang que nous étalions en couche mince et aussi uniforme que possible sur le couvre-objets. Après dessiccation et caléfaction, ce dernier était coloré au bleu de méthylène et examiné dans l'essence de thérébenthine ou le baume de Canada. Ce procédé permet de suivre l'englobement et la dégénérescence des microbes à l'intérieur des leucocytes. En outre, il constitue un mode de contrôle précieux pour la progression et la régression du nombre des microbes; et, par la forme et l'agrégation des microbes, il permet de juger, sans devoir attendre le résultat des plaques, si la culture progresse ou recule.

En effet, le bacille de l'intestin, provenant d'une culture mûre dans le sang de chien, transporté dans du sang frais et mis à la température du corps, parcourt toute une série de transformations.

1° Pendant la première demi-heure, il grossit et s'allonge un peu, en même temps qu'il se colore plus intensément.

2. Vers la fin de la première heure, il se divise et on voit alors apparaître des diplobacilles.

3° Après deux heures, il a formé des chaînettes de 4 à 8 individus.

4° Pendant les heures suivantes, les chaînettes augmentent en nombre et en longueur.

5° Les chaînettes se désagrègent en chaînettes courtes, en bacilles et diplobacilles. On aperçoit également des amas de bâtonnets plus ou moins volumineux et nombreux.

Telle est la marche générale suivie par le bacille de l'intestin lors de son développement dans le sang; elle est assez uniforme pour qu'avec un peu d'habitude on arrive, sans avoir besoin de plaques, à se faire une idée approximative du sort des microbesensemencés.

Nous avons toujours combiné la méthode des plaques avec celle des préparations microscopiques; et dans plusieurs des expériences suivantes, nous donnons à la fois les résultats fournis par l'une et l'autre méthode.

DEUXIEME PARTIE.

INJECTIONS DE CULTURES DANS LE SANG.

Nous nous sommes servi d'une émulsion de staphylocoques dorés dans l'eau salée. Ces organismes avaient été ensemencés sur de l'agar en tubes inclinés et laissés un ou deux jours à la couveuse. Afin de simplifier le problème, nous avons exclusivement injecté des cultures tuées par un chauffage de 10 à 15 minutes à la température de 60° à 65°. L'émulsion était injectée lentement par une des veines jugulaires externes et le sang recueilli par une carotide et défibriné avec les précautions antiseptiques nécessaires.

Les premières expériences qui furent instituées pour étudier le conflit entre le sang et les microbes furent faites dans le laboratoire de FLÜGGE par WISSOKOWITSCH (1). Cet auteur injecta dans les vaisseaux de divers animaux des microbes vivants, et put s'assurer qu'ils disparaissaient complètement dans ce liquide. WISSOKOWITSCH suppose que le foie, la rate et la moelle des os jouent le rôle d'un filtre, où, grâce à un ralentissement considérable du courant sanguin, les bactéries se déposent mécaniquement et sont ensuite englobées par les cellules phagocytaires, qui sont les cellules endothéliales et les cellules fixes des viscères sus-nommés. Cette disparition rapide fut confirmée par F. NISSEN (2). D'après WÉRIGO (3), qui travailla dans le laboratoire de METCHNIKOFF, le mécanisme de la disparition des microbes n'est pas aussi simple que tendraient à le faire croire les recherches des deux auteurs précédents. La disparition rapide des microbes est réelle, ainsi que leur accumulation dans les organes, surtout le foie, la rate; mais, cette élimination n'est pas simplement le résultat d'une réaction entre les microbes et certaines cellules endothéliales; elle se fait par l'intermédiaire d'un facteur : les globules blancs du sang. Ceux-ci s'emparent des

(1) WISSOKOWITSCH : *Ueber die Schicksale der in's Blut injicirten Mikroorganismen im Körper der Warmblüter*; Zeitschr. f. Hyg., I, 1886.

(2) F. NISSEN : *Zur Kenntniss der bacterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes*; Zeitschr. f. Hyg., VI, 1889.

(3) WÉRIGO : *Les globules blancs comme protecteurs du sang*; Annales de l'Institut Pasteur, 1891.

microbes dès leur arrivée dans le sang, les englobent et s'accumulent dans les viscères sus-nommés, où ils les cèdent aux cellules fixes. Ce sont surtout les leucocytes à noyau polymorphe qui sont chargés de ce transport; l'opération terminée, les leucocytes retournent dans le sang.

La rétention des globules blancs dans certains viscères a pour résultat une forte diminution de ces éléments dans le sang. Mais cette diminution est passagère; non seulement le sang reconquiert ses leucocytes, mais il présente dans la suite pendant plusieurs heures une hyperleucocytose marquée.

Aucun des auteurs précédents n'a cherché à fixer le pouvoir bactéricide d'un sang ainsi dépouillé partiellement de ses leucocytes; aussi, nous ne savons pas dans quelle mesure ce pouvoir se trouve modifié; néanmoins les recherches de NISSEN dans le laboratoire de FLÜGGE et surtout celles de BASTIN dans le laboratoire de pathologie expérimentale de Louvain permettent de conjecturer qu'il se trouve considérablement altéré.

NISSEN est le premier qui constata qu'une injection de microbes vivants dans les vaisseaux abolit le pouvoir bactéricide; mais il conteste cette propriété aux microbes morts et prétend que, si le pouvoir est aboli pour une espèce, il ne l'est pas pour d'autres.

BASTIN (1) s'est proposé d'étudier les oscillations que subissait la propriété bactéricide du sang sous l'influence des microbes. Dans ce but, il recourt au procédé opératoire employé par WYSSOKOWITSCH, c'est-à-dire qu'il introduit dans les vaisseaux une certaine suspension d'organismes. Puis, il recueille du sang à des intervalles variables et compare sa puissance bactéricide à celle qu'il possédait antérieurement à toute injection. Il arrive ainsi aux conclusions suivantes, dont les unes sont conformes à celles de NISSEN, d'autres sont contraires, et d'autres encore sont complètement neuves.

1° L'injection dans le sang d'une certaine quantité de microbes abolit ou diminue considérablement son pouvoir bactéricide.

2° Le pouvoir bactéricide est aboli aussi bien par l'injection de cultures stérilisées que par celle de cultures vivantes.

3° Il existe un rapport de proportionnalité entre la dose injectée et le degré de diminution du pouvoir bactéricide.

4° Cette diminution se produit avec une grande rapidité, une quasi-instantanéité.

(1) A. BASTIN : *Contribution à l'étude du pouvoir bactéricide du sang*; La Cellule, t. VIII, 1892.

5° Le pouvoir bactéricide se reproduit avec une grande rapidité; cette régénération s'annonce déjà après une demi-heure; au bout de 5 à 6 heures, le pouvoir bactéricide est en grande partie récupéré.

6° Le pouvoir bactéricide aboli pour une espèce microbienne l'est aussi pour d'autres espèces.

7° Dans les infections graves produites chez les animaux par l'injection de microbes vivants dans les tissus, le sang présente une diminution du pouvoir bactéricide, et le degré de cette diminution paraît être en rapport avec l'intensité de l'infection.

8° Dans les infections légères, du moins chez l'homme, le pouvoir bactéricide du sang paraît augmenter.

Les expériences de BASTIN ont fixé ainsi bien nettement les modifications qui atteignent le pouvoir bactéricide; elles en ont établi l'intensité, la rapidité, le retour graduel; elles ont montré que, aboli pour un microbe, il l'est pour les autres; mais l'attention de l'auteur ne s'est pas portée sur les leucocytes. Or, nous savons par les expériences de WÉRIGO que, sous l'action des injections intravasculaires de microbes, le nombre des leucocytes subit des oscillations analogues à celles de la puissance bactéricide; ils diminuent dans une première période pour reparaitre dans une seconde. Ces périodes coïncident-elles avec les fluctuations analogues que subit le pouvoir bactéricide?

C'est dans le but d'éclairer cette question que nous rapportons les expériences suivantes.

En premier lieu, nous étudierons la période de disparition du pouvoir bactéricide; en second lieu, celle de son retour.

A. Période de disparition du pouvoir bactéricide.

Expérience I

CHIEN de 3200 gr.

A 10,50 heures. Première prise de sang et injection de 1 cc. d'une émulsion de staphylocoques dans l'eau salée. Les staphylocoques ont été tués par une température de 60° maintenue pendant quinze minutes.

A 11 heures. Deuxième prise de sang. Les leucocytes à noyau polymorphe ont complètement disparu; il ne reste plus que des leucocytes à noyau rond et à corps protoplasmatique peu développé.

Ces deux portions de sang sont divisées en deux moitiés, et chacune d'elles est inoculée avec une culture de bacille commun de l'intestin dans du sang de chien. Le tableau suivant donne les résultats.

TABLEAU I.

		IMMÉD. APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
Sang pris avant l'injection.	1 ^{re} portion. Une anse de bacilles communs.	23100	9	0	0
	2 ^{me} portion. 5 anses de bacilles communs.	54400	546	62	52
Sang pris 10 minutes après l'injection.	3 ^{me} portion. Une anse de bacilles communs.	8240	11440	16660	22080
	4 ^{me} portion. 5 anses de bacilles communs.	49125	89640	58400	Innombrables

L'expérience est concluante : les deux premières portions accusent une puissance bactéricide intense; les deux dernières, une perte complète de ce pouvoir.

Expérience II.

Dans l'expérience précédente, nous avonsensemencé largement les portions de sang. Dans l'expérience suivante, l'ensemencement a été parcimonieux, afin de faire ressortir d'autant mieux l'impuissance du sang dépouillé de ses leucocytes. En outre, nous avons fait la numération des globules blancs en comptant le nombre de ces éléments compris dans plusieurs champs du microscope et en établissant la moyenne. Nous avons eu soin de faire cette opération sur des préparations où une anse de sang avait été étalée autant que possible en couche uniforme et d'épaisseur égale.

CHIEN de 3780 gr.

- A 7,15 heures. Première prise de sang et injection de 4 cent. cubes de staphylocoques tués. Dans le sang recueilli, nous trouvons 82 leucocytes par champ, presque tous à noyau polymorphe.
- A 7,30 heures. Deuxième prise de sang. Les globules blancs à noyau polymorphe sont extrêmement rares. Dans 9 champs réunis, nous n'en comptons qu'un, à côté de 24 leucocytes à noyau rond.

TABLEAU II.

		IMMÉD. APRÈS	1 H. APRÈS	2 H. APRÈS	4 H. APRÈS	6 H. APRÈS
1 ^{re} prise de sang.	Ensemencement avec une anse bac. comm.	230	5	0	0	0
	Ensemencement avec 8 anses.	2220	116	1	2	3
2 ^{me} prise de sang.	Ensemencement avec une anse.	159	195	494	351	682

Dans cette expérience, nous éliminons les leucocytes par une injection unique; mais, si au lieu de procéder d'un seul coup, nous injectons des doses faibles de façon à éliminer les globules blancs par étapes successives, pouvons-nous constater une extinction graduelle et partielle du pouvoir bactéricide?

Expérience III.

Nous faisons quatre injections successives, dont chacune prise à part est trop faible pour éliminer les leucocytes; 5 à 10 minutes après chaque injection (émulsion de staphylocoques tués par la chaleur), nous prélevons un peu de sang, lequel, après ensemencement avec du bacille commun de l'intestin, sert à faire des plaques. Par l'examen microscopique, nous pouvons nous assurer que le nombre des leucocytes a diminué après chaque injection, et qu'après la quatrième, les leucocytes à noyau polymorphe sont éliminés complètement.

CHIEN de 3940 gr.

- A 7,25 heures. Première prise de sang et injection d'une demi-seringue de staphylocoques tués.
- » 7,40 » Deuxième prise de sang. Les globules blancs ont diminué, mais sont encore nombreux. Nouvelle injection de 12 cc. de staphylocoques.
- » 8 » Troisième prise de sang. Les globules blancs n'ont pas encore complètement disparu. Nouvelle injection de 1 cc. de staphylocoques.
- » 8,22 » Quatrième prise de sang et injection de 1 cc. de staphylocoques.
- » 8,34 » Cinquième prise de sang. Élimination complète des leucocytes à noyau polymorphe.

TABLEAU III.

	IMMÉD. APRÈS ENSEMENCEMENT	2 H. APRÈS	4 H. APRÈS	6 H. APRÈS
1 ^{re} prise.	33300	4020	588	473
2 ^{me} prise.	60480	18720	28250	74340
3 ^{me} prise.	47040	14430	37800	Innombrables
4 ^{me} prise.	34320	22490	43920	Innombrables
5 ^{me} prise.	56940	26130	139200	Innombrables

On peut voir dans ce tableau que le pouvoir bactéricide diminue graduellement au fur et à mesure que les leucocytes disparaissent. Dans la portion 1, recueillie avant toute injection, la diminution est progressive et ininterrompue : 33300 à 473. Dans les portions suivantes, la diminution existe seulement à la deuxième heure; à la quatrième heure, la pullulation est prononcée partout et d'autant plus accusée que l'on descend la série des prises.

L'examen microscopique des préparations faites en même temps que les plaques donne des résultats complètement confirmatifs de ceux fournis par les plaques. Le développement se montre d'autant plus rapide et d'autant plus abondant que le nombre des leucocytes est plus faible.

TABLEAU IV.

	2 ^{me} HEURE	4 ^{me} HEURE
1 ^{re} portion.	Rares chainettes de 4; un peu de phagocytose.	Pas d'organismes libres; après de longues recherches, un amas de leucocytes avec quelq. bacilles.
2 ^{me} portion.	Id comme pour la 1 ^{re} portion.	Plusieurs bacilles et chainettes courtes par champ microscop. Phagocytose bien marquée.
3 ^{me} portion.	Plusieurs chainettes de 4 par champ.	Beaucoup d'amas et de chainettes par champ. Phagocytose.
4 ^{me} portion.	Les chainettes sont plus longues que précédemment.	Id.
5 ^{me} portion.	Chainettes plus longues que dans la portion précédente.	Culture; pas de phagocytose.

Nous pouvons conclure de ces trois expériences que la perte du pouvoir bactéricide et la disparition des leucocytes marchent de pair.

B. Période de retour du pouvoir bactéricide.

A. BASTIN et WÉRIGO ont constaté que les modifications imprimées au sang par les injections n'étaient que de courte durée. Après un certain nombre d'heures, le pouvoir bactéricide et la richesse leucocytaire se reconstituent. Il importe à nous, qui avons pour but d'étudier les relations qui existent entre la propriété microbicide et l'élément leucocytaire, d'examiner si le retour de la première coïncide avec le retour du second.

Dans ce but, nous avons laissé en vie les chiens qui nous ont fourni les résultats exposés plus haut, et nous nous sommes renseigné, par de petites incisions faites de temps en temps à l'oreille, sur le moment où le sang rentrait en possession de ses globules blancs. Quand nous jugions le moment opportun, nous recueillions un peu de sang par la carotide et fixions son pouvoir bactéricide. Sur certains chiens, nous avons renouvelé cette opération plusieurs fois, de façon à avoir l'occasion d'étudier l'intensité du pouvoir bactéricide à différentes étapes de la reconstitution du sang.

Nous reprenons donc l'histoire de nos trois chiens, chez lesquels nous avons, par une injection de staphylocoques, aboli le pouvoir bactéricide, en même temps que nous éliminions les leucocytes de la circulation.

Pour permettre au lecteur de juger plus facilement du réveil du pouvoir bactéricide, nous reprenons dans chaque tableau l'état du pouvoir tel qu'il était après l'élimination leucocytaire.

Expérience IV.

(Continuation de l'expérience I.)

CHIEN I.

A 11,00 heures. Injection de staphylocoques et disparition des leucocytes.

» 5,30 » Retour abondant des leucocytes. T. R 39^o,6. Prise de sang.

TABLEAU V.

		IMMÉD.	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
Sang privé de ses leucocytes.	1 ^{re} portion. Une anse bac. comm.	8240	11400	16660	22080
	2 ^{me} portion. 5 anses bac. comm.	49125	89640	58400	Innombrables
Sang pendant le retour des leucocytes.	1 ^{re} portion. Une anse bac. comm.	14140	540	36	
	2 ^{me} portion. 5 anses bac. comm.	31700	4050	728	

Expérience V.

(Continuation de l'expérience II.)

- A 7,20 heures. Injection de microbes et disparition des leucocytes. Moyenne des leucocytes à noyau polymorphe : 1 sur 9 champs microscopiques.
- » 10,30 » Globules blancs assez nombreux. Moyenne par champ : 23. 3^{me} prise de sang.
- » 2,45 » Globules blancs nombreux. Moyenne par champ : 56. 4^{me} prise de sang.

Pour bien juger des résultats, n'oublions pas que la moyenne des globules blancs antérieurement à toute injection était de 82.

TABLEAU VI.

		DE SUITE APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
Pouvoir du sang après élimination des leucocytes	Portion avec 1 anse bac. comm.	159	195	494	351	682
3 ^{me} prise. 23 leucocytes par champ.	1 ^{re} portion avec 1 anse bac. comm.	289	108	24	4	5
	2 ^{me} portion avec 8 anses.	1287	353	169	84	83
4 ^{me} prise. 56 leucocytes par champ.	1 ^{re} portion avec 1 anse bac. comm.	67	3	1	2	1
	2 ^{me} portion avec 8 anses.	444	65	46	13	3

*Expérience VI.**(Continuation de l'expérience III.)*

- A 8,34 heures. Élimination complète des leucocytes par les microbes injectés.
 » 10,40 » Les globules reparaissent en petite quantité. Sixième prise de sang.
 » 4,30 » Les globules sont revenus nombreux. Septième prise de sang.

TABLEAU VII.

	IMMÉD. APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.
5 ^{me} prise de sang. Élimination complète des leucocytes.	56940	26130	139200	Innombrables
6 ^{me} prise. Petit nombre de leucocytes.	34730	19570	18550	66820
7 ^{me} prise. Leucocytes nombreux.	22230	83	0	

La signification de ces expériences est bien nette et se passe de tout commentaire : *le retour des leucocytes coïncide avec le retour du pouvoir bactéricide*. La coïncidence est surtout intéressante à poursuivre dans les expériences V et VI, où nous avons pu recueillir, pendant la réintégration graduelle des leucocytes, du sang à deux reprises différentes : le premier pauvre en leucocytes, le second plus riche mais inférieur néanmoins au sang primitif. La doctrine exige que le pouvoir du premier fut inférieur au second, et celui du second inférieur au pouvoir du sang primitif, et de fait, c'est le résultat fourni par les plaques.

Enfin, pour établir encore plus nettement le lien intime qui existe entre le pouvoir bactéricide et les leucocytes, nous avons, chez les chiens II et III, après le retour des leucocytes, pratiqué une nouvelle injection microbienne, afin d'éliminer une seconde fois les leucocytes; le résultat fut absolument le même qu'après la première injection : diminution ou disparition des leucocytes, diminution ou abolition du pouvoir bactéricide.

Voici les chiffres de l'une de ces expériences :

*Expérience VII.**(Continuation des expériences II et V.)*

A 3 heures. Après le retour partiel des leucocytes, nouvelle injection de staphylocoques dans la jugulaire et 5^{me} prise de sang. Nous comptons 3 leucocytes contre 56 immédiatement avant et 82 au début de l'expérience.

TABLEAU VIII.

		DE SUITE APRÈS	1 HEURE	2 HEURES
Sang avant la 2 ^{me} injection. 56 leucocytes.	1 ^{re} portion. Une anse bac. comm.	67	3	1
	2 ^{me} portion. 8 anses.	444	65	46
Sang après la 2 ^{me} injection. 3 leucocytes.	1 ^{re} portion. Une anse bac. comm.	38	19	76
	2 ^{me} portion. 8 anses.	468	2054	1288

Des expériences précédentes, nous nous croyons autorisé à tirer les conclusions suivantes :

1° *La disparition des leucocytes et la perte du pouvoir bactéricide qui suivent l'injection de produits microbiens dans le sang sont deux phénomènes intimement liés l'un à l'autre. Si la dose injectée est suffisante pour éliminer d'un coup les leucocytes, le pouvoir est aboli complètement; si la dose est insuffisante, la diminution de ce pouvoir est proportionnelle au nombre des globules blancs éliminés.*

2° *Le retour du pouvoir bactéricide coïncide avec la réapparition des leucocytes.*

3° *Ce pouvoir croît au fur et à mesure que le nombre des globules blancs augmente.*

TROISIÈME PARTIE.

INJECTION DE MICROBES VIVANTS DANS LES SÉREUSES.

Nous venons de voir qu'après l'injection de cultures tuées dans le sang, les variations du pouvoir bactéricide du sang marchent de pair avec la richesse en leucocytes. La façon dont nous avons exécuté nos expériences — injection intravasculaire d'une culture morte — réalise en un acte l'envahissement lent, mais ininterrompu, du sang par des produits bactériens dérivant d'un foyer infectieux occupant les tissus. Dans l'un et dans l'autre cas, si la porte d'entrée est différente, l'effet est le même et nous pouvons nous attendre à des résultats identiques.

Nous avons vu plus haut que BASTIN, étudiant chez le chien et chez l'homme le pouvoir bactéricide du sang dans le cas d'infection expérimentale ou naturelle, était arrivé à la conclusion que, dans les infections graves conduisant à la mort, le pouvoir bactéricide du sang baisse et devient même nul, tandis que, dans les infections légères, il y a recrudescence de ce pouvoir. Mais ici encore, cet auteur ne nous renseigne pas sur les variations de nombre des globules blancs. Des recherches de cette nature ont été faites dernièrement par M^{lle} EVERARD, M^{rs} DEMOOR et MASSART (1). Ces auteurs ont étudié le sort des leucocytes du sang après une injection de cultures vivantes, stérilisées ou filtrées, dans le tissu cellulaire sous-cutané, et ils formulent le résultat de leurs recherches dans les propositions suivantes :

- L'injection de cultures microbiennes vivantes ou mortes détermine
- en premier lieu l'abaissement du nombre des leucocytes circulants, et
- surtout des leucocytes à noyau polymorphe compact et à protoplasma granuleux.
- Lorsque l'animal résiste à l'infection, la période d'hypoleucocytose
- est suivie d'une phase pendant laquelle les leucocytes, principalement les
- leucocytes à noyau polymorphe, sont très abondants; puis le sang reprend
- des caractères normaux.

(1) GL. EVERARD, J. DEMOOR, J. MASSART : *Sur les modifications des leucocytes dans l'infection et dans l'immunisation*; Annales de l'Institut Pasteur, 1905.

« La phase typique d'hyperleucocytose fait défaut chez les individus - qui succombent à l'infection; tantôt, elle manque complètement (lorsque - la mort survient rapidement); tantôt, elle est remplacée par une série - d'oscillations (quand la maladie infectieuse se prolonge plus longtemps). »

Ces résultats, mis en regard de ceux obtenus par BASTIN, permettent de conjecturer que les fluctuations du pouvoir bactéricide observées par cet auteur sont sous la dépendance des variations leucocytaires décrites par les trois auteurs belges. Pour trancher la question, nous avons injecté à trois chiens des cultures vivantes de staphylocoques venues sur agar incliné, et cela, de la façon suivante : un premier chien reçoit, dans la plèvre, le produit de deux tubes dilué dans 2 cc. d'eau stérilisée; un second chien est injecté, dans la plèvre également, avec un demi-tube dilué dans 2 cc. d'eau + 2 cc. de bile; à un troisième, une injection est pratiquée dans le péritoine avec un demi-tube dilué dans 2 cc. d'eau + 2 cc. de bile.

L'addition de bile dans les deux dernières expériences a pour but de favoriser l'infection, de la stimuler, d'assurer, si possible, la mort des animaux. Les résultats obtenus par LARUELLE et DE MARBAIX avec ce produit permettent, en effet, de le considérer comme une substance adjuvante de première qualité.

Nos expériences démontrent encore une fois l'efficacité de cette humeur. En effet, le premier chien, qui ne reçoit pas de bile, se rétablit complètement; les deux autres succombent, quoique la dose de microbes injectée fut de beaucoup inférieure à celle du chien I.

Nous commençons par l'exposé de notre expérience avec le premier de ces chiens.

Expérience VIII.

CHIEN de 3820 gr.

A 10,30 heures. Prise de sang à la carotide. En moyenne, 120 globules blancs par champ.

Injection dans la plèvre de staphylocoques vivants (valeur de 2 tubes dilués dans 2 cc. d'eau stérilisée).

» 2,30 » T. R. 40^o,3. Deuxième prise de sang. En moyenne, 17 globules blancs par champ.

Le lendemain matin, 8 heures. T. R. 39^o,4. Troisième prise de sang. Les globules blancs sont revenus en nombre très considérable. En moyenne, 180 par champ.

Les deux premières prises fournissent chacune deux portions de 5 cc., dont l'une estensemencée avec deux anses, l'autre avec une goutte de culture de bacille commun de l'intestin dans le sang de chien.

La troisième prise fournit trois portions, également de 5 cc., qui sontensemencées respectivement avec deux anses, une goutte et deux gouttes.

Comme on le voit, nous avonsensemencé certains de nos tubes avec des quantités relativement considérables : une goutte de culture ancienne pour 5 cc. ou 100 gouttes de sang frais. En agissant ainsi, nous avons eu en vue de mettre le sang dans les conditions voulues pour qu'il put manifester la totalité de sa puissance bactéricide. En effet, si l'on se contente d'ajouter des quantités minimales de microbes, ces quantités disparaissent presque aussi rapidement dans un sang très bactéricide que dans un sang de puissance moyenne. La raison en est simple; la destruction des microbes étant fonction des leucocytes, on aura dans un sang de richesse moyenne ou même faible assez de ces éléments pour accaparer le petit nombre d'organismes ajoutés. Les deux sangs sembleront posséder le même pouvoir, quoiqu'en réalité l'un surpasse l'autre de beaucoup. La supériorité de l'un d'eux échappera, simplement parce qu'on ne l'aura pas sollicité à donner tout ce qu'il pouvait. Si l'on veut faire des études comparatives sur le pouvoir bactéricide de plusieurs échantillons de sang, il est donc indispensable de le faire agir sur des quantités suffisantes, par exemple une goutte de culture pour 5 cc. de sang. C'est ce que nous avons fait.

Les plaques nous ont fourni les chiffres suivants.

TABLEAU IX.

		IMMÉD. APRÈS	1 H. APRÈS	2 H. APRÈS	4 H. APRÈS	6 H. APRÈS
Prise A. Sang recueilli avant toute injection. 120 leucocytes par champ.	1 ^{re} portion. 2 anses bac. comm.	60000		106	10	0
	2 ^{me} portion. Une goutte.	165000	38000	1224	444	140
Prise B. Sang recueilli à la disparition des glob. blancs. 17 leucocytes par champ.	3 ^{me} portion 2 anses.	60000	42000	8040	5808	16800
	4 ^{me} portion. Une goutte.	165000	78760	32152	55632	Innombr.
Prise C. Sang recueilli le lendemain. 180 leucocytes par champ.	5 ^{me} portion. 2 anses.	60000	9025	490	1	0
	6 ^{me} portion. Une goutte.	165000	18040	756	280	72
	7 ^{me} portion. 2 gouttes.	360000	40725	3000		

L'expérience est aussi intéressante que décisive.

D'un côté, par les oscillations du pouvoir bactéricide, elle s'harmonise avec les expériences de BASTIN, de l'autre, par les oscillations de la richesse leucocytaire, avec les observations des auteurs belges, et elle nous permet de conclure que, dans les infections se terminant par la guérison, le stade d'hypoleucocytose s'accompagne d'une diminution du pouvoir bactéricide, le stade d'hyperleucocytose, d'une augmentation de ce pouvoir. En un mot, les conclusions obtenues répondent complètement aux exigences de la doctrine phagocytaire. La prise C, la plus riche en globules (180), tue les organismes en plus grand nombre et le plus rapidement. Puis vient la portion A (richesse en leucocytes : 128), et enfin la portion B (richesse en leucocytes : 17).

La comparaison entre la prise C et la prise A eut été plus intéressante encore, si nous avions ensemencé un échantillon de A avec deux gouttes de culture. La différence entre A et C n'en eut été que plus frappante, car l'habitude que nous avons de ce genre de recherches nous permet d'affirmer que la portion A ne serait pas parvenue à maîtriser les deux gouttes.

Cette expérience confirme en outre un fait déjà soupçonné à la suite des expériences de BASTIN sur l'homme pour le staphylocoque et établi en toute évidence par J. DENYS et KAISIN (1) chez le chien et le lapin pour le charbon : à savoir que, dans l'organisme infecté, il se produit une réaction consistant en un accroissement du pouvoir bactéricide.

Nous pouvons facilement prouver que cet accroissement chez le chien est dû uniquement à une augmentation des leucocytes. En effet, filtrons la portion C prise au stade de réaction, et ensemençons la avec deux anses de la même culture que précédemment. Nous obtenons les chiffres suivants :

TABLEAU X.

	IMMÉD. APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
Portion C filtrée et ensemencée avec 2 anses bac. comm.	55000	42670	61000	129000	Innombr.

Ce dernier résultat nous permet d'entrer encore plus avant dans le problème de la défense du chien contre les microorganismes, car il nous permet de conclure que l'accroissement du pouvoir constaté dans les infec-

(1) J. DENYS et A. KAISIN : *Recherches à propos des objections récemment élevée contre le pouvoir bactéricide du sang*; La Cellule, t. IX, 2, 1893.

tions est dû, non pas à l'acquisition par le sérum de propriétés spéciales, mais simplement au nombre des leucocytes.

Examinons maintenant les chiens qui ont succombé à l'injection des staphylocoques unis à la bile.

Expérience IX.

CHIEN de 3520 gr.

- A 11,30 heures. Première prise de sang. Moyenne des leucocytes : 98 par champ. Injection de staphylocoques vivants dans la plèvre. Culture impure de la valeur d'un demi-tube dilué dans 2 cc. de bile.
- » 2,30 » T. R. 40°. 2. Deuxième prise de sang. Moyenne des leucocytes : 16 par champ.
- » 5 » Le chien meurt. Troisième prise de sang au cœur. 7 globules blancs en moyenne.

Nous avons donc chez ce chien une diminution progressive des leucocytes. Les portions de sang sont également de 5 cc., et elles sontensemencées avec la même culture.

TABLEAU XI.

		DE SUITE APRÈS	1 H. APRÈS	2 H. APRÈS	4 H. APRÈS	6 H. APRÈS
Sang pris avant toute injection. 98 leucocytes.	1 ^{re} portion.	60000	23140	1332	190	175
	2 anses bac. comm.					
	2 ^{me} portion.	165000	33280	5160	2535	28800
	1 goutte bac. comm.					
Sang pris à 2,30 heures. 16 leuco- cytes.	1 ^{re} portion.	60000	51604	24000	4130	10044
	2 anses bac. comm.					
	2 ^{me} portion.	165000	81640	18180	44200	Innombr.
	1 goutte bac. comm.					
Sang pris à 5 heures. 7 leuco- cytes.	1 ^{re} portion.	60000	43730	17710	34720	Innombr.
	2 anses bac. comm.					
	2 ^{me} portion.	165000	Légère diminution	30400	Innombr.	Innombr.
	1 goutte.					

Le résultat est net ; la diminution du pouvoir bactéricide va baissant avec le nombre des leucocytes.

Expérience X.

CHIEN de 4200 gr.

- A 10,30 heures. Première prise de sang. Moyenne des globules blancs : 56. Injection dans le péritoine de deux seringues de staphylocoques additionnées de leur volume de bile.
- » 3,30 » T. R. 40°. Deuxième prise de sang. En moyenne : 20 globules blancs.
- » 10 » Le lendemain, l'animal meurt. Troisième prise de sang au cœur. Moyenne des globules blancs : 64.

Avec chaque prise de sang, nous faisons trois portions de 5 cc. Le pouvoir bactéricide des portions appartenant à la troisième prise ne peut naturellement être fixé qu'un jour après celui des deux premières prises ; mais l'ensemencement de toutes a lieu avec la même culture mûre de coli-bacille dans le sang de chien. Il n'y a qu'une différence : les portions appartenant aux prises I et II sontensemencées respectivement avec 1/2 goutte, 1 goutte et 2 gouttes ; celles qui appartiennent à la prise III le sont avec des doses moitié moindres, 1/4, 1/2 et 1 goutte.

TABLEAU XII.

		DE SUITE APRÈS	1 H. APRÈS	2 H. APRÈS	4 H. APRÈS	6 H. APRÈS
Sang pris avant toute injection. 56 gl. blancs par champ.	1 ^{re} portion.	72800	8750	756		200
	1 2 goutte bac. comm.					
	2 ^{me} portion.	155000	28340	8505		7368
	1 goutte.					
Sang pris à 3 1 2 h. 20 gl blancs.	3 ^{me} portion.	218400	45895	61200		Innombr.
	2 gouttes.					
	4 ^{me} portion.	50960	7410	960		250
	1 2 goutte.					
Sang pris à 3 1 2 h. 20 gl blancs.	5 ^{me} portion.	105000	25250	5040		Innombr.
	1 goutte.					
	6 ^{me} portion.	Innombr.	32234	21484		Innombr.
Sang recueilli le lendemain imméd. après la mort. 64 gl. blancs.	2 gouttes.					
	7 ^{me} portion.	35000	11310	3990	1316	3399
	1 4 goutte.					
	8 ^{me} portion.	62004	28063	10488	12180	31590
Sang recueilli le lendemain imméd. après la mort. 64 gl. blancs.	1 2 goutte.					
	9 ^{me} portion.	129772	38280	45000	28800	Innombr.
	1 goutte.					

Cette expérience mérite notre attention à deux titres :

1^o Tandis que, dans l'expérience précédente, la décroissance globulaire va progressant jusqu'à la mort, il y a dans celle-ci un relèvement; bien plus, le nombre des leucocytes, au moment où l'animal succombe, est légèrement supérieur à celui que nous lui avons trouvé avant l'infection. Ce fait nous apprend que la gravité de l'empoisonnement et l'abaissement du nombre des leucocytes ne marchent pas nécessairement de pair. La défaite de l'organisme peut s'accomplir alors que les leucocytes sont encore nombreux; elle se produit alors par l'intoxication graduelle du système nerveux, à laquelle l'action leucocytaire ne peut remédier directement. N'oublions pas, en effet, que les leucocytes ont pour mission de détruire les microbes, mais qu'ils paraissent complètement impuissants contre les poisons déversés

par ces derniers dans le système circulatoire. On conçoit qu'à un moment donné de la lutte, surtout lorsqu'elle est longue, le système nerveux soit intoxiqué et paralysé, alors que les globules blancs n'ont pas épuisé toutes leurs ressources. On conçoit même que, dans ces conditions, la mort puisse survenir à la période d'hyperleucocytose, qui constitue un effort réactionnel de la part des phagocytes pour maîtriser les agents infectants.

2° Si l'on compare attentivement les chiffres fournis par les prises I et III, en tenant compte que lesensemencements sont de moitié plus faibles dans les portions 7, 8 et 9, on constate avec étonnement que la portion III, malgré son effectif supérieur en leucocytes, exerce une action bactéricide inférieure à la portion I. Ce fait est-il de nature à infirmer la corrélation constante que nous avons trouvée jusqu'à présent entre la richesse leucocytaire et le pouvoir bactéricide?

Nullement, mais il nous fait entrevoir que d'autres facteurs peuvent intervenir pour modifier légèrement ce rapport et lui enlever sa rigueur absolue. Quels sont ces facteurs?

En premier lieu, on peut admettre une sorte d'épuisement, une espèce de fatigue du leucocyte qui, ayant détruit un certain nombre d'organismes, a perdu du même coup une partie de son énergie.

En second lieu, il est légitime de supposer que les poisons microbiens agissent à leur tour sur les leucocytes et, dans certaines conditions, paralysent, jusqu'à un degré plus ou moins fort, leur fonction phagocytaire.

Nous ne savons s'il faut attribuer un rôle au premier facteur : l'épuisement; mais nous pouvons facilement établir par l'expérimentation que les poisons microbiens ralentissent l'activité des phagocytes. En voici une preuve.

Expérience XI.

Nous avons cinq portions de sang de 5 cc. chacune : la première est employée comme telle; aux quatre autres, nous ajoutons la partie claire d'une ancienne suspension de bacilles de l'intestin dans l'eau. Les bacilles sont venus sur pomme de terre et délayés dans l'eau salée physiologique, chloroformée, dans la proportion 1 pour 9. Il va sans dire que le chloroforme a été expulsé complètement, avant l'usage, par une douce chaleur.

Le 2 ^{me} tube	reçoit	0,025 cc.	du poison,	c'est-à-dire	1/4 0/00.
Le 3 ^{me}	-	0,05	cc.	-	1/2 0/00.
Le 4 ^{me}	-	0,25	cc.	-	1/4 0/0.
Le 5 ^{me}	-	0,5	cc.	-	1/2 0/0.

Les cinq tubes sontensemencés avec le coli-bacille et fournissent les chiffres suivants :

TABLEAU XIII.

	DE SUITE APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
Tube I.	100000	23807	8384	476	340
Tube II. 1/4 0.00.	100000	28861	14720	1079	5148
Tube III. 1/2 0.00.	100000	31720	23349	1680	12420
Tube IV. 1/4 0.0.	100000	32200	11970	2000	6600
Tube V. 1/2 0.0.	100000	28188	20440	11200	49400

Le sang le plus puissant est celui du premier tube, c'est-à-dire celui qui n'a pas reçu de poison; la diminution va en progressant jusqu'à la dernière heure:

Dans les tubes suivants, le minimum est partout supérieur au minimum du premier tube; en outre, dès la sixième heure, nous avons une repullulation accentuée, surtout dans le dernier tube qui reçut la dose la plus forte.

Cette expérience prouve que les poisons bactériens exercent une influence paralysante sur les globules blancs. Cette influence se fait déjà sentir avec des doses extrêmement faibles : 0,025 0/0. Si l'on songe que l'émulsion microbienne qui a fourni le poison est elle-même au dixième, les microbes exercent leur effet paralysant à la dose de 0,0025 0/0; et si l'on tient compte que les microorganismes contiennent 80 0/0 d'eau, l'action paralysante s'obtient avec 0,0005 0/0 de microbes desséchés. Encore, admettons-nous, ce qui est évidemment faux, que toute la substance microbienne est formée de ce poison.

En même temps que nous avons fait les plaques, nous avons confectionné des préparations microscopiques avec les cinq sortes de sang, de quart d'heure en quart d'heure d'abord, de 1/2 heure en 1/2 heure ensuite.

Nous avons pu constater le phénomène de la phagocytose chez toutes; mais tandis que, dans les dernières préparations du tube I, ce phénomène

avait presque disparu, les microbes libres faisant défaut, les préparations correspondantes des autres tubes montraient au contraire de nombreux leucocytes avec des organismes intacts ou détériorés et de nombreux bâtonnets libres. Cet examen confirme donc entièrement les résultats fournis par les plaques.

Pour terminer, donnons encore une expérience du même genre; elle est intéressante parce que l'ensemencement a été fait avec du sang de chien contenant, à côté du bacille de l'intestin, un autre organisme, un microcoque.

Expérience XII.

Nous avons également ici cinq portions de sang de 5 cc.; les quatre dernières sont additionnées de poison dans les mêmes proportions que l'expérience précédente.

Voici les chiffres obtenus. Ils comprennent à la fois les colonies de bacilles et celles des microcoques.

TABLEAU XIV.

	DE SUITE APRÈS	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.
Tube I.	298900	70980	317520	Innombrables
Tube II. Poison 1/4 0.00.	152320	162700	980750	»
Tube III. Poison 1/2 0.00.	172900	181300	1128400	»
Tube IV. Poison 1/4 0.0.	231000	397040	Innombrables	»
Tube V. Poison 1/2 0.0.	145530	635040	»	»

En résumé, le premier tube seul, qui ne reçoit pas de poison, présente une forte diminution après la deuxième heure. Tous les autres fournissent une augmentation immédiate, d'autant plus rapide que la quantité de poison en présence est plus considérable. La comparaison est surtout intéressante entre les tubes II et V. Ces deux expériences nous permettent de conclure *que les microbes sécrètent des substances qui contrecarrent le pouvoir phagocytaire. Pour juger de l'énergie de celui-ci, il ne suffit pas de considérer le nombre des leucocytes, mais il faut tenir compte également, dans une certaine proportion, des conditions dans lesquelles ce pouvoir est amené à agir.*

Nous ne serions pas étonné que des doses plus fortes de poison paralysent complètement les leucocytes et les fassent périr. Nous croyons pouvoir admettre que cette victoire des microbes se présente souvent soit sur une large échelle, soit seulement sur un petit nombre de leucocytes.

Nous avons dit plus haut que notre dernière expérience présentait un intérêt spécial. En effet, ayant exécuté pendant sa marche des préparations microscopiques, nous n'avons pas été peu étonné en constatant que les leucocytes du tube I englobaient indifféremment les bacilles et les microcoques, tandis que ceux des tubes renfermant les plus fortes doses de poison refusaient les microcoques et ne prenaient que les bacilles.

Le phénomène présentait une telle netteté qu'il ne pouvait être nié. Déjà, en faisant la numération des colonies sur les plaques, nous avons été frappé de ce fait que l'augmentation portait, non pas sur les colonies du bacille intestinal, mais sur celles des microcoques. Le microscope nous donna la clef de ce phénomène étrange.

Cette expérience nous montre *qu'un microbe peut, dans certaines conditions, être délaissé par les leucocytes. Elle nous fait voir également qu'un même leucocyte, se trouvant en présence de deux espèces microbiennes, peut accaparer soit les deux, soit l'une des deux seulement, suivant le milieu dans lequel il agit.*

L'étude de l'action des globules blancs sur plusieurs sortes de microbes à la fois, avec ou sans addition de poison, fournira peut-être des données très intéressantes sur l'infection et sur l'immunité. C'est une voie qui, on peut l'espérer, sera féconde en résultats.

CONCLUSIONS.

1. Chez le chien, la disparition partielle ou totale des globules blancs, qui succède à une injection de produits microbiens dans le sang, entraîne la disparition partielle ou totale du pouvoir bactéricide.

2. Le retour de ce pouvoir coïncide avec la rentrée des globules blancs dans le sang, et ces deux phénomènes suivent une marche parallèle.

3. Dans les infections succédant aux injections de cultures vivantes dans les tissus, le stade d'hypoleucocytose est accompagné d'une diminution du pouvoir bactéricide; et le stade d'hyperleucocytose d'une augmentation de ce pouvoir. Cette augmentation est due à l'accroissement du nombre des leucocytes et nullement à une qualité nouvelle acquise par le sérum.

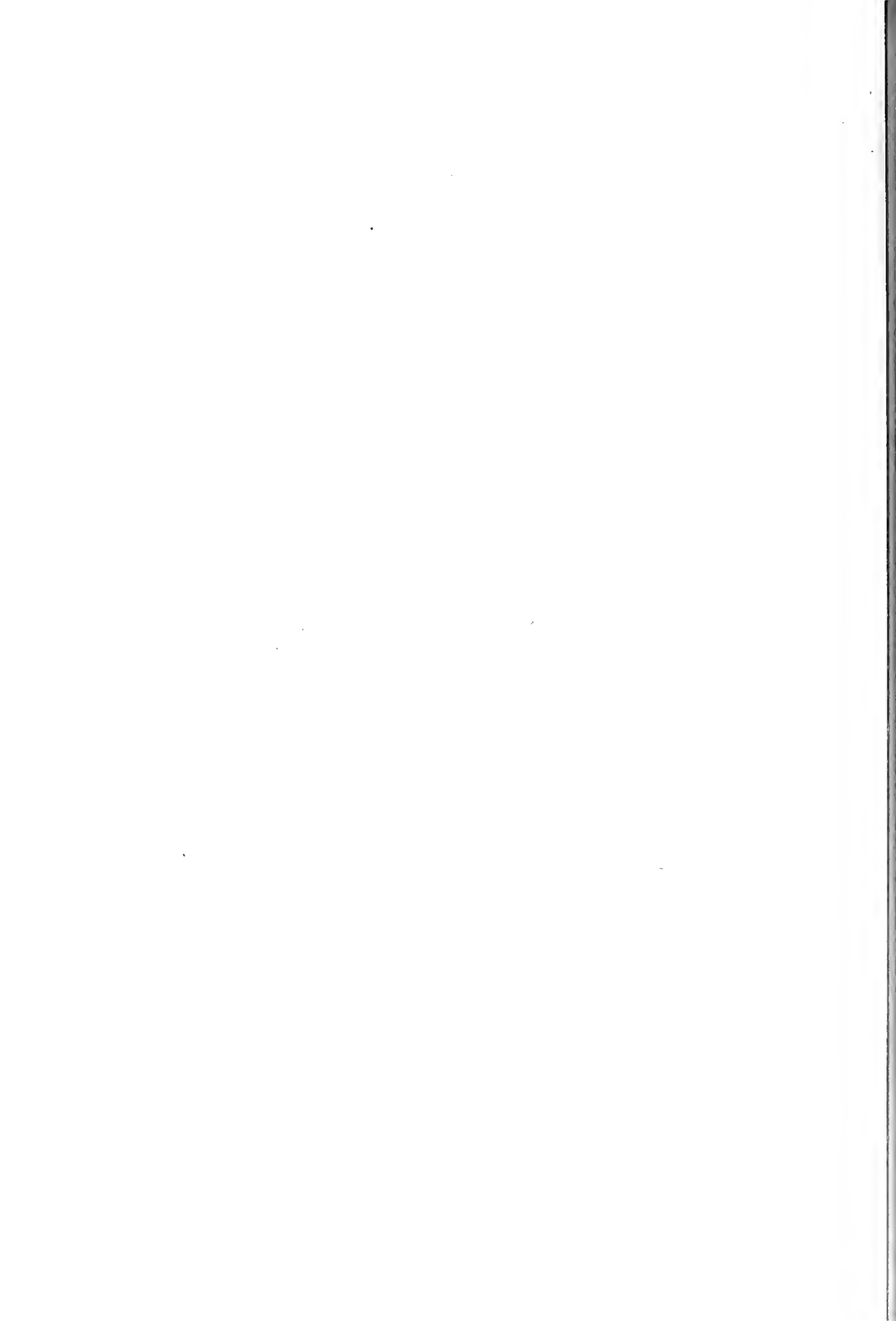
4. On ne peut pourtant pas établir de rapport absolument fixe et constant entre l'énergie de la propriété bactéricide et la richesse en leucocytes, ces derniers pouvant être affaiblis soit par une première digestion microbienne, soit par le poison sécrété par ces derniers.

5. Les leucocytes mis en présence de deux sortes d'organismes peuvent englober les deux sortes, ou en délaissier une, suivant le milieu dans lequel ils sont appelés à agir.

Qu'il me soit permis, en terminant ce travail, d'exprimer toute ma reconnaissance à M. le professeur DENYS, pour l'obligeance avec laquelle il a mis à ma disposition les ressources précieuses de ses conseils et de sa grande expérience.



LA CELLULE



LA CELLULE

RECUEIL

DE CYTOLOGIE ET D'HISTOLOGIE GÉNÉRALE

PUBLIÉ PAR

J. B. CARNOY, PROFESSEUR DE BIOLOGIE CELLULAIRE,
G. GILSON, PROFESSEUR DE ZOOLOGIE ET D'EMBRYOLOGIE, J. DENYS, PROFESSEUR D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE,
A L'UNIVERSITÉ CATHOLIQUE DE LOUVAIN

AVEC LA COLLABORATION DE LEURS ÉLÈVES ET DES SAVANTS ÉTRANGERS

TOME X

2^e FASCICULE.

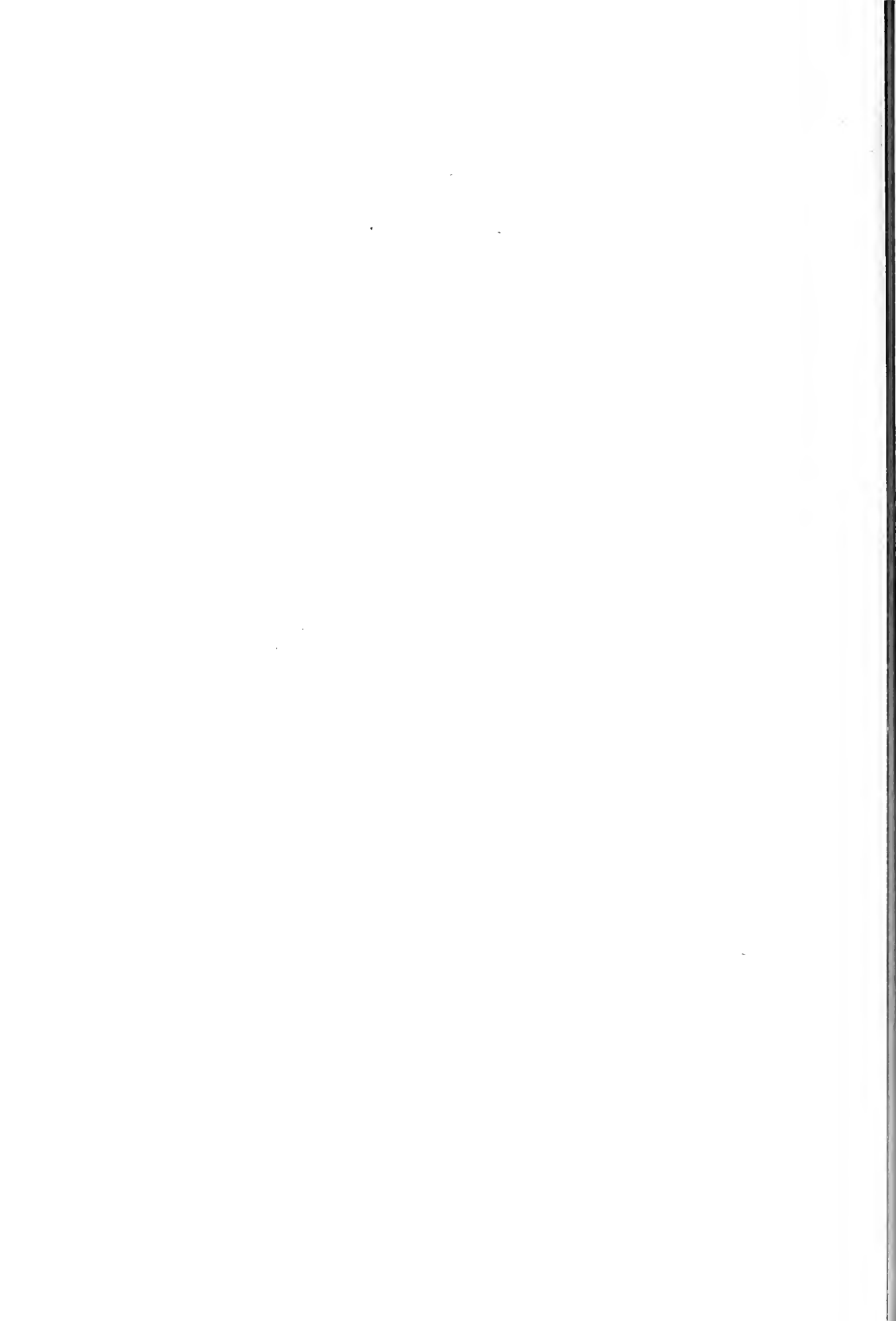
- I. Contribution à l'étude du système nerveux des téléostéens (Communication préliminaire), par A. VAN GEHUCHTEN.
- II. Les glandes filières de l'*Omenia fusiformis* Delle Chiaje (*Ammonocharax Ottonis Grube*), par Gustave GILSON.
- III. Le sphincter de la néphridie des gnathobdellides, par H. BOLSIUS.
- IV. Étude sur l'action sporicide des humeurs, par J. LECLEF.
- V. Rapport entre le pouvoir pathogène des microbes et leur résistance au sérum, par J. LECLEF.
- VI. Étude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène, par le D^r Honore VAN DE VELDE.
- VII. A propos d'une critique dirigée contre le pouvoir bactericide des humeurs, par J. DENYS.

LIERRE

Typ. DE JOSEPH VAN IN & C^{ie},
rue Droite, 48.

LOUVAIN

A. CUYSTPRUYST, LIBRAIRE,
rue de Namur, 11.



CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DU

SYSTÈME NERVEUX DES TÉLÉOSTÉENS

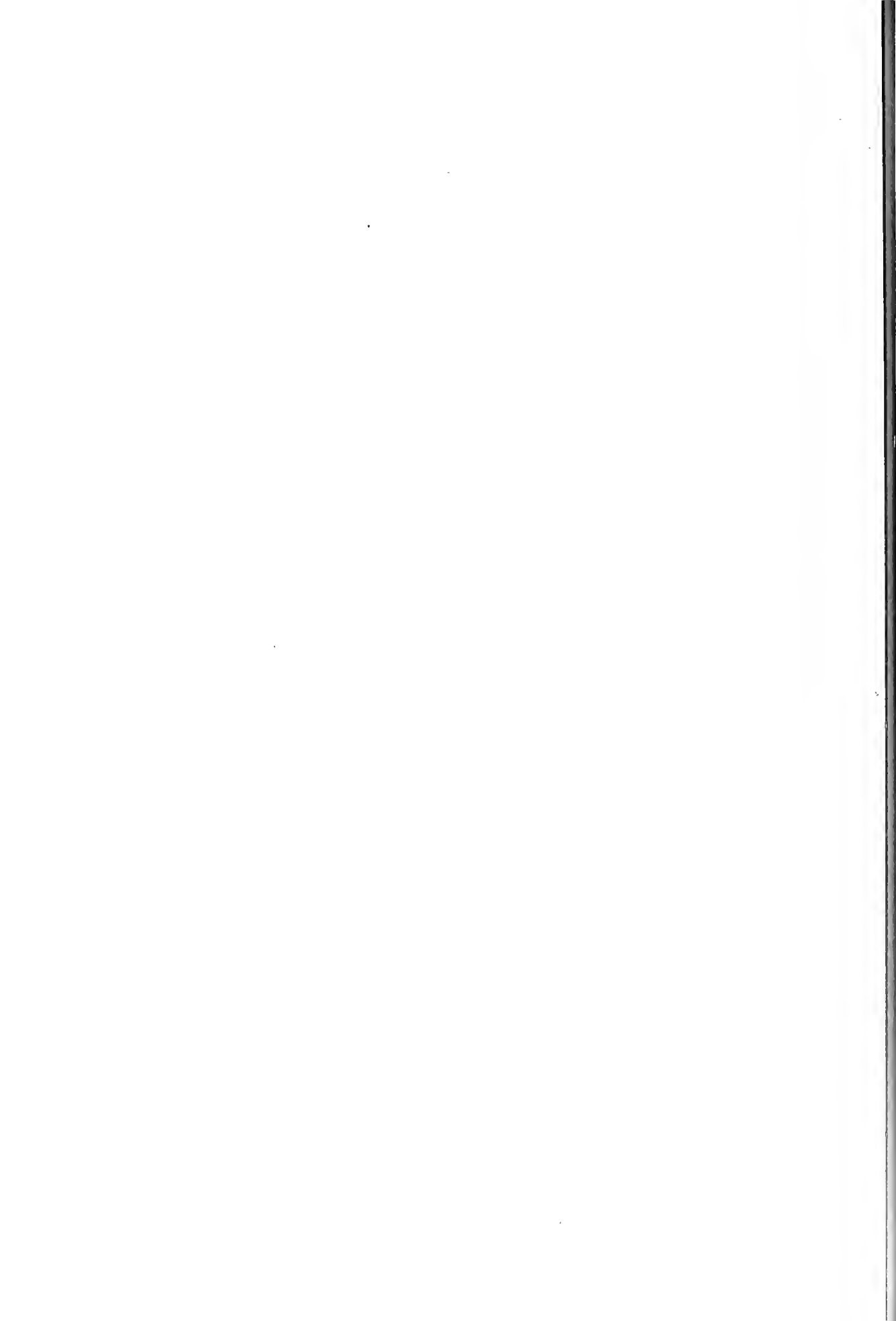
COMMUNICATION PRÉLIMINAIRE

PAR

A. VAN GEUCHTEN

PROFESSEUR D'ANATOMIE A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 1^{er} Décembre 1893.)



CONTRIBUTION

A L'ÉTUDE DU

SYSTÈME NERVEUX DES TÉLÉOSTÉENS

Nous avons entrepris, pendant les mois de février, mars et avril de cette année, des recherches étendues sur la structure interne des différentes parties constitutives du système nerveux des poissons osseux, en ayant recours à la méthode au chromate d'argent de GOLGI. Nous avons eu la bonne fortune de pouvoir nous procurer, en quantité considérable, de jeunes truites à tous les stades du développement et nous avons pensé que, si nous parvenions à élucider dans tous ses détails, chez un vertébré inférieur, le problème si complexe de la structure et des connexions des différentes parties de l'axe nerveux, nous pourrions nous orienter plus facilement peut-être dans l'organisation presque inextricable que nous présente le système nerveux des mammifères et de l'homme.

Nos efforts ont été couronnés de succès. La méthode au chromate d'argent nous a révélé bien des détails importants. Nous avons dû suspendre malheureusement nos recherches vers le milieu du mois d'avril, la publication de nos " Leçons sur le système nerveux de l'homme ", (1), que nous avions en préparation depuis quelque temps déjà, ayant absorbé tous nos loisirs.

Nous nous réservons de reprendre nos recherches au mois de février prochain; nous achèverons alors les nombreuses observations incomplètes encore que nous avons faites sur divers points du système nerveux de la truite et nous vérifierons une seconde fois certaines dispositions importantes que nos préparations actuelles ne nous montrent pas avec une netteté suffisante. Les résultats de ces recherches seront consignés dans une mono-

(1) VAN GEHUCHTEN : *Le système nerveux de l'homme*. Van In à Lierre et Uystpruyt à Louvain, 1893.

graphie du système nerveux central de la truite, à laquelle nous travaillons pour le moment.

Par la communication préliminaire que nous publions aujourd'hui, nous nous proposons uniquement de prendre date. Nous vivons à une époque où, grâce aux méthodes nouvelles, l'étude du système nerveux central est à l'ordre du jour dans presque tous les laboratoires; il s'ensuit que les mêmes recherches se poursuivent quelquefois simultanément dans plusieurs centres universitaires. Or, quelque vive que puisse être la satisfaction que l'on éprouve chaque fois que des recherches nouvelles viennent augmenter la somme de nos connaissances et enrichir le patrimoine de la science, il n'en est pas moins vrai qu'il est toujours quelque peu désagréable de constater que des faits nouveaux, que, pour un motif ou l'autre, on a tardé à faire connaître, ont été trouvés en même temps et publiés aussitôt par des collègues plus empressés.

Le système nerveux des poissons osseux a été, depuis longtemps déjà, un objet d'étude favori pour des recherches d'anatomie comparée. STIEDA, FRITSCH, SANDERS, BELLONCI, MAYSER, RABL-RÜCKHARDT, EDINGER, HERRICK et beaucoup d'autres auteurs ont publié des travaux plus ou moins étendus sur les différentes parties constitutives de cet axe nerveux. Les principales de ces recherches avaient cependant pour objet plus spécial de déterminer quelles parties du système nerveux des poissons osseux devaient être considérées comme homologues des différentes parties de l'axe nerveux des mammifères et de l'homme. Nous reviendrons en détail sur ces travaux quand nous publierons nos observations *in extenso*.

La méthode de GOLGI a été appliquée pour la première fois en 1887 par FUSARI (1) à l'étude de la fine anatomie de l'encéphale des téléostéens. P. RAMON (2) l'employa en 1890 pour l'étude de la structure interne du cervelet chez quelques poissons du même groupe. Tout récemment, SCHAPER (3) s'en est servi dans le même but. RAMON Y CAJAL signale, dans plusieurs de

(1) FUSARI : *Intorno alla fina anatomia dell' encefalo dei teleostei*; Reale accademia dei Lincei, 1887. Voir aussi : *Untersuchungen über die feinere Anatomie des Gehirnes der Teleostier*; Internationale Monatschrift, 1887.

(2) P. RAMON : *Notas preventivas sobre la estructura de los centros nerviosos III. Estructura del cerebelo de los peces*; Gaceta sanitaria de Barcelona, n° 4, 1890, pp. 16-18.

(3) SCHAPER : *Zur feineren Anatomie des Kleinhirns der Teleostier*; Anatom. Anzeiger, 1893 pp. 705-720.

ses publications, un travail de son frère P. RAMON (1) : une étude comparée des centres optiques chez les vertébrés présentée en 1890 comme thèse de doctorat. A l'époque où nous avons rédigé notre mémoire sur les lobes optiques du poulet, en janvier 1892, nous avons écrit au professeur de Madrid pour lui demander où avait été publié ce travail de son frère. RAMON Y CAJAL nous a répondu alors que cette thèse n'avait pas encore été publiée. Nous ignorons si elle l'a été depuis. Si nous mentionnons encore les recherches de NANSEN et de RETZIUS sur le système nerveux du *Petromyzon*, celles de V. LENHOSSEK (2) sur la moelle épinière et les ganglions spinaux d'embryons de *Pristiurus* et celles plus récentes de RETZIUS (3) sur les éléments nerveux de la moelle épinière des poissons osseux, nous croyons avoir dressé la liste complète des travaux qui renferment les résultats fournis par la méthode de GOLGI sur la structure interne du système nerveux des poissons en général.

Les différents points que nous nous proposons de traiter dans cette communication préliminaire sont les suivants :

- I. La structure des lobes antérieurs.
- II. L'origine des fibres du pédoncule cérébral ou *faisceau basal du cerveau antérieur* de EDINGER.
- III. L'origine et la terminaison des fibres du *faisceau de Meynert* ou *faisceau rétroflexe*.
- IV. Quelques éléments constitutifs des lobes optiques.
- V. L'origine et la terminaison des filets olfactifs.
- VI. L'origine du nerf oculo-moteur commun.
- VII. L'origine du nerf facial.
- VIII. L'origine et la terminaison périphérique et centrale des fibres du nerf acoustique.
- IX et X. Les éléments constitutifs du ganglion de GASSER du nerf trijumeau et du ganglion volumineux qui existe sur le trajet du nerf pneumo-gastrique, ainsi que la façon dont les fibres sensitives de ces deux nerfs se comportent à leur entrée dans le tronc cérébral.

(1) P. RAMON : *Investigaciones de histologia comparada sobre los centros opticos de los vertebrados*. Thèse de doctorat, 1890.

(2) V. LENHOSSEK : *Beobachtungen an den Spinalganglien und dem Rückenmark von Pristiurus-embryonen*; Anat. Anz., 1892, pp. 519-530.

(3) RETZIUS : *Studien über Ependym und Neuroglia bei Knochenfischen*, pp. 18-20. *Die nervösen Elemente im Rückenmark der Knochenfische*, pp. 27-31. Biologische Untersuchungen, Neue Folge, V, 1893.

Si nous ne parlons pas, dans ce travail, des éléments constitutifs de la moelle épinière de la truite, c'est que ces recherches ont été faites dans notre laboratoire par un de nos élèves. Vers la fin du mois de mars dernier, c'est-à-dire plusieurs semaines avant l'apparition du travail de RETZIUS dont nous avons reçu un exemplaire au commencement du mois de mai, I. MARTIN était en possession d'un grand nombre de coupes de la moelle épinière de truites âgées de un à quinze jours montrant, admirablement réduits par le chromate d'argent, plusieurs éléments constitutifs de la moelle. Les figures qu'il nous a soumises à cette époque représentaient :

a) Des cellules épendymaires avec leur aspect spécial et leur disposition caractéristique telles que RETZIUS les a décrites et figurées dans son travail

b) Des cellules radiculaires antérieures dont les prolongements cylindriques pouvaient être poursuivis jusque dans la racine antérieure.

c) Des cellules des cordons appartenant aux deux groupes établis par RAMON Y CAJAL : des cellules des cordons proprement dits ou cellules des cordons tautomères (VAN GEUCHTEN) et des cellules commissurales ou cellules des cordons hétéromères (VAN GEUCHTEN).

d) Des coupes longitudinales avec les fibres de la substance blanche émettant de nombreuses branches collatérales.

e) Des coupes longitudinales montrant l'entrée des fibres de la racine postérieure et la bifurcation régulière de chacune d'elles en une branche ascendante et une branche descendante telle que cela est connu pour les mammifères, les oiseaux, les reptiles et les batraciens, d'après les recherches de NANSEN, RAMON Y CAJAL, KÖLLIKER, VAN GEUCHTEN, RETZIUS, V. LENHOSSEK, CL. SALA et beaucoup d'autres.

I. LE CERVEAU ANTÉRIEUR.

Le cerveau antérieur des poissons osseux est formé de deux masses solides connues sous le nom de *lobes antérieurs* et séparées l'une de l'autre par un espace linéaire, FIG. 2. On a longtemps discuté pour savoir à quelle partie du système nerveux des mammifères correspondaient ces masses nerveuses. FRITSCH les considérait comme représentant uniquement les lobes frontaux du cerveau des vertébrés supérieurs, tandis que pour STIEDA, SANDERS, BELLONCI, MAYSER et d'autres, elles étaient les homologues de tout le cerveau antérieur des mammifères. La découverte importante de RABL-RÜCKHARDT a levé tous les doutes. Ce savant a montré par ses

recherches embryologiques que les lobes antérieurs des poissons osseux représentent uniquement les ganglions de la base (noyau caudé et noyau lenticulaire) du cerveau antérieur des mammifères. La substance blanche et l'écorce grise périphérique qui constituent, chez ces derniers, la partie la plus importante et la plus développée des hémisphères cérébraux ne se trouvent représentées, chez les poissons osseux, que par une mince couche de cellules épithéliales partant des faces latérales et de l'extrémité antérieure des lobes et recouvrant, en forme de voûte, la partie antérieure de la cavité encéphalique ou le ventricule antérieur. Ce ventricule médian situé, en partie, entre les faces internes des deux lobes antérieurs et, en partie, au-dessus de ces lobes correspond aux deux ventricules latéraux du cerveau des mammifères.

Les lobes antérieurs sont reliés l'un à l'autre par une commissure transversale appelée *commissure interlobaire*. Cette commissure est double, ainsi que nous le verrons plus loin. Elle apparaît le plus nettement sur une coupe transversale analogue à celle de la FIG. 6 ou 7; on juge encore mieux de la position exacte de cette commissure sur une coupe antéro-postérieure passant par un des lobes, analogue à celle que nous avons représentée dans la FIG. 14. Certains auteurs la considèrent comme l'homologue de la commissure antérieure du cerveau des vertébrés supérieurs.

A chaque lobe antérieur aboutissent, en avant, les fibres du nerf olfactif.

Les travaux qui traitent de la structure interne des lobes antérieurs des poissons osseux ne sont pas très nombreux. Aussi nos connaissances concernant l'organisation interne de cette partie de l'axe nerveux des poissons sont-elles très incomplètes. Nous n'avons nullement l'intention de donner ici un aperçu complet des travaux qui ont été publiés sur la structure interne du système nerveux des poissons. Nos recherches bibliographiques sont loin d'être achevées. Nous tiendrons compte de ces publications dans notre travail *in extenso*. Nous ne signalerons pour le moment que les quelques mémoires dont nous avons pu prendre connaissance.

STIEDA⁽¹⁾, le premier, a signalé l'existence, sur la face interne de chacun de ces lobes, d'une couche continue de cellules épithéliales analogues à celles qui tapissent les cavités encéphaliques chez tous les vertébrés. Aussi a-t-il été le premier à considérer la fente médiane comprise entre les lobes antérieurs comme appartenant au ventricule antérieur.

(1) STIEDA : *Studien über das centrale Nervensystem der Knochenfische*; Zeitschr. für wiss. Zoologie, Bd 18.

Les recherches que nous avons faites avec la méthode de GOLGI nous ont prouvé que ces cellules épithéliales sont de véritables cellules épendymaires se comportant, dans le cerveau antérieur de la truite, comme les cellules épendymaires des cavités médullaires et encéphaliques des oiseaux et des mammifères. Ce ne sont donc pas de simples cellules cuboïdes ou cylindriques délimitant la cavité du ventricule, mais des cellules longues et volumineuses occupant toute l'épaisseur du lobe. Chacune de ces cellules présente une partie renflée occupée par le noyau dans le voisinage immédiat de la cavité ventriculaire et un prolongement périphérique épais et irrégulier qui se termine par un épaississement conique, soit comme tel, soit après bifurcation, à la surface externe du cerveau. Ce prolongement périphérique des cellules épendymaires présente quelquefois des contours lisses et réguliers tel qu'il a été représenté par RETZIUS dans les figures 4, *a* et 4, *b* de la Pl. VIII de son dernier travail (1); le plus souvent cependant ce prolongement périphérique est couvert de petites aspérités excessivement nombreuses qui lui donnent un aspect tout à fait caractéristique. Nous avons reproduit dans la FIG. 1 quelques-unes de ces cellules spéciales.

Les cellules constitutives des lobes antérieurs des poissons osseux ont été étudiées d'une façon spéciale par BELLONCI (2). Ce savant distingue dans chaque lobe antérieur deux espèces de cellules : des cellules petites, réduites presque exclusivement au seul noyau, situées principalement à la périphérie du lobe, et des cellules multipolaires, petites et grandes, formant les éléments constitutifs de la masse centrale. Le prolongement cylindracil de ces cellules multipolaires peut se comporter de deux façons bien distinctes. Celui des petites cellules se divise et se subdivise dans le lobe antérieur lui-même en prenant part à la constitution d'un réseau nerveux, tandis que le prolongement cylindracil de chacune des grandes cellules se continue directement avec une fibre centrale.

D'après les recherches de EDINGER (3), on peut distinguer dans chaque lobe une partie ventrale et une partie dorsale. La partie ventrale, pauvre en cellules nerveuses, est occupée principalement par un faisceau de fibres nerveuses à direction antéro-postérieure : le *pedoncule cérébral* (*pedunculus cerebri*) des auteurs ou *faisceau basal du cerveau antérieur* (*basale Vorder-*

(1) RETZIUS : Loc. cit.

(2) Cité d'après BELLONCI.

(3) EDINGER : *Untersuchungen über die vergleichende Anatomie des Gehirns. I. Das Vorderhirn*; Abhand. von der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft, Bd. 15, 1888.

hirnbündel) de EDINGER. La partie dorsale de chacun des lobes est, au contraire, excessivement riche en cellules nerveuses. Celles-ci seraient, d'après ce savant, les cellules d'origine des fibres constitutives du faisceau basal.

Les recherches que nous avons faites avec la méthode au chromate d'argent de GOLGI, quelque incomplètes qu'elles soient encore, nous ont conduit à des résultats modifiant et complétant considérablement ceux qui ont été obtenus par les quelques auteurs dont nous venons d'analyser les travaux.

Pour fixer les idées, examinons d'abord une coupe frontale du cerveau antérieur d'une truite de dix jours fixé dans une solution saturée de sublimé corrosif dans l'eau et colorée par le paracarmin de MAYER. La coupe que nous avons dessinée dans la FIG. 2 passe au-devant de la commissure interlobaire. Elle nous montre que le cerveau antérieur est formé de deux moitiés symétriques qui constituent les lobes antérieurs des auteurs. Chacun de ces lobes présente, sur une section transversale, une forme triangulaire : la face interne est plane, elle est séparée de la face interne du lobe opposé par une fente médiane qui va en se rétrécissant de haut en bas; la face externe, la plus longue, est légèrement convexe en dehors; la face supérieure est la plus courte, elle est également convexe; elle se continue avec la face interne, puis se dirige obliquement en haut et en dehors en décrivant une courbure à convexité interne. Au point de rencontre de la face supérieure avec la face externe, chaque lobe se prolonge en un petit crochet qui monte en haut, diminue insensiblement d'épaisseur et se réduit bientôt à une seule rangée de cellules épithéliales qui s'étend transversalement d'un lobe antérieur à l'autre. Cette couche épithéliale forme la voûte d'une cavité encéphalique qui représente le ventricule du cerveau antérieur des poissons osseux et qui correspond aux ventricules latéraux du cerveau des mammifères.

Comme la FIG. 2 le montre, cette cavité encéphalique a, sur une coupe transversale, la forme d'un entonnoir, dont la partie rétrécie est comprise entre les faces internes des lobes antérieurs, tandis que la partie évasée s'étend entre les faces supérieures de ces lobes et la voûte épithéliale.

Dans chacun des lobes antérieurs, on distingue aisément deux parties : une partie interne, correspondant environ aux deux tiers de l'épaisseur du lobe, fortement colorée par le réactif, et une partie externe beaucoup plus pâle. La partie interne est formée presque exclusivement de noyaux tellement serrés qu'on ne distingue guère les limites des cellules auxquelles ils

appartiennent; dans le tiers externe de chaque lobe, on ne trouve, au contraire, que quelques noyaux éparpillés au sein d'une masse incolore, en apparence homogène.

Si, à cette coupe typique de la moitié proximale du cerveau antérieur, nous comparons maintenant des coupes provenant de la partie correspondante du cerveau de truites du même âge traité par la méthode de GOLGI, FIG. 3, nous trouvons que les noyaux qui limitent la cavité ventriculaire appartiennent aux cellules épendymaires, tandis que tous les autres noyaux des lobes antérieurs, aussi bien ceux des deux tiers internes que ceux du tiers externe, appartiennent à des cellules nerveuses multipolaires. Entre les cellules nerveuses du tiers externe de chaque lobe apparaît la section transversale d'un faisceau de fibres nerveuses à direction antéro-postérieure : le *pédoncule cérébral* des auteurs, le *faisceau basal du cerveau antérieur* de EDINGER.

Au lieu de distinguer, avec EDINGER, dans chaque lobe une partie ventrale, pauvre en cellules nerveuses, occupée par les fibres du pédoncule cérébral, et une partie dorsale formée presque exclusivement par les cellules d'origine des fibres de ce pédoncule, nos observations nous obligent à distinguer une partie interne, voisine de la cavité ventriculaire, formée exclusivement par les corps des cellules épendymaires et par les corps des cellules nerveuses, et une partie externe constituée par quelques cellules éparses entre les fibres du pédoncule cérébral.

Les cellules nerveuses constitutives des lobes antérieurs du cerveau de la truite sont toutes multipolaires. Elles sont abondamment pourvues de prolongements protoplasmiques. Pour les cellules du tiers externe de chaque lobe, ces prolongements protoplasmiques se détachent indifféremment de points variables de la surface du corps cellulaire; ils se divisent, se subdivisent et se terminent librement à une distance variable de la cellule d'origine. Les prolongements protoplasmiques des cellules nerveuses de la partie interne de chaque lobe affectent une disposition quelque peu spéciale. Ils se détachent toujours de la moitié externe du corps cellulaire, de telle sorte que la partie du pourtour cellulaire qui est tournée vers la cavité ventriculaire est le plus souvent nettement arrondie et dépourvue complètement de prolongements protoplasmiques; quelquefois cependant on voit partir de cette partie interne un prolongement unique gros et irrégulier qui s'engage entre les corps des cellules épendymaires et va se terminer par un épaississement conique sur la surface ventriculaire. C'est là une dis-

position assez importante que nous ne faisons que signaler dans cette communication préliminaire. Nous y reviendrons dans notre travail in extenso; elle nous servira à prouver, en nous basant sur des figures plus démonstratives, que les cellules nerveuses ne sont, ontologiquement, que des cellules épithéliales modifiées, cellules qui ont perdu toute connexion avec la cavité ventriculaire par suite de la disparition (par atrophie ou par résorption) de leur prolongement interne.

Chaque cellule nerveuse des lobes antérieurs de la truite est pourvue d'un prolongement cylindraxil. Celui-ci, né du corps cellulaire ou d'un des prolongements protoplasmiques, se dirige toujours vers la partie externe du lobe occupée par le faisceau basal et là se recourbe pour devenir une fibre constitutive de ce faisceau.

Nous n'avons jamais rencontré les cellules nerveuses à cylindre-axe court ou cellules de GOLGI signalées par BELLONCI, de même que nous n'avons trouvé rien qui corresponde aux petites cellules réduites exclusivement au noyau que BELLONCI a décrites en se basant sur des préparations traitées par l'acide osmique. Toutes les cellules nerveuses qui se sont réduites dans nos préparations étaient des cellules multipolaires, dont le prolongement cylindraxil a toujours pu se poursuivre jusque dans le faisceau basal. Nous ne voulons nullement tirer de nos observations la conclusion que des cellules de GOLGI n'existent pas dans les lobes antérieurs de la truite. Quoique nous ayons étudié les coupes d'une quarantaine de lobes traités par la méthode de GOLGI, dont chacune nous montrait en moyenne trois ou quatre cellules colorées en noir par le chromate d'argent, il est possible cependant que les cellules de GOLGI, si elles existent réellement, ont échappé à la coloration par le sel d'argent.

Entre ces nombreuses cellules multipolaires qui forment l'élément constitutif principal de chaque lobe antérieur, on observe encore, sur les préparations quelque peu réussies, un entrelacement très serré de fines fibrilles nerveuses. Ces fibrilles entrelacées correspondent, sans aucun doute, au réseau nerveux que BELLONCI semble avoir observé avec la méthode à l'acide osmique et qui, d'après lui, serait formé par les anastomoses des prolongements cylindraxils des petites cellules nerveuses multipolaires.

Dans nos préparations, ces fibrilles nerveuses ne proviennent nullement de cellules multipolaires, mais toutes indistinctement sortent du faisceau basal. Chaque coupe transversale du cerveau antérieur de la truite, où la réduction a quelque peu réussi, montre de nombreuses fibrilles nerveuses

sortant du faisceau basal et pénétrant dans la région interne et surtout dans la région supéro-interne du lobe pour s'y diviser, s'y subdiviser et se terminer finalement par des bouts libres. Nous avons représenté dans la moitié droite de la FIG. 3 quelques-unes de ces ramifications terminales des fibres constitutives du faisceau basal.

D'après les observations de EDINGER, les lobes antérieurs des poissons osseux ne seraient que des ganglions servant d'origine aux fibres constitutives du faisceau basal. - Das basale Vorderhirnganglion der Knochenfische, dit-il, ist nur *Ursprungsort* von Nervenfasern und nicht, wie es von Corpus striatum der Säugethiere behauptet wird, in die Nervenfaserbahn eingeschaltet. - Aussi considère-t-il le faisceau basal comme formé exclusivement de fibres nerveuses ayant leurs cellules d'origine dans le lobe antérieur, « das dort (basale Vorderhirnganglion) *entspringende* basale Vorderhirnbündel... », dit-il, en parlant de son faisceau basal.

D'après nos recherches, au contraire, le faisceau basal de EDINGER est formé essentiellement de deux espèces de fibres nerveuses. Nous y trouvons, en effet, des fibres nerveuses qui ont leurs cellules d'origine dans les lobes antérieurs du cerveau pour aller se terminer dans une région inférieure de l'axe cérébro-spinal; mais nous y observons aussi de nombreuses fibres nerveuses qui se terminent dans les lobes antérieurs et qui doivent avoir leurs cellules d'origine dans des centres nerveux inférieurs. Tout nous porte à croire que les fibres qui proviennent des cellules nerveuses des lobes antérieurs, fibres descendantes à conduction centrifuge, doivent être regardées comme des *fibres motrices*, tandis que les fibres qui viennent se terminer dans les mêmes lobes, fibres ascendantes à conduction centripète, doivent représenter des *fibres sensibles*.

Le faisceau basal du cerveau antérieur serait donc formé à la fois de fibres motrices et de fibres sensibles et correspondrait aux fibres de la voie pyramidale et aux fibres de la voie sensitive centrale des vertébrés supérieurs.

Les lobes antérieurs de la truite présentent la même structure dans toute leur étendue. Quelque soit le niveau où l'on pratique, dans ces lobes, une coupe transversale, on y retrouve toujours :

- a) Le faisceau basal, d'autant plus volumineux qu'on l'examine plus près de la base du lobe antérieur;
- b) Des fibres nerveuses qui quittent ce faisceau pour se terminer, par des ramifications libres, entre les cellules nerveuses voisines;

c) Des cellules nerveuses dont les prolongements cylindraxils vont devenir des fibres constitutives du faisceau basal ;

d) Des cellules épendymaires ayant la disposition typique que nous avons reproduite dans la FIG. 1.

Nous avons représenté, dans la FIG. 4, une coupe transversale du cerveau antérieur d'une truite âgée de 10 jours, pratiquée immédiatement en arrière de la commissure interlobaire sur un cerveau durci au sublimé corrosif et coloré par le paracarmin de MAYER. Il suffit de comparer cette coupe à celle qui est reproduite dans la FIG. 2 pour voir que la structure interne des lobes antérieurs est la même au-devant et en arrière de la commissure interlobaire. Il n'y a entre ces deux coupes qu'une seule différence : le faisceau basal est devenu beaucoup plus volumineux, ainsi que cela apparaît plus clairement encore dans la FIG. 5.

Au niveau de la commissure interlobaire, la structure du cerveau antérieur présente cependant quelques détails nouveaux. Nous avons représenté dans la FIG. 6 une coupe transversale du cerveau antérieur d'une truite de dix jours, passant par la commissure interlobaire. Dans chaque lobe, on distingue encore, comme dans les FIG. 2 et 4, une partie interne limitant toute l'étendue de la paroi ventriculaire excessivement riche en noyaux et une partie externe incolore parsemée de quelques rares noyaux et correspondant à la coupe du faisceau basal.

La fente médiane interlobaire est beaucoup moins profonde que sur les deux coupes précédentes : les deux lobes, au lieu d'être réunis par une simple rangée de cellules épithéliales, sont reliés l'un à l'autre par un faisceau épais de fibres transversales constituant la commissure. Sur des préparations traitées par la méthode de GOLGI, FIG. 7, on voit que cette commissure interlobaire est double : elle est formée d'une partie superficielle longeant le bord libre du cerveau et d'une partie profonde passant au-devant de la fente médiane. Le faisceau basal de chaque lobe est double également : on trouve un faisceau assez épais occupant la périphérie du lobe et un faisceau plus grêle situé plus profondément. Les fibres du faisceau périphérique se rendent principalement dans la partie dorsale du lobe antérieur, soit pour y trouver leurs cellules d'origine, soit pour s'y terminer par des ramifications libres. Les fibres du faisceau profond sont plus immédiatement en rapport avec les cellules nerveuses voisines de la paroi ventriculaire limitant la fente médiane. La commissure superficielle est en rapport avec le faisceau longitudinal périphérique, tandis que la commissure profonde relie les deux faisceaux profonds.

Nos connaissances concernant la structure interne de cette commissure interlobaire sont encore très incomplètes. FRITSCH prétend avoir vu pénétrer dans cette commissure des fibres appartenant aux racines olfactives. BELLONCI la considère comme constituant une commissure transversale pour les lobes antérieurs du cerveau et un chiasma pour les nerfs olfactifs.

EDINGER n'a pu recueillir que peu de données sur la constitution de cette commissure antérieure des poissons osseux. Il croit cependant qu'une partie de ses fibres relie entre eux les deux lobes antérieurs, qu'une autre partie proviennent des fibres olfactives et qu'on y rencontre en outre des fibres entrecroisées destinées au cerveau intermédiaire.

Dans celles de nos préparations où les éléments constitutifs de la commissure interlobaire étaient bien réduits par le chromate d'argent, nous n'avons jamais pu poursuivre de fibres olfactives jusque dans la commissure. Il nous a toujours semblé que les filets du nerf olfactif se terminaient dans la partie antérieure des lobes. Nous ne voulons cependant pas nous prononcer sur ce point d'une manière définitive, parce que nos recherches sur les terminaisons des fibres olfactives sont encore très incomplètes.

Ce qui nous paraît certain, c'est qu'il n'existe pas dans la commissure antérieure des poissons osseux de véritables fibres commissurales analogues à celles qui constituent le corps calleux et la commissure antérieure du cerveau des mammifères, c'est-à-dire des fibres nerveuses qui ont leurs cellules d'origine dans un lobe et se terminent dans l'autre.

Ce qui nous paraît établi encore par nos préparations, c'est que les prolongements cylindraxils des cellules nerveuses des lobes antérieurs ne passent pas non plus par cette commissure. Celle-ci n'appartient donc pas à la voie motrice.

Les seuls éléments constitutifs de la commissure antérieure qui se sont réduits dans nos préparations sont des fibres nerveuses qui sortaient du faisceau basal d'un lobe pour traverser la commissure et se terminer, par des ramifications libres, entre les cellules nerveuses constitutives du lobe du côté opposé.

Les fibres de la commissure superficielle sortent exclusivement du faisceau longitudinal périphérique d'un lobe pour aller se terminer entre les cellules de la région dorso-médiane du lobe opposé, tandis que les fibres de la commissure profonde proviennent du faisceau longitudinal profond d'un lobe et se terminent entre les cellules nerveuses de la région interne ou médiane du lobe du côté opposé.

S'il se confirme que les fibres ascendantes qui entrent dans la constitution du faisceau basal sont des fibres sensibles (et il serait difficile de leur attribuer une autre fonction), on devra donc considérer la commissure interlobaire du cerveau antérieur des poissons osseux comme produite par l'entrecroisement d'une grande partie des fibres sensibles centrales. Ces fibres subiraient donc un entrecroisement partiel analogue à celui que l'on observe chez les mammifères et chez l'homme.

II. LE PÉDONCULE CÉRÉBRAL OU FAISCEAU BASAL DU CERVEAU ANTÉRIEUR DE EDINGER.

Tous les auteurs admettent l'existence, dans le système nerveux central des poissons osseux, d'un faisceau de fibres nerveuses provenant du cerveau antérieur et pouvant être poursuivi à travers le cerveau intermédiaire et le cerveau moyen, bien qu'ils n'aient pu établir exactement l'endroit de terminaison de ses fibres constitutives. C'est le *pédoncule cérébral* de la plupart des auteurs qui ont décrit le système nerveux des poissons osseux, le *faisceau basal du cerveau antérieur* de EDINGER.

D'après les recherches de ce dernier auteur, le faisceau basal naîtrait, dans chaque lobe antérieur, au moyen de trois racines : deux de celles-ci proviendraient d'un groupe de cellules nerveuses situées dans la partie dorso-latérale du lobe, tandis que les fibres de la troisième racine auraient leur origine dans un amas spécial de cellules nerveuses situées près de la ligne médiane vers le milieu de chaque lobe. Les fibres de ces trois racines se réunissent, près de la base du lobe, en un faisceau compact. Celui-ci se dirige en arrière et pénètre dans le cerveau intermédiaire. EDINGER n'a pu établir sa destination ultérieure. En se basant sur les observations qu'il a faites chez les autres vertébrés, il pense que les fibres de ce faisceau se terminent, en partie, dans la couche optique et, en partie, dans des régions plus éloignées encore des lobes dont elles proviennent.

Tous les auteurs semblent d'accord pour admettre que les fibres constitutives de ce faisceau ont leur origine dans le lobe antérieur.

Les recherches que nous avons faites avec la méthode de GOLGI prouvent que ce faisceau basal renferme deux espèces de fibres nerveuses : des fibres descendantes ou motrices et des fibres ascendantes ou sensibles, FIG. 14. Les fibres motrices ont leurs cellules d'origine dans le lobe antérieur. Ces cellules forment l'élément constitutif principal de ce lobe. On les trouve

dans toute l'étendue des lobes antérieurs, elles sont cependant le plus abondantes dans la région voisine de la paroi ventriculaire, et là, elles forment, au moins au niveau de la commissure interlobaire, un groupe dorsal et un groupe médian. A ce niveau, on pourrait donc distinguer, avec EDINGER, deux racines : une racine externe formée par les prolongements cylindraxils provenant des cellules nerveuses du groupe dorsal et une racine interne conduisant les prolongements cylindraxils des cellules du groupe médian. Nous avons vu qu'à ce niveau on trouve également un double faisceau basal. Mais cette distinction en deux groupes s'efface complètement au-devant de la commissure interlobaire, c'est-à-dire dans la plus grande étendue du cerveau antérieur. Là, nous n'avons qu'un seul faisceau basal, dont les fibres motrices proviennent en rayonnant de toutes les cellules nerveuses constitutives du lobe.

Une fois entrées dans le faisceau basal, ces fibres motrices se dirigent en arrière, traversent le cerveau intermédiaire pour se terminer, en partie au moins, dans l'infundibulum qui, chez les poissons osseux, a pris un développement considérable. Nous n'avons pas encore pu établir où se terminaient les autres fibres descendantes de ce faisceau basal.

Les fibres sensibles du pédoncule cérébral pénètrent dans le lobe antérieur pour s'y terminer, par des ramifications libres, entre les cellules motrices. Nous avons vu qu'une partie de ces fibres se terminent dans le lobe correspondant, tandis qu'une autre partie passent par la commissure interlobaire pour s'épanouir entre les cellules motrices du lobe du côté opposé.

Nous n'avons pas encore pu établir, d'une façon précise, les différentes régions du système nerveux central où ces fibres sensibles ont leurs cellules d'origine. Tout ce que nous pouvons affirmer pour le moment, c'est qu'un grand nombre d'entre elles représentent les prolongements cylindraxils de cellules nerveuses situées dans la partie ventrale de l'infundibulum, FIG. 14. Ces cellules d'origine ont conservé, tout comme les cellules épendymaires, leur rapport avec la cavité centrale. Ce sont des cellules bipolaires dont un des prolongements, court et irrégulier, se termine à la surface libre de la cavité ventriculaire, tandis que l'autre prolongement, après avoir émis quelques branches collatérales se terminant dans le voisinage de la cellule, se continue directement avec le prolongement cylindraxil, FIG. 8*a* et 8*b*. Celui-ci pénètre dans le faisceau basal pour aller se terminer entre les cellules constitutives des lobes antérieurs du cerveau.

Avant de terminer l'étude incomplète de ce faisceau basal, nous tenons encore à appeler l'attention sur une disposition de la plus haute importance : les fibres ascendantes ou sensibles du faisceau basal viennent se terminer dans le voisinage immédiat des cellules motrices des lobes antérieurs, de telle sorte qu'entre les branches terminales des fibres sensibles et les cellules d'origine des fibres motrices le contact est immédiat sans interposition d'un troisième élément nerveux. Cette disposition est absolument identique à celle que l'on observe chez les mammifères et chez l'homme, au moins dans certaines régions de l'axe nerveux : telle la substance grise de la moelle, où les collatérales sensitivo-motrices des fibres du cordon postérieur viennent en contact avec les cellules radiculaires ; telles les éminences antérieures des tubercules quadrijumeaux, où les fibres optiques et les fibres acoustiques se terminent dans le voisinage des cellules d'origine du faisceau réflexe de H. HELD ; telle encore la couche corticale grise de la zone motrice où, d'après FLECHSIG et HÜSEL, les fibres sensibles viennent se mettre en contact avec les cellules d'origine des fibres de la voie pyramidale (1).

III. LE FAISCEAU DE MEYNERT.

MEYNERT, le premier, a décrit dans le cerveau de l'homme un faisceau de fibres nerveuses partant d'un amas de petites cellules situé sur la partie postérieure de la face interne de chaque couche optique et appelé par lui *ganglion de l'habenula*. Les fibres nerveuses qui sont en connexion avec ce ganglion se dirigent directement en arrière, réunies en un petit faisceau assez compact ; elles longent la face interne du noyau rouge, s'entrecroisent sur la ligne médiane avec les fibres du faisceau opposé et se terminent, d'après FOREL et v. GUDDEN, dans le ganglion interpédonculaire situé entre les pédoncules cérébraux, sur la face antérieure du cerveau moyen. Ce faisceau est connu généralement sous le nom de *faisceau de Meynert* (FOREL) ou de *faisceau rétro-réflexe* (MEYNERT).

On ne connaît pas la fonction physiologique des fibres nerveuses qui constituent ce faisceau. On ignore encore s'il est formé de fibres ascendantes, centripètes ou sensibles, ayant leurs cellules d'origine dans le ganglion interpédonculaire et se terminant dans le ganglion de l'habenula, ou bien s'il est constitué par des fibres descendantes, centrifuges ou motrices, provenant des

(1) Voir A. VAN GEHUCHTEN : *Le système nerveux de l'homme*. Van In à Lierre et Uystpruyst à Louvain, 1893.

cellules nerveuses du ganglion de l'habenula pour se terminer dans le ganglion interpédonculaire. Cette dernière hypothèse semble cependant être la seule vraie, puisque, d'après les recherches de v. GUDDEN, les fibres du faisceau de MEYNERT dégénèrent après la destruction du ganglion de l'habenula, preuve que cette destruction a séparé ces fibres nerveuses de leurs cellules d'origine.

Le faisceau rétroreflexe ou faisceau de MEYNERT semble constituer un élément important dans l'organisation interne du système nerveux central, puisqu'on le trouve, avec le même degré de développement, non seulement chez les mammifères et les oiseaux, mais aussi dans les cerveaux à structure moins complexe des reptiles, des batraciens et des poissons.

Pour se faire une idée exacte de la position de ce faisceau dans l'encéphale de la truite, il convient d'abord de s'orienter sur la place qu'y occupent les masses nerveuses qui correspondent aux ganglions de l'habenula du cerveau de l'homme.

Nous avons vu que, d'après les recherches de RABL-RÜCKHARDT, on admet généralement que le manteau du cerveau antérieur des vertébrés supérieurs, c'est-à-dire la substance blanche et la couche corticale grise, n'est représenté chez les poissons osseux que par une simple couche de cellules épithéliales passant au-dessus des lobes antérieurs et formant la voûte des ventricules latéraux. Arrivée au cerveau intermédiaire, cette voûte épithéliale forme un repli dans l'intérieur de la cavité ventriculaire, FIG. 24, *pl*, repli que les auteurs considèrent généralement comme l'homologue de la toile choroidienne du troisième ventricule du cerveau des mammifères.

Derrière ce repli, on trouve, sur la ligne médiane, deux diverticulums de la voûte épithéliale placés l'un derrière l'autre, FIG. 24. Le premier a, sur une section médiane, une forme triangulaire à base inférieure; c'est le *coussinet de la glande pinéale* (Polster des Zirbels) des auteurs allemands, FIG. 24, *c*. Le second se présente comme un tube rétréci et allongé, renflé à son extrémité supérieure; il se dirige en haut et en avant en déprimant quelque peu la paroi postérieure du diverticulum qui le précède: c'est la *glande pinéale* elle-même, *gl. pin.*

Ces deux diverticulums communiquent largement avec la cavité ventriculaire sous-jacente ou troisième ventricule. Ils forment, sur la ligne médiane, le toit de ce ventricule.

Si l'on examine une série de coupes verticales antéro-postérieures faites dans l'encéphale d'une truite de dix jours et que l'on passe successivement

du plan médian représenté dans la FIG. 24 jusqu'au plan le plus externe, on voit d'abord disparaître la glande pinéale; à cet endroit, le cul-de-sac antérieur du toit du ventricule médian ou coussinet de la glande pinéale change de forme : sa paroi postérieure, n'étant plus déprimée par la glande, se relève et la section de ce diverticulum est triangulaire à base supérieure, FIG. 25, c.

Sur des coupes plus latérales encore, FIG. 26, *gg. hab.*, la couche épithéliale qui forme la voûte de ce diverticulum s'épaissit insensiblement et se transforme bientôt, derrière et un peu au-dessus de chaque lobe antérieur, en une masse solide de tissu nerveux : ce sont les *tubercules intermédiaires* (*tubercula intermedia*) de GOTTSCHÉ, les *couches optiques* (*thalami optici*) de BALFOUR et de EHLERS, les *ganglions de l'habenula* des auteurs modernes.

Sur des coupes transversales de l'encéphale de la truite passant par ces ganglions, FIG. 6, on voit que ces derniers sont séparés des lobes antérieurs du cerveau par une partie du repli de la voûte épithéliale que nous avons décrite plus haut entre le cerveau antérieur et le coussinet de la glande pinéale.

De chacun de ces ganglions de l'habenula part un faisceau volumineux de fibres nerveuses qui se dirige en arrière en décrivant une légère courbure à convexité supérieure, FIG. 14. Ce faisceau se rapproche insensiblement de la ligne médiane en traversant toute l'étendue du cerveau intermédiaire. Il pénètre ensuite dans le cerveau moyen, où il se trouve situé dans le voisinage immédiat de la face ventrale. Sur des coupes transversales du cerveau moyen passant par les fibres d'origine des nerfs oculo-moteurs communs, FIG. 32, ce faisceau occupe l'espace triangulaire limité en dedans par le fuseau médian de cellules épendymaires, en dehors par les fibres radiculaires du nerf oculo-moteur commun, et en avant par les fibres transversales de la *commisure ansiforme* (*commissura ansulata*) de FRITSCH. Arrivées en dessous des fibres du nerf de la troisième paire, les fibres de chaque faisceau de MEYNERT se mettent en connexion avec un amas de substance nerveuse connue sous le nom de *cône postcommissural* de FRITSCH, de *ganglion interpédonculaire* de MEYNERT, de *corps interpédonculaire* de EDINGER.

On ignore encore comment les fibres de ce faisceau se comportent dans le corps interpédonculaire. D'après MAYSER (1), une petite partie de ces fibres s'entrecroisent à ce niveau avec celles du côté opposé pour se perdre

(1) MAYSER : *Vergleichend anatomische Studien über das Gehirn der Knochenfische mit besonderer Berücksichtigung der Cyprinoiden*; Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. 30, pp. 250—364, 1882.

dans la partie antérieure du ganglion interpédonculaire riche en petites cellules nerveuses. Le plus grand nombre des fibres de ce faisceau passeraient derrière le cône postcommissural pour s'y entrecroiser également avec les fibres de l'autre faisceau. - Diese Kreuzung sieht so aus, dit-il, wie wenn man die Finger beider halb hohl gemachten Händen zwischen einander steckt. Dabei liegen sich die Fibrillen dicht an einander, so dass man gar keine einzelnen Fasern mehr erkennt, vielmehr das Ganze ein granulirtes protoplasmaartiges Aussehen gewinnt (1). -

MAYSER ne se prononce cependant pas sur le point de savoir comment se terminent les fibres du faisceau de MEYNERT dans le corps interpédonculaire. * Wenn man auch annehmen darf, dit-il, dass sich die medialen Fibrillen mit den Zellen des Ganglion interpédonculare verbinden, was wird dann aus den zahlreicheren lateralen? Gehen sie von beiden Seiten in einander über, oder enden sie gekreuzt in Zellen, die sich in diesen dichten und stark gefärbten Gewebe dem Auge entziehen, oder steigen sie endlich nach der Kreuzung zu jenem kleinen körnerartigen Elementen in die Höhe, welche in den nächsten Frontalebene hinter dem Ganglion interpédonculare dicht gedrängt zu beiden Seiten der Raphe liegen? Das letzten is jedenfalls sehr unwahrscheinlich (1). -

Dans son intéressant mémoire sur le cerveau intermédiaire des sélaciens, EDINGER (2) décrit la terminaison du faisceau rétroreflexe dans le corps interpédonculaire dans les termes suivants : - Die Hauptmasse (du corps interpédonculaire) wird von dem im Corpus quer dahin ziehenden und sich unter einander verpflechtenden Fasern der Fasciculi retroreflexi ausgemacht. Die einzelnen Endausläufer dieser Bündel verschränken sich von rechts und von links her kommend so unter einander, dass es wahrscheinlich ist, dass sie sich unter einander verbinden. Wenn man beide Arme ausstreckt und die Finger der Hände dann in einander faltet, dann hat man das Bild des hier geschilderten Systemes... Zwischen den Fasern liegen zahlreiche rundliche Körner und eine krümelich feinkörnige Substanz (3). -

EDINGER donne à cette masse nerveuse le nom de *corps interpédonculaire*, parce qu'il ne peut pas affirmer en toute certitude qu'il s'agit là d'un véritable ganglion.

(1) MAYSER : Loc. cit., p. 358.

(2) EDINGER : *Untersuchungen über die vergleichende Anatomie des Gehirns* 2. *Das Zwischenhirn*; Abhandl. der Senckenb. naturf. Gesellschaft, Frankfurt s. M., 1862.

(3) EDINGER : Loc. cit., p. 13.

Dans les recherches que nous avons faites avec la méthode de GOLGI sur la structure interne du système nerveux de la truite, nous avons eu la bonne fortune d'obtenir réduits, dans un grand nombre de nos préparations, les éléments constitutifs du faisceau rétroréflexe. Nous avons pu nous convaincre, de la façon la plus évidente, que toutes les fibres nerveuses de ce faisceau ont leurs cellules d'origine dans le ganglion de l'habenula et qu'elles se terminent dans le corps interpédonculaire. Le faisceau de MEYNERT est donc formé de fibres descendantes ou centrifuges et, par conséquent, nous devons le considérer comme un faisceau moteur.

La FIG. 14 représente une coupe sagittale de l'encéphale d'une truite âgée de dix jours passant par un des ganglions de l'habenula. On y voit le faisceau rétroréflexe se former dans le ganglion de l'habenula par la réunion d'un grand nombre de fines fibres nerveuses qui rayonnent en éventail de la circonférence vers la partie inférieure ou le sommet du ganglion. Là, le faisceau se coude brusquement en arrière; il traverse toute l'étendue du cerveau intermédiaire et peut être poursuivi dans le cerveau moyen jusque un peu en dessous de la commissure ansiforme.

Sur des coupes obliques faites dans l'encéphale d'une truite de dix jours suivant le plan indiqué par la ligne pointillée de la FIG. 14, plan parallèle à la direction du faisceau rétroréflexe, nous avons pu poursuivre à la fois les deux faisceaux depuis les ganglions de l'habenula jusque dans le corps interpédonculaire. Nous avons représenté, dans les FIG. 15, 16 et 17, à un grossissement très faible, les trois coupes parallèles qui comprennent toute l'étendue de ces faisceaux et nous avons réuni ensuite ces trois coupes dans le dessin unique de la FIG. 18.

Comme ces figures le montrent, chaque faisceau rétroréflexe commence dans le ganglion de l'habenula par un grand nombre de fines fibres nerveuses rayonnant de la périphérie vers le centre. A la base du ganglion, toutes ces fibres se réunissent en un petit faisceau compact. Celui-ci se coude brusquement en arrière. Il traverse le cerveau intermédiaire en inclinant légèrement en dedans, de façon à se rapprocher insensiblement de la ligne médiane, et peut être poursuivi jusque dans le cerveau moyen un peu en dessous des fibres radiculaires du nerf oculo-moteur commun. Là, les fibres de chaque faisceau se coudent transversalement en dedans et semblent s'entrelacer d'une façon inextricable avec les fibres provenant du faisceau du côté opposé.

Cette description, basée sur des préparations traitées par la méthode de GOLGI, confirme à la lettre celle donnée par MAYSER en s'appuyant sur des préparations fixées au bichromate de potassium et colorées au carmin, et concorde complètement avec la description que EDINGER a faite du faisceau de MEYNERT en se basant sur des préparations traitées par la méthode de WEIGERT.

Les points nouveaux que la perfection de la méthode nous a permis de découvrir sont les suivants :

1° L'origine des fibres du faisceau rétroréflexe dans les cellules nerveuses du ganglion de l'habenula.

2° La façon dont ces fibres se comportent dans le corps interpédonculaire.

Pour élucider ces deux points, il nous suffira d'examiner, à un grossissement plus considérable, les deux extrémités du faisceau rétroréflexe, c'est-à-dire le ganglion de l'habenula dans la moitié gauche de la FIG. 15 ou dans la moitié droite de la FIG. 16 et le corps interpédonculaire de la FIG. 17.

Nos connaissances concernant la structure interne des tubercules intermédiaires de GOTTSCHÉ chez les poissons osseux sont encore très incomplètes. D'après MAYSER, ces ganglions sont formés d'une substance fondamentale assez compacte et de nombreuses cellules granuleuses présentant un groupement particulier produit, selon toute probabilité, par le mode de distribution des fibres nerveuses.

EDINGER distingue, dans les ganglions de l'habenula des sélaciens, une partie frontale et une partie caudale. La partie frontale est formée exclusivement de cellules nerveuses sphériques, auxquelles on peut reconnaître par ci par là un prolongement dirigé en arrière. Ces cellules sont englobées dans un réseau très délicat.

Dans les ganglions de l'habenula de la truite, le chromate d'argent a mis en évidence des cellules nerveuses assez volumineuses occupant toute la couche périphérique du ganglion. Ces cellules sont unipolaires, FIG. 19 et 20. Du corps cellulaire pyriforme tourné vers la périphérie du ganglion part un prolongement unique épais et irrégulier. Celui-ci se dirige vers le centre. A quelque distance de la cellule d'origine, ce prolongement unique se bifurque d'ordinaire en deux branches assez épaisses qui peuvent se subdiviser encore à leur tour ou bien émettre des branches collatérales. Toutes ces branches de division sont épaisses, présentent des contours très irréguliers et se terminent par un épaississement conique dont la base est encore pourvue de

de deux ou trois petits prolongements filiformes. Ces épaisissements coniques qui terminent les prolongements protoplasmiques de ces cellules nerveuses ressemblent assez bien, par leurs caractères extérieurs, aux *cônes de croissance* que RAMON Y CAJAL a décrits à l'extrémité libre du prolongement cylindraxil des jeunes neuroblastes.

Outre ces prolongements gros et irréguliers qui se terminent dans le voisinage immédiat du corps cellulaire dont ils proviennent et qui représentent les prolongements protoplasmiques ou prolongements à conduction cellulipète, chaque cellule nerveuse possède encore un prolongement cylindraxil ou prolongement à conduction cellulifuge. Celui-ci ne part jamais directement du corps de la cellule, mais il provient toujours de l'un ou l'autre des prolongements protoplasmiques, soit qu'il se détache de ce prolongement à un point quelconque de son trajet, soit qu'il ne commence qu'au bout libre de ce prolongement lui-même. Le prolongement cylindraxil de chacune de ces cellules nerveuses est toujours excessivement mince et grêle. Il présente sur son trajet quelques petites nodosités irrégulières et il peut souvent être poursuivi sans trop de difficultés depuis sa cellule d'origine dans le ganglion de l'habenula jusque dans le corps interpédonculaire. Il s'est montré, dans toutes nos préparations, dépourvu de branches collatérales, détail important qui semble exclure toute connexion de ce faisceau avec les éléments constitutifs du cerveau intermédiaire.

Examiné à un grossissement d'environ 400 diamètres, le corps interpédonculaire se trouve constitué d'un entrelacement inextricable de fines fibrilles nerveuses. Plusieurs de nos préparations ne montraient réduits par le chromate d'argent que les fibres du faisceau rétroréflexe, de sorte que nous avons pu étudier assez facilement la façon dont ces fibres se comportent dans cet organe énigmatique appelé *ganglion* ou *corps interpédonculaire*.

Arrivée à ce niveau, chaque fibre du faisceau de MEYNERT se coude horizontalement en dedans; elle se divise et se subdivise un grand nombre de fois pour s'entrelacer avec les branches de division des fibres voisines et avec celles qui proviennent des fibres du côté opposé. Dans cet entrelacement complexe de fines fibrilles nerveuses, il n'est cependant pas difficile de poursuivre de temps en temps les différentes branches qui résultent des divisions d'une fibre unique et de constater, en toute évidence, qu'elles se terminent par des bouts libres légèrement épaissis. Tel était le cas pour quelques-unes des fibres constitutives du corps interpédonculaire, sectionné suivant sa longueur, que nous avons représenté dans la FIG. 21, et pour

celui de la fig. 23 qui appartient à une coupe transversale du cerveau moyen d'une truite, où le chromate d'argent n'avait réduit que les éléments constitutifs des faisceaux rétroréflexes.

La structure interne du corps interpédonculaire est rendue plus complexe :

1° Par les prolongements périphériques de nombreuses cellules épendymaires étendues entre la cavité ventriculaire et la surface antérieure du cerveau moyen ;

2° Par les prolongements protoplasmiques d'un grand nombre de cellules nerveuses qui viennent se mettre en contact, dans ce corps pédonculaire, avec les ramifications terminales des fibres des faisceaux rétroréflexes. Nous n'avons pas encore pu établir pour le moment la destinée du prolongement cylindraxil de ces derniers éléments nerveux.

Conclusion. Le faisceau rétroréflexe ou faisceau de MEYNERT est donc formé, chez la truite, de fibres nerveuses qui ont leurs cellules d'origine dans les ganglions de l'habenula et qui se terminent dans le corps interpédonculaire. Ces fibres nerveuses ayant la conduction centrifuge doivent être regardées comme des fibres motrices.

Pour pouvoir nous faire une idée de la valeur physiologique des éléments constitutifs de ce faisceau, nous aurions dû pouvoir établir d'une part les éléments qui se terminent dans les ganglions de l'habenula, et d'autre part les éléments qui naissent dans le corps interpédonculaire. Nous sommes persuadé que nos recherches ultérieures nous permettront bientôt de résoudre ces deux questions importantes.

Une chose qui nous paraît certaine, c'est que ce faisceau rétroréflexe doit représenter un des chaînons d'un arc nerveux réflexe assez complexe.

IV. QUELQUES ÉLÉMENTS NERVEUX CONSTITUTIFS DES LOBES OPTIQUES.

La structure interne du toit optique des poissons osseux est très complexe ; aussi, les auteurs sont-ils loin d'être d'accord non seulement sur la forme et la disposition des différents éléments nerveux qui entrent dans sa constitution, mais même sur le nombre de couches que, pour la facilité de la description, il convient de distinguer dans les lobes optiques. Tandis que STIEDA et FRITSCH admettent huit couches superposées dans le toit optique des poissons osseux, MAYSER n'en mentionne que six, BELLONCI en décrit quatorze et FUSARI en compte sept.

Nos recherches sur la structure interne des lobes optiques de la truite ne sont pas encore assez complètes pour que nous puissions prendre position dans ce débat en nous appuyant sur les caractères particuliers des éléments constitutifs de ces différentes couches. Sur des préparations provenant de l'encéphale de truites fixées par le sublimé corrosif et colorées par le paracarmin de MAYER, FIG. 9, le toit optique se montre assez nettement formé de trois couches distinctes :

1° Une couche profonde, très mince, constituée presque uniquement par les corps des cellules épendymaires.

2° Une couche moyenne excessivement épaisse, tellement riche en noyaux qu'on ne distingue pas les limites des corps cellulaires auxquels ils appartiennent. Ces noyaux semblent placés en séries régulières les uns au-dessus des autres; ils donnent à cette couche un aspect granuleux caractéristique. On pourrait l'appeler *couche granuleuse*.

3° Une couche externe pâle, dans laquelle le paracarmin ne colore que quelques noyaux disséminés au sein d'une substance finement granuleuse. Dans le voisinage immédiat de la couche granuleuse, aussi bien que près de la surface libre du toit optique, ces noyaux, placés les uns à côté des autres, constituent cependant deux rangées assez régulières. Nous appellerons cette couche, pour ne rien préjuger de sa nature, la *couche moléculaire*.

Les lobes optiques des poissons osseux ont été étudiés par FUSARI et par P. RAMON au moyen de la méthode au chromate d'argent.

FUSARI a employé la méthode de GOLGI connue sous le nom de *méthode lente*. Les résultats qu'il a obtenus diffèrent assez bien de ceux auxquels la méthode rapide de GOLGI nous a conduit. Nous y reviendrons plus loin. P. RAMON semble avoir employé la même méthode que nous; malheureusement nous n'avons pas pu prendre connaissance de son travail, ignorant totalement si la thèse de doctorat dont il parle dans quelques-unes de ses publications a déjà été publiée.

Nous ne nous proposons pas, dans cette communication préliminaire, de faire une étude complète de la structure interne des lobes optiques, les résultats que nous a fournis la méthode de GOLGI étant encore trop incomplets pour que nous puissions entreprendre ce travail. Nous nous proposons d'y revenir dans notre mémoire in extenso. Nous voulons simplement décrire quelques-uns des éléments constitutifs les plus communs du toit optique, éléments que le chromate d'argent colore avec la plus grande facilité et que nous avons obtenus réduits dans presque toutes nos préparations. Ces

éléments semblent avoir échappé à l'attention de FUSARI, puisque nous ne les trouvons pas reproduits dans la section transversale du toit optique de la tanche que ce savant a représentée dans la PL. III de son travail.

Un des éléments nerveux du toit optique de la truite qui se réduit avec la plus grande facilité, c'est celui que l'on trouve à la base de la couche moléculaire, dans le voisinage immédiat de la couche granuleuse. Il forme à ce niveau une zone assez régulière, comparable en plusieurs points à la rangée des cellules de PURKINJE, qui sépare la couche granuleuse de la couche moléculaire du cervelet dans toute la série des vertébrés. Ces éléments ne sont pourtant pas alignés d'une façon aussi régulière que les cellules volumineuses du cervelet, ainsi que cela ressort d'ailleurs en toute évidence de la position respective des noyaux de ces cellules dans les parties profondes de la couche granuleuse de la FIG. 9.

D'un corps cellulaire irrégulièrement triangulaire part un prolongement périphérique gros et à contours irréguliers montant directement dans la couche moléculaire, où il peut être poursuivi jusque près de la surface libre du toit optique. En traversant l'épaisseur de la couche moléculaire, ce prolongement périphérique émet de nombreuses branches collatérales à direction horizontale : les unes se terminent comme telles, les autres se divisent et se subdivisent rapidement de manière à produire une touffe de quatre ou cinq branches plus grêles se terminant librement à une distance variable du prolongement principal. Ce prolongement périphérique et les branches qui en naissent représentent les prolongements protoplasmiques ou prolongements à conduction cellulipète. Quelques prolongements courts et grêles partent aussi directement du corps cellulaire pour se terminer librement dans la partie voisine de la couche granuleuse, FIG. 11, *a*.

Chacune de ces cellules possède un prolongement cylindraxil ou prolongement à conduction cellulifuge. Il naît quelquefois directement du corps cellulaire. Le plus souvent cependant, il provient du prolongement protoplasmique périphérique, soit dans le voisinage immédiat du corps cellulaire, soit à une distance parfois très considérable de ce dernier. Dans le premier cas, il se dirige transversalement en dehors, devenant une fibre constitutive de la mince zone fibrillaire qui sépare la couche granuleuse de la couche moléculaire. Dans le cas où le prolongement cylindraxil naît assez loin du corps cellulaire, il se coude brusquement en bas, gagne la limite de séparation des deux couches pour y devenir également une fibre horizontale.

En parcourant cette zone fibrillaire, les prolongements cylindraxils de ces cellules nerveuses émettent quelques fines branches collatérales, dont les unes se terminent dans la couche moléculaire, tandis que les autres se ramifient entre les éléments constitutifs de la couche granuleuse.

Nous ignorons encore où se rendent les prolongements cylindraxils de ces cellules nerveuses. Un détail important à noter, c'est que ces prolongements ne peuvent être poursuivis que sur des coupes transversales ou frontales, parce qu'ils se dirigent toujours de dedans en dehors vers les parties latérales des lobes optiques pour pénétrer par là dans la partie ventrale du cerveau moyen.

Ces éléments nerveux semblent ne pas avoir été réduits dans les préparations de FUSARI. Aucune des nombreuses cellules que ce savant a reproduites dans la coupe transversale du toit optique de la tanche ne présente les caractères particuliers des éléments nerveux que nous venons de décrire. Dans toutes les cellules figurées par FUSARI, le prolongement cylindraxil se détache toujours du pôle opposé à celui d'où naît le prolongement périphérique. Or, dans les éléments nerveux dont il s'agit, ce prolongement part le plus souvent du prolongement protoplasmatique périphérique, rarement il se détache de la face latérale du corps cellulaire lui-même; jamais nous ne l'avons vu naître de l'extrémité inférieure et pénétrer directement dans la couche granuleuse.

Un autre élément constitutif du toit optique de la truite apparaît le plus nettement sur des coupes verticales antéro-postérieures, FIG. 10. Ce sont le plus souvent des cellules unipolaires dont le corps cellulaire occupe l'épaisseur même de la couche granuleuse. Le prolongement unique de ces cellules se dirige vers la périphérie du toit optique en traversant la partie voisine de la couche granuleuse et toute l'étendue de la couche moléculaire.

Pendant ce trajet ascendant, ce prolongement émet de nombreuses branches collatérales à direction horizontale se terminant à des distances quelquefois considérables de la tige principale. Le prolongement unique et les branches collatérales qui en naissent sont de nature protoplasmatique. Chaque cellule possède encore un prolongement cylindraxil. Celui-ci ne naît jamais du corps cellulaire, mais provient toujours du prolongement protoplasmatique. Quelquefois, il s'en détache à la limite de la couche granuleuse; le plus souvent, il naît du prolongement protoplasmatique près de la surface libre du toit optique; il redescend alors à travers la couche moléculaire pour devenir horizontale à la limite interne de cette dernière.

Les prolongements cylindraxils de cette seconde espèce de cellules nerveuses deviennent donc aussi des fibres constitutives de la zone fibrillaire séparant la couche moléculaire de la couche granuleuse; mais ils prennent une direction perpendiculaire à celle des prolongements cylindraxils des premiers éléments que nous avons décrits. Nous ignorons encore pour le moment la destinée de ces fibres nerveuses à direction antéro-postérieure.

Un troisième élément constitutif de la couche granuleuse du toit optique de la truite se trouve représenté dans la FIG. 11, *b*.

D'un corps cellulaire petit, sphérique ou légèrement ovalaire part un prolongement unique. Celui-ci traverse toute l'épaisseur de la couche granuleuse présentant un trajet légèrement ondulé pour s'insinuer entre les grains juxtaposés; il pénètre ensuite dans la couche moléculaire dans laquelle il se termine par une arborisation assez complexe.

Ces éléments particuliers de la couche granuleuse sont excessivement nombreux; la plus grande partie des noyaux de cette couche semblent appartenir à ces éléments énigmatiques.

Nous pensons que le prolongement unique dont ces éléments sont pourvus représente un véritable prolongement cylindraxil ou prolongement à conduction cellulifuge. Ces grains du toit optique de la truite seraient donc comparables aux grains de la couche granuleuse du cervelet avec cette double différence. :

1° Que les grains des lobes optiques sont dépourvus de prolongements protoplasmiques, tandis que ceux du cervelet présentent, dans toute la série des vertébrés, chez la truite aussi bien que chez les autres vertébrés, quatre ou cinq prolongements se terminant par des ramifications libres;

2° Que le prolongement cylindraxil des grains des lobes optiques se termine, dans la couche moléculaire, par une arborisation assez complexe, tandis que le prolongement cylindraxil des grains du cervelet se bifurque dans la couche moléculaire en deux fibres horizontales se terminant librement à des distances considérables l'une de l'autre. Ces éléments de la couche granuleuse ne se trouvent pas signalés non plus dans le travail de FUSARI.

La couche moléculaire du toit optique de la truite présente donc comme éléments constitutifs :

1° Les ramifications collatérales et terminales des prolongements protoplasmiques des éléments nerveux qui occupent la partie profonde de la couche moléculaire, FIG. 11, *a*;

2° Les ramifications collatérales et terminales des prolongements protoplasmiques de certains éléments nerveux de la couche granuleuse, FIG. 11, *b*.

3° Les arborisations terminales des prolongements cylindraxils des grains de la couche granuleuse, FIG. 11, *b*;

4° Les ramifications collatérales des fibres nerveuses transversales et antéro-postérieures qui forment la mince zone fibrillaire qui sépare la couche granuleuse de la couche moléculaire;

5° La structure interne de cette couche périphérique est rendue plus complexe encore :

a) Par les ramifications terminales de certaines fibres des nerfs optiques qui se terminent dans cette couche périphérique des lobes optiques, ainsi que nous le montrerons dans notre mémoire in extenso.

b) Par des cellules nerveuses horizontales pourvues de prolongements protoplasmiques très volumineux et très longs, se terminant dans la couche moléculaire, et d'un prolongement cylindraxil que nous n'avons pas encore pu poursuivre sur une longueur suffisante pour pouvoir établir l'endroit où il se termine, FIG. 10.

V. ORIGINE ET TERMINAISON DES FIBRES OLFACTIVES.

Les fibres du nerf olfactif de la truite ont leurs cellules d'origine dans la muqueuse olfactive. Entre les cellules épithéliales de cette muqueuse, on trouve des cellules bipolaires analogues à celles qui ont été décrites par EHR- LICH, ARNSTEIN, GRASSI et CASTRONOVO, RAMON Y CAJAL, VAN GEHUCHTEN et MARTIN, v. BRUNN, RETZIUS et v. LENHOSSEK dans la muqueuse olfactive chez les mammifères et chez l'homme. Le prolongement périphérique de ces cellules bipolaires arrive jusqu'à la surface libre de la muqueuse olfac- tive, tandis que le prolongement interne devient le cylindre-axe d'une fibre nerveuse olfactive et a pu être poursuivi par nous jusque dans l'extrémité proximale de chaque lobe antérieur. Là, un grand nombre de ces fibres nerveuses se terminent par un bouquet de ramilles indépendantes, FIG. 13, ainsi que cela a été décrit par RAMON Y CAJAL, P. RAMON, nous-même, KÖLLIKER, RETZIUS et tout récemment encore par CALLEJA (1) pour les fibres olfactives des oiseaux et des mammifères.

(1) CALLEJA: *La region olfactoria del cerebro*; Actas de la Societes espanolas de Historia natural, 1893.

Les fibres du nerf olfactif de la truite ont donc leurs cellules d'origine dans la muqueuse olfactive et se terminent, par des ramifications libres, dans la partie antérieure des lobes antérieurs de l'encéphale.

VI. ORIGINE DU NERF OCULO-MOTEUR COMMUN.

Chaque nerf oculo-moteur commun de la truite a son origine réelle dans un amas de substance grise situé dans le cerveau moyen, de chaque côté du raphé, dans le voisinage immédiat de l'aqueduc de SYLVIVS. Les fibres radiculaires qui proviennent de ces cellules d'origine se dirigent obliquement en avant et en dehors, pour sortir de l'axe nerveux entre le cerveau moyen et la partie postérieure de l'infundibulum. Ces nerfs oculo-moteurs communs sont excessivement développés. Leurs fibres constitutives proviennent, en majeure partie, des cellules nerveuses qui forment le noyau d'origine dans la moitié correspondante de l'axe nerveux; un certain nombre de ces fibres passent cependant la ligne médiane pour trouver leurs cellules d'origine dans le noyau du côté opposé, FIG. 32.

Les fibres radiculaires du nerf de la troisième paire subissent donc un entrecroisement partiel. Cet entrecroisement est comparable à celui que nous avons décrit pour les fibres radiculaires du même nerf chez un embryon de canard (1). L'entrecroisement partiel des fibres radiculaires du nerf oculo-moteur commun a été établi, chez les mammifères et les oiseaux, par les recherches de V. GUDDEN, EDINGER, PERLIA, SIEMERLING, KÖLLIKER, VAN GEUCHTEN et BREGMANN. Il a été décrit pour la première fois chez les poissons par FRITSCH et confirmé par les observations de MAYSER et par les nôtres.

VII. ORIGINE DU NERF FACIAL.

Les fibres du nerf facial ont leurs cellules d'origine dans le tronc cérébral. Elles suivent un trajet assez complexe pour se rendre de leur noyau d'origine réelle à leur origine apparente, c'est-à-dire au point où elles émergent à la surface de l'axe nerveux. Ce trajet apparaît clairement sur des coupes frontales légèrement obliques en bas et en arrière. La FIG. 38 a été empruntée à une pareille coupe comprenant dans son épaisseur toute l'étendue du trajet central des fibres radiculaires. Les cellules nerveuses qui forment le noyau d'origine réelle du nerf de la septième paire sont des

(1) VAN GEUCHTEN : *De l'origine du nerf oculo moteur commun*; La Cellule, t. VIII, pp. 410-430, 1802.

cellules volumineuses; chacune d'elles est pourvue de nombreux prolongements protoplasmiques abondamment ramifiés et d'un prolongement cylindraxil grêle et délicat. Les prolongements cylindraxils de toutes ces cellules nerveuses se dirigent d'abord en dedans; arrivés près du raphé médian, ils se coudent brusquement en haut; après un certain trajet ascendant, toutes ces fibres nerveuses se recourbent une seconde fois à angle droit sur elles-mêmes pour devenir transversales et pour gagner ainsi le point de la surface externe de l'axe nerveux où elles ont leur origine apparente. Ce trajet central des fibres radiculaires peut donc se décomposer en trois parties :

1° Une partie horizontale étendue entre les cellules radiculaires et le point où ces fibres subissent leur première courbure; on pourrait appeler cette partie du trajet central des fibres du facial la *branche radiculaire interne*.

2° Une partie verticale ascendante située de chaque côté du raphé et constituant la *branche radiculaire ascendante*.

3° Enfin, une partie horizontale s'étendant depuis l'endroit où la branche ascendante se recourbe en dehors jusqu'au point où les fibres sortent de l'axe nerveux; c'est la *branche radiculaire externe*.

Les fibres radiculaires du facial décrivent donc, dans le tronc cérébral de la truite, un trajet comparable en plusieurs points à celui que parcourent les fibres radiculaires du même nerf dans le cerveau postérieur de l'homme. Il n'y a qu'une seule différence, c'est que chez l'homme la branche radiculaire externe, au lieu de se diriger directement en dehors comme dans l'axe nerveux de la truite, se compose elle-même de deux parties : une partie interne nettement transversale appelée le *genou du facial* et une partie externe obliquement dirigée en avant et en dehors et connue sous le nom de *branche radiculaire externe*.

La même disposition des fibres radiculaires du nerf facial se trouve encore représentée dans la partie inférieure de la FIG. 30.

Pour étudier en détail la disposition des cellules d'origine et des fibres radiculaires du nerf de la septième paire, il est nécessaire d'avoir recours à des coupes transversales.

Nous avons reproduit dans les FIG. 35 et 37 deux coupes de l'axe nerveux de la truite passant par le noyau d'origine du nerf facial et montrant réduites par le chromate d'argent quelques-unes de ses cellules constitutives. Comme ces figures le montrent, les cellules radiculaires du nerf de la septième paire sont volumineuses et pourvues d'un grand nombre de prolongements

protoplasmatiques abondamment ramifiés, s'étendant par leur ramifications terminales jusque près de la surface libre du tronc nerveux.

Quelques-unes des cellules radiculaires reproduites dans la FIG. 37 méritent de fixer plus spécialement notre attention. Au lieu de se ramifier dans les parties ventrales de l'axe nerveux comme les prolongements des cellules radiculaires de la FIG. 35, les prolongements protoplasmatiques de ces cellules nerveuses se recourbent en arrière pour s'épanouir entre les fibres constitutives d'un faisceau nerveux qui représente la *racine descendante* du nerf trijumeau, *rac. desc.*, V, FIG. 37. Or, les fibres de ce faisceau émettent à ce niveau de courtes et fines branches collatérales. Il s'établit donc là des contacts multiples entre les ramifications collatérales et terminales des fibres sensibles du nerf trijumeau et les prolongements protoplasmatiques des cellules radiculaires du nerf facial. Ces contacts forment des arcs nerveux réflexes entre les éléments sensitifs périphériques du nerf trijumeau et les éléments moteurs du nerf facial. Tout ébranlement recueilli par la terminaison périphérique d'une fibre sensible du nerf trijumeau peut donc être transmis directement à une ou plusieurs cellules radiculaires du facial. Il s'en suit qu'à la moindre excitation périphérique produite dans le domaine innervé par le nerf trijumeau l'organisme pourra répondre, par voie réflexe, par la contraction d'un ou de plusieurs des muscles innervés par le nerf facial.

La relation anatomique que nous venons de signaler entre les éléments sensitifs du nerf trijumeau et les éléments moteurs du nerf facial chez la truite a, à nos yeux, une valeur plus considérable encore. Elle prouve, en effet, une fois de plus que le contact entre les différents éléments nerveux ne s'établit pas tant entre les ramifications cylindraxiales d'un élément et le corps cellulaire de l'autre, mais la transmission de l'ébranlement nerveux se fait surtout entre les ramifications cylindraxiales d'une part et les ramifications protoplasmatiques d'autre part. Nous avons insisté longuement sur ce point dans un autre travail (1). Si nous y revenons dans cette communication préliminaire, c'est que KÖLLIKER, dans le second volume de son - *Handbuch der Gewebelehre des Menschen* - 1893, semble n'attribuer aux prolongements protoplasmatiques des cellules nerveuses qu'une importance tout à fait secondaire, à tel point, dit-il (2) - dass die physiologischen Verhältnisse des Rückenmarkes vollkommen genügend sich

(1) VAN GEUCHTEN : *Le système nerveux de l'homme*; pp. 147-161.

(2) KÖLLIKER : *Handbuch der Gewebelehre des Menschen*; Bd. II, Heft I, p. 127, 1893.

erklären, auch wenn man die Dendriten der Zellen der grauen Substanz nicht als leitende nervöse Apparate auffasst... - L'argument de prédilection que le savant anatomiste de Wurzburg a opposé et oppose encore à la conductibilité nerveuse des prolongements protoplasmiques, c'est que, de l'avis de tous les auteurs qui ont appliqué la méthode de GOLGI à l'étude de la structure interne de la moelle épinière, un grand nombre de cellules nerveuses de la substance grise envoient leurs prolongements protoplasmiques jusque très avant dans la substance blanche, c'est-à-dire dans des régions où, d'après KÖLLIKER, - von Einwirkungen von nervösen Elementen auf dieselben keine Rede sein kann -. Il est bien vrai que RAMON Y CAJAL et SALA ont prouvé que, chez les batraciens, un grand nombre de ramifications collatérales des fibres de la substance blanche, au lieu de se terminer dans la substance grise, s'épanouissent dans les couches périphériques de la moelle où elles viennent en contact avec les prolongements protoplasmiques des cellules nerveuses. Mais ce fait, dit KÖLLIKER, ne prouve rien pour la moelle, des mammifères et de l'homme. Depuis lors, nous avons signalé nous-même (1) l'existence, dans la moelle d'embryons de poulet, des collatérales des fibres des cordons postérieurs, qui ont pu être poursuivies jusque très loin entre les fibres nerveuses du cordon antéro-latéral, collatérales qui ont été retrouvées depuis, par un de nos élèves, I. MARTIN, dans un grand nombre de préparations.

Nous sommes convaincu que des recherches spéciales faites dans ce but sur des moelles d'embryons de mammifères conduiraient au même résultat.

Des ramifications cylindraxiles viennent donc s'épanouir jusque dans les couches périphériques de la substance blanche de la moelle et par conséquent la présence dans ces mêmes couches de prolongements protoplasmiques des cellules de la substance grise se comprend facilement.

Il est bien vrai, comme le remarque KÖLLIKER, que - les relations physiologiques de la moelle s'expliquent avec une clarté et une netteté suffisantes, alors même que l'on refuse la fonction de conductibilité aux nombreux prolongements protoplasmiques des cellules de la substance grise -. Nous ajouterons volontiers que la structure de la moelle serait, à nos yeux, beaucoup plus simple encore et plus facile à comprendre si l'on pouvait faire abstraction non seulement des prolongements protoplasmiques des cellules, mais aussi et surtout de ces nombreuses collatérales

(1) VAN GEUCHTEN : *Le système nerveux de l'homme*; pp. 222 et 223.

dont sont si richement pourvues toutes les fibres de la substance blanche. Mais comme les collatérales existent et comme, dans l'état actuel de la science, il nous paraît indiscutable que les prolongements protoplasmiques des cellules nerveuses jouissent de la conductibilité nerveuse, nous sommes bien obligés d'en tenir compte, quelle que soit la complexité de structure qui puisse en résulter.

Du moment que l'on admet et que l'on doit admettre la conductibilité nerveuse pour les prolongements protoplasmiques des cellules mitrales du bulbe olfactif, des cellules de PURKINJE du cervelet, des cellules des lobes optiques des oiseaux, des cellules ganglionnaires de la rétine, des cellules pyramidales de l'écorce cérébrale, nous nous demandons sur quels arguments décisifs on s'appuierait pour dénier cette même fonction de conductibilité aux prolongements protoplasmiques des cellules de la moelle.

Les prolongements cylindraxils des cellules radiculaires du nerf facial se dirigent en dedans et un peu en arrière jusque dans le voisinage du raphé médian. Là, ils se recourbent en haut et se placent régulièrement les uns à côté des autres, de telle sorte que, vue en coupe transversale, la section de toutes ces fibres radiculaires produit, de chaque côté du raphé, une série de points placés sur une même ligne antéro-postérieure. Ces prolongements cylindraxils conservent la même disposition régulière sur toute l'étendue de la branche radiculaire ascendante; puis ils se recourbent une seconde fois à angle droit sur eux-mêmes pour prendre une direction transversale et gagner ainsi la face externe de l'axe nerveux. Dans la moitié interne de ce trajet, ils restent juxtaposés les uns à côté des autres; ils quittent ensuite cette position régulière pour s'entremêler les uns avec les autres, de façon à produire un petit faisceau à section arrondie au moment où ils arrivent à leur origine apparente, fig. 36. Cette disposition spéciale des fibres radiculaires dans toute l'étendue de leur trajet ascendant et dans la partie interne de leur branche radiculaire externe permet de se rendre compte assez facilement du nombre de fibres nerveuses qui entrent dans la constitution du nerf facial et par suite du nombre des cellules nerveuses qui forment le noyau d'origine. Nos observations n'ont pas été assez nombreuses pour avoir pu déterminer si ce nombre de fibres radiculaires est constant.

Dans les quelques numérations que nous avons faites, il a toujours oscillé légèrement autour de 20.

Pendant ce trajet assez étendu que parcourent ces fibres radiculaires, nous avons pu constater que, sur le parcours de la branche radiculaire externe, quelques-unes de ces fibres émettaient une ou deux petites branches collatérales.

Avant de terminer l'étude de l'origine des fibres du nerf facial chez la truite, il nous reste encore à rechercher un point important, celui de savoir s'il existe un entrecroisement partiel entre les fibres radiculaires du nerf de la septième paire. Nous avons déjà signalé que cet entrecroisement partiel existe plus que probablement pour quelques fibres radiculaires du nerf facial chez l'embryon de poulet(1). Pour résoudre la question pour le nerf facial de la truite, il nous suffit d'étudier la disposition des cellules radiculaires dans les coupes que nous avons reproduites dans les FIG. 35 et 37.

Entre les noyaux d'origine des deux nerfs, il existe manifestement une *commissure protoplasmique* analogue à celle qui a été décrite par RAMON Y CAJAL et par nous dans la moelle épinière des mammifères et qui été retrouvée par CL. SALA entre les cellules radiculaires de la moelle des batraciens. Cette commissure est surtout évidente dans la FIG. 37. Si les prolongements protoplasmiques des cellules nerveuses ne jouissent pas de la conductibilité nerveuse, comme certains auteurs semblent devoir l'admettre, cette disposition spéciale n'a guère d'importance et mérite à peine d'être signalée. Si, au contraire, comme RAMON Y CAJAL et nous-même nous croyons l'avoir démontré, les prolongements protoplasmiques des cellules nerveuses ont, au point de vue de la transmission des ébranlements nerveux, la même importance que le corps cellulaire lui-même et que le prolongement cylindraxil. Si, de plus, ces prolongements jouissent de la conductibilité cellulipète et ont pour fonction de recueillir les ébranlements de toutes les ramifications cylindraxiles avec lesquelles ils arrivent en contact, l'existence d'une commissure protoplasmique équivaut à un entrecroisement. Dans ces conditions, en effet, les prolongements protoplasmiques ne servent qu'à augmenter considérablement la surface de perception de la cellule nerveuse.

Mais il n'existe pas seulement un entrecroisement entre les noyaux d'origine des deux nerfs au moyen des prolongements protoplasmiques; on peut aussi observer un entrecroisement au moyen des prolongements cylindraxils : témoin les deux éléments nerveux *a* de la FIG. 35, dont les prolongements protoplasmiques et le corps cellulaire occupent la moitié gauche

(1) VAN GEHUCHTEN : *Le système nerveux de l'homme*; pp. 385-386.

de la coupe, tandis que les prolongements cylindraxils vont se rendre dans le faisceau radiculaire du nerf facial du côté droit.

Les fibres radiculaires du nerf facial de la truite subissent donc un entrecroisement partiel.

VIII. LE NERF ACOUSTIQUE.

Les fibres du nerf acoustique ont leurs cellules d'origine en dehors de l'axe cérébro-spinal, dans des ganglions situés sur le trajet périphérique du nerf de la huitième paire ainsi que nous croyons l'avoir établi avec RETZIUS pour les fibres du nerf acoustique chez la souris blanche. Ces observations concordantes de RETZIUS et de nous, faites presque en même temps et d'une façon indépendante les unes des autres, ont été confirmées par RAMON Y CAJAL (1) et tout récemment encore par V. LENHOSSEK (2).

Dans un grand nombre de coupes transversales de l'encéphale de la truite, nous avons obtenu réduites les cellules constitutives du ganglion acoustique et nous avons pu poursuivre, sur tout leur trajet, quelques-unes des branches périphériques et centrales.

Le ganglion acoustique de truites âgées de dix jours est formé de cellules nerveuses à la fois bipolaires et opposito-polaires. Le prolongement périphérique de ces cellules nerveuses, qui nous a toujours paru manifestement plus épais que le prolongement central, s'étend jusque dans l'épithélium acoustique, où il se termine par une touffe de ramifications se terminant librement entre les cellules épithéliales, FIG. 27 et 28.

Le prolongement interne de chacune des cellules bipolaires qui constituent le ganglion pénètre dans le tronc cérébral, immédiatement en arrière de l'origine apparente du nerf facial. Près de la surface de l'axe nerveux, ce prolongement se recourbe en bas pour devenir une fibre constitutive de la racine descendante, FIG. 31, r. d. VIII.

Dans leur trajet descendant, toutes les fibres de cette racine émettent de fines branches collatérales se terminant librement dans la substance grise voisine.

(1) RAMON Y CAJAL : *Nuevo concepto de la Histología de los Centros nerviosos*; Barcelone, 1893.

(2) V. LENHOSSEK : *Die Nervenzugänge in den Macula und Crista acustica*; Anatomische Hefte, 1893, pp. pp. 231-265.

IX. LES FIBRES SENSITIVES DU NERF TRIJUMEAU.

On admet généralement aujourd'hui que les fibres sensibles du nerf trijumeau ont leurs cellules d'origine en dehors de l'axe cérébro-spinal, dans le ganglion semi-lunaire ou ganglion de GASSER que l'on rencontre sur le trajet périphérique de ce nerf (HIS et VAN GEHUCHTEN). Sous ce rapport, les fibres sensibles du nerf de la cinquième paire se comportent comme les fibres sensibles de tous les autres nerfs cérébro-spinaux.

Les cellules nerveuses des ganglions cérébro-spinaux de tous les vertébrés présentent, à un moment donné de leur développement, la forme bipolaire. Mais, tandis que chez les mammifères, les oiseaux, les reptiles et les batraciens, cette forme bipolaire n'est que transitoire, parce que les cellules bipolaires se transforment rapidement en cellules unipolaires par le rapprochement et la fusion intime, sur une longueur variable, des deux prolongements primitivement indépendants, les cellules bipolaires des embryons de poissons semblent, de l'avis unanime des auteurs, conserver définitivement chez l'adulte leur forme primitive.

Les ganglions spinaux de *Petromyzon* (FREUD), de *Myxine* (RETZIUS) et de *Pristiurus* (VON LENHOSSEK) font cependant exception à cette disposition générale. Depuis longtemps déjà, FREUD (1) a décrit, dans les ganglions spinaux de *Petromyzon* traités par la méthode au chlorure d'or, non seulement des cellules bipolaires, mais aussi des cellules unipolaires identiques aux cellules constitutives des ganglions spinaux des vertébrés supérieurs.

Outre ces cellules nettement bipolaires et unipolaires, il a décrit encore toute une série de formes intermédiaires.

RETZIUS (2) a signalé les mêmes dispositions pour les cellules des ganglions spinaux de *Myxine*, en se servant de la coloration au bleu de méthylène. Enfin tout récemment, v. LENHOSSEK (3) a retrouvé les mêmes formes cellulaires dans les ganglions spinaux d'embryons de *Pristiurus* traités par la méthode au chromate d'argent de GOLGI.

Dans un grand nombre de nos préparations du système nerveux de la truite, nous avons obtenu réduites par le chromate d'argent les cellules con-

(1) FREUD : *Ueber Spinalganglion und Rückenmark des Petromyzons*; Sitzungsber. de Vienne Bd. 78, Abth. 3, 1878.

(2) RETZIUS : *Ueber die Ganglienzellen der cerebrospinal Ganglien und über subcutane Ganglienzellen bei Myxine glutinosa*; Biolog. Unters., Neue Folge, I, 1890.

(3) v. LENHOSSEK : *Beobachtungen an den Spinalganglien und dem Rückenmark von Pristiurusembryonen*; Anatom. Anz., 1892, pp. 519-539.

stitutives du ganglion semi-lunaire du nerf trijumeau. Nous y avons retrouvé les mêmes formes cellulaires que celles que nous avons décrites dans le ganglion de GASSER des oiseaux et des mammifères (1).

Sur des truites âgées de un à cinq jours, les cellules constitutives du ganglion de GASSER ont toutes la forme nettement opposito-bipolaire, FIG. 29. Si l'on examine, au contraire, des coupes passant par le ganglion semi-lunaire de truites âgées de dix ou de quinze jours, on retrouve encore, il est vrai, des cellules bipolaires identiques à celles de la FIG. 29; mais à côté de celles-là, on en voit d'autres qui ont modifié leur forme extérieure : les unes se sont transformées en cellules gemmi-polaires par le rapprochement plus ou moins accentué de leurs deux pôles; les autres ne sont plus pourvues que d'un seul prolongement présentant, à une distance variable de la cellule d'origine, la bifurcation en T ou en Y des cellules des ganglions cérébro-spinaux des autres vertébrés, FIG. 34. Les cellules du ganglion de GASSER de la truite se comportent donc comme les cellules correspondantes des oiseaux et des mammifères : primitivement bipolaires, elles se transforment, dans le cours du développement, en cellules unipolaires par le rapprochement et la fusion intime des deux prolongements primitifs.

Un fait dont on peut se convaincre avec la plus grande facilité dans le ganglion de GASSER de la truite, c'est que des deux prolongements qui partent de ses cellules constitutives, le prolongement interne ou central est toujours beaucoup plus grêle et beaucoup plus délicat que le prolongement périphérique. Celui-ci est épais, présente des contours irréguliers et est souvent chargé de nodosités irrégulières et volumineuses. Cette disposition, observée pour la première fois par VON LENHOSSEK chez la grenouille, a été retrouvée par RAMON Y CAJAL et par nous pour les cellules des ganglions cérébro-spinaux des oiseaux et des mammifères.

Les prolongements internes des cellules du ganglion de GASSER de la truite deviennent les cylindre-axes des fibres nerveuses de la racine sensitive.

Nous savons, par les recherches récentes (KÖLLIKER, HELD et VAN GEHUCHTEN), qu'à leur entrée dans la protubérance annulaire les fibres sensitives du nerf trijumeau des mammifères se bifurquent en branches ascendantes et en branches descendantes. Les branches ascendantes peuvent être poursuivies, chez l'homme, jusque dans le cerveau moyen; elles forment un faisceau assez épais connu sous le nom de *racine ascendante*.

(1) VAN GEHUCHTEN : *Contributions à l'étude des ganglions cérébro-spinaux*; Bull. de l'Acad. roy. de Belgique, t. 24, pp. 117-154, 1892. — *Nouvelles recherches sur les ganglions cérébro-spinaux*; La Cellule, t. VIII, pp. 233-253, 1892.

Les branches descendantes arrivent jusqu'à la partie inférieure de la moelle allongée : elles constituent la *racine descendante*.

Nous avons fait remarquer, dans un autre travail (1), que la racine descendante du nerf trijumeau de l'homme est beaucoup plus volumineuse que la racine ascendante, fait qui tend à prouver qu'à leur entrée dans le tronc cérébral toutes les fibres du nerf trijumeau ne se comportent pas d'une façon identique. D'ailleurs, sur des préparations provenant du cerveau postérieur d'embryons de poulet, nous avons constaté qu'au lieu de se bifurquer en branches ascendantes et en branches descendantes, beaucoup de fibres sensibles du nerf de la cinquième paire se recourbaient directement en bas pour pénétrer dans la racine descendante(2).

Chez la truite, la racine ascendante du nerf trijumeau semble complètement faire défaut. Dans toutes nos préparations, nous avons toujours vu les fibres du trijumeau pénétrer dans le tronc cérébral et se recourber en bas pour devenir fibres constitutives de la racine descendante, ainsi que nous l'avons représenté dans les FIG. 30 et 31. Dans leur trajet descendant, ces fibres émettent un grand nombre de fines branches collatérales se terminant, par des ramifications libres, dans la substance grise voisine.

X. LES FIBRES SENSITIVES DU NERF PNEUMO-GASTRIQUE.

Le nerf pneumo-gastrique de la truite présente sur son trajet périphérique, non loin de sa sortie de l'axe nerveux, un ganglion volumineux correspondant aux différents ganglions que l'on trouve sur le trajet du nerf glosso-pharyngien et du nerf pneumo-gastrique des vertébrés supérieurs. Nous avons prouvé, dans un autre travail, que, chez les mammifères et chez l'homme, les cellules constitutives de ces ganglions sont des cellules unipolaires identiques aux cellules des ganglions spinaux.

Sur des truites âgées de cinq jours, le ganglion plexiforme se montre constitué de cellules bipolaires pourvues d'un prolongement périphérique épais et irrégulier et d'un prolongement central grêle présentant des contours nettement découpés, FIG. 33. A leur entrée dans le tronc cérébral, les prolongements internes des cellules bipolaires se recourbent directement en bas pour constituer la racine descendante de la neuvième et de la dixième

(1) VAN GEHUCHTEN : *Le système nerveux de l'homme*, p. 404.

(2) VAN GEHUCHTEN : *Nouvelles recherches sur les ganglions cérébro-spinaux*; *La Cellule*, t. VIII, p. 244, 1892.

paire des nerfs crâniens. Dans leur trajet descendant, ces fibres émettent de fines branches collatérales se terminant dans la substance grise voisine. Nous avons représenté, dans la FIG. 13, la coupe transversale du tronc cérébral d'une truite âgée de dix jours et passant par l'origine de la partie sensitive du nerf pneumo-gastrique.

On y voit les prolongements internes de quelques cellules du ganglion entrer dans le tronc cérébral et s'y recourber pour devenir des fibres constitutives d'un faisceau nerveux représentant la racine descendante du nerf. Au moment où ces fibres se recourbent, elles émettent quelques fines branches collatérales se terminant dans la région voisine. Sur cette coupe, ces ramifications collatérales se terminent dans le voisinage de cellules nerveuses assez volumineuses représentant probablement les éléments nerveux sensitifs des centres, c'est-à-dire les cellules constitutives du *noyau sensitif terminal* du nerf périphérique.

Les prolongements cylindraxils qui proviennent de ces cellules se dirigent transversalement en dedans, s'entrecroisent dans le raphé avec les prolongements venus des cellules du côté opposé, puis se poursuivent presque dans le faisceau blanc périphérique, où ils se recourbent en haut soit comme tels, soit après s'être divisés de façon à donner naissance à deux fibres distinctes.

Les éléments nerveux sensitifs périphériques du nerf pneumo-gastrique de la truite ont donc leurs cellules d'origine en dehors de l'axe cérébro-spinal, dans le ganglion volumineux que l'on découvre sur le trajet périphérique de ce nerf. Ces éléments périphériques se terminent dans l'axe nerveux par des ramifications libres qui viennent en contact avec d'autres cellules nerveuses appartenant probablement aux éléments nerveux de la voie sensitive centrale.

EXPLICATION DES FIGURES.

PLANCHE I.

FIG. 1. Coupe transversale d'un lobe antérieur d'une truite âgée de 10 jours et montrant la disposition de quelques cellules épendymaires (méthode de GOLGI).

FIG. 2. Coupe transversale du cerveau antérieur d'une truite de 10 jours passant par les deux lobes antérieurs au devant de la commissure interlobaire :

fb, faisceau basal de EDINGER; *ep*, voûte épithéliale formant le toit du ventricule antérieur; (sublimé + paracarmin de MAYER).

FIG. 3. Coupe analogue à la précédente (méthode de GOLGI) : *fb*, faisceau basal. Dans le lobe droit nous n'avons reproduit que les ramifications collatérales et terminales provenant des fibres du faisceau basal. Dans le lobe gauche se trouvent représentées quelques cellules nerveuses multipolaires dont les prolongements cylindraxils deviennent des fibres descendantes du faisceau basal.

FIG. 4. Coupe transversale du cerveau antérieur d'une truite de 10 jours passant par la commissure interlobaire (sublimé + paracarmin de MAYER) : *fb*, faisceau basal; *com. int*, commissure interlobaire; *pl*, repli de la voûte épithéliale séparant le cerveau antérieur du cerveau intermédiaire; *gg. hab.*, ganglions de l'habenula; *gl. pin.*, glande pinéale.

FIG. 5. Coupe analogue à la précédente mais ne représentant que les deux lobes antérieurs (méthode de GOLGI) : *fb. sup.*, faisceau basal superficiel; *fb. prof.*, faisceau basal profond; *com. sup.*, commissure superficielle; *com. prof.*, commissure profonde; *a*, cellules nerveuses dont les prolongements cylindraxils se rendent dans le faisceau basal superficiel; *b*, cellules nerveuses dont les prolongement cylindraxils se rendent dans le faisceau basal profond; *c*, branches collatérales et terminales des fibres ascendantes du faisceau basal.

FIG. 6. Coupe transversale du cerveau antérieur d'une truite de 10 jours faite en arrière de la commissure interlobaire (sublimé + paracarmin) : *fb*, faisceau basal.

FIG. 7. Coupe transversale d'un lobe antérieur d'une truite de 10 jours faite en arrière de la commissure (méthode de GOLGI) : *fb*, faisceau basal; *a*, deux cellules nerveuses dont les prolongements cylindraxils se recourbent dans le faisceau basal; *b*, cellules épendymaires.

FIG. 8. A. Coupe longitudinale de la partie inférieure de l'infundibulum montrant les cellules bipolaires dont les prolongements cylindraxils deviennent des fibres ascendantes du faisceau basal.

FIG. 8. B. Coupe transversale de la partie inférieure de l'infundibulum montrant les mêmes cellules bipolaires.

FIG. 9. Partie d'une coupe transversale du toit optique d'une truite de 10 jours (sublimé + paracarmin) : 1, couche des cellules épendymaires; 2, couche granuleuse; 3, couche moléculaire.

FIG. 10. Coupe longitudinale du toit optique d'une truite de 10 jours montrant la forme et la disposition de quelques cellules de la couche granuleuse et quelques cellules horizontales de la zone périphérique de la couche moléculaire.

FIG. 11. Coupe transversale du toit optique d'une truite de 10 jours montrant la forme et la disposition des cellules nerveuses de la zone la plus profonde de la couche moléculaire, *a*, et de quelques grains de la couche granuleuse, *b*.

FIG. 12. Terminaison centrale de quelques fibrilles olfactives.

FIG. 13. Coupe transversale de l'axe nerveux d'une truite de 10 jours passant par les fibres sensibles du nerf pneumogastrique : *gg.*, ganglion plexiforme; *r. desc.*, racine descendante.

PLANCHE II.

FIG. 14. Coupe longitudinale de l'encéphale d'une truite de 10 jours : *l. ant.*, lobe antérieur; *gg. hab.*, ganglion habenula; *l. opt.*, lobe optique; *cerv.*, cervelet; *c. int.*, commissure interlobaire; *ch*, chiasma des nerfs optiques; *c. G.*, commissure de GUDDEN; *fb.* faisceau basal; *f. M.*, faisceau rétroréflexe ou faisceau de MEYNERT; *c. ans*, commissure ansiforme.

FIG. 15, 16 et 17. Trois coupes obliques faites suivant le plan indiqué par la ligne pointillée de la FIG. 14 et montrant l'origine et la terminaison des fibres du faisceau rétroréflexe : *gg. hab.*, ganglion de l'habenula; *c. interp.*, corps interpédonculaire.

FIG. 18. Schéma montrant l'origine, le trajet et la terminaison des fibres du faisceau rétroréflexe : *gg. hab.*, ganglions de l'habenula; *c. int.*, corps interpédonculaire.

FIG. 19. Les cellules du ganglion de l'habenula de la FIG. 15, dessinées à un fort grossissement (ZEISS D, II).

FIG. 20. Cellule du ganglion de l'habenula.

FIG. 21. Le corps interpédonculaire de la FIG. 17 dessiné à un fort grossissement.

FIG. 22. Coupe transversale du cerveau moyen d'une truite de cinq jours passant par le corps interpédonculaire.

FIG. 23. Le corps interpédonculaire de la figure précédente dessiné à un fort grossissement (ZEISS D, II).

FIG. 24. Coupe longitudinale et médiane de l'encéphale d'une truite de 10 jours (sublimé + paracarmin) : I, cerveau antérieur; II, cerveau intermédiaire; III, cerveau moyen; IV, cerveau postérieur; V, arrière-cerveau; *pl*, repli de la voûte épithéliale

séparant le cerveau antérieur du cerveau intermédiaire; *c*, coussinet de la glande pinéale; *gl. pin.*, glande pinéale; *c. interl.*, commissure interlobaire; *n. opt*, nerf optique; *c. G.*, commissure de GUDDEN.

FIG. 25 et 26. Deux coupes longitudinales prises en dehors de la coupe précédente; dans la FIG. 25 la glande pinéale a disparu et le coussinet de cette glande a pris une forme triangulaire à base supérieure. Dans la FIG. 26, ce coussinet est remplacé par le ganglion de l'habénula.

FIG. 27 et 28. Terminaison du prolongement périphérique des cellules bipolaires du nerf de la huitième paire dans l'épithélium acoustique.

PLANCHE III.

FIG. 29. Ganglion de GASSER d'une truite de cinq jours : *c*, prolongements internes; *pér.*, prolongements périphériques.

FIG. 30 et 31. Coupes longitudinales de l'encéphale d'une truite de cinq jours : *gg. G.*, ganglion de GASSER; *r. d. V*, racine descendante du nerf trijumeau; VII, *a*, cellules radiculaires du nerf facial; VII, *b*, branche radiculaire ascendante; VII, *c*, branche radiculaire externe; *r. d. VIII*, racine descendante du nerf acoustique.

FIG. 32. Coupe transversale du cerveau moyen d'une truite de 10 jours passant par les noyaux d'origine des nerfs oculo-moteurs communs : *f. M*, faisceau de MEYNER; *comm. ansif*, commissure ansiforme.

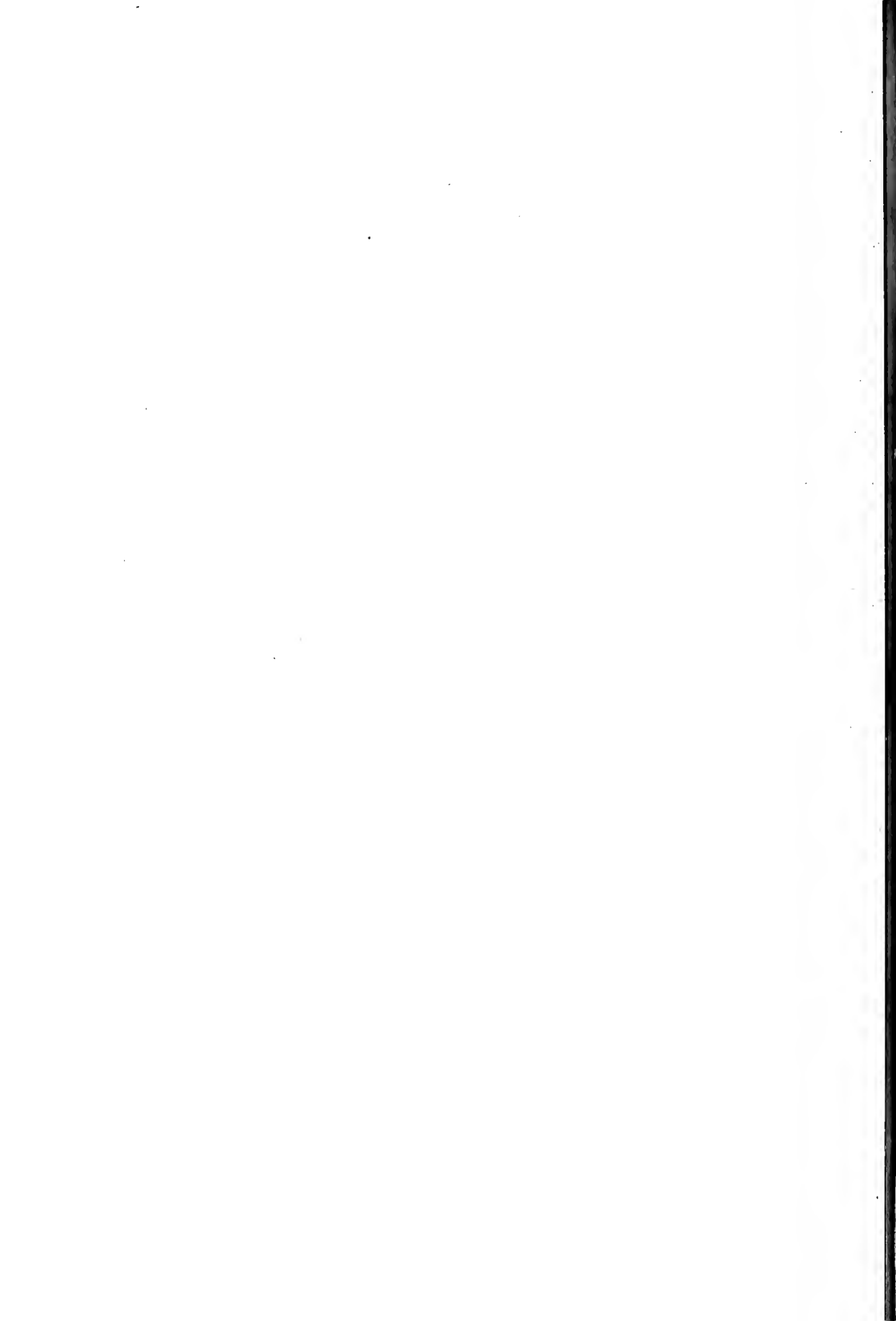
FIG. 33. Cellules constitutives du ganglion plexiforme d'une truite de 5 jours : *c*, prolongements internes; *pér*, prolongements externes.

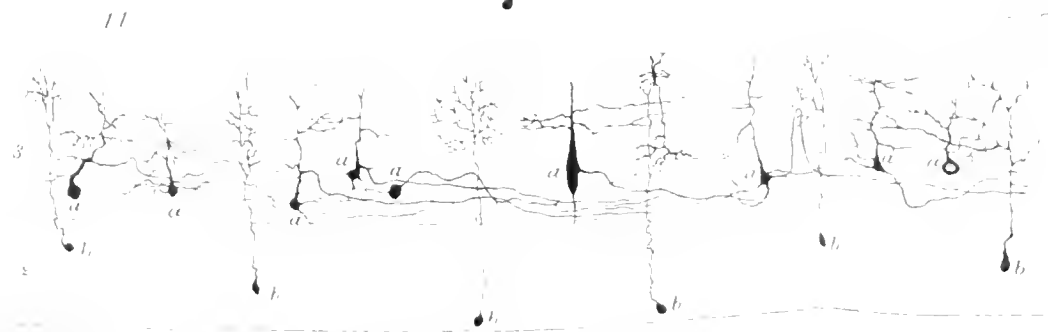
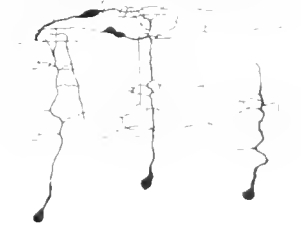
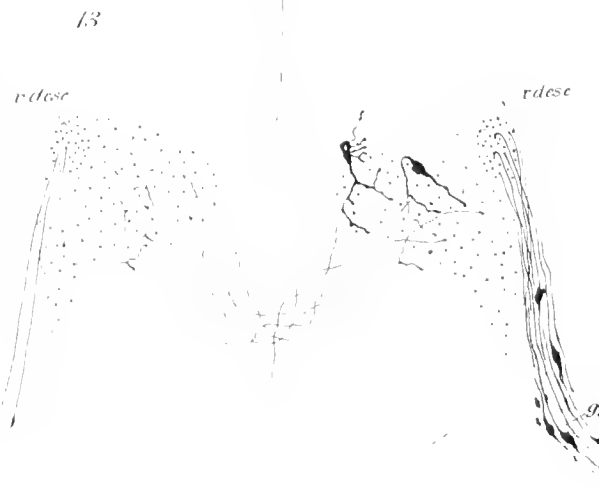
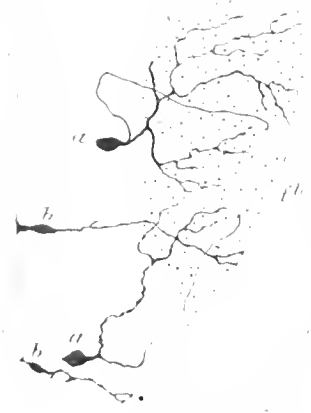
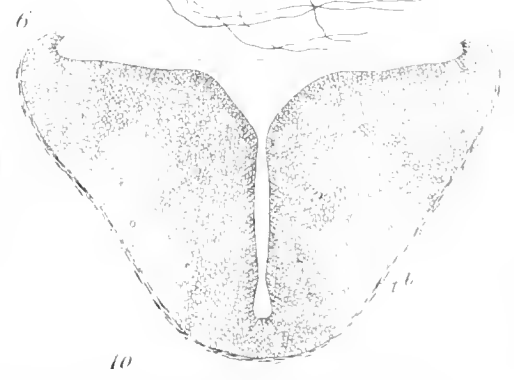
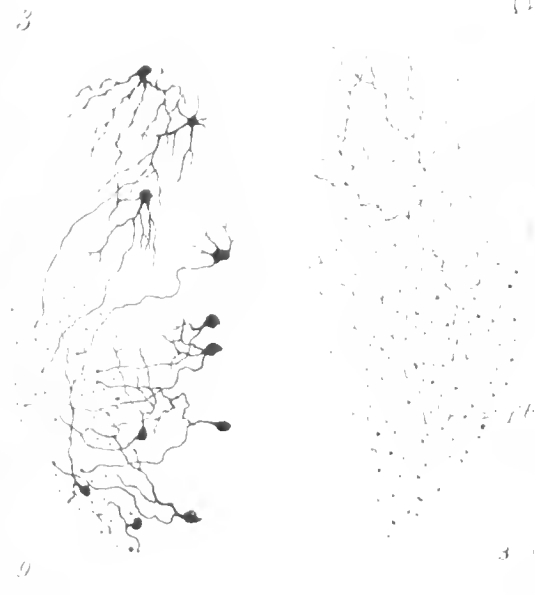
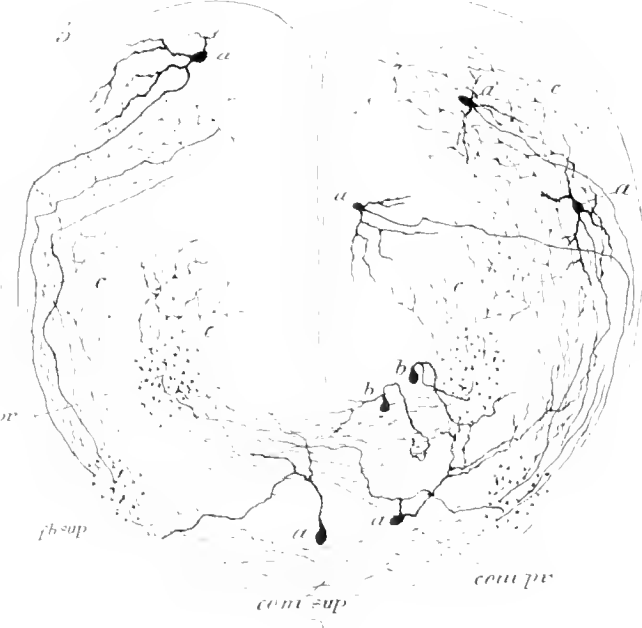
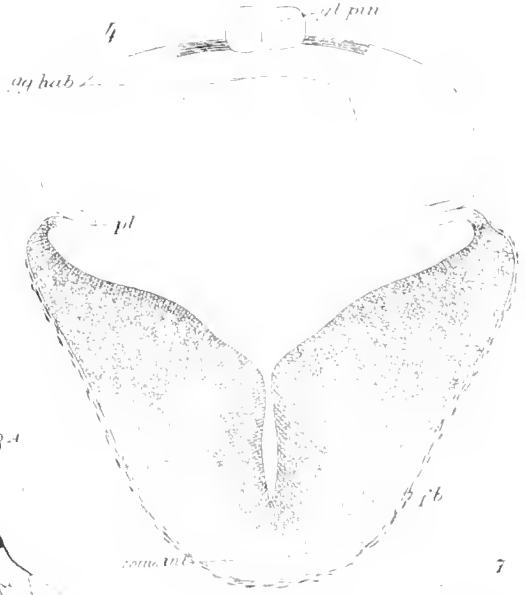
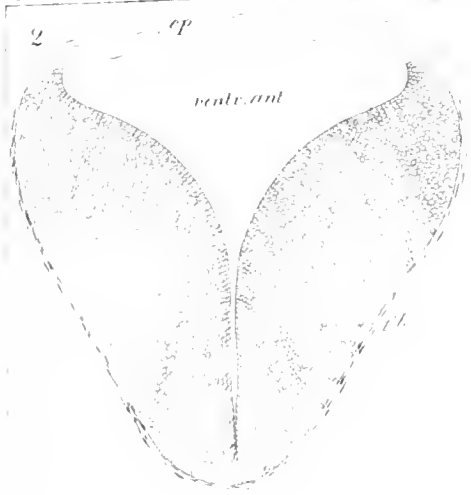
FIG. 34. Quelques cellules du ganglion de GASSER d'une truite de 10 jours : *c*, prolongement central; *pér*, prolongement périphérique

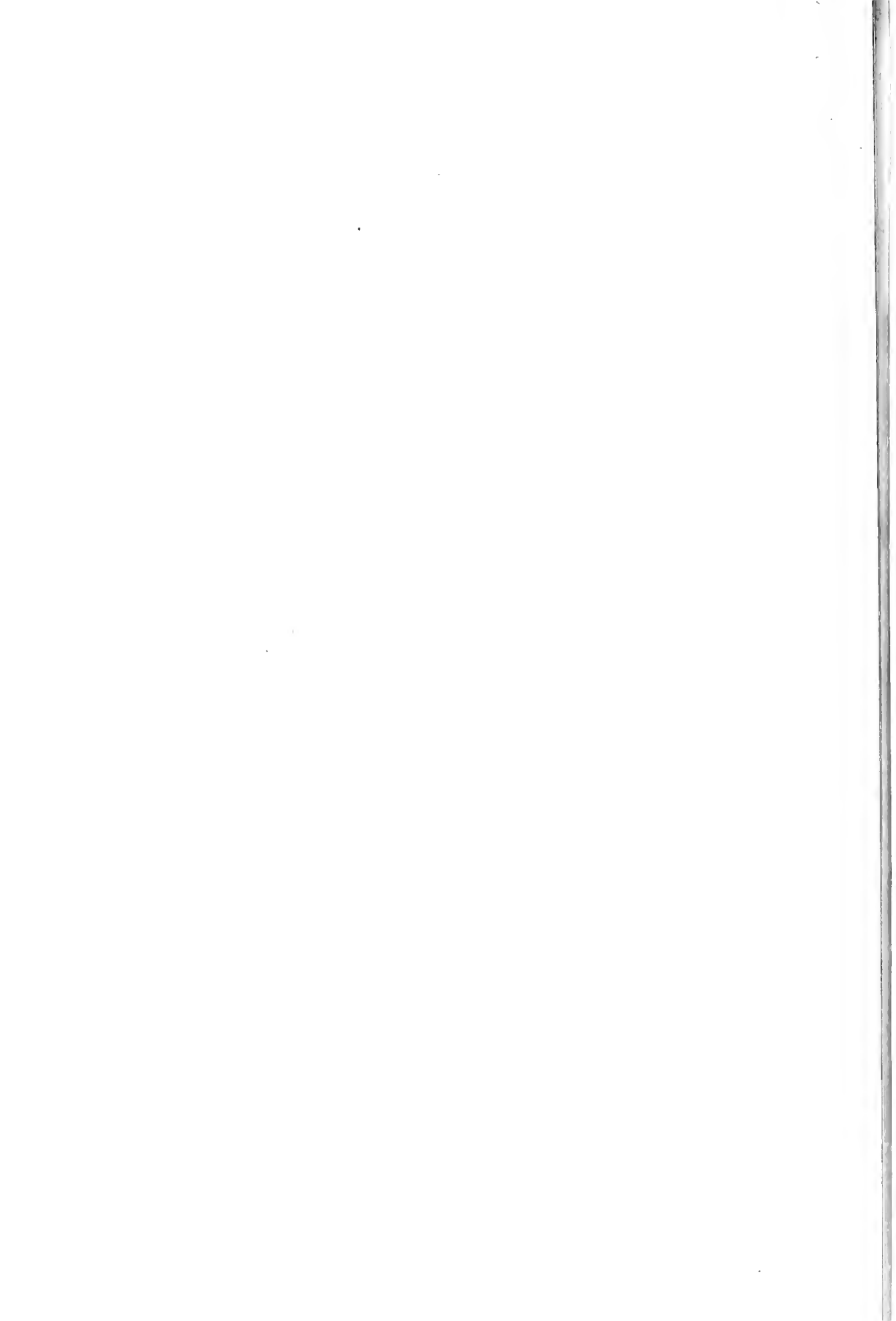
FIG. 35 et 37. Coupes transversales passant par le noyau d'origine du nerf facial : *r. d. V*, racine descendante du nerf trijumeau; *a*, cellules radiculaires dont les prolongements cylindraxils se rendent dans la branche radiculaire ascendante du côté opposé.

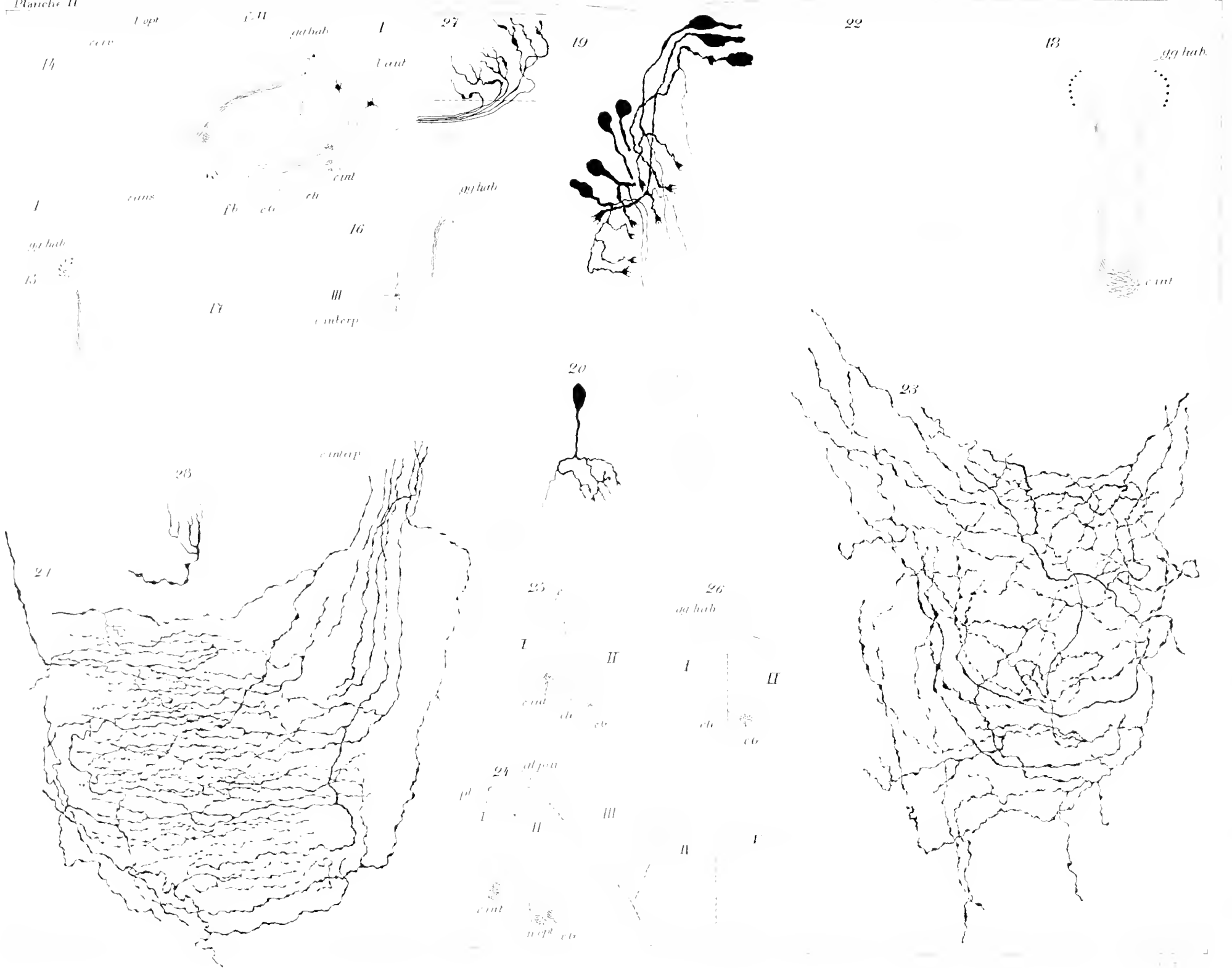
FIG. 36. Coupe transversale passant par la branche radiculaire externe du nerf facial : *c*, collatérale.

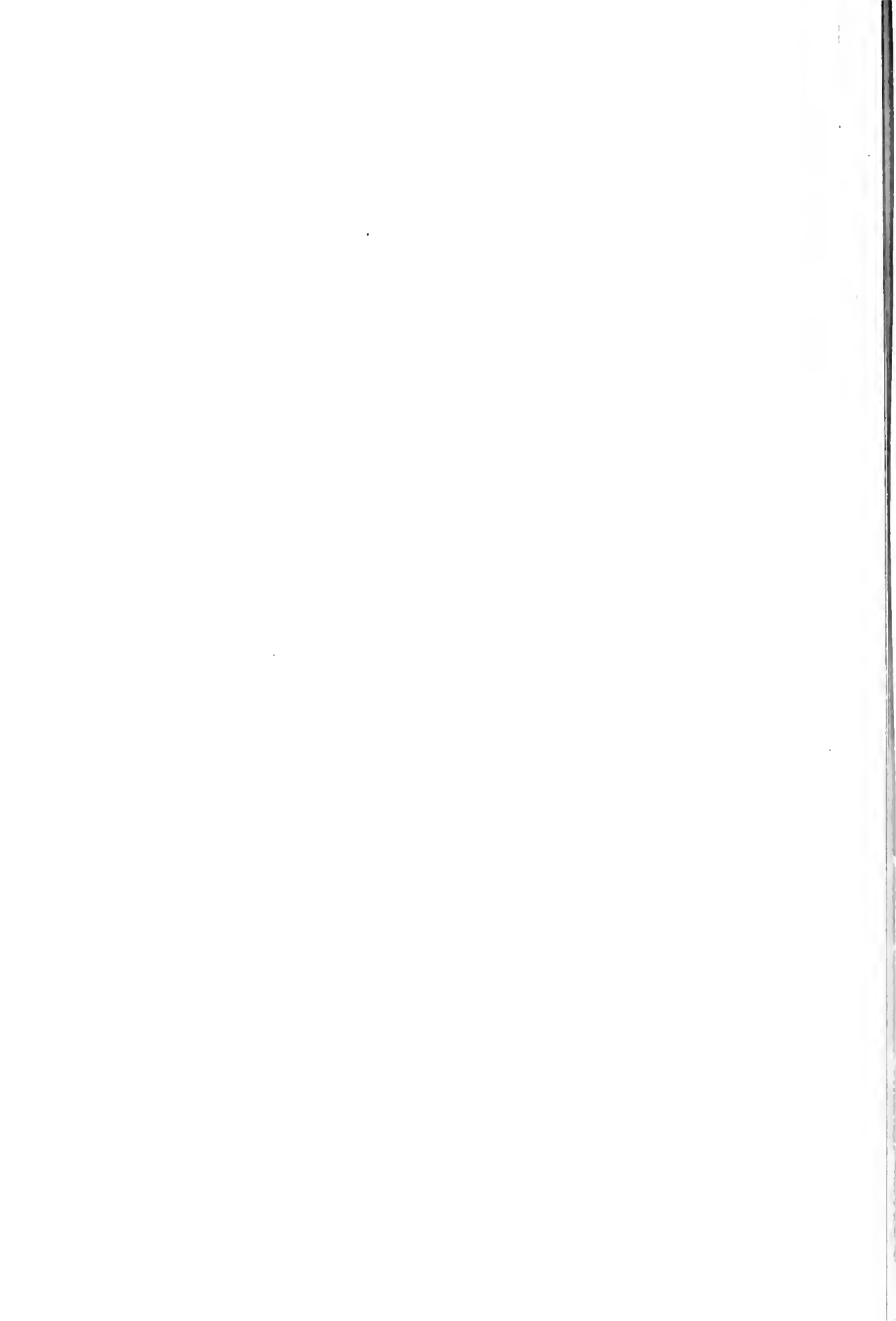
FIG 38. Coupe frontale légèrement oblique en bas et en arrière comprenant toute l'étendue des fibres radiculaires du nerf facial : VII, *a*, noyau d'origine; VII, *b*, branche radiculaire ascendante; VII, *c*, branche radiculaire externe; *b*, cellule nerveuse à cylindre-axe ascendant.

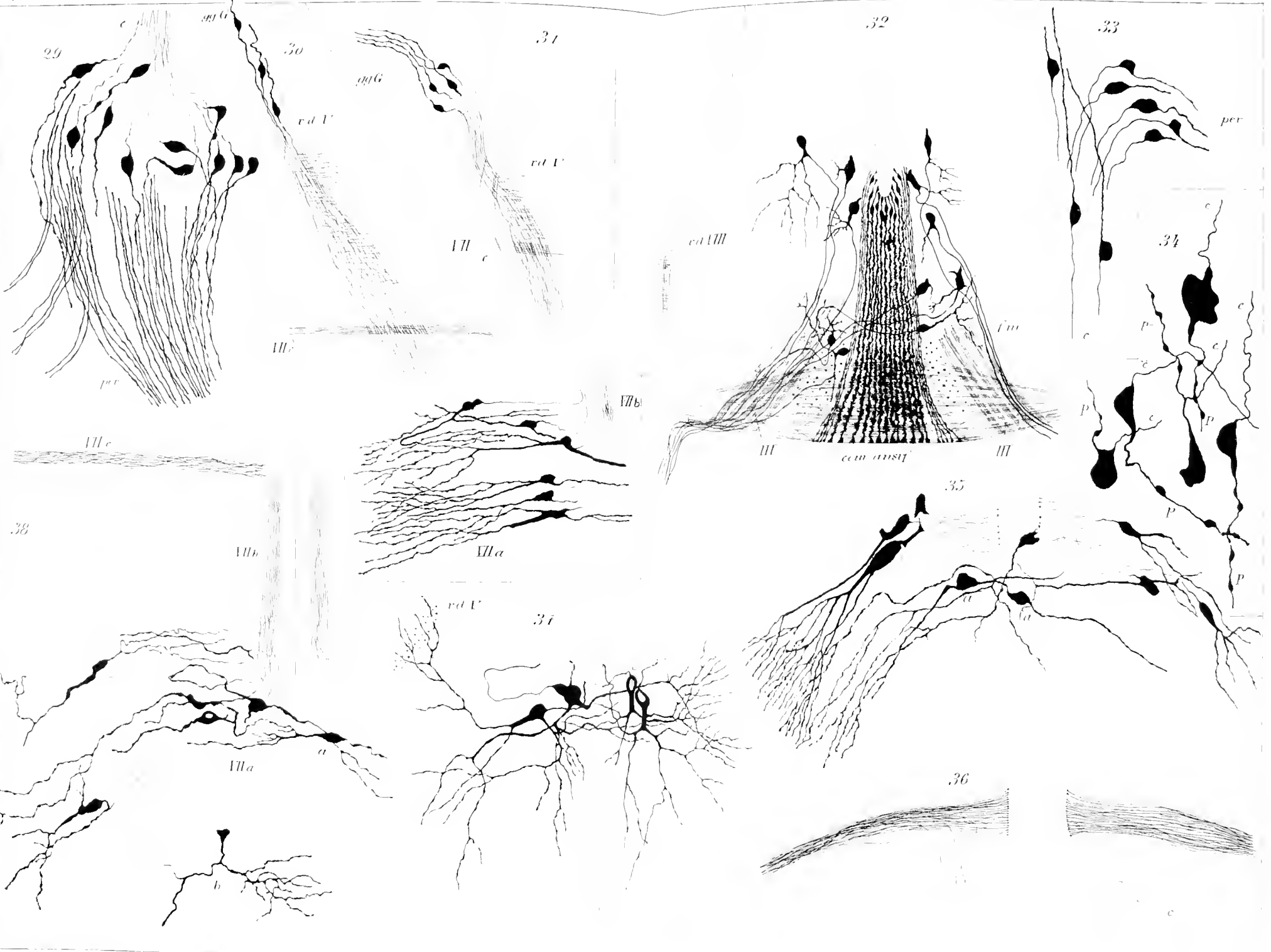


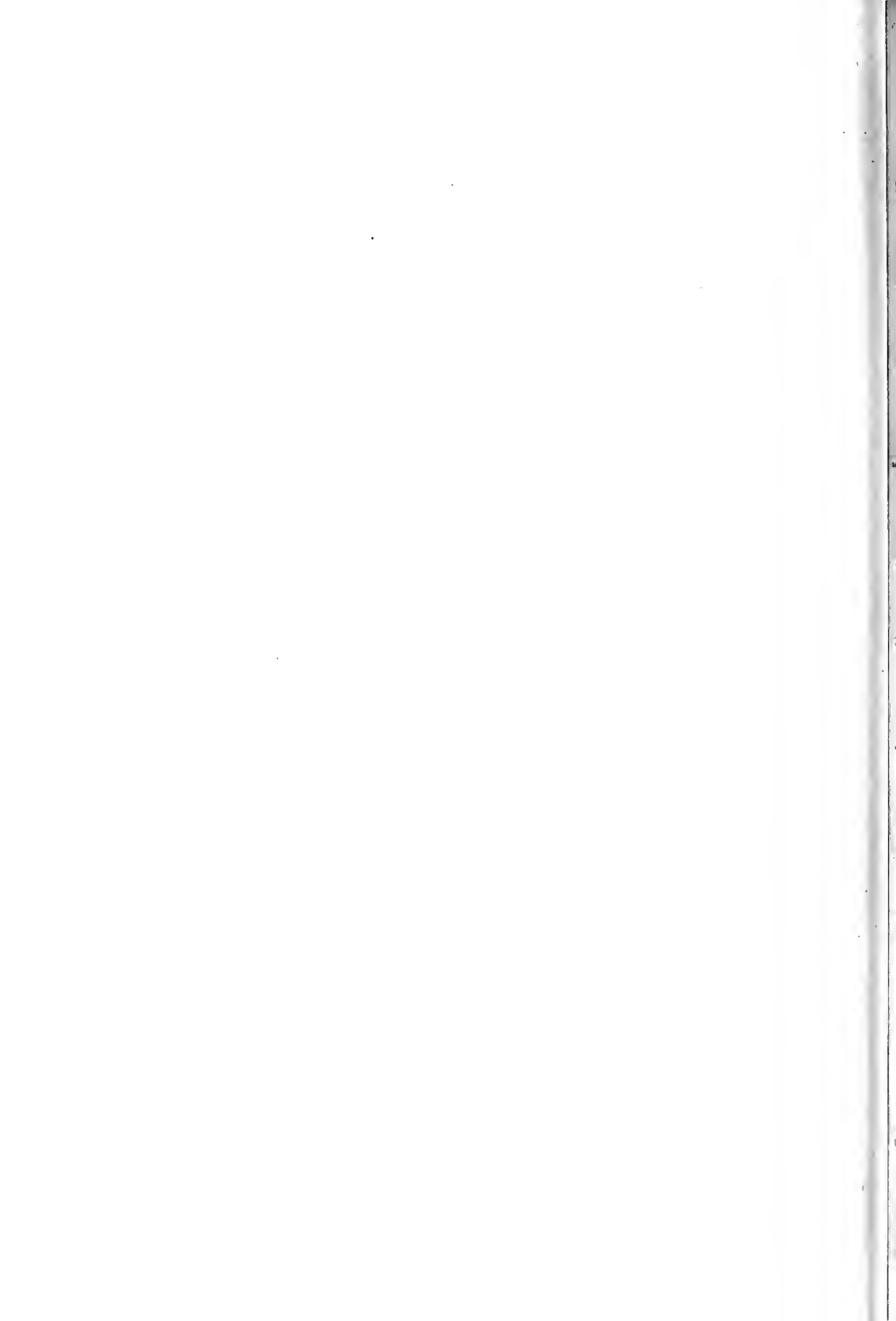












Recherches sur les Cellules sécrétantes.

II

LES GLANDES FILIÈRES

DE

L'OWENIA FUSIFORMIS DELLE CHIAJE

(AMMOCHARES OTTONIS GRUBE)

PAR

Gustave GILSON

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 30 décembre 1893.)



Recherches sur les Cellules sécrétantes.

II

LES GLANDES FILIÈRES DE L'OWENIA FUSIFORMIS

L'Owenia fusiformis est un annélide tubicole dont l'organisation présente des particularités remarquables. Il nous a été donné, pendant un séjour à la station zoologique de Naples, d'acquérir à son sujet des données qui complètent quelque peu les travaux de nos devanciers.

Nous publions aujourd'hui une description détaillée des glandes filiformes, dont le produit sert à la construction du tube sableux dont s'entoure le ver.

A défaut d'autre dénomination, nous conserverons à ces organes le nom de *glandes filières* que leur donne CLAPARÈDE et que justifient jusqu'à un certain point la ressemblance que l'on constate entre leur produit de sécrétion et la soie des insectes, et surtout la similitude que présente leur mécanisme sécrétoire avec celui des glandes séricigènes des lépidoptères et des trichoptères. Remarquons toutefois que l'absence d'un véritable appareil fileur semblable à celui des insectes fait désirer qu'on leur trouve une autre dénomination, dès que leurs homologues seront nettement fixées.

Des organes aussi insolites parmi les annélides ne pouvaient manquer d'attirer l'attention des naturalistes. Ils ont été signalés par presque tous les auteurs qui traitent de l'*Owenia* au point de vue anatomique. Néanmoins, la description des glandes filières n'occupe dans leurs ouvrages qu'une place secondaire.

DELLE CHIAJE (1), qui découvrit et dénomma le genre, les a notées et représentées dans ses planches.

(1) DELLE CHIAJE : *Descrizione e anatomia degli animali senza vertebr.* Nous n'avons point vu cet ouvrage que nous citons d'après CLAPARÈDE.

KÖLLIKER (1), dans une courte notice sur divers animaux publiée sous la forme d'une lettre adressée à ALLEN THOMPSON, signale pour la première fois ces glandes que DELLE CHIAJE avait simplement figurées sans attirer l'attention sur elles. - In jedem Gliede, dit KÖLLIKER, finden sich zwei - lange schlauchförmige Drüsen, die in der Nähe der Hackenborsten ausmünden, mit einer hellen Gallerte gefüllt sind und, ohne Zweifel, das Gehäuse ausscheiden, in welchem diese Annelide lebt. -

L'auteur en attribue donc une paire à chaque segment, sans distinguer entre la partie antérieure et la partie postérieure du corps.

CLAPARÈDE (2) fixe le nombre des glandes à quatre paires, décrit rapidement leur structure et en donne quelques dessins. Il est le premier auteur qui ait remarqué l'aspect tout particulier de leur contenu. - Le calibre des tubes, dit-il (l. c.), est occupé par une substance filamenteuse ressemblant à s'y méprendre à des faisceaux de zoospermes. Toutefois, à la rupture de la glande, on reconnaît qu'il s'agit d'un liquide fort dense, coulant avec difficulté, dans lequel des stries sont produites sans doute par des différences de densité dans les différentes couches du liquide sécrété. -

VON DRASCHE (3) corrige CLAPARÈDE et KÖLLIKER au sujet du nombre des glandes. Pour sa part, il en distingue six paires : les deux premiers anneaux du thorax et les quatre premiers anneaux de l'abdomen en possèdent ; le dernier des trois anneaux fusionnés du thorax en serait dépourvu. Il en trouve le même nombre dans une *Owenia* du Japon. CLAPARÈDE, dit-il, n'a donc pas vu les glandes qui débouchent au troisième et au quatrième tore. Et quant à KÖLLIKER qui en assigne une paire à chaque segment dans une espèce écossaise, on peut se demander s'il a bien examiné les segments postérieurs.

Faisons remarquer ici que CLAPARÈDE n'admet pas même l'existence du troisième anneau que VON DRASCHE attribue au thorax et regarde comme dépourvu de glandes. Nous reviendrons sur ce point.

(1) KÖLLIKER : *Kurzer Bericht über einige im Herbst 1861 an der Westküste von Schottland angestellte vergleichend anatomische Untersuchungen*; Separat-Abdruck aus der naturwissensch. Zeitschrift, Bd. V, Würzburg, 1864, p. 11.

(2) CLAPARÈDE : *Les annélides chétopodes du golfe de Naples*; Mémoires de la Société de physique et d'hist. nat. de Genève, T. XX avec supplément, 1870.

Id. *Recherches sur les annélides sédentaires*; Ibid., T. XXII, 1873.

(3) DR. RICHARD VON DRASCHE : *Beiträge zur feineren Anatomie der Polychaeten*, Zweites Heft. Anatomie von *Owenia filiformis*. Wien. C. Gerold's Sohn 1885.

VON DRASCHE décrit rapidement la paroi des tubes glandulaires et la figure en coupe transversale. Il y découvre une tunique de fibres musculaires longitudinales que CLAPARÈDE n'avait pas signalée et un épithélium formé de cellules cubiques. Près de l'embouchure, il s'y ajoute une couche de fibres musculaires circulaires.

Le contenu de la glande est un liquide filant que le vert de méthyle colore intensément. CLAPARÈDE, d'après lui, en a bien représenté l'aspect.

EISIG (1), dans sa magistrale description des capitellides, traite accessoirement des glandes de l'*Owenia* et d'autres productions analogues. Il cite CLAPARÈDE et VON DRASCHE et fait remarquer que la substance sécrétée renferme des filaments parfaitement distincts, fait que ces deux observateurs n'avaient point reconnu.

MÉTHODE.

La dissection d'objets frais ou fixés nous a servi dans l'étude de la forme, de la situation et des rapports des organes. Mais la méthode des coupes pouvait seule compléter les notions ainsi acquises et leur donner la précision désirée.

Les fixateurs dont nous avons fait le plus usage sont la solution mercurique acide dont nous avons donné ailleurs la formule (2), ainsi que la solution de FLEMMING et celle de MERKEL. Celle-ci donne aux pièces une consistance excellente, mais fixe moins bien que le bichlorure de mercure. La liqueur de FLEMMING fixe très bien, mais elle a, pour notre objet, une tendance à rendre les pièces cassantes, surtout si on est obligé de les conserver longtemps dans l'alcool avant de les sectionner.

Comme colorant, l'acide carminique sous la forme de carmin aluné ou de paracarmin de MAYER nous a rendu les plus grands services. Le bleu carmin introduit dans la technique par JANSSENS (3) est celui de tous les colorants protoplasmiques qui nous a été le plus utile. La paraffine et la celloïdine nous ont servi à l'enrobage; la dernière donne le plus souvent de meilleurs résultats dans la partie cytologique des recherches.

Enfin, nous avons aussi, à l'aide d'un procédé spécial, pratiqué des sections dans le tube à demi membraneux et à demi pierreux qui constitue la demeure de l'*Owenia*.

1) Dr H. EISIG : *Die Capitelliden*; Fauna und Flora des Golfes von Neapel, XVI, 1887.

2) BOLLES LEE : *The microtomist's Vade-Mecum*. London, Churchill, 1893, p. 472.

3) FR. JANSSENS : *Les branchies des acéphales*; La Cellule, t. IX, 1, 1893.

APERÇU ANATOMIQUE.

a) *Nombre et topographie.*

Sous le rapport du nombre des glandes, nous ne sommes d'accord avec aucun de nos devanciers, excepté, peut-être, KÖLLIKER, pour ce qui regarde la partie antérieure du corps.

CLAPARÈDE a tort de n'en admettre que quatre paires. Quant à VON DRASCHE, tout en étant plus près de la vérité, il n'est pas encore tout à fait correct en fixant leur nombre à six paires.

En effet, nous devons à la méthode des coupes en série d'en avoir constaté sept; mais l'une d'elles est rudimentaire.

Notre FIG. 1 est un simple croquis topographique présentant à l'œil la face interne de la paroi du corps incisée le long de la ligne médiane ventrale. La ligne qui divise symétriquement la figure représente le lieu d'insertion du mésentère dorsal, qui a été coupé et enlevé avec le tube digestif tout entier.

La ligne transversale d_2 représente le deuxième dissépinement du corps, qui sépare un tronçon antérieur, conventionnellement appelé thorax, d'une série de tronçons postérieurs ou abdominaux (1).

Les lettres G_1 à G_7 indiquent les glandes filières. On voit que, d'accord avec VON DRASCHE, nous en plaçons une paire dans chacun des quatre premiers anneaux abdominaux, mais que, contrairement à cet auteur, nous en comptons, non pas deux, mais trois dans le thorax.

Faisons remarquer ici que GRUBE et CLAPARÈDE n'admettaient que deux segments thoraciques. Ce dernier critique même à ce sujet une observation faite par KÖLLIKER sur une *Owenia* de la côte ouest d'Écosse. « KÖLLIKER, - dit CLAPARÈDE, remarque... qu'il y a encore une autre paire de soies capillaires avant le bourrelet et qu'il faut par conséquent compter un segment - de plus. La même apparence s'observe chez l'espèce napolitaine, toute- - fois le faisceau en question est le faisceau dorsal correspondant à la pre- - mière paire des tores ventraux. -

VON DRASCHE, au contraire, établit que la dite paire de soies est bien autonome et atteste l'existence d'un troisième segment thoracique. Il confirme ainsi l'observation détaillée de KÖLLIKER qui avait compris exactement la structure de la portion thoracique, comme le prouve cette phrase : - Ferner steht vor dem ersten Wulste von Hackenborsten noch ein kleiner

1 L'individu représenté est une femelle. Chez les mâles les muscles de la paroi du corps sont plus développés et la dissection présente un aspect quelque peu différent.

« Pinsel von Haarborsten, sodass wohl 3 Glieder ohne Hackenborsten anzunehmen sind (1) ». CLAPARÈDE n'est donc pas heureux dans ses critiques des observations du savant allemand. Pour notre part, nous nous rallions d'autant plus volontiers à l'opinion de KÖLLIKER et de VON DRASCHE, que nous avons non seulement constaté l'autonomie des petits faisceaux de soies en question, mais encore découvert à la base de ces mêmes faisceaux une glande filière, rudimentaire, il est vrai, mais évidemment homologue à celles des autres segments.

Il est donc certain que le thorax est composé de trois segments fusionnés possédant chacun leurs faisceaux de soies et leurs glandes filières. Seulement, le troisième segment très court, presque atrophié, ne possède que des faisceaux de soies très peu développés et des glandes filières rudimentaires.

Les glandes filières sont donc des organes répartis segmentairement dans les sept premiers anneaux du tronc. En avant, le segment céphalique seul en est dépourvu. Nous n'en trouvons pas dans les segments postérieurs au quatrième segment abdominal.

Au sujet de cette dernière partie du corps, il existe donc un désaccord au moins implicite entre les observations de KÖLLIKER et les nôtres.

Quant à la région thoracique, il y a lieu de se demander si notre savant devancier a bien constaté l'existence des glandes dans le troisième segment en particulier. Dans l'*Owenia fusiformis* du golfe de Naples, ces glandes sont généralement trop petites pour être discernables à la loupe et le savant de Wurzburg paraît ne pas les avoir recherchées à l'aide de coupes. Toutefois, il se pourrait que l'atrophie de ces organes soit moins marquée dans les individus vivant sous un climat si différent et dans des conditions si diverses sur les côtes d'Écosse. Mais il n'est pas même certain que l'espèce étudiée par KÖLLIKER soit la nôtre. Au contraire VON DRASCHE, se basant sur le petit nombre de crochets attribué à chaque tore, estime que ce doit être l'*Owenia assimilis*, Sars. Rien ne prouve que la troisième paire de glandes n'est pas bien développée chez cette dernière espèce et que l'observation de KÖLLIKER n'est pas exacte en ce qui la concerne. Nous regrettons de n'avoir pu jusqu'ici nous procurer des individus de cette provenance, afin de les examiner à ce point de vue.

La situation exacte des glandes filières est fixée par les faisceaux de soies et les tores uncinifères. L'examen des coupes transversales démontre que leur embouchure est toujours ventrale par rapport au faisceau de soies

KÖLLIKER : Loc. cit., p. 10

du segment. Elle est au contraire dorsale par rapport aux tores uncinigères dans les segments où ceux-ci existent. C'est ce que démontre la FIG. 2, où l'on voit en *ld* la ligne médiane dorsale, en *f* les faisceaux de soies du premier segment thoracique, en *t* l'esquisse du premier tore et en *og* l'embouchure de la quatrième paire de glandes.

La position des embouchures étant fixée par rapport aux soies et aux tores, faisons remarquer qu'examinée d'une façon absolue elle varie notablement dans les divers segments et de la même façon du reste que celle des faisceaux de soies eux-mêmes. Les orifices de la première paire appartiennent donc aux bords de la face ventrale; les suivants se placent sur les faces latérales, et à partir du premier tore, c'est-à-dire de la quatrième paire, ils deviennent tout à fait dorsaux.

b) *Forme et dimension.*

Toutes les glandes normales sont des filaments allongés, fusiformes, FIG. 1 et 3, à section toujours régulièrement circulaire. Vers l'arrière, elles s'amincissent insensiblement; en avant, au contraire, on voit leur calibre diminuer brusquement: elles s'y transforment en un tube à lumière très réduite, que nous appellerons le canal terminal, FIG. 3, *ct*. Cette dernière partie de l'organe n'est jamais rectiligne; elle fait toujours avec la ligne axiale du reste de la glande un angle assez brusque, au moment où elle pénètre dans la tunique musculaire du corps. De plus, elle s'incurve plus ou moins en S en cheminant à travers cette tunique, dans laquelle la portion glandulaire ne s'enfonce pas ou seulement très peu.

Les trois dernières glandes présentent une particularité: leur portion postérieure ou principale est elle-même divisée en deux tronçons successifs, dont l'anérieur occupant à peu près le quart de la longueur de l'organe se différencie du suivant par une opacité plus grande. Ces deux régions se délimitent nettement et très brusquement l'une de l'autre, souvent même il existe entre elles un léger sillon d'étranglement, FIG. 3.

Quant à la dimension des glandes, nous sommes d'accord avec von DRASCHE et CLAPARÈDE pour les deux paires antérieures: la première est plus longue que la seconde.

La troisième atrophiée présente une forme très variable. Les FIG. 5 et 6 en font voir deux variétés que nous avons rencontrées dans le même individu: la première, presque fusiforme, est à peine renflée au bout; la seconde, beaucoup moins allongée et moins volumineuse, est une sorte d'utricule piriforme.

Enfin, des quatre glandes de la région abdominale, on peut dire que les deux premières sont toujours beaucoup plus longues que les deux dernières; le plus souvent, la première est la plus développée de toutes.

Remarquons que toutes ces glandes varient notablement en dimension d'une façon absolue, c'est-à-dire considérées dans divers individus de grandeur différente, et abstraction faite de celle-ci. Quant aux glandes de la troisième paire, leur degré de développement ou d'atrophie est encore plus variable, bien qu'elles restent toujours si réduites en dimension qu'il n'est presque jamais possible de les discerner à l'œil nu ou même à la loupe. Leur réduction est poussée plus loin chez les mâles que chez les femelles. Nous avons en outre observé, même chez des femelles, leur atrophie complète, soit d'un seul côté, soit des deux côtés à la fois. Dans ces cas, le nombre six, indiqué par VON DRASCHE, était réellement exact.

c) *Signification morphologique.*

On trouve dans la monographie des capitellides de EISIG de riches matériaux pour la recherche des homologues de toutes les glandes cutanées des invertébrés; le chapitre comparé de l'étude de la peau est un véritable monument d'érudition. Néanmoins, pour ce qui regarde le cas particulier de l'*Owenia*, nous n'avons pu jusqu'ici nous faire une opinion sur la signification comparative des glandes filières.

Disons seulement que si l'on voulait rapprocher les glandes filières des néphridies en se basant sur le fait que ces derniers organes n'existent pas comme tels, nous ferions remarquer que nous avons découvert dans le deuxième segment abdominal un oviducte en entonnoir qui a la valeur d'une néphridie. Or, ce segment possède une paire de glandes filières, FIG. 1, *eg-G₅*. On nous dira peut-être que cette coexistence ne prouve rien, puisque l'on sait par les recherches de RAY-LANKESTER, de BEDDARD, de EISIG et d'autres qu'il peut y avoir plusieurs paires de néphridies par segment. Mais remarquons que, si nous ne nous abusons, l'on n'a pas signalé jusqu'ici cette multiplicité chez les tubicoles. Abstraction faite de beaucoup d'autres considérations, la coexistence de néphridies avec les glandes rend donc pour le moins improbable l'homologie entre ces deux espèces d'organes.

Quant aux autres organes des annélides auxquels on peut songer à comparer ces glandes, ce n'est pas sans avoir repris à ce point de vue spécial, contrôlé et complété bien des observations publiées que l'on arrivera à une conclusion bien assise. Notons que l'on manque totalement de données sur le développement des glandes de l'*Owenia*.

Dans ces conditions, nous préférons nous abstenir, pour le moment, de rapprocher ces organes d'aucune production analogue décrite par nos savants devanciers.

STRUCTURE DE LA GLANDE.

A. *Glande proprement dite.*

La paroi du tube glandulaire possède la même structure depuis le canal terminal jusqu'à l'extrémité postérieure. On y distingue aisément une couche épithéliale et une tunique musculaire. Il faut y ajouter une *propria* d'une extrême ténuité, dont l'existence n'est point facile à démontrer. Notons les caractères principaux de chacune de ces parties.

Épithélium.

Cette couche est formée d'une seule assise de cellules que CLAPARÈDE et VON DRASCHE ont figurées, sous un faible grossissement, avec assez d'exactitude. Examinées de face, ces cellules présentent souvent un contour hexagonal, FIG. 17, au moins dans la partie moyenne de l'organe.

Leur hauteur, et par suite l'épaisseur totale de la partie du tube, varie notablement. Nous l'avons trouvée diverse dans la même glande examinée chez des individus différents, et nous l'avons vu varier dans les diverses régions d'un même organe. Les FIG. 12, 13, 14 et 15, dessinées sous le même grossissement, donnent une idée de cette variabilité. La FIG. 15 indique que les cellules peuvent devenir très aplaties : dans ce cas les noyaux eux-mêmes s'aplatissent et la masse du protoplasme se réduit parfois à fort peu de chose.

Leur cytoplasme est en général assez granuleux, mais toujours on y distingue nettement les trabécules plastiniennes, et dans beaucoup de cas la disposition réticulaire de celles-ci est extrêmement apparente, pourvu qu'on l'étudie à l'aide d'un objectif puissant et sur des coupes minces et fortement colorées.

Ce cytoplasme se présente sous deux états différents : il peut être dépourvu d'enclaves ou en être farci. Les FIG. 10, 12, 13 et 14 sont la démonstration de ce fait. Ces enclaves, souvent très volumineuses, sont de nature albuminoïde, très brillantes et très avides de certaines matières colorantes. Les colorants nucléaires ne les teignent pas ou faiblement; le bleu carmin et d'autres colorants du cytoplasme sont au contraire puissamment fixés par elles. Le premier en solution acide les colore en vert.

Ces caractères sont importants; nous y reviendrons plus loin.

On constate aussi, mais très rarement, dans le cytoplasme l'existence d'enclaves qui sont d'une tout autre nature et qui se distinguent nettement des premières par leur défaut d'affinité pour les colorants protoplasmiques, FIG. 10, *eb*. Elles restent parfaitement incolores dans les préparations, même où les premières ont repris par le bleu carmin une teinte vert-émeraude très foncée.

Du reste, même en l'absence de toute matière colorante, elles s'en distinguent par une réfringence particulière, un éclat spécial et aussi par leur teinte parfaitement blanche; les enclaves ordinaires, plus transparentes, moins réfringentes, présentent au contraire une très légère teinte jaunâtre, même quand on n'a fait agir sur elles que le bichlorure de mercure et l'alcool. Les colorants nucléaires, tels que le paracarmin de MAYER, teignent assez bien ces enclaves anormales.

Il n'existe point d'enclaves dans les parties des glandes où la paroi est mince et le cytoplasme peu abondant. D'ailleurs, elles manquent souvent non seulement dans toutes les parties d'une glande, mais même dans toutes les glandes d'un individu donné.

C'est ici le lieu d'indiquer la différence de structure interne qui dans les trois dernières glandes est cause de l'aspect variable présenté par les deux régions qu'on y remarque. Un regard sur la FIG. 4 fournit l'explication de la différence de coloration ou plutôt de ton qui distingue ces deux régions si nettement l'une de l'autre: c'est tout simplement une différence d'épaisseur de la couche épithéliale. Les cellules sont plus hautes dans la région antérieure que dans la partie postérieure. Cependant, elles ne sont pas toujours réduites dans cette dernière à l'état d'aplatissement et de réduction extrêmes dont nous avons parlé plus haut et elles peuvent encore posséder quelques enclaves.

Le noyau des cellules épithéliales ne possède pas de caractères bien particuliers. On y distingue en général des fragments nucléiniens assez nets et un nucléole de forme irrégulière. Mais lui aussi se présente dans des états divers. Dans les cellules dépourvues d'enclaves, il donne souvent des réactions pures avec le vert de méthyle ou les carmins: on peut arriver à localiser ces colorants sur les corpuscules nucléiniens seuls, le caryoplasme restant incolore ou prenant les colorants plasmiques, bleu carmin, orange, etc., que l'on peut faire agir en même temps, FIG. 14. D'autres fois, le noyau tout entier présente une forte affinité pour ces colorants et l'on

ne distingue alors que faiblement les corpuscules nucléiniens au milieu d'un caryoplasme coloré, FIG. 10, 13 et 17. Ceci est très souvent le cas des cellules riches en enclaves, FIG. 10. Mais dans ces dernières, l'altération du noyau peut être poussée beaucoup plus loin : on y voit souvent cet élément tout déformé, bosselé et comme écrasé par les enclaves voisines dont on reconnaît l'empreinte sur sa surface, FIG. 10 et 16. Dans ces conditions, le carmin lui communique toujours une teinte foncée et uniforme et c'est souvent à grande peine qu'on distingue dans son intérieur les corps solides qu'il peut renfermer.

La membrane cellulaire est délicate et mince; aussi n'est-il pas toujours facile de distinguer, sur les coupes, la limite des éléments épithéliaux. Il n'est pas impossible que la couche limitante soit réellement résorbée en tout ou en partie sur les faces latérales de certaines cellules à enclaves; il semblait même qu'il en fut ainsi dans les portions de coupes représentées FIG. 10 et 13. Néanmoins, nous conservons, même pour ces exemples, certains doutes sur la disparition réelle de ces membranes, car il nous est arrivé trop souvent de constater qu'une membrane même épaisse ne présente à l'œil aucune image distincte au sein du protoplasme pour peu qu'elle soit coupée dans un sens oblique par rapport à sa surface.

Quoi qu'il en soit de ces cas particuliers, la membrane existe et elle est fort nette dans les cas habituels, même sur les faces latérales des cellules. On la distingue toujours très bien sur des glandes examinées par leur surface externe, qu'elles soient montées tout entières, ou bien, et mieux encore, coupées tangentiellement.

Mais il est une partie de l'enveloppe de la cellule qui nous intéresse davantage : c'est celle qui forme la face interne de chaque élément et limite ainsi la lumière du tube glandulaire.

Cette membrane très mince aussi est pourtant fort nette et bien constituée. Elle présente une structure analogue à celle qu'à diverses reprises nous avons signalée dans les organes séricigènes des insectes. En coupe, elle a cet aspect ponctué qu'il est si difficile de rendre d'une manière satisfaisante par le dessin ou la gravure, surtout quand la membrane est d'une grande ténuité, comme c'est le cas ici. En fait, cette membrane possède une structure réticulée. Les points épaissis et brillants qu'on distingue sur une coupe optique correspondent aux points nodaux où aboutissent les trabécules du réticulum cytoplasmique. Ces points ne paraissent pas, dans les sections optiques, nettement réunis entre eux ni entièrement séparés non

plus. Cela s'explique par le fait que quelque parfait que soit l'objectif employé il ne peut donner une couche distincte assez mince pour éviter que les trabécules qui réunissent obliquement les points nodaux ne soient visibles aussi dans un plan légèrement inférieur. La ligne moniforme que nous dessinons, FIG. 10, 12 et 13, conserve donc un caractère un peu conventionnel; elle laisse supposer que nous avons vu nettement une membranule excessivement fine entre les points nodaux, laquelle fermerait les mailles. Or, pas plus ici que chez les insectes ou plutôt moins encore, nous n'entendons trancher cette question qui est extrêmement délicate et intéressante au point de vue du mécanisme intime de la sécrétion par suintement opposé à celui du déversement direct. Ce qui est certain, c'est que la face interne des cellules est fermée par une mince membrane structurée. Elle porte un dessin réticulé d'une grande ténuité que nous avons tenté de représenter FIG. 18. Il est fort difficile à voir, mais on y arrive en étudiant des lambeaux minces de coupes longitudinales à l'aide de puissants objectifs et en faisant varier l'intensité et la direction de l'éclairage.

Tunique musculaire.

Elle est formée de fibres extrêmement délicates et fort longues, disposées côte à côte dans le sens de la longueur de l'organe avec une régularité remarquable, FIG. 3, 10 et 13. Ces fibres sont fort étroites et parfois légèrement aplaties. Ce sont elles qui donnent aux coupes transversales de l'organe un contour crénelé, FIG. 10, 13 et 16. On les dissocie difficilement par dilacération. Les FIG. 19 et 20 montrent qu'elles ont la forme de fuseaux très amincis à leurs extrémités. Elles possèdent un noyau qui, entouré d'une petite masse de protoplasme, fait une légère saillie à la surface de la fibre examinée de profil. C'est surtout dans la partie supérieure de la glande que ces noyaux se rencontrent; mais nulle part leur mise en évidence n'est aisée, FIG. 13 et 19.

On ne distingue dans leur substance que çà et là quelques tronçons de stries longitudinales excessivement minces.

Propria.

Ce n'est point sans peine que nous sommes parvenu à mettre en évidence l'existence d'une mince membrane conjonctive enserrant tout l'organe. L'usage de l'acide acétique appliqué sur le frais nous a rendu peu de services dans cette recherche. C'est en dilacérant des glandes fixées au sublimé

acide et conservées longtemps dans l'alcool que nous avons pu nous convaincre de son existence. On y observe, comme dans toutes les membranes analogues, des noyaux extrêmement aplatis. Nous en représentons deux spécimens dans la FIG. 14, *nc*. Cette figure met en relief une autre particularité qui n'est pas dépourvue d'intérêt : c'est l'existence de fins cordons conjonctifs (?) se détachant de la *propria* et reliant l'organe à des parties voisines que nous n'avons pu déterminer, mais il est probable que c'est à la paroi du corps, FIG. 14, *fc*. Ces cordons constituent peut être des moyens de fixation analogues à ceux qui soutiennent les glandes filières et les autres organes qui chez les larves d'insectes flottent dans le coelome.

C'est à la *propria* qu'est due la difficulté que l'on éprouve à dissocier la tunique musculaire et c'est elle aussi qui seule peut donner à cette dernière la cohésion et la solidité nécessaires.

B. Canal terminal.

Nous avons parlé de sa forme et de sa position. Sa structure ne nous arrêtera pas longtemps. Il comprend comme la partie glandulaire une couche épithéliale et une tunique musculaire.

Les cellules épithéliales y sont très petites, à cytoplasme clair et peu abondant. Elles présentent dans la portion interne voisine de la glande une forme allongée, FIG. 7. Cette forme apparaît déjà dans les derniers éléments de la portion glandulaire, de sorte que le passage d'une région à l'autre est graduel et peu marqué.

La tunique musculaire de ce canal n'est que la continuation de la couche correspondante de la portion précédente. Elle est donc composée d'éléments longitudinaux. On peut voir les longues fibres de la glande se continuer sur elle tout en s'amincissant et s'enrouler plus ou moins autour des anses que décrit le canal lui-même, FIG. 9, passant ainsi de leur position réellement longitudinale à une position oblique par rapport à l'axe

Nous avons dit que VON DRASCHE signale dans cette partie de l'organe une couche de fibres musculaires circulaires : - Dort wo die Drüse durch - das Hypoderm nach aussen mündet, - dit il, - wird sie von einer feinen - Ringmuskulatur bedekt (1) -. C'est en vain que nous avons recherché ces éléments circulaires. Cependant nous avons eu sous les yeux des images

(1) VON DRASCHE : L. c., p. 19.

assez délusaires sous ce rapport et de nature à faire croire à l'existence de ces fibres. Mais chaque fois nous avons fini par nous convaincre de leur absence.

Deux causes produisent cette illusion. Tantôt, c'est simplement la position enroulée des fibres longitudinales autour du canal incurvé; d'autres fois, c'est évidemment la forme allongée des cellules épithéliales jointe à l'existence de fortes travées plastiniennes dans le cytoplasme de celles-ci, FIG. 7. Mais on peut toujours s'assurer en mettant au point la coupe optique de l'organe, qu'il n'existe aucun élément musculaire circulaire, ni en dehors des fibres longitudinales, ni entre celles-ci et l'épithélium.

Ajoutons que dans la partie tout à fait terminale du canal il n'existe plus même de fibres longitudinales.

C. *Embouchure.*

La dernière partie du canal terminal s'amincit extrêmement et rampe contre la face interne de l'épaisse membrane basale sur laquelle repose l'épithélium cutané, FIG. 8, *mb*. Puis, elle perce cette membrane et traverse l'épiderme, ou plutôt se fusionne avec lui; car, ainsi que l'indique la FIG. 8, on peut voir son épithélium passer insensiblement aux cellules du revêtement externe.

Le plus souvent, on n'aperçoit dans l'épithélium dermique aucune ouverture; cette couche semble alors passer au-devant du canal terminal d'une façon ininterrompue et présente à peine un léger enfoncement à son niveau. Mais d'autres fois, on surprend la glande au moment où elle expulse une partie de son contenu; l'orifice épithélial est alors ouvert et parfaitement distinct, FIG. 8.

Nous n'avons découvert aucune disposition pouvant constituer un appareil obturateur spécial de cet orifice. Sans doute, la tonicité de la paroi musculaire du corps et l'élasticité de toutes les parties voisines en assurent l'occlusion. Mais du moins semble-t-il qu'il doive exister quelque mécanisme destiné à en produire périodiquement l'ouverture? Nous ne l'avons point découvert: seules quelques fibres détachées du faisceau moteur des soies et affectant une direction transversale par rapport au dernier tronçon de l'organe pourraient intervenir dans ce sens. Il se peut donc que le contenu de la glande lui-même, actionné par la tunique musculaire, soit l'unique facteur de la dilatation de l'orifice dermique.

Les glandes atrophiées de la troisième paire.

Elles présentent, avons-nous dit, de notables variations de forme et de dimension, FIG. 5 et 6, G_3 . Leur structure n'est pas moins sujette à varier. Nous avons vu sa paroi constituée, comme celle des glandes normales, d'une couche épithéliale et d'une tunique musculaire, mais l'épithélium était peu développé et les fibres éparées et peu nombreuses. Le plus souvent ces dernières manquent totalement. Ces glandes sont généralement vides ou ne contiennent que des granules. Cependant, nous avons vu aussi leur lumière remplie d'une substance semblable à celle que produisent les glandes normales; dans un cas de ce genre, l'organe était fortement dilaté par le contenu et l'épithélium était excessivement aplati et réduit à une membrane fort mince entourant un globule de substance sécrétée.

Enfin, nous avons trouvé l'organe réduit à une simple membrane chiffonnée, assez épaisse, d'aspect cuticulaire, contenant quelques débris de cellules épithéliales dégénérées.

Très souvent, l'organe atrophié se perd dans la couche musculaire. D'autres fois, sa portion terminale atteint la membrane basale, FIG. 5. Mais jamais nous ne l'avons vu perforer cette dernière. Chez un mâle, toutefois, l'épithélium présentait à son niveau une légère modification dans la forme et la disposition de ses cellules.

Cause de leur atrophie.

Outre le peu de développement du segment même auquel ces glandes appartiennent et dont CLAPARÈDE niait jusqu'à l'existence, nous croyons pouvoir assigner à leur état d'extrême régression une autre cause. C'est la présence de deux poches latérales ou diverticules que la cavité du premier segment abdominal envoie dans le tronçon œsophagien ou thoracique. Ce sont deux poches ou soulèvements du deuxième dissépinement, plus marquées chez les mâles que chez les femelles. Elles restreignent encore l'espace laissé aux glandes du troisième segment et peuvent même les comprimer contre la partie interne saillante des faisceaux de soies segmentaires. On pourrait rechercher sur d'autres espèces s'il existe réellement un rapport entre le développement de ces poches et l'atrophie de la troisième paire de glandes.

CONTENU DE LA GLANDE.

Les tubes glandulaires renferment un produit de sécrétion tout particulier : c'est une substance visqueuse, très épaisse, charriant des écheveaux de filaments très minces. CLAPARÈDE dit expressément que ces filaments

qu'on croit y apercevoir n'existent pas et qu'il n'y a là qu'un effet d'optique, une illusion produite par l'existence dans la masse sécrétée de couches concentriques de densités diverses. VON DRASCHE se borne à dire que la glande est remplie d'un liquide hyalin et filant que CLAPARÈDE, d'après lui, représente exactement. Il n'admet donc pas l'existence de filaments séparés. EISIG, au contraire, dont l'attention avait été fixée par d'autres productions filamenteuses élaborées par la peau des annélides, a parfaitement reconnu des filaments bien distincts au sein de la masse emmagasinée dans les tubes glandulaires.

L'existence de ces filaments n'est pas douteuse. On arrive à les mettre en évidence sur le frais en dissociant un peu le contenu filant sur le porte-objets légèrement humecté de vert de méthyle dilué. La dilacération du produit durci par l'alcool permet de les isoler mieux encore.

Ces filaments se colorent bien par le vert de méthyle, la safranine, l'éosine et les carmins. Le bleu carmin, l'orange, la fuchsine acide les laissent, au contraire, parfaitement incolores.

Il est à peine besoin de dire que l'existence d'un liquide visqueux charriant ces filaments n'est pas douteuse; on le distingue seul, débarrassé de filaments, en certains points des glandes, ainsi que dans les masses de substances exprimées de l'organe, étalées sur un porte-objets et écrasées sous la lamelle.

Il existe ainsi une analogie marquée entre le produit des glandes filières des insectes et celui des glandes de l'*Owenia* : l'un et l'autre contiennent une partie liquide et une partie solide ou solidifiable. Mais, au lieu du cylindre unique de fibroïne entouré de *grès*, on trouve chez notre annélide des milliers de petits cylindres ou filaments distincts.

L'étude chimique de ce liquide et de ces filaments promet des résultats intéressants; nous espérons en traiter ailleurs sans tarder.

Recherches sur le mode de sécrétion du liquide filifère.

Nous connaissons, tant par nos recherches personnelles que par la lecture du chapitre comparé de la monographie déjà citée de EISIG, des filaments soyeux émis par la peau de certains annélides, tels que les *Typhloscolex*, les *Phyllodoce*, les *Spio*, les *Eulalia* et d'autres. Ces filaments se forment chez ces vers à l'intérieur même de certaines cellules glandulaires et doivent en être expulsés par un mécanisme assez brutal, analogue à celui de l'évacuation de la masse muqueuse des cellules caliciformes ou de l'expulsion des nématocystes ou des rhabdites.

Imbu de l'idée que les filaments de l'*Owenia* sont analogues à ceux des annélides que nous venons de citer, nous étions naturellement porté, en commençant ces recherches, à considérer les glandes de ce ver comme des agrégations tubuleuses de cellules bacillipares et nous fûmes assez surpris de constater qu'il en est tout autrement. Rien dans le protoplasme des cellules épithéliales des glandes filières ne rappelle les bâtonnets des *Phyllodoce* ou des *Spio*; nos dessins le prouvent. Néanmoins, nous avons tenu à rechercher dans l'intérieur des cellules épithéliales quelques indices de la genèse, supposée intraprotoplasmique de ces filaments.

Tout d'abord, nous nous sommes demandé si les enclaves que l'on voit parfois si nombreuses dans le cytoplasme, FIG. 10, ne constituaient pas chacune l'ébauche de l'un des filaments. En effet, on pourrait théoriquement admettre que ces sphérules fabriquées par le cytoplasme en sont expulsées à un moment donné, puis s'allongent et s'étirent en filaments dans la lumière du tube. Mais l'étude prolongée et attentive de l'épithélium exclut cette hypothèse. En effet :

1^o On ne trouve jamais, — ou seulement dans des cas extrêmement rares et qui paraissent accidentels, — les enclaves en question dans la lumière du tube; il est certain pour nous que leur sortie de la masse protoplasmique n'est pas un acte normal et essentiel de ce mode de sécrétion.

2^o Ces enclaves ne présentent pas les mêmes caractères que la substance qui remplit la lumière du tube. Nous avons déjà dit qu'elles n'ont que peu d'affinité pour les colorants nucléaires et une grande affinité pour le bleu carmin et d'autres colorants du même genre. Elles possèdent donc sous ce rapport des propriétés opposées à celles de la substance excrétée par l'organe.

Nous en concluons que chacune de ces enclaves ne représente pas l'ébauche d'un filament. Elles constituent, sans doute, une réserve de matériaux destinés à la sécrétion, mais qui doivent subir encore des transformations avant de passer à la substance particulière qui constitue ces filaments eux-mêmes et le liquide visqueux qui les charrie.

On voit cependant parfois la substance sécrétée apparaître réellement sous la forme d'enclave dans le cytoplasme. Ce sont ces enclaves blanches que nous avons rencontrées dans des préparations au bleu carmin et représentées dans les FIG. 10 et 16, *cb*. Il n'est pas douteux, en effet, que ces dernières ne soient de même nature que le contenu du tube. Leur apparition est, sans doute, la conséquence d'un excès de sa production par le cytoplasme

sur son élimination par la face sécrétante de la cellule. Mais la grande rareté de ces enclaves démontre qu'elles ne jouent aucun rôle essentiel dans le processus de la sécrétion.

Ainsi, les enclaves normales, avides de bleu carmin, ne doivent pas être regardées comme les ébauches des filaments qui remplissent la lumière des glandes, 1^o parce qu'elles ne sont pas de même nature que ces filaments et 2^o parce qu'elles ne sortent pas normalement des cellules pour passer dans cette lumière. On ne peut pas davantage admettre que le mécanisme normal de l'excrétion du produit fabriqué dans les cellules consiste dans l'expulsion mécanique des autres enclaves, c'est-à-dire de celles qui sont dépourvues d'affinité pour le bleu carmin, à cause de la grande rareté de ces dernières.

Il faut chercher ailleurs l'origine des filaments qui nous occupent.

Dans le but d'obtenir des données positives à ce sujet, nous avons institué sur les *Owenia* quelques expériences tendant à provoquer dans les organes fileurs un surcroît d'activité. Ces organes semblent sécréter d'une façon lente mais continue le produit dont l'animal se sert pour accroître sans cesse son tube, car la longueur de celui-ci dépasse toujours de beaucoup celle du corps. Il était donc à supposer que, si l'on parvenait à augmenter d'une façon soudaine la dépense du produit, en d'autres termes l'évacuation du contenu glandulaire, les cellules qui le fabriquent se mettraient à sécréter plus activement et permettraient peut-être de surprendre quelque phase de leur mécanisme excrétoire.

L'enlèvement du tube devait, semblait-il, provoquer chez l'animal des efforts tendant à refaire le plus vite possible une enveloppe protectrice et, par suite, à produire un surcroît d'activité de ses glandes.

Une série d'individus furent donc extraits de leur tube et placés dans un aquarium où l'eau de mer se renouvelait rapidement.

Ils y furent déposés sur un fond de sable grossier contenant tous les éléments qui se trouvent dans les gaines normales. Des pierres couvertes d'algues d'espèces diverses y furent aussi déposées dans le but de réaliser des conditions aussi voisines que possible des conditions habituelles de la vie du ver. L'aquarium était placé dans un endroit très faiblement éclairé et constamment à l'abri de la lumière directe du soleil.

Disons en passant que l'extraction du ver n'est pas chose facile. CLAPARÈDE avait déjà noté ce fait et il l'explique par l'action des crochets portés par les tores, et dont il évalue le nombre à 15 000. Nous avons

réussi en découpant d'abord avec un scalpel quelques tronçons de la partie antérieure du tube sans blesser l'animal. A un moment donné, cette opération devenait impossible : le ver irrité se gonflait et faisait, sans doute, agir ses crochets. Nous introduisions alors dans la partie postérieure du tube une canule de verre et nous attendions patiemment que l'habitant s'étendit. Alors, une insufflation brusque nous permettait parfois de le projeter violemment hors de sa demeure.

Douze *Omenia* dénudées et placées dans les conditions ci-dessus indiquées vécurent pendant cinq semaines. Les vers se tenaient couchés à la surface du sable et se mouvaient très peu. Pas un seul ne refit son tube.

Dans une autre expérience, nous laissâmes aux vers, autour de leur extrémité caudale, un tronçon de tube long d'un centimètre. Dès le lendemain, tous s'en étaient débarrassés. Leur sort fut semblable à celui des premiers.

Dans des essais ultérieurs, nous leur avons laissé un tronçon équivalent à un peu moins de la moitié de la longueur du corps. Tous se refirent un tube. Trois jours après la dénudation, la plupart des individus avaient allongé leur tronçon d'environ un demi-centimètre, et se tenaient repliés en deux dans cette gaine encore trop courte, de telle façon que leur corps se trouvait déjà presque entièrement protégé. L'extrémité antérieure de ce tube nouveau était encore nue et dans la suite il y resta toujours une portion nue dont la longueur variait de un millimètre à un centimètre. Il résulte de ces expériences que la gaine interne s'établit d'abord et ne se recouvre de pierrettes que graduellement et seulement un certain temps après son édification. Les tubes que l'on trouve dépourvus de tronçon nu en avant sont donc, selon toute apparence, dans un état temporaire de non-croissance.

Les particules solides, disons-nous, ne paraissent adhérer à la gaine qu'après un certain temps. Ce fait est assez étrange, surtout si l'on songe que la substance émise par les glandes filières se durcit rapidement sous l'eau comme la soie des trichoptères et des argyronètes (1).

On peut supposer par là que des portions de substance déversées ultérieurement sur la face externe des premières couches établies servent à fixer ces particules au tube. Peut-être le produit de certaines cellules sécrétantes de l'épiderme sert-il aussi de ciment. L'observation des *Omenia* vivant dans leur milieu naturel ne manquerait pas de fournir des éclaircissements à ce sujet.

(1) G. GILSON : *La soie et les appareils séricigènes Trichoptères*; LA CELLULE, t. X, 1^{er} fasc., 1894.

Ces phénomènes extérieurs constatés, nous fixâmes les glandes de quelques individus ayant refait un tronçon de tube depuis 3, 4 et 5 jours. Aucun changement visible n'était survenu dans l'état de leur épithélium. Comme chez les individus fraîchement pêchés, les cellules épithéliales se présentaient dans des états divers : tantôt remplies d'enclaves, tantôt dépourvues de celles-ci. Le contenu des glandes était pourtant notablement moins abondant; le cylindre de substance filifère ne remplissait plus toute la lumière.

Nous attendimes alors jusqu'au quatorzième jour après l'enlèvement partiel du tube. A partir de ce moment, nous rencontrâmes des glandes présentant un aspect particulier. C'étaient des glandes à enclaves; mais celles-ci étaient plus petites et moins nombreuses que d'habitude. En outre, beaucoup de cellules présentaient dans la partie de leur cytoplasme avoisinant la lumière une modification bien nette, FIG. 12. Cette partie était entièrement dépourvue d'enclaves; elle se distinguait de la partie externe de la cellule par une opacité frappante et un aspect richement granuleux. Aucune partie des glandes non mises en expérience ne nous avait jusque là présenté cet aspect. Parmi ces cellules modifiées, il s'en trouvait d'autres dont le cytoplasme avait gardé l'aspect lâche et réticulé, habituel aux éléments à enclaves, FIG. 12, *co.*

Nous croyons que ces deux modifications concomitantes : la diminution des enclaves et l'apparition, dans la zone voisine de la lumière, d'une substance granulée très dense s'expliquent naturellement. Les enclaves qui constituent des matériaux de réserve accumulés se dissolvent à un moment donné, et à leurs dépens il s'organise d'autres substances qui se déposent sous forme de granules vers l'extrémité interne ou sécrétante de la cellule.

Ajoutons à cette observation que, pas plus dans les glandes provenant d'individus soumis à la dénudation que dans celles des animaux fraîchement dragués, nous n'avons rencontré d'enclaves tombées dans la lumière du tube glandulaire; jamais non plus, les cellules épithéliales ne s'ouvrent pour déverser directement des substances contenues dans leur protoplasme.

L'ensemble de ces remarques nous oblige à admettre que la substance remplissant les tubes glandulaires de l'*Owenia* y est déversée par les cellules épithéliales de la même façon que la soie ou la substance séricigène est déversée, chez les lépidoptères et les trichoptères, par les cellules des glandes filières, c'est-à-dire par un phénomène de suintement régulier à travers la membrane cellulaire.

En augmentant expérimentalement la dépense de la substance filière, on provoque, après un certain temps, une recrudescence d'activité dans les glandes. Mais on ne cause ainsi ni le passage direct des enclaves dans la lumière, ni l'ouverture des cellules, ni rien qui ressemble au mode de sécrétion par déversement direct, dont les cellules caliciformes offrent le type. On provoque, au contraire, par ce moyen, la dissolution des enclaves qui paraissent constituer de simples matériaux de réserve et, sans doute, ultérieurement une recrudescence dans le phénomène du suintement ou de l'excrétion du produit spécial de la sécrétion.

Le mécanisme de la sécrétion, ou plutôt de l'excrétion cellulaire, est donc le même dans les glandes filières de l'*Omenia* que dans celles des lépidoptères et des trichoptères. Dès lors, il est certain que les filaments charriés par la masse visqueuse produite par ces glandes n'ont pas la même signification que les bâtonnets qui, chez les *Phyllodoce* et d'autres vers, se forment dans le cytoplasme des cellules glandulaires, ou que les rhabdites des turbellariés et les nématocystes des cnidaires.

Les filaments de l'*Omenia* se forment de toutes pièces dans la lumière du tube, aux dépens du liquide épais qui suinte à travers la membrane cellulaire. Ce phénomène remarquable n'est pourtant pas unique de son espèce; il existe d'autres exemples de formation spontanée de productions solides au sein de liquides sécrétés. Tels sont, par exemple, les globules charriés par le plasma des vésicules séminales de certains animaux. Mais il convient surtout de les rapprocher des fils solides de soie proprement dite élaborés par les larves des lépidoptères et des trichoptères. Ceci demande un mot d'explication.

Rappelons d'abord les conclusions auxquelles nous ont mené de précédentes recherches sur ces deux groupes d'insectes ¹¹. Chez les chenilles, comme chez les phryganes, l'épithélium des glandes déverse un liquide visqueux par suintement au travers d'une membrane intacte. Au sein de ce liquide, il apparaît un cylindre occupant l'axe du tube glandulaire et formé d'une substance plus réfractaire et plus brillante que la partie périphérique de ce contenu. Cette substance centrale devient le fil de soie. C'est elle que la larve étire en un filament, dont elle peut faire varier l'épaisseur grâce à un appareil tout spécial situé dans la partie antérieure du système fileur. Elle s'épaissit déjà dans la glande, à mesure qu'elle s'approche de la partie

¹¹ E. GILSON : *La soie et les appareils séricigènes. Lépidoptères et Trichoptères*; LA CELLULE, t. VI, 1^{er} fasc. et t. X, 1^{er} fasc.

supérieure, et devient complètement solide immédiatement après sa sortie de la canule fileuse, soit qu'elle se trouve alors exposée à l'air comme chez les chenilles, ou qu'elle soit plongée dans l'eau comme chez les phryganes et l'*Argyroseta*. La couche périphérique est entraînée avec la substance centrale et son épaisseur est réglée plus ou moins par la presse fileuse. Elle constitue le grès du fil de cocon. On ne peut faire que des hypothèses au sujet de la genèse de ce fil central. Nous sommes porté à admettre que la couche périphérique ou grès n'est autre chose que le liquide excrété lui-même, comme tel ou additionné peut-être des produits de déchets du travail qui a pour résultat la formation de la substance centrale ou fibroïne. Quant à la cause de ce dernier phénomène, elle nous échappe aussi bien que celle qui empêche le durcissement de la soie dans la glande; KRUKENBERG appelle celle-ci " ein mysteriöser Einfluss. "

Quoi qu'il en soit, les phénomènes visibles de la sécrétion des glandes de l'*Owenia* comprennent deux phases semblables : 1^o le suintement d'un liquide visqueux au travers d'une membrane intacte; 2^o l'apparition pour ainsi dire spontanée de parties solides au sein de ce liquide visqueux. Seulement, au lieu du cylindre unique et homogène de substance axiale ou de fibroïne des insectes, il apparaît ici un grand nombre de filaments très fins. Le liquide qui charrie les fils serait donc analogue, — nous ne disons pas identique, — au grès de la soie, et les écheveaux de filaments correspondraient à la soie elle-même.

Une observation faite au cours de ces recherches nous éloigna pendant quelque temps de cette manière de voir, mais nous y revînmes bientôt. Ayant débité une glande en coupes longitudinales, nous remarquâmes qu'il existait sur une certaine longueur une couche de substance apparemment dépourvue de filaments. Ce fait rendait plus naturel encore le rapprochement entre les chenilles et l'*Owenia*. Mais dans le but de reconnaître si les filaments étaient réellement absents dans cette zone, ou simplement cachés, nous traitâmes la coupe par la soude caustique pendant une douzaine d'heures. Nous l'examinâmes après neutralisation, lavage et coloration par le bleu-carmin. Chose assez remarquable, la substance qui, dans son état naturel, refuse absolument le bleu carmin, le fixait alors intensément. Une partie du contenu avait entièrement disparu et l'on constatait dans le tube de nombreux espaces vides. Cependant, en quelques endroits, de fortes traînées rattachaient encore la masse centrale, riche en filaments, à l'épithélium et, dans ces parties, on apercevait de nombreux filaments grêles, un peu granu-

leux et assez mal définis, FIG. 11. Beaucoup d'entre eux se poursuivaient jusqu'à l'épithélium et se rattachaient à la membrane cellulaire elle-même. Devant cette apparence, il y avait lieu de se demander si ces filaments grêles, courant obliquement vers l'orifice de l'organe, c'est-à-dire dans le sens de l'excrétion, ne sortaient pas directement du protoplasme et si la membrane cellulaire ne jouait pas, dans leur formation, le rôle d'un crible dans lequel on comprimerait une substance pâteuse. Leur genèse s'expliquerait alors par un phénomène mécanique.

Mais nous avons remarqué bientôt que, tout minces qu'ils étaient, ces filaments en formation sont encore plus gros que les mailles si fines de la membrane. Ils sont aussi infiniment moins nombreux. En outre, la substance qui les constitue n'est pas décelable comme telle de l'autre côté de la membrane; celle-ci était restée intacte. Ces remarques nous éloignent déjà de cette interprétation et nous portent à chercher l'explication du phénomène ailleurs que dans un processus qui paraît bien grossier, si on songe à l'extrême délicatesse de la membrane filtrante.

En outre, une observation positive que nous fîmes vers la même époque vint à la fois nous faire abandonner complètement cette hypothèse, et lever nos doutes au sujet de l'autre interprétation de la genèse des filaments.

En étudiant les enclaves blanches, celles qui refusent le bleu-carmin, comme la soie, et dont nous avons signalé la rencontre accidentelle, nous remarquâmes que l'une d'entre elles, très volumineuse, présentait exactement le même aspect que le contenu du tube : on y distinguait une foule de filaments enroulés, identiques à ceux que baigne le liquide excrété par les cellules ou, peut-être, un peu plus ténus. Cette observation importante démontre deux choses : 1° que les enclaves blanches sont bien des masses du produit spécial de la sécrétion et que, par suite, les enclaves colorées en vert par le bleu-carmin n'en sont pas; 2° que les fils se forment pour ainsi dire spontanément dans la substance sécrétée et non par l'action de la membrane qui agirait comme un crible. Nous avons revu l'aspect filamenteux dans une autre enclave plus petite, qui est précisément celle qui est représentée dans la FIG 10, et dans d'autres plus grosses.

L'aspect de la coupe représentée FIG. 11 ne peut donc indiquer qu'une seule chose : c'est que les filaments se forment *très tôt* dans la substance excrétée par les cellules épithéliales. Et c'est peut-être en cela que git la cause de la différence entre l'*Orrenia* et les chenilles. Chez ces dernières, la formation et le triage des molécules qui vont constituer la soie étant des

phénomènes moins hâtifs, plus lents, plus réguliers, aboutissent à la formation d'une seule masse homogène, le cylindre central. Chez l'*Owenia*, ils se produisent immédiatement et de façon à former, non pas un seul amas central, mais une foule de petits amas filamenteux. De même, une substance peut cristalliser suivant les conditions en s'ordonnant autour d'un grand nombre de centres d'attraction, ou bien en ne formant, au contraire, qu'un petit nombre de gros cristaux.

Le liquide qui charrie les filaments de l'*Owenia* peut être considéré comme l'analogue, — non pas exactement au point de vue chimique, mais bien au point de vue physiologique, — du grès des lépidoptères. C'est dans lui que sont nés ces filaments; il représente les eaux-mères d'une cristallisation. Mais il se transforme lui-même, par une coagulation spéciale, en une substance solide, après l'édification du tube; et dans cet état, il paraît différer moins de la substance des filaments que le grès ne diffère de la soie.

Évacuation de la substance sécrétée.

Contrairement aux glandes filières des insectes, les glandes de l'*Owenia* sont munies d'une tunique de fibres musculaires longitudinales, et il n'est pas douteux que la contraction de celles-ci ne soit l'agent du phénomène de l'évacuation de leur contenu. En somme, l'absence d'éléments contractiles dans les glandes des larves fileuses est un fait plus singulier que leur présence chez l'*Owenia*. Cette absence est en rapport avec le mode tout particulier d'excrétion du produit visqueux de leurs glandes, à savoir : l'étirement, l'extraction purement mécanique de cette substance. Ici, la contraction musculaire, aidée peut-être par la pression interne du corps, peut seule causer l'évacuation; l'étirement, s'il se produit, doit être accidentel.

L'obturation de la glande, ainsi que nous l'avons dit, n'est assurée que par la rétraction tonique ou élastique des parties avoisinant l'orifice. Aucun appareil dilatateur ne s'est révélé à nous. Il semble donc que les fibres musculaires, pour effectuer l'expulsion, doivent vaincre une certaine résistance résultant de ce mode grossier d'obturation. Rien ne représente ici l'appareil que nous avons décrit sous le nom de *presse* chez les chenilles et les larves de phryganes et qui font des organes séricigènes de ces êtres un instrument si précis et capable de rendre à leur possesseur des services si variés.

Usage de la substance sécrétée.

Le produit des glandes, quelle que soit sa nature chimique, sert à la confection du tube dans lequel l'*Owenia* passe son existence. C'est ce que démontre l'étude de ce tube lui-même, ainsi que nous le verrons. L'animal s'en sert pour se faire d'abord une gaine transparente et régulière sur laquelle il fixe bientôt des particules étrangères pour la consolider, la protéger et la cacher.

STRUCTURE DU TUBE DE L'OWENIA.

Le tube de l'*Owenia* est d'ordinaire beaucoup plus long que le corps de l'animal, il atteint jusqu'à 30 centimètres de long. Extérieurement, il paraît formé d'une agrégation de particules minérales dont les dimensions variables n'excèdent guère un millimètre. Elles consistent en débris de coquilles de mollusques, de tubes calcaires d'annélides, de grains de quartz et d'autres fragments de roches. On y trouve aussi des débris de tissus végétaux.

Tout cet amas pierreux ne constitue que le revêtement extérieur du tube proprement dit. Celui-ci est formé d'une substance blanche, souple élastique et résistante. Il est visible à nu à son extrémité postérieure où il fait une saillie plus ou moins longue hors de la gaine minérale. Cette partie postérieure est de forme conique et se termine en pointe. Il existe à son extrémité un orifice étroit qui sert probablement à la sortie des excréments, fig. 22. Cette portion représente sans doute la partie la plus ancienne du tube, la première que l'animal ait sécrétée au début de son existence.

On remarquera dans la fig. 22 que les couches les plus externes de la paroi ne s'avancent pas jusqu'à l'extrémité du cône postérieur; elles s'arrêtent à une certaine distance en formant souvent un léger bourrelet. Ce détail n'est pas sans importance. Il indique que l'épaississement de cette paroi doit se faire par l'apposition de couches nouvelles sur la face extérieure des couches précédemment formées.

Très souvent, l'extrémité antérieure du tube proprement dit est également nue. Elle est toujours cylindrique et présente un orifice assez large pour laisser passer le corps du ver, tout en l'enserrant étroitement; son bord est souvent replié à l'intérieur en forme d'ourlet. Les expériences que nous avons relatées plus haut ont démontré que cette partie antérieure, la dernière construite, ne se recouvre que graduellement de particules étrangères.

Les deux extrémités étant nues peuvent être enlevées et examinées comme telles avec la plus grande facilité. Mais il est aisé aussi de dégager la gaine de son revêtement minéral en raclant le tube à l'aide d'un scalpel sous un filet d'eau ; on arrive ainsi avec un peu d'adresse à la dégager sur toute sa longueur sans l'inciser ni la déchirer. Si alors on introduit dans l'extrémité antérieure un tube de verre effilé, on peut l'insuffler, la gonfler et constater qu'elle est absolument imperforée, sauf à ses deux extrémités. La surface de la portion débarrassée des grains de sable est couverte d'empreintes laissées après l'enlèvement de ces particules.

Des coupes transversales des deux portions naturellement nues montrent que la paroi de la gaine est épaisse et formée d'un grand nombre de couches concentriques, FIG. 21. Parfois, on distingue une zone extérieure présentant par endroits de fortes stries radiales. Celles-ci paraissent trop grossières pour être des stries de structure analogues à celles des cuticules véritables, elles se présentent plutôt comme des effets de plissement intérieur.

Des coupes tangentielles montrent dans cette paroi un système assez peu régulier de stries circulaires grossières ; et l'application d'un système grossissant assez fort y fait apparaître une multitude de stries longitudinales très fines, mais assez irrégulières. Ces dernières, à en juger par leur grosseur, ne sont autre chose que les filaments produits par les glandes.

Telles sont les données que nous ont fournies des coupes obtenues par les procédés ordinaires d'enrobage à la paraffine. Mais un autre procédé, que nous ne décrivons pas ici parce qu'il exige encore des perfectionnements, nous a permis de pratiquer des sections dans le tube complet, non débarrassé de son revêtement minéral. Celles-ci se sont montrées bien plus intéressantes que les premières, pour le double motif qu'elle établissaient avec précision les rapports de la gaine organique avec le revêtement minéral et que la texture de la première y était beaucoup plus distincte.

L'une de ces sections est représentée, FIG. 23, sous un faible grossissement. On y notera d'abord que la gaine comprend deux parties : une zone interne, d'épaisseur à peu près égale et parcourue de couches concentriques assez régulières, et une zone externe irrégulière. Cette dernière envoie des prolongements entre les particules étrangères et paraît formée de lambeaux jetés sur la première et chargés de relier à celle-ci les éléments divers du revêtement minéral.

La zone interne représente la portion la première établie, celle-la même qui souvent se présente seule et nue à l'extrémité antérieure du tube, FIG. 21. La seconde, au contraire, est formée des masses de substance déposées secondairement à l'extérieur des premières. Elle correspond, en partie, aux couches surajoutées qui se superposent par étages à l'extrémité postérieure, FIG. 22. On en voit des prolongements s'insinuer entre les premières pierres du revêtement et s'accoler à des particules plus extérieures appartenant à une deuxième assise minérale irrégulière. Certains grains sont presque entièrement enveloppés par eux.

Cette zone contient, comme l'interne, des couches distinctes; mais la stratification de celles-ci est loin de concorder avec celle des couches sous-jacentes. Elle est souvent oblique et parfois même perpendiculaire à cette dernière.

La substance des deux zones examinée dans ces coupes présente, outre les couches stratifiées, d'innombrables points brillants disposés en lignes, à peu près comme ces couches. Ces points sont parfois ronds; mais d'autres fois ils s'allongent et affectent la forme de bâtonnets ou même de véritables tronçons de filaments. L'emploi d'un bon objectif à immersion fait reconnaître en eux d'une façon indubitable les filaments qui préexistent à la formation de la gaine et sont charriés par le liquide qui remplit les glandes. Ces filaments sont souvent disposés en petits groupes de trois ou quatre; ailleurs ils sont en rangées simples. Ils ont certainement une tendance à s'orienter dans le sens de la longueur du tube.

CONFECTION DU TUBE.

On peut se représenter de la manière suivante les divers actes de l'édification ou, plus exactement, de l'accroissement du tube, car la larve de *Owenia* n'étant pas connue, on n'a pu l'observer jetant les bases de l'édifice.

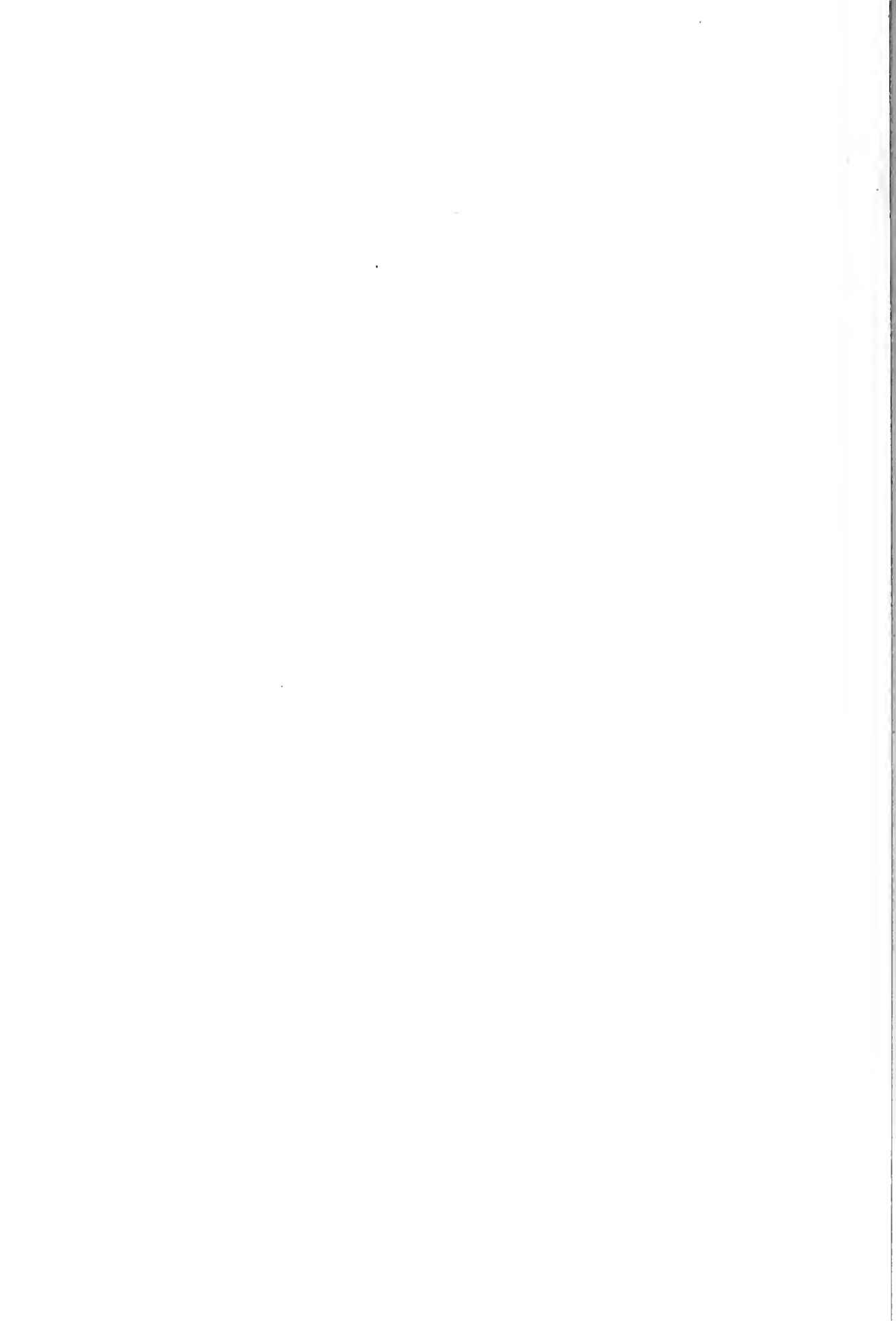
La substance élaborée par les glandes est expulsée de celles-ci par la contraction de leurs fibres musculaires. Elle tombe alors dans l'espace qui existe entre le corps de l'animal et la gaine déjà formée. Se mêle-t-elle là avec le produit de certaines cellules glandulaires dont il existe un nombre immense et des variétés diverses dans l'épiderme? Nous l'ignorons. Notons qu'étant elle-même insoluble dans l'eau, elle est peu apte à se mêler aux substances muqueuses, c'est-à-dire extraordinairement riches en eau, qui sont déversées par le plus grand nombre de ces cellules caliciformes. La

présence de ces derniers éléments n'a, comme on sait, rien de spécial à l'*Owenia*. Ils existent chez tous les annélides en plus ou moins grande quantité et leur produit visqueux joue chez tous un rôle de protection. Chez les tubicoles, il sert en outre à faciliter le glissement du ver dans son tube.

Mais parmi les cellules glandulaires épidermiques de l'*Owenia*, il en est dont le contenu granuleux particulier ressemble à celui des éléments qui, chez beaucoup d'autres tubicoles, servent seuls à la fabrication du tube. La masse filifère déversée par les glandes filières se mêle-t-elle au produit spécial de ces dernières? C'est possible, mais pas démontré. Rien dans l'aspect de la paroi du tube ni dans ses réactions ne nous a, jusqu'ici, révélé ce fait.

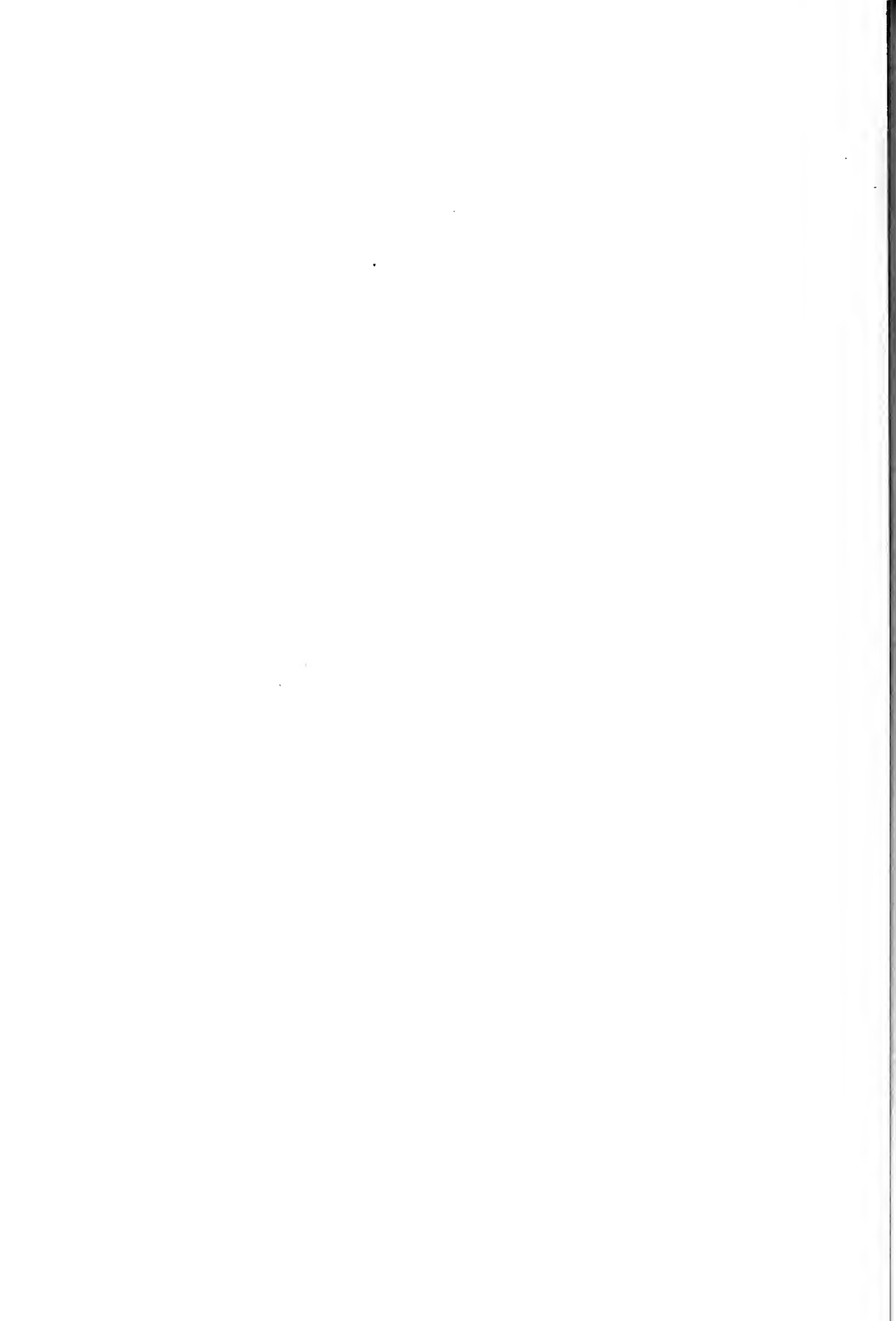
Quoi qu'il en soit, le liquide filifère doit sortir de cet espace; car de l'examen de nos coupes longitudinales et transversales, il ressort qu'il ne s'applique pas à la face interne de la gaine. Il doit donc gagner les bords de l'orifice antérieur. Or, pour ce qui concerne la sixième et la septième paire, l'espace qui l'en sépare est considérable; il peut atteindre plus de deux centimètres. Il est probable que le corps de l'animal, par des mouvements successifs d'allongement et de rétraction, entraîne les corps gisant dans la cavité de la gaine. On peut concevoir que ces mouvements, en se réglant et s'ordonnant d'une certaine façon, dirigent les petits amas de substance plutôt vers l'avant que vers l'arrière. Une part importante dans ce phénomène revient sans doute aux crochets aigus des tores ainsi qu'aux cils vibratiles qui recouvrent certaines régions du corps.

Arrivées à l'orifice antérieur, les masses visqueuses peuvent ou bien s'ajouter au bord lui-même et contribuer ainsi à l'allongement de la gaine, ou bien être rejetées au-dehors et appliquées à la surface externe pour y faire adhérer les particules solides qui se mettent en contact avec elle. Il est probable que l'observation attentive et soutenue de l'animal dans son état naturel fournirait des données plus complètes sur ces phénomènes. Elle permettrait peut-être de découvrir si les tentacules branchiaux et les faisceaux de soies y jouent un rôle et de reconnaître si l'accroissement du tube et l'application des particules minérales sont le résultat d'actes volontaires, intentionnels ou simplement la conséquence de mouvements pour ainsi dire automatiques et sans but déterminé. Nous regrettons de n'avoir pu prolonger suffisamment notre séjour à Naples pour observer des colonies d'*Owenia* bien acclimatées à la vie d'aquarium.



BIBLIOGRAPHIE

- Delle Chiaje* : Descrizione e notomia degli animali senza vertebre. Napoli.
- Kolliker* : Kurzer Bericht über einige im Herbst 1864 an der Westküste von Schottland angestellte vergleichend-anatomische Untersuchungen; Separat-abdruck aus der naturw. Zeitschrift, Bd. V, Würzburg, 1864.
- Claparède* : Les annélides chétopodes du golfe de Naples; Mém. de la Soc. de Phys. et d'Hist. nat. de Genève, t. XX avec suppl.
- » Recherches sur les Annélides sédentaires; Ibid., t. XXII, 1873.
- von Drasche* : Beiträge zur feineren Anatomie der Polychaeten. Zweites Heft. Anatomie von *Owenia filiformis*. Wien, C. Gerold's Sohn, 1885.
- H. Eisig* : Die Capitelliden; Fauna und Flora des Golfes von Neapel, XVI, 1887.
- Fr. Janssens* : Les branchies des acéphales; La Cellule, t. IX, 1^r fasc., 1893.
- G. Gilson* : La soie et les appareils séricigènes. Lépidoptères; La Cellule, t. VI, 1^r fasc., 1890.
- » Lépidoptères (*suite*). Trichoptères; Ibid., t. X, 1^r fasc., 1894.
- Krukenberg* : Vergleichend-physiologische Vorträge. Heidelberg, 1886.



EXPLICATION DE LA PLANCHE

FIG. 1. Croquis topographique. *Owenia fusiformis* femelle ouverte par une incision ventrale longitudinale : *br*, branchies fortement contractées par l'alcool; G^1 à G^7 , glandes filières; G^3 est la glande rudimentaire du troisième segment thoracique; D^2 , dissépiement séparant la région thoracique de la région abdominale; *eg*, entonnoir génital; *lmd*, ligne d'insertion du mésentère dorsal excisé.

FIG. 2. $A \times 1$. Croquis topographique indiquant la position de l'orifice de la quatrième paire de glandes filières : *og*, orifice de la glande; *f*, faisceau de soies segmentaires; *t*, esquisse du premier tore uncinigère.

FIG. 3. $A \times 1$. Glande de la sixième paire montrant la partie glandulaire divisée en une région antérieure sombre et une région postérieure claire : *ct*, canal terminal.

FIG. 4. $D \times 1$. Coupe longitudinale à la limite des deux régions de la partie glandulaire : sixième paire.

FIG. 5. $D \times 2$. G_3 , glande rudimentaire de la troisième paire : *m*, couche musculaire de la paroi du corps; *mb*, membrane basale; *ép*, épiderme (hypoderme) avec cellules glandulaires.

FIG. 6. $A \times 4$. G_3 , glande rudimentaire de la troisième paire; *f*, faisceau de soies du troisième segment thoracique; *ép*, épiderme.

FIG. 7. $1/12 \times 4$. Canal terminal : *c*, cellules épithéliales allongées, vues de face; *cc*, mêmes cellules en section optique; *fm*, fibres musculaires longitudinales.

FIG. 8. $1/12 \times 4$. Coupe longitudinale passant par l'embouchure d'une glande filière : *sf*, substance filifère évacuée; *mb*, membrane basale.

FIG. 9. $1/12 \times 2$. Tronçon de canal terminal contourné : *fm*, fibres musculaires longitudinales contournant obliquement le canal.

FIG. 10. $1/12 \times 4$. Portion d'une coupe transversale de la quatrième glande : *n*, noyau bosselé et uniformément coloré; *fm*, fibres musculaires coupées transversalement; *eb*, enclaves blanches contenant des filaments; *ev*, enclaves de réserve, teintées en vert par le bleu carmin; *sfl*, substance filifère. On y distingue des filaments diversement orientés.

FIG. 11. $1/12 \times 4$. Fragment d'une coupe longitudinale d'une des glandes, traitée par la soude caustique : *fl*, filaments s'ébauchant dans la substance sécrétée aussitôt après le suintement de celle-ci; *fm + pr*, couche musculaire et propria.

FIG. 12. $1/12 \times 4$. Fragment d'une coupe longitudinale d'une glande appartenant à un individu extrait de son tube depuis 4 jours; ce tube était en partie refait : *ev*, enclaves vertes peu volumineuses; *sg*, substance granuleuse; *co*, cellule ayant conservé dans toute son étendue l'aspect réticulé ordinaire.

FIG. 13. $1/12 \times 4$. Fragment de coupe transversale. Épithélium sans enclaves : *nfm*, noyaux des fibres musculaires.

FIG. 14. $1/12 \times 1$. Coupe longitudinale. Aspect réticulé du cytoplasme. Pas d'enclaves ni de substance granuleuse; *nc*, noyaux de la propria conjonctive; *fc*, fibre conjonctive (ou nerveuse?) se fixant à la propria; *fm*, tunique musculaire.

FIG. 15. $1/12 \times 4$. Coupe longitudinale. Épithélium très plat. Noyaux aplatis : *fm + pr*, tunique musculaire et propria.

FIG. 16. $1/12 \times 1$. Coupe transversale dans la partie postérieure d'une glande à enclaves vertes : *eb*, enclave blanche et filaments à l'intérieur; *ev*, enclaves vertes; *n*, noyau bosselé.

FIG. 17. $1/12 \times 4$. Épithélium vu de face. Quatrième glande. Individu dépouillé partiellement de son tube depuis cinq jours.

FIG. 18. $1/12 \times 4$. Portion de la face interne ou sécrétante d'une cellule épithéliale de la glande filière.

FIG. 19. $1/12 \times 4$. Tronçons moyens des fibres musculaires : *n*, noyaux.

FIG. 20. $1/12 \times 4$. Extrémités de quelques fibres semblables.

FIG. 21. $A \times 4$ réduit. Section transversale de la portion antérieure nue d'un tube d'*Owenia*. Individu fraîchement pêché.

FIG. 22. $A \times 1$. Extrémité postérieure d'un tube. On y remarque l'orifice *o* et les couches externes surajoutées de la paroi. Des infusoires se voient entre la gaine et la masse excrémentitielle.

FIG. 23. $A \times 1$. Section transversale du tube, un peu en avant de la moitié de sa longueur. On y distingue les deux zones de la gaine et le revêtement minéral. Une partie de celui-ci avait été enlevée avant la confection de la coupe; *cm*, coagulums muqueux.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction et aperçu historique	299
Méthode	301

APERÇU ANATOMIQUE

a) Nombre et topographie	302
b) Forme et dimension	304
c) Signification morphologique	305

STRUCTURE DE LA GLANDE

A. Glande proprement dite	305
<i>Épithélium</i>	306
<i>Tunique musculaire</i>	304
<i>Propria</i>	309
B. Canal terminal	310
C. Embouchure	311
<i>Les glandes atrophiées de la troisième paire</i>	312
<i>Cause de leur atrophie</i>	312

CONTENU DE LA GLANDE

<i>Recherches sur le mode de sécrétion du liquide filifère</i>	311
<i>Évacuation de la substance sécrétée</i>	321
<i>Usage de la substance sécrétée</i>	322

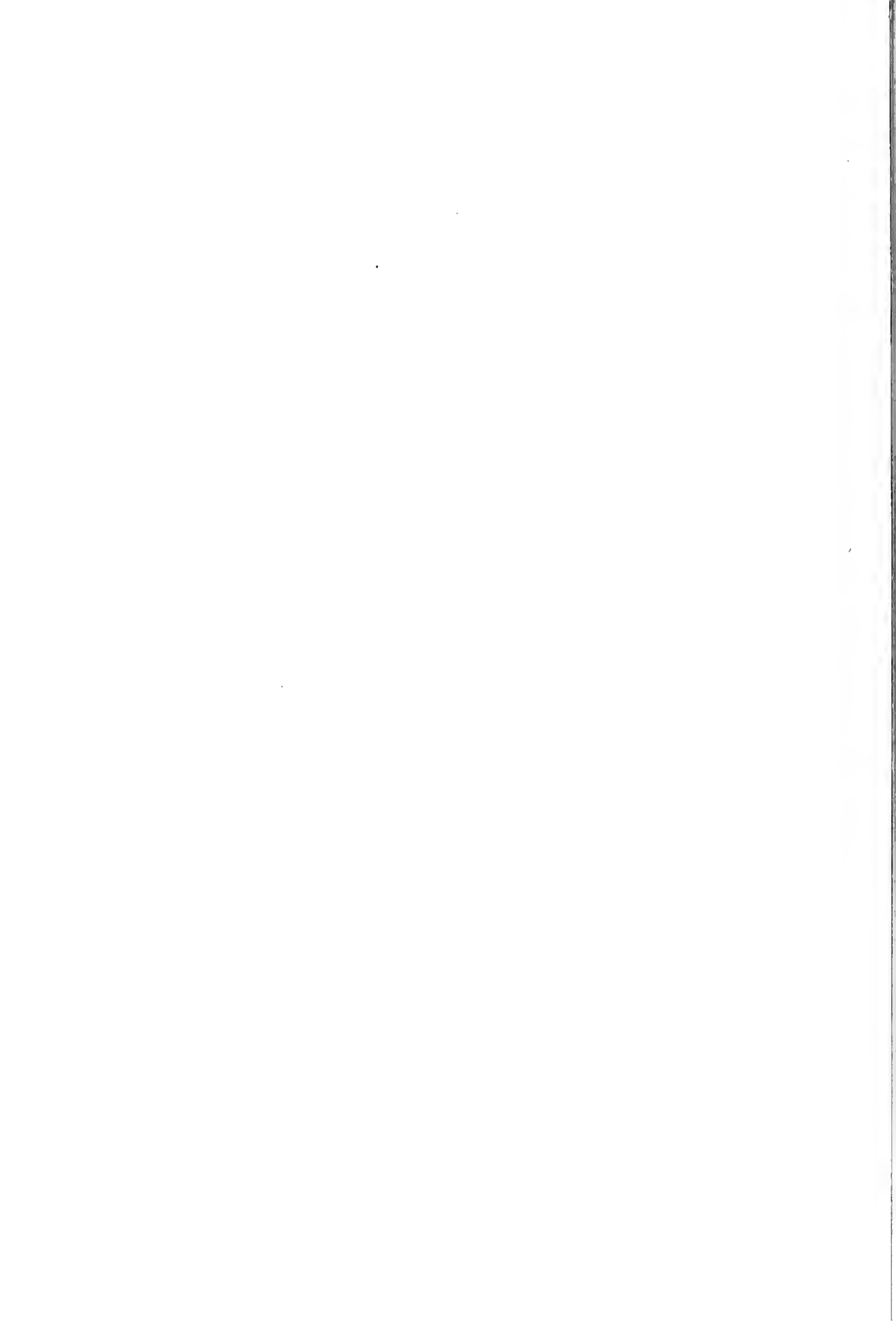
STRUCTURE DU TUBE DE L'OWENIA FUSIFORMIS

322

CONFECTION DU TUBE

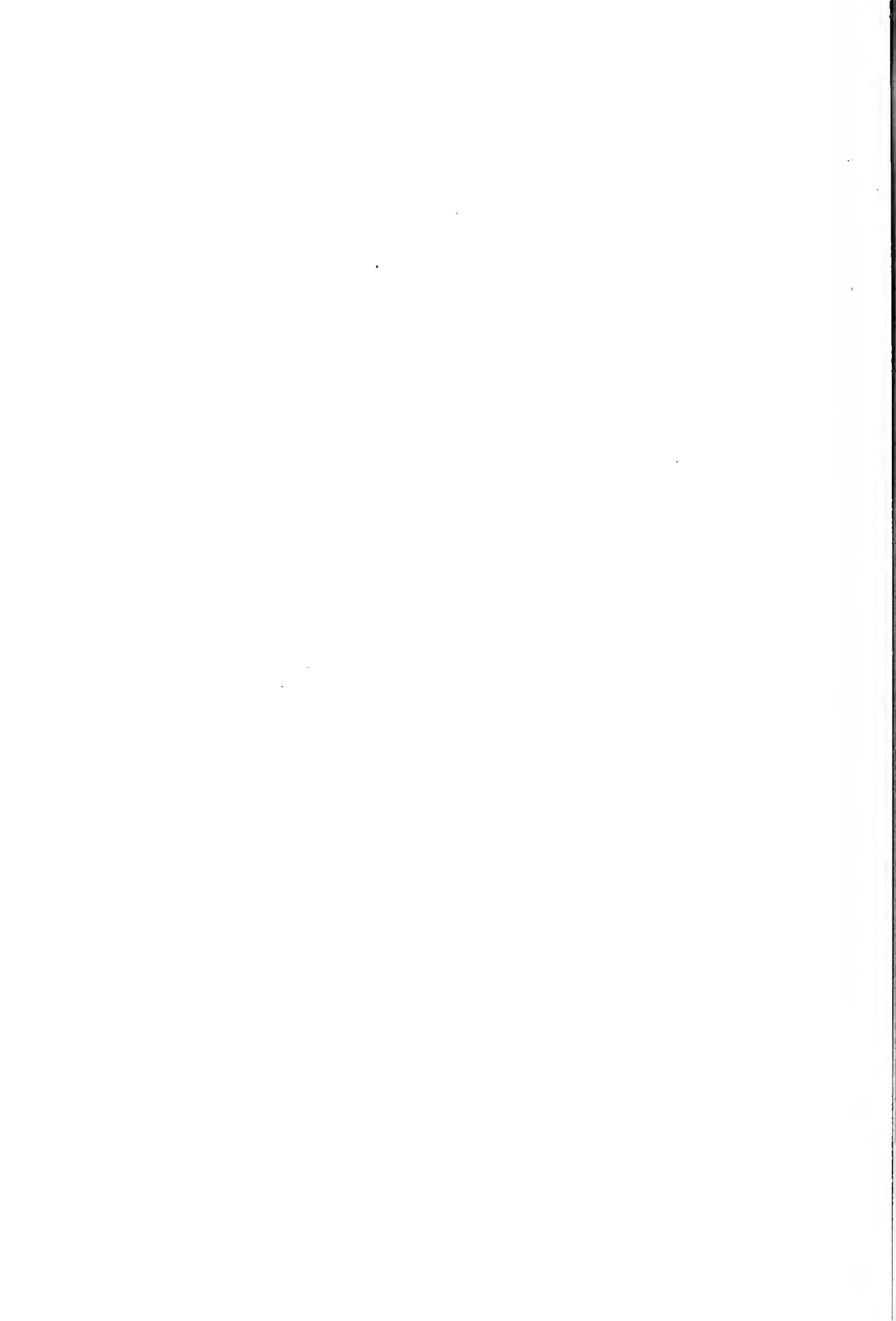
324

Bibliographie	327
Explication de la planche	326



Coccoloba yuzymensis.





LE SPHINCTER DE LA NÉPHRIDIE

DES

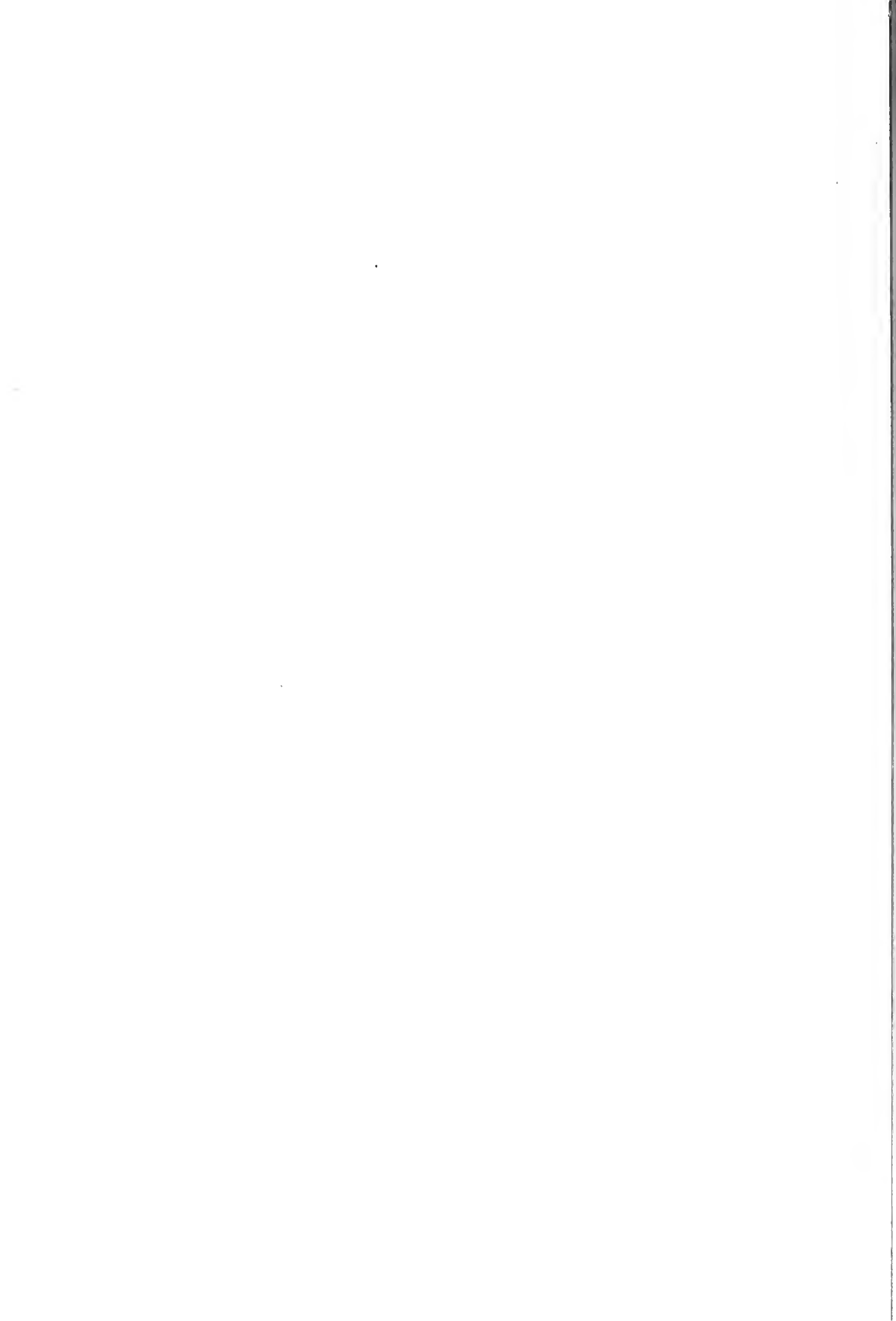
GNATHOBDELLIDES

PAR

H. BOLSIUS

PROFESSEUR AU COLLÈGE DE OUDENBOSCH (PAYS-BAS)

(Mémoire déposé le 25 février 1894).



LE SPHINCTER DE LA NÉPHRIDIE DES GNATHOBDELLIDES

Dans notre premier mémoire sur les organes segmentaires des hirudiniées (*La Cellule*, t. V, fasc. 2), nous avons signalé l'existence d'un sphincter à la base de la vésicule urinaire. Toutefois, nous n'avons guère insisté alors sur cette formation : à deux endroits (p. 387 et p. 414, nous la mentionnons comme en passant, et la fig. 11 de la Pl. I la représente d'une façon assez élémentaire. Mais dans un deuxième mémoire sur le même sujet (1), nous lui avons accordé plus d'attention, et nous en avons fait une étude assez complète, accompagnée de trois nouvelles figures. La première de ces figures, fig. 49, est une vue d'ensemble de toute la vésicule, y compris le sphincter ; la seconde, fig. 50, représente sous un plus fort grossissement le sphincter seul ; la troisième, fig. 51, reproduit une coupe transversale du même organe.

La découverte de ce sphincter n'a pas passé inaperçue : le Dr ARN. GRAF, dans un article intitulé - Zur Kenntniss der Excretionsorgane von *Nepheleis vulgaris* (2) - en parle incidemment en ces termes : - Bei Hirudo hat die Blase selbst keine Muskulatur, sondern es ist am Ausführungsgang ein Sphincter vorhanden. Diesen Sphincter hat BOLSIVS zuerst entdeckt, giebt aber eine so schematische Figur dafür, dass ich denselben hier auf Taf. VIII, Fig. 8, nach meinen Präparaten abbilde....- (Voyez notre Pl. I, fig. 4, cette figure réduite aux 2/3.)

L'auteur ne paraît pas avoir pris connaissance du passage de notre deuxième mémoire, — cité dans sa liste bibliographique, — qui contient la description du sphincter. Il décrit donc et interprète à sa manière des dispositions que nous avons déjà fait connaître et interprétées autrement.

(1) *La Cellule*, t. VII, fasc. 1, 1894.

(2) ARN. GRAF : *Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft*, N. F., Bd. XXI, p. 166, ss.

Nous ne mettons nullement en question la bonne foi de GRAF. Néanmoins, étant donné l'intérêt particulier qui s'attache à ce sphincter, nous croyons juste et désirable d'abord que nos droits de priorité soient établis et ensuite que la structure réelle de l'organe soit décrite exactement.

D'autre part, nous avons retrouvé le sphincter dans un grand nombre d'hirudinées et entre autres, dans beaucoup d'espèces exotiques qui nous ont été communiquées par M. RAPH. BLANCHARD de Paris. Nous joindrons à quelques remarques sur les descriptions de GRAF un exposé succinct de ces nouvelles observations. Cette communication n'est donc pas un simple article de polémique.

Enfin, qu'il nous soit permis de déclarer que, si nous ne traitons ici que du sphincter, cela n'implique nullement que nous sommes d'accord avec l'auteur sur tous les autres points de son mémoire, fort intéressant d'ailleurs. Nous comptons revenir plus tard sur ses observations au sujet d'autres détails de l'organe néphridien des hirudinées.

§ 1. *Hirudo medicinalis.*

C'est au sujet de cette espèce que le désaccord existe entre nos descriptions et celles de GRAF.

Nous comprenons l'appareil obturateur du conduit vésiculaire comme il suit. C'est un anneau musculaire unique qui entoure le conduit efférent de la vésicule urinaire à quelque distance de la face ventrale de l'animal, comme on le voit dans la FIG. 49 de notre deuxième mémoire, publié dans le tome VII, fasc. 1, de ce recueil. Il n'y a pas d'interruption dans la couche de cellules musculaires, FIG. 50. En outre, les fibres du sphincter sont généralement beaucoup plus étroites que celles de la musculature du corps, et par suite, faciles à distinguer de ces dernières, ainsi que le montrent les FIG. 49 et 51 (1).

GRAF, au contraire, croit trouver trois parties distinctes dans la musculature du conduit excréteur.

D'abord, il y aurait un sphincter, rm_1 , FIG. 4 (fig. 8 de GRAF), composé de plusieurs assises de cellules musculaires, dont les diamètres varient énormément dans la figure de l'auteur. Ce serait là le sphincter découvert

(1) Remarquons que ces figures sont tirées de préparations d'un *Hemopsis vorax*, variété *Aulastomon gulo*, d'après les renseignements fournis par RAPH. BLANCHARD. Le type de l'organe est le même que celui de l'*Hirudo*.

par nous et décrit dans notre premier mémoire. Puis, tout le long du conduit, *SpB*, FIG. 4, il y aurait des cellules musculaires semblables, *rm₃*, disposées en une assise unique. Cette musculature serait distincte de la précédente. Enfin, au bas du conduit, tout près de la surface du corps, (qui dans la figure de GRAF est en haut, l'animal étant couché sur le dos), il se trouverait un autre sphincter, *rm₃*, FIG. 4, le plus puissant de tous.

Depuis la publication du mémoire de GRAF, nous avons revu nos préparations et nous en avons fait d'autres dans un but de contrôle. Ces nouvelles observations n'ont fait que nous confirmer dans notre opinion première.

Nous nous expliquons fort bien aujourd'hui la manière de voir de GRAF, mais nous pensons que s'il avait pris en considération nos trois figures citées plus haut, il serait arrivé à d'autres conclusions. S'il avait noté que depuis longtemps déjà nous avons indiqué les cellules de *rm₃* comme appartenant au sphincter unique, il n'aurait pas été porté à en faire un anneau à part, distinct du premier, *rm₁*. Voici comment il s'exprime au sujet de sa fig. 8 que nous reproduisons un peu réduite dans notre FIG. 4 :

- *Eb* est une portion de la vésicule dessinée ici en partie seulement;
 - *ep* est l'épithélium pavimenteux de la vésicule de l'*Hirudo*; *Ci* sont les
 - cils, *Epid* est l'épiderme. Nous voyons ainsi, entre l'épiderme et la vési-
 - cule terminale, le conduit excréteur se dilater en une petite vésicule, la
 - vésicule sphinctériale (*SpB*, Sphincterblase). Cette dernière communique
 - avec la vésicule terminale par le conduit excréteur, très étroit en cet en-
 - droit, et autour duquel se développe un puissant sphincter (*Ringmuskel-*
 - *schicht*, *rm₁*). L'autre portion du conduit excréteur, au moyen duquel la
 - vésicule sphinctériale communique avec l'extérieur, est pareillement en-
 - tourée d'un puissant sphincter, *rm₂*. De plus, la vésicule sphinctériale
 - elle-même est ornée de muscles circulaires séparés, *rm₃*. Ainsi, nous avons
 - ici un double sphincter. - (1)

Tout d'abord, nous ne voyons pas de quel droit GRAF sépare la musculature *rm₁* de la musculature *rm₂*.

(1) ARN. GRAF, l. c., p. 166 et seq. M^r le D^r GRAF, répondant à une lettre dans laquelle nous lui signalions les quelques divergences qui existent entre ses observations et les nôtres, nous dit entre autres choses : « Vous ne semblez pas bien avoir compris ce que je voulais dire par *rm₁*, *rm₂*, *rm₃*. « C'étaient pour moi trois différentes parties d'un seul sphincter *RM* ou *Sp*. » Nous sommes heureux de rapporter ici cette manière de voir nettement exprimée par l'auteur dans sa lettre du 26 mars, — postérieure au dépôt de ce mémoire — mais qui ne nous paraît pas ressortir du texte que nous citons en le traduisant. La présente communication servira à dissiper toute équivoque, en même temps qu'à compléter et à rendre plus précises nos connaissances au sujet de l'appareil obturateur de la vésicule néphridiale.

Des FIG. 49 et 50 de notre deuxième mémoire, il ressort que l'ensemble des fibres musculaires constitue une gaine contractile indivise, ininterrompue.

Mais à ces données anciennes, ajoutons quelques observations nouvelles faites sur d'autres préparations de l'*Hirudo*.

Les FIG. 1, 2 et 3 sont les dessins de coupes successives pratiquées longitudinalement dans l'animal.

La première, FIG. 1, reproduit l'extrémité du conduit de la vésicule, Γ , FIG. 2, 3 et 5, avec le pore p s'ouvrant sur le côté d'un anneau externe, ae . Près du conduit, il y a une quantité de fibres musculaires, cm , pour la plupart transversales. On n'y voit point de cellules contournant le conduit.

La FIG. 2 représente une coupe effleurant en trois endroits la paroi du conduit, en x , y , ζ . Au-dessus de ζ , on aperçoit de nouveau l'épithélium, ep , coupé à plat, vu de profil. Il n'y a que du tissu conjonctif, tc , autour du conduit, comme dans la FIG. 1. Le sphincter commence en ζ par des cellules musculaires très étroites, dirigées un peu obliquement. En y , comme en ζ , nous rasons la paroi; c'est pourquoi les cellules du sphincter peuvent y être vues, suivant la mise au point, en coupe sur les bords du conduit, ou bien en long sur le plein de l'organe. Entre y et x , les muscles sont franchement sectionnés; en x enfin, même aspect qu'en y avec cette différence que les cellules musculaires sont placées sur plusieurs assises.

La FIG. 3 reproduit la coupe succédant à celle que représente la FIG. 2. Les cellules du sphincter sont sectionnées nettement en x et y ; en ζ , on en voit, au bout du conduit, quelques-unes qui passent d'un côté à l'autre.

La superposition de ces trois figures fournit donc la reconstitution d'un organe tubuleux muni d'une couche ininterrompue de fibres musculaires circulaires, ainsi que le montre la FIG. 5, construite à l'aide des FIG. 1, 2 et 3. Notons que l'organe y est supposé redressé, rendu rectiligne, et sectionné suivant son axe. En fait, ces conditions de section ne doivent se trouver réalisées que fort rarement ou même jamais dans les individus de grande taille; aussi conçoit-on qu'en se bornant à l'examen d'un petit nombre de coupes et sans tenir compte de cette donnée, on arrive à considérer la couche musculaire comme formée de deux ou de trois muscles distincts.

Mais de ces FIG. 1, 2 et 3 ressort une autre inexactitude des observations de GRAF. D'après sa figure 8, on trouverait des muscles circulaires jusqu'au bord de l'organe; son troisième sphincter, rm_3 , est en effet placé à très peu de distance de l'épiderme. C'est ce que nos préparations ne nous permettent pas d'admettre. Ces fibres n'existent pas, ou du moins elles

ne sont pas placées à l'endroit indiqué dans cette figure, c'est-à-dire aussi bas, aussi près de la surface du corps et du pore néphridien. L'auteur a été le jouet d'une apparence délusive consignée dans sa figure 8, qui est dessinée d'une façon très consciencieuse. Cette section ne passe pas par *tout* le conduit excréteur, précisément parce que celui-ci n'est pas rectiligne. Il est clair que ce conduit n'atteignait l'épiderme, dans cet objet, qu'à une distance notable du point rm_3 , et seulement après s'être engagé encore assez bien dans la profondeur.

Il n'y a, dans le texte de l'auteur, aucune indication sur la direction de la coupe par rapport au corps de l'*Hirudo* : nous croyons y voir une coupe transversale et non longitudinale, comme le sont les nôtres.

Si le Dr GRAF avait fait des sections *horizontales* de l'hirudinée, il aurait pu constater que ce prétendu sphincter puissant rm_3 n'a pas de relation définie avec le conduit excréteur et que les fibres qu'il figure sont des cellules musculaires probablement transversales appartenant au système contractile général de l'animal. C'est en faisant des coupes horizontales que nous avons pu nous convaincre que les muscles *circulaires* du conduit excréteur ne commencent qu'à une certaine distance de la surface somatique. En comptant en microns l'épaisseur des coupes enlevées avant d'arriver à des cellules circulaires, nous avons trouvé exactement la même distance que celle qui, dans les coupes dorso-ventrales, sépare la surface d'un anneau, ac , du point γ où commence le sphincter.

Faisons aussi remarquer que la figure 8 de GRAF, — FIG. 4. — ne montre pas suffisamment que le sphincter est formé de plusieurs assises de fibres au contact de la vésicule, tandis qu'il n'en possède plus qu'une seule un peu plus bas ; elle n'indique pas davantage la réduction de volume que subissent ces fibres en s'éloignant du réservoir, autant de détails que l'étude attentive de nos coupes nous a permis de mettre en lumière dans nos FIG. 1, 2, 3 et 5.

Disons encore un mot d'un autre détail de la structure des néphridies de l'*Hirudo*.

GRAF signale l'existence d'une vésicule supplémentaire qu'il appelle la *vésicule sphinctériale* (Sphincterblase), FIG. 4.

Nous avons vu et figuré dans notre deuxième mémoire, FIG. 49 et 50, la légère dilatation de la région sphinctérienne à laquelle l'auteur assigne le nom de « Sphincterblase ». Mais nous n'y avons pas fait grande attention, et il nous semble encore aujourd'hui qu'elle n'a guère d'importance. Ce

n'est qu'un renflement, parfois excessivement peu marqué, de la région sphinctérienne; on la trouve à des degrés divers de dilatation. Même chez l'*Hirudo*, il est fort probable qu'elle ne fonctionne pas comme un deuxième et très petit réservoir; elle ne paraît répondre à aucune fonction physiologique. Chez les autres espèces que nous avons examinées, ce renflement existe parfois et fait défaut d'autres fois, FIG. 7 à 13. Quoi qu'il en soit, nous ne voyons aucun inconvénient à conserver la dénomination de GRAF pour désigner ce renflement là où il s'observe; mais nous ne saurions le regarder comme un organe spécial et bien défini.

§ 2. Autres espèces.

Notre planche contient des figures tirées de huit autres espèces. Excepté la FIG. 6, qui provient d'un *Aulastomum gulo* de 8 à 10 mm. de long, toutes les autres appartiennent à des espèces étrangères (1).

Un simple coup d'œil sur cette planche permet de constater que la disposition des fibres est sensiblement la même dans toutes ces espèces.

La FIG. 8, *Mesobdella gemmata*, la FIG. 9, *Limnatis africana*, la FIG. 10, *Hirudo querehana*, et la FIG. 12, *Hirudo Grandidieri*, rappellent à tel point la FIG. 5, que nous n'avons rien à y ajouter.

Il n'y a qu'une petite remarque à faire pour les trois autres figures. La FIG. 7 de l'*Hirudo mysomelas*, dont le dessin est fait à un grossissement double des autres, nous montre un sphincter de peu d'étendue.

L'état de contraction des fibres est le plus prononcé dans la FIG. 11 de la *Xerobdella Lecontei*, et le sphincter se réduit dans cette espèce à quelques cellules musculaires placées près de la vésicule V. Tout le reste du conduit excréteur, très long et sinueux, est dépourvu de muscles obturateurs circulaires.

Une disposition inverse est visible dans la FIG. 13 de la *Macrobdella floridana*. La partie du sphincter à assises multiples est la plus grande et dépasse en longueur tout ce que nous avons observé dans les autres espèces citées. Aussi, le rétrécissement du conduit, qui ailleurs se manifeste principalement au sortir de la vésicule, se continue ici sur un trajet bien plus long; il s'étend sur toute la longueur de la partie à plusieurs couches.

Toutes ces données confirment nos observations au sujet de l'*Hirudo*.

(1) Remarquons, pour prévenir des erreurs, que la vésicule V dans toutes ces figures est représentée telle qu'elle se montrait dans la coupe microtomique qui a servi à chaque figure. Par conséquent, la capacité relative des vésicules de ces espèces n'est nullement indiquée par les contours dessinés.

CONCLUSIONS.

Nous pouvons donc résumer comme il suit l'état actuel de nos connaissances au sujet du sphincter de la néphridie :

I. Les hirudinides possèdent une vésicule néphridiale plus ou moins spacieuse et munie d'un conduit excréteur. Cette constatation a été faite sur les espèces suivantes :

1. *Hirudo medicinalis*.
2. *Aulastomum gulo*.
3. *Hirudo mysomelas*.
4. *Mesobdella gemmata*.
5. *Limnatis africana*.
6. *Hirudo querehana*.
7. *Xerobdella Lecomtei*.
8. *Hirudo Grandidieri*.
9. *Macrobdella floridana*.

II. Ce conduit, généralement assez long, possède toujours, près de son point d'union avec la vésicule, une musculature propre sous la forme d'un sphincter.

III. Ce sphincter est d'ordinaire assez puissant près de la vésicule : souvent il s'étend assez loin sur la portion inférieure du conduit.

IV. Généralement les cellules du sphincter sont le plus serrées près de la vésicule urinaire ; elles sont plus espacées dans la portion descendant vers la face ventrale.

V. Les cellules du sphincter sont d'un diamètre bien plus faible que les cellules musculaires ordinaires du corps, FIG. 2 et 3.

VI. La portion extrême du conduit excréteur, près de la surface du corps, ne possède aucune musculature propre.

VII. Puisque les cellules du sphincter, quoique assez espacées les unes des autres, ne présentent aucune discontinuité notable dans leur disposition, il n'y a pas lieu d'y distinguer plusieurs portions ; il faut admettre, au contraire, un sphincter unique comprenant toutes les cellules musculaires entourant le conduit excréteur.

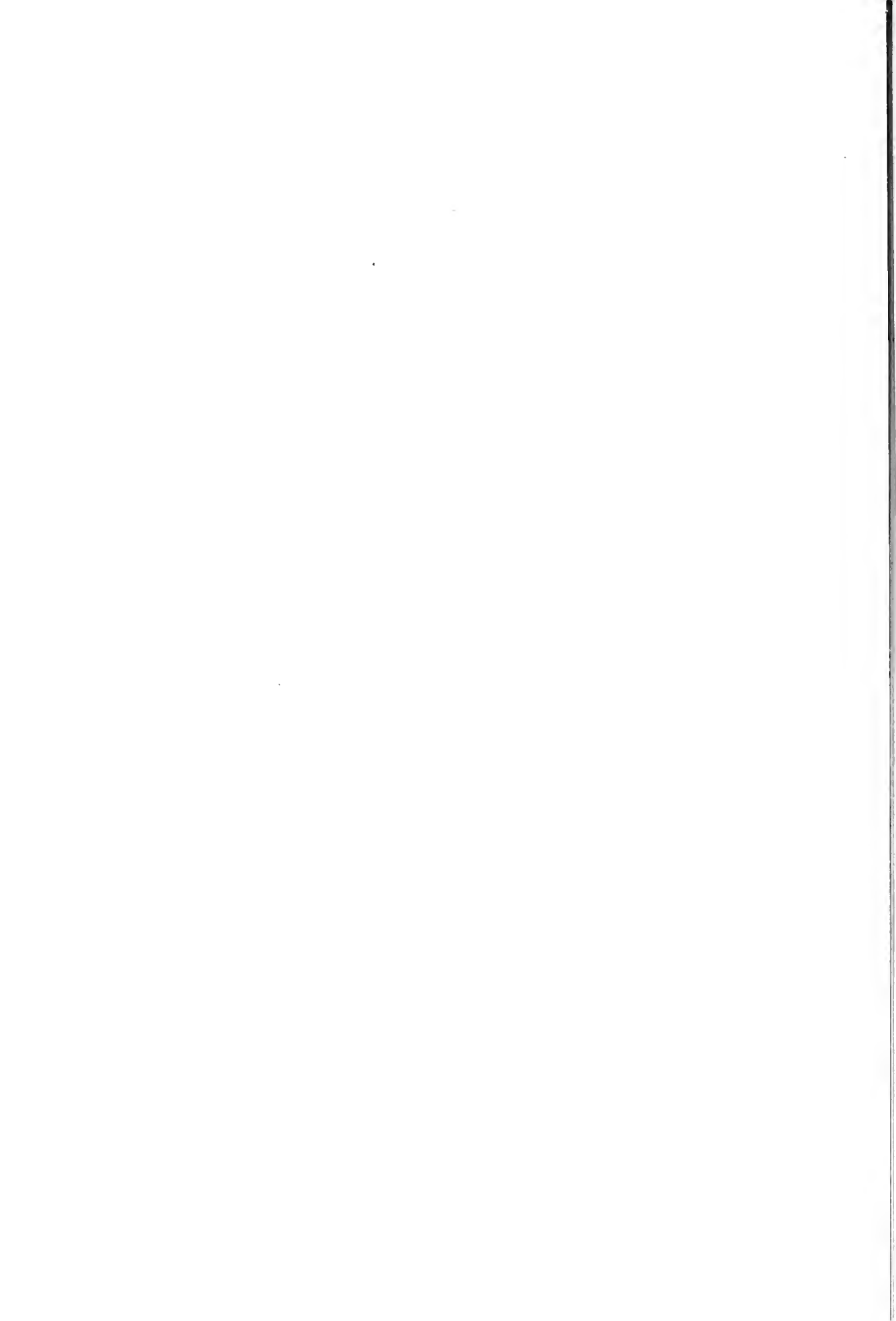
Nous possédons un grand nombre d'autres *Gnathobdellides*, que nous n'avons pas encore pu examiner en détail et entre autres les suivantes : *Hirudo granulosa*, *Limnatis nilotica*, *Hirudo multistriata*, deux nouvelles espèces non déterminées encore, l'une des Antilles, l'autre de l'île de la Réunion. Toutes celles-ci ont le pore néphridial *ventral*.

Nous en avons d'autres, chez lesquelles ce pore est *latéral*, par ex., *Hamadipsa fallax*, *Ham. morsitans*, *Ham. silvestris*, *Ham. zeylanica*, *Phythobdella Meyeri*, *Planobdella Quoyi*.

Nous examinerons plus tard le sphincter de toutes ces espèces.

BIBLIOGRAPHIE

1. *H. Bolsius* : Recherches sur la structure des organes segmentaires des hirudinées :
La Cellule, t. V, fasc. 2, 1889.
2. — Nouvelles recherches sur la structure, etc.: *Ibid.*, t. VII, fasc. 1,
1891.
3. — Anatomie des organes segmentaires des hirudinées d'eau douce :
Annales de la Société scientifique de Bruxelles, t. XVI, 2^de partie,
1892.
4. *Arn. Graf* : Beiträge zur Kenntniss der Exkretionsorgane von *Nepheleis vulgaris* :
Jenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft, Bd. XXVIII, N. F.,
Bd. XXI, 1893.



EXPLICATION DES FIGURES.

FIG. 1, 2, 3, 4, 5. *Hirudo medicinalis*.

FIG. 1, 2, 3. Gross. : C \times oc. ord. 2 (\pm 150).

FIG. 1. *ae.* Anneaux externes.
cu. Cuticule, cessant à l'entrée du conduit excréteur.
p. Pore du conduit excréteur.
ep. Epithélium du même conduit.
cm. Cellules musculaires du corps.
tc. Tissu conjonctif.

FIG. 2. *ae.*, *cm.*, *tc.*, *ep.*, ut supra.
V. Vésicule terminale de l'organe segmentaire.
sph. Sphincter, vu de champ en *x*, *y* et *z*.

FIG. 3. Section suivant immédiatement la précédente.

FIG. 4. Reproduction aux 2/3 de la figure 8 de la planche qui accompagne le travail du Dr A. GRAF, l. c. Grossissement de l'original = 450, *id.* de la reproduction = 300. Traduction de l'explication, l. c., p. 194 : « Conduit excréteur de la vésicule terminale de l'*Hirudo*. *rm*₁, Sphincter intérieur; *rm*₂, muscles circulaires séparés de la vésicule sphinctériale; *rm*₃, sphincter extérieur; *M*, musculature du corps.

FIG. 5. Figure synthétique faite à l'aide des FIG. 1, 2 et 3. Vue d'ensemble du conduit excréteur avec son sphincter.

Lettres comme dans les figures précédentes.

FIG. 6 (1). Coupe axiale du conduit excréteur et du sphincter dans l'*Aulastomum gulo*. Gross. : apochr. à sec $\frac{3,0}{0,95} \times$ oc. comp. 2 (\pm 160 lin.).

FIG. 7. Idem de l'*Hirudo myrsomelas*. Gross. : apochr. \times oc. 4 (\pm 330).

FIG. 8. Idem de la *Mesobdella gemmata*. Gross. comme pour la FIG. 6.

FIG. 9. Idem de la *Limnatis africana*. Gross. comme pour la FIG. 6.

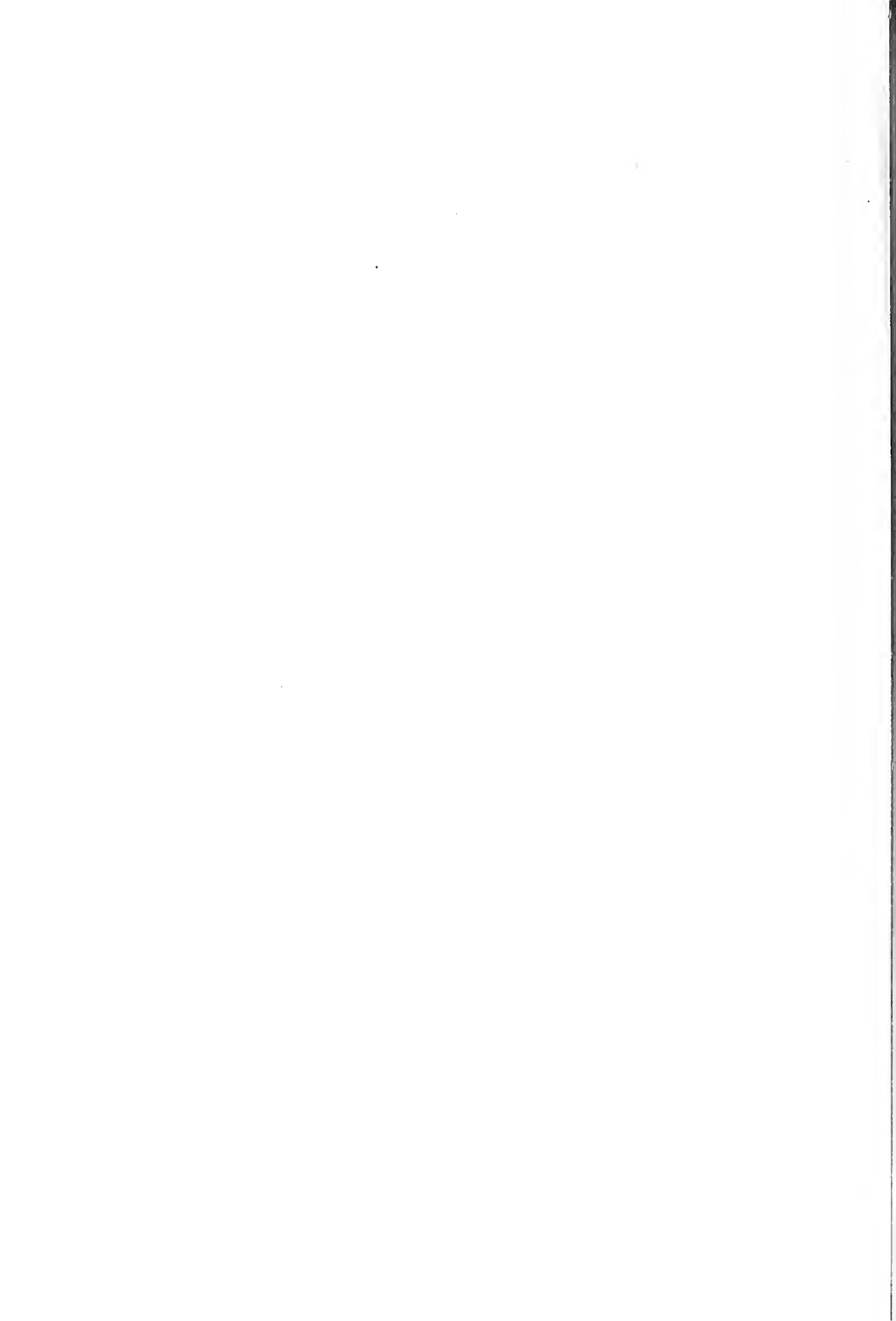
FIG. 10. Idem de l'*Hirudo querehana*. » » » » » »

FIG. 11. Coupe effleurant le sphincter de la *Xerobdella Lecomtei*. Le conduit excréteur n'atteint pas la surface du corps dans cette figure. Gross. comme pour la FIG. 6.

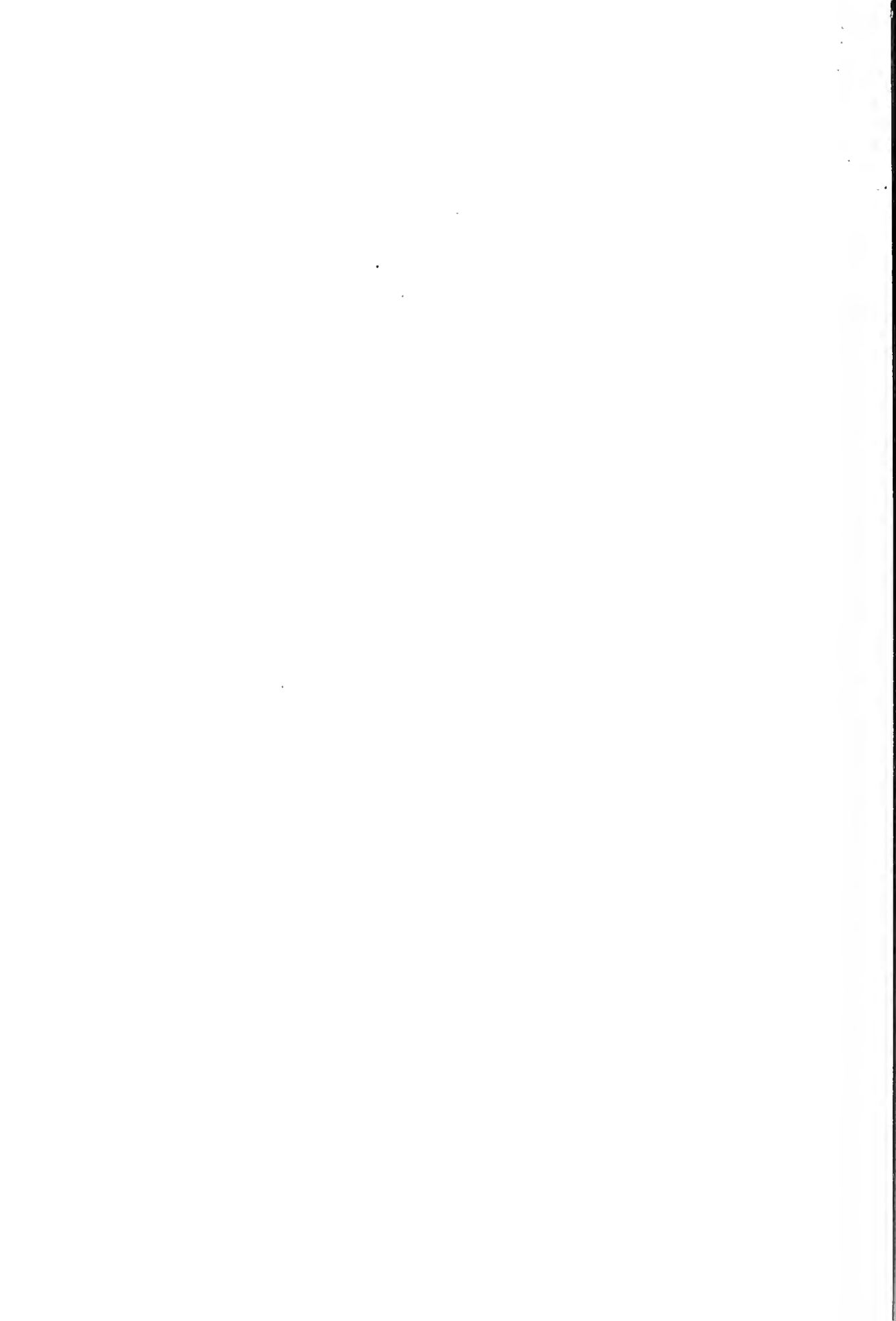
FIG. 12. Coupe axiale, comme la FIG. 6, de l'*Hirudo Grandidieri*. Gross. comme pour la FIG. 6.

FIG. 13. Idem de la *Macrobdella floridana*. Gross. comme pour la précédente.

(1) Dans toutes les figures suivantes, les mêmes lettres indiquent les mêmes objets que dans les FIG. 1 et 2. Les FIG. 6-13 ne sont pas des croquis synthétiques, mais sont faites à la chambre claire sur des préparations qui toutes contenaient la section axiale de tout le conduit excréteur avec son sphincter.







É T U D E

SUR

l'Action sporicide des Humeurs

PAR

J. LECLEF

DOCTEUR EN MÉDECINE.

(Mémoire déposé le 30 juin 1894.)

TRAVAIL DU LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET DE PATHOLOGIE
EXPÉRIMENTALE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.



ÉTUDE SUR L'ACTION SPORICIDE DES HUMEURS.

CHAPITRE I. — Historique.

Il est une opinion qui a généralement cours parmi les bactériologistes, c'est que les humeurs naturelles (sérum, lymphe, liquide de la chambre antérieure de l'œil) n'exercent pas d'action destructive sur les spores. On rencontre cette opinion même chez ceux qui attribuent aux humeurs un rôle important dans la préservation de l'organisme contre les microbes.

Ainsi, H. BUCHNER, qui a tant contribué à étendre nos connaissances sur ce point, pense que les spores ne sont pas détruites par le sérum, et cette conviction est si profonde chez lui, qu'il avoue lui-même n'avoir pas fait des expériences à ce sujet, tellement l'issue lui en paraissait problématique.

Cette soi-disant invulnérabilité des spores aux atteintes des humeurs est souvent invoquée par les anti-humoralistes pour combattre la doctrine du pouvoir préservatif des humeurs. D'après eux, la diminution que les formes végétatives subissent au contact de certains liquides naturels est due à un simple changement de milieu. La preuve, disent-ils, réside dans ce fait, que si, au lieu de formes végétales, on enseme dans les humeurs des formes dormantes, c'est-à-dire les spores, la diminution fait défaut, et celle-ci manque précisément parce que la spore, dès le moment où elle germe, s'adapte au milieu dans lequel elle est plongée. On doit reconnaître que si le fait est vrai, il constitue une difficulté sérieuse pour les partisans du pouvoir bactéricide des humeurs.

Si l'on recherche dans la littérature les expériences sur lesquelles on se fonde pour rejeter l'action sporicide des humeurs, on voit qu'elles ne sont guère nombreuses. Elles ont surtout porté sur les spores du *Bacillus anthracis*. Introduits dans le sérum, les bacilles du charbon subissent une diminution considérable, comme beaucoup d'auteurs ont pu le constater; mais quand, au lieu des bacilles, onensemence les spores, on n'observe plus de destruction, de sorte que celle-ci paraît bien être la conséquence d'un changement de milieu (METCHNIKOFF, LUBARSCH). Ce dernier fait a néanmoins été contesté par PEKELHARING (1). Contrairement aux auteurs précédents, le savant hollandais a constaté une destruction notable des spores charbonneuses introduites dans le sang, et comme elle s'opère aussi bien à une température voisine de 0° qu'aux températures de 45°, 46° et 47°, c'est-à-dire à des températures auxquelles la germination ne peut plus se faire, il conclut que la spore est attaquée et tuée comme telle sans germination préalable. En 1891, TRAPEZNIKOFF (2) a fait paraître un mémoire étendu sur le sort des spores dans l'organisme animal. Son but est de rechercher si ces éléments sont détruits par l'activité des phagocytes, ou par l'action des humeurs, ou par ces deux facteurs réunis. Ses expériences portent surtout sur le bacille du charbon qu'il inocule à l'état sporulé aux grenouilles, aux poules, aux pigeons, aux rats et aux lapins. Il fait en outre un certain nombre d'expériences avec les spores du *Bacillus subtilis* et du *Bacillus megaterium*. Il conclut que les spores, soit pathogènes, soit saprophytes, deviennent la proie des leucocytes, qui les saisissent et tantôt les détruisent, tantôt empêchent seulement leur développement. Quant aux humeurs, elles ne prennent aucune part à cette opération.

D'après nous, la plupart des faits sur lesquels se base l'innocuité des humeurs pour les spores sont passibles d'une critique sévère. En effet, ils se rapportent presque tous à un bacille des plus pathogènes, le bacille du charbon, sur lequel les humeurs doivent avoir peu d'influence.

Si l'on veut rechercher si le pouvoir sporicide existe, il faut s'adresser non pas à une espèce d'une haute virulence, mais à des espèces saprophytes. C'est le moyen de mettre en évidence l'existence de ce pouvoir.

C'est ce que nous avons fait dans le présent travail.

(1) C. A. PEKELHARING : *Ueber Zerstörung von Milzbrandkeimen in Unterhautbindegewebe des Kammechen*; Beiträge zur pathologischen Anatomie. Bd. VIII, 1890.

(2) TRAPEZNIKOFF : *Du sort des spores de microbes dans l'organisme animal*; Annales de l'institut PASTEUR, 1891, p. 362.

CHAPITRE II. — Technique.

Nous avons choisi pour faire nos recherches deux sortes de spores :

- 1° Celles du bacille du foin (*Bacillus subtilis*).
- 2° Celles du bacille de la pomme de terre.

De ces deux organismes, celui du foin convient le mieux; aussi est-ce à lui que nous nous sommes adressé de préférence. Nous commençons par donner les résultats qu'il nous a fournis.

Pour le genre d'études que nous poursuivons, le bacille du foin présente de grands avantages :

1° On peut le considérer comme un organisme saprophyte par excellence; par conséquent, dans le cas où les humeurs exercent sur les spores une action destructrice, il doit subir cette influence à un haut degré.

2° C'est un organisme dont les besoins nutritifs sont des plus modestes. La rapidité et l'abondance avec lesquelles il se développe dans un simple infusé d'herbes en sont déjà une preuve; mais ce milieu n'est pas à beaucoup près le seul dans lequel il se plaît. Tous les bactériologistes savent avec quelle facilité il végète dans les différents milieux de cultures et nous-même nous l'avons plus d'une fois rencontré comme impurité dans des tubes de sang ou de sérum, ce qui prouve combien ces milieux naturels conviennent à son développement.

Nous attachons une grande importance à cette aptitude qu'il présente à vivre dans le sang et dans le sérum; car nous croyons que pour bien mettre en évidence les propriétés bactéricides d'une humeur, il est nécessaire d'expérimenter avec un organisme capable de rencontrer dans les humeurs tous les éléments nécessaires à sa pullulation.

3° Outre les deux avantages précités, le *Bacillus subtilis* nous en présente une série d'autres tirés de ses caractères morphologiques.

C'est un des bacilles les plus grands que nous connaissons; il est donc facile à observer et à retrouver. De plus, il est animé de mouvements qui disparaissent quand le bacille est en souffrance ou qu'il meurt.

Ses spores sont globuleuses et germent rapidement; on peut dire qu'au bout de 1 à 2 heures elles se sont toutes transformées en bâtonnets. Cette

rapidité de la germination comparée à celles d'autres espèces saprophytes, dont les spores mettent 5 à 6 heures à prendre la forme végétante, est encore un précieux avantage.

Notre bacille fut recueilli sur une plaque d'agar où il était tombé par hasard. Grâce à ses caractères morphologiques, grâce à son mode de développement sur les divers milieux, et grâce surtout aux soins que nous primes de le comparer à un bacille obtenu par un infusé de foin, nous avons pu nous assurer de la façon la plus satisfaisante de son identité.

Pour l'obtenir à l'état sporulé, nous l'avons cultivé sur du bouillon composé comme il suit :

sucré.	0,5 o/o
peptone	1 o/o
extrait de viande	0,5 o/o

Ce bouillonensemencé et porté à la couveuse se trouble rapidement et, après 24 ou 48 heures, il offre à sa surface une membrane mince se désagrégeant facilement par l'agitation. Les bâtonnets sporulés se rencontrent surtout dans cette membrane, de sorte qu'on serait porté à croire que la sporulation ne se fait bien qu'au contact de l'oxygène. Pour obtenir dès lors des spores isolées, il suffit de recueillir ces membranes et de les écraser entre deux lames de verre stériles, ou plus simplement encore de les secouer fortement dans un liquide quelconque.

Pour détruire les formes végétantes qui pourraient s'y rencontrer encore, on chauffe pendant 10 minutes à une température de 70°.

Ce chauffage est suffisant pour tuer tout ce qui n'est pas spore, comme nous nous en sommes assuré en traitant à cette température des cultures jeunes et dans lesquelles le microscope ne permettait de déceler la moindre trace de sporulation.

Les spores au contraire, comme on le sait d'ailleurs, résistent à des températures bien supérieures. D'après nos recherches, c'est seulement entre 90° et 100° qu'elles commencent à périr. Une température de 70° ne peut donc aucunement leur nuire.

Quand on examine au microscope une émulsion de spores ainsi chauffée, on y aperçoit deux espèces d'éléments :

- 1° les spores assez grosses, ovoïdes, réfringentes, libres ou encore renfermées dans les bâtonnets;
- 2° des bâtonnets renfermant quelquefois encore des spores. Ces bâtonnets se distinguent nettement et à première vue des organismes vivants et

non chauffés. Tandis que ces derniers ont une réfringence propre, bien que faible, et offrent un aspect homogène, les bâtonnets des cultures chauffées et sporulées sont pâles, souvent même à peine visibles, de sorte qu'on pourrait à juste titre les comparer à l'ombre des bâtonnets vivants. Au lieu de l'aspect homogène, ils présentent souvent des granulations. Ces bâtonnets offrent encore un autre caractère qui les distingue des bâtonnets vivants. Tandis que ces derniers se colorent d'une façon homogène et intense par le bleu de méthylène, les bâtonnets chauffés prennent à peine un peu de matière colorante.

Si nous insistons sur ces différences, c'est qu'elles nous fournissent en dehors des mouvements, le moyen de reconnaître avec certitude et sans crainte d'erreur les bâtonnets nouveaux issus des spores, des bâtonnets qui ont fourni ces spores.

Comme humeur bactéricide, nous avons choisi le sérum du lapin, obtenu par rétraction du caillot. Inutile de dire que le sang était recueilli par l'artère carotide avec toutes les précautions antiseptiques nécessaires.

A l'examen microscopique, notre sérum se montrait complètement dépourvu de globules blancs, de façon que dans l'interprétation de nos expériences nous n'avions en aucune façon à nous occuper de la question phagocytaire.

Le sérum ainsi recueilli était ensuite ensemencé avec une quantité variable de notre émulsion de spores et conservé à la température du corps.

CHAPITRE III. — Expériences faites avec les spores du *Bacillus subtilis*.

Dans nos premières expériences, nous nous sommes contenté de poursuivre au microscope les modifications qui se produisaient :

- 1° Dans un tube de sérum non chauffé;
- 2° Dans un tube de sérum chauffé pendant 1 heure à 60°, où le pouvoir bactéricide était donc aboli;
- 3° Dans un bouillon, afin de pouvoir comparer le développement qui se fait dans le sérum au développement qui se produit dans un milieu artificiel possédant les qualités nutritives à leur plus grande intensité.

Disons tout de suite que les phénomènes que l'on observe dans le sérum non chauffé sont tout différents de ceux que l'on constate dans le sérum chauffé et le bouillon. Dans le premier milieu, c'est-à-dire dans le sérum naturel, on ne voit pas apparaître un seul bâtonnet. Le plus souvent,

12 heures et même 24 heures après l'ensemencement, on ne peut y retrouver le moindre indice de prolifération; en fait de formes végétantes, le microscope n'y fait voir que les cadavres pâles et granuleux des bâtonnets importés avec la semence.

Au contraire, le sérum chauffé et le bouillon renferment une heure après l'ensemencement des bâtonnets tout à fait différents des bâtonnets anciens. Ils sont réfringents, homogènes et dès la deuxième heure ils commencent à être animés de mouvements, signe manifeste de leur vitalité.

Après quelques heures, ils troublent le liquide, tellement ils sont nombreux. La coloration par le bleu de méthylène ne fait apparaître dans le sérum naturel aucun bâtonnet bien coloré, tandis qu'elle en montre des milliers dans le sérum chauffé et le bouillon.

En un mot, dans le premier milieu ou sérum non chauffé, nous observons l'immobilité complète, le manque absolu de végétation; dans les deux autres, sérum chauffé et bouillon, une multiplication rapide et abondante.

Citons un exemple :

TABLEAU I.

Portions de 3 cc. Ensemencement abondant avec les spores d'une culture dans le bouillon.

	APRÈS 5 HEURES	APRÈS 9 HEURES	APRÈS 20 HEURES
SÉRUM NON CHAUFFÉ	Aucun indice de multiplication	Pas de changement	Aucun changement Sérum transparent
SÉRUM CHAUFFÉ	Plusieurs bâtonnets par champ microsc.	Culture de bacilles excessivement vifs	Forte culture Sérum trouble
BOUILLON	Beauc. de bâtonnets mobiles par champ	Culture de bacilles excessivement vifs	Forte culture en partie sporulée Bouillon trouble

L'examen microscopique pratiqué dès le moment où l'on fait le mélange permet de reconnaître que les spores ne restent pas inertes dans le sérum non chauffé. Elles y germent aussi rapidement que dans le sérum chauffé; les modifications qui accompagnent cet acte sont absolument les mêmes que dans les milieux artificiels. Quand on observe la spore du *Bacillus subtilis*

en voie de germination dans le bouillon ou dans l'agar, on la voit après quelques minutes pâlir d'une façon presque brusque. De corps réfringent, à contour noir, elle devient un corps pâle à peine visible. Or, si l'on examine avec soin le sérum naturel ensemencé avec des spores, on trouve après une demi-heure ou une heure de nombreux corpuscules ayant l'aspect de spores germées, en même temps que l'on note la diminution ou la disparition des spores ensemencées. Cette transformation se trouve représentée dans la FIG. 2, donnant l'état d'une culture dans le sérum naturel ensemencé depuis une heure. Les corpuscules noirs se rapportent à des spores encore inertes, les corpuscules pâles, aux spores entrées en germination. Les FIG. 3 et 4 nous représentent l'état correspondant dans le bouillon et le sérum chauffé. Le bleu de méthylène, dissous dans l'eau, permet de reconnaître également bien les spores germées. Ce bain ne colore pas les spores du *Bacillus subtilis* qui sont à l'état de vie latente, mais bien celles qui commencent à pousser. Aussi, peu de temps après l'ensemencement, il fait découvrir dans le sérum non chauffé, comme dans le sérum chauffé et le bouillon, de nombreux corpuscules ovoïdes colorés intensément et qui ne sont autres que des spores. Plus tard ces éléments disparaissent sans s'être allongés en bâtonnets.

Tout cela prouve que le grand nombre au moins des spores subit un commencement de développement dans le sérum naturel. Elles ne sont tuées qu'après avoir commencé à végéter. Il est probable du reste que toutes disparaissent de cette façon, vu la résistance qu'à l'état de repos elles opposent à l'introduction des substances les plus diverses.

Dans les FIG. 2 à 10, nous représentons les différents stades du développement dans les trois milieux habituellement employés par nous : le sérum naturel, le sérum chauffé et le bouillon.

Une figure seulement, la FIG. 2, se rapporte au sérum frais : à partir de la germination il ne se produit en effet d'autre changement que la disparition des éléments ensemencés. Les autres figures donnent de deux heures en deux heures l'état des cultures dans le bouillon et dans le sérum chauffé; les FIG. 5, 7 et 9, avec des bacilles dispersés, représentent les progrès de la culture dans le bouillon; les FIG. 6, 8 et 10, avec les bacilles agglomérés, les progrès de la culture dans le sérum. On remarquera que les bacilles vont en augmentant d'une façon continue, et que dans les bouillons et les sérums correspondants, ils sont sensiblement en nombre égal.

Nous pourrions multiplier les exemples, mais la chose nous semble inutile ; les phénomènes se passent régulièrement de la même façon : végétation nulle ou extrêmement tardive (après 24 heures par exemple) dans le sérum non chauffé, multiplication immédiate et abondante dans le sérum chauffé. Nous devons même déclarer que, si nous tenons compte de l'ensemble de nos expériences, la pullulation se fait aussi rapidement et aussi vigoureusement dans le sérum chauffé que dans le bouillon. De ce fait, nous pouvons conclure que le chauffage transforme le sérum en un milieu nutritif aussi favorable au développement que le bouillon.

Le procédé de l'examen microscopique ne permet guère de suivre le développement que dans ses grandes lignes, de constater s'il y a multiplication ou non, mais il ne peut nous donner de renseignements précis. En effet, le nombre de microbes que l'on voit dans un champ microscopique dépend en grande partie de l'épaisseur de la préparation, et de ce chef est soumis à des fluctuations considérables.

Pour avoir une idée exacte du nombre des microbes contenus dans nos cultures, nous nous sommes adressé à la méthode des plaques.

Pour faire ces plaques, nous nous sommes servi de l'agar-peptone, dans lequel au bout de 12 heures déjà le *Bacillus subtilis* forme des cultures faciles à reconnaître à l'œil nu et au besoin à l'aide du microscope. Chaque plaque a été faite avec deux anses, chaque anse étant de 0,007 gr.

Ce chiffre est peut-être utile à connaître, afin de donner au lecteur une idée plus exacte de la richesse de nos ensemencements.

Nous faisons suivre ici un certain nombre d'expériences faites toutes sur le même type :

- 1° un tube de sérum non chauffé,
- 2° un tube de sérum chauffé,

auxquels parfois nous ajoutons un tube de bouillon témoin.

En dessous de la plupart des chiffres se trouve renseigné l'état de la culture examinée au microscope, soit à l'état frais, soit après coloration.

Rien qu'en jetant un rapide coup d'œil sur ces tableaux, le lecteur sera convaincu que les résultats, qui nous avaient été donnés par le simple examen microscopique, trouvent leur confirmation dans ceux fournis par les plaques.

TABLEAU II.

Portions de 3 cc. Ensemencement abondant avec les spores d'une culture dans le bouillon.

	DE SUITE APRÈS	1 HEURE APRÈS	3 HEURES APRÈS	12 HEURES APRÈS
SÉRUM NON CHAUFFÉ	6384	912	0 Pas de bacilles bien colorés	0 Comme précédemment
SÉRUM CHAUFFÉ	1530	312	990 Beaucoup de ba- cilles bien colorés et en mouvement	10920 Culture

TABLEAU III.

	DE SUITE APRÈS	2 HEURES APRÈS	8 HEURES APRÈS	LE LENDEMAIN
SÉRUM NON CHAUFFÉ	10128	288 Aucun indice de multiplication	0	0 Aucun signe de multiplication
SÉRUM CHAUFFÉ	9690	4140 Beauc. de bac. mob. libres et en amas, bien color.	81840 Culture, amas	Culture avec membrane
BOUILLON	9324	48576 Bac. tous libres et mob., pas d'amas	107520 Culture	Culture avec grosse membr.

TABLEAU IV.

	DE SUITE APRÈS	1 HEURE APRÈS	4 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS
SÉRUM NON CHAUFFÉ	7644	4104	594 Pas de signe de multiplication	506 Comme précédemment
SÉRUM CHAUFFÉ	6912	4508	6515 Petits amas et bac. mob. libres	9460 Comme précédemment
BOUILLON	7242	11118	Colonies fusion. Culture de bac. tous mobiles	Fusion Culture de bac. tous mobiles

Toutes ces expériences montrent un premier fait digne de remarque : c'est la diminution rapide et énorme que subissent les individus introduits dans le sérum non chauffé. Déjà après une heure, nous tombons de chiffres élevés à des chiffres très bas.

Ainsi dans le tableau II de	6384 à	0
- - -	III	10128 0
- - -	IV	7644 506

Le second fait qui doit attirer notre attention est l'augmentation, souvent énorme, du nombre d'organismes dans le sérum chauffé.

Ainsi dans le tableau II de	1530 à	10920
- - -	III	9690 à ∞
- - -	IV	6912 à 9460

D'après nous, il est impossible, en présence de ces résultats, de nier aux humeurs la propriété sporicide. En effet, on ne peut plus invoquer ici le changement de milieu, puisque du moment où la spore commence à germer, elle se trouve dans le milieu où devra se faire la suite de son évolution. On ne saurait pas davantage incriminer les mauvaises qualités nutritives de l'humeur, puisque nous voyons la spore y pulluler d'une façon au moins aussi rapide que dans le bouillon. Il ne reste donc qu'à admettre que la mort est la conséquence d'une action bactéricide, c'est-à-dire est produite par l'existence, dans le sérum, d'un agent agissant à la façon d'un poison, d'un antiseptique.

Cependant, en parcourant ces tableaux, nous ne pouvons méconnaître une particularité qui, à première vue, paraît difficilement conciliable avec l'interprétation donnée. Nous croyons, en effet, que le sérum renferme une substance toxique qui tue le bacille du foin dans un milieu qui, à tous les autres points de vue, constitue pour lui un excellent milieu de culture. Nous admettons, en outre, que cette substance est détruite par un chauffage d'une heure à 60°. Cette substance étant décomposée, les bacilles que nous ensemençons dans le sérum chauffé devraient, à partir du moment de leur introduction, présenter une progression continue; or, que voyons-nous? Si nous examinons attentivement les chiffres, nous remarquons, à partir de l'ensemencement, une diminution évidente, qui, bien que passagère, n'en est pas moins incontestable.

Ainsi dans le tableau II de	1530 à	312
- - -	III	9690 à 4140
- - -	IV	6912 à 4508

La raison de cette diminution si difficilement compatible avec la théorie du pouvoir bactéricide, alors qu'il s'agit d'un microbe aussi peu exigeant pour sa nourriture, a été longtemps une énigme pour nous. Mais la solution de ce problème nous a été fournie grâce à l'habitude que nous avons prise de contrôler constamment le résultat de nos plaques par des préparations microscopiques et de faire ces dernières avec des soins tels qu'elles devenaient parfaitement comparables les unes aux autres. Ainsi quand nous faisons un examen à frais, nous avons soin de prendre un même nombre d'anses, et quand nous voulions nous servir de préparations colorées, nous prélevions une seule anse que nous étalions en couche uniforme.

Or, si l'on compare entre eux les résultats fournis par les plaques et par l'examen microscopique, on trouve que, jusqu'à un certain point au moins, il y a contradiction flagrante entre les deux. Tandis que les préparations renseignent d'une façon indéniable une augmentation continue dans le nombre des organismes à partir de l'ensemencement, les plaques nous donnent une diminution.

Ainsi dans le tableau II, où nous trouvons une assez forte diminution après 3 heures, le microscope nous donne beaucoup de bacilles mobiles et tous bien colorés. Depuis l'ensemencement, il y avait certainement pullulation. De même dans les expériences suivantes (tableaux III et IV), il suffisait de jeter un coup d'œil au microscope pour se convaincre qu'après les première, deuxième et quatrième heures, le nombre d'organismes était plus considérable qu'au début.

Comment expliquer cette contradiction ?

On pourrait admettre que, dans les premiers temps qui suivent la sporulation, les bacilles deviennent incapables de continuer leur végétation quand ils se trouvent transportés brusquement dans l'agar. Mais nous avons dû abandonner cette manière de voir. En effet, tout bacille, quel que soit son âge, mis dans l'agar, donne naissance à une colonie. On s'en assure facilement en faisant sur le porte-objets des petites plaques, que nous appellerons plaques microscopiques.

On obtient ces plaques en ajoutant sur un porte-objets à une goutte d'agar une trace de culture dans le sérum chauffé âgée de 1 ou 2 heures par exemple. Pour empêcher la dessiccation, on recouvre ce mélange d'une lamelle de verre et on lute à la paraffine.

En examinant la petite plaque à un grossissement de 400 diamètres, on y retrouve facilement les bacilles grâce à leur volume. On fixe le porte-objets à la table du microscope, et on porte le tout à la couveuse, après avoir au préalable relevé soigneusement sur une feuille de papier la place occupée par chaque bacille. On peut ainsi suivre leur évolution pas à pas et constater qu'ils donnent tous naissance à une colonie. La diminution constatée dans les tableaux ne peut donc être due à un manque d'aptitude du bacille à végéter dans l'agar. Il faut dès lors trouver au phénomène une autre raison, et cette raison, assez singulière, est la suivante.

Dans le sérum chauffé, quand les bâtonnets issus des spores commencent à se mouvoir, ils s'accrochent les uns aux autres de façon à former des amas. Cette agrégation est très bien rendue dans les FIG. 6, 8 et 10, et les amas qui en résultent présentent une telle cohésion qu'ils ne se laissent plus désagréger par l'agitation, comme on peut du reste facilement s'en assurer par l'examen microscopique d'une culture fortement secouée. Au contraire, dans le bouillon, les bacilles restent indépendants, FIG. 5, 7 et 9. Dès lors, la diminution est très facile à comprendre : plusieurs individus qui, s'ils étaient restés libres, auraient donné naissance chacun à une colonie, n'en fournissent qu'une seule; et au commencement de la pullulation, quand la multiplication n'a pas encore compensé cette agrégation, cette dernière entraîne une diminution du nombre des colonies.

Cette confluence n'est pas une simple hypothèse; elle se laisse démontrer avec toute la clarté désirable :

1° Comme les auteurs l'ont décrit, et comme nous avons pu nous en convaincre en poursuivant le développement du *Bacillus subtilis*, cet organisme se divise environ toutes les 20 minutes. De sorte qu'en admettant, ce qui est exagéré, que la spore fournisse un bacille après 20 minutes, on pourrait tout au plus trouver des bâtonnets doubles après 40 minutes; des amas de 4, après 60 minutes; de 8, après 80 minutes; de 16, après 100 minutes; et de 32, après 2 heures. Or, après 2 heures, souvent même après 1 heure, on trouve des amas de 50 à 200 individus. Ce phénomène ne peut donc s'expliquer que par une agrégation.

2° Quand on examine au microscope une culture jeune, on voit avec la plus grande facilité qu'au moment où les bacilles libres rencontrent des amas dans leurs pérégrinations, ils s'embarrassent dans ceux-ci et finissent par en faire partie intégrante. Cet enchevêtrement se produit avec une facilité toute particulière entre amas et filaments. Cette fusion s'opère

quelquefois dans des conditions qui la rendent particulièrement facile à reconnaître : ainsi par exemple, quand un bacille isolé rencontre une longue chaînette vers le milieu de la longueur de celle-ci, s'il s'y accroche, il est emporté avec la chaînette, et décrit des cercles chaque fois que celle-ci tourne sur elle-même.

3° On peut produire à volonté cette agrégation et la voir évoluer entièrement sous ses yeux, grâce à la petite expérience suivante :

Dans le bouillon, ces amas ne se produisent jamais, les bacilles demeurent isolés et sont répartis d'une façon uniforme dans le champ du microscope. Or, si l'on mélange un peu d'une culture de bouillon à du sérum chauffé, on constate qu'après quelques minutes la répartition bacillaire a changé complètement; les organismes ne sont plus répartis uniformément dans le champ du microscope; la plupart se sont conerétés en amas qui roulent et tournent lentement sur eux-mêmes. Ce phénomène est représenté dans les FIG. 11, 12 et 13. La FIG. 11 reproduit une culture de bouillon jeune, à individus tous vivants, tous mobiles. Dans cette culture, on verse du sérum chauffé et on fait immédiatement une nouvelle préparation, FIG. 12. L'agrégation a déjà commencé. Enfin cinq minutes plus tard, on fait une seconde préparation, et on obtient l'aspect de la FIG. 13. Il ne peut évidemment pas être question ici d'agrégation résultant d'une multiplication.

4° Une dernière considération permet de reconnaître l'exactitude de cette interprétation. Pour des raisons dont nous n'avons pu saisir le mécanisme, nous avons vu quelquefois dans le sérum chauffé que les bacilles, au lieu de s'agréger, conservaient leur indépendance, exactement comme cela se passe d'une façon constante dans le bouillon. La diminution passagère fait alors complètement défaut, comme le fait bien ressortir le tableau suivant :

TABLEAU V.

Développement dans le sérum chauffé sans agrégation des bacilles.

	DE SUITE APRÈS	2 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS	9 HEURES APRÈS
SÉRUM NON CHAUFFÉ	902	0	0	0
SÉRUM NON CHAUFFÉ	1012	0	0	0
SÉRUM CHAUFFÉ	952	13842 Cult. en mouve- ment, pas d'amas	26112	Colonies fusionnées
SÉRUM CHAUFFÉ	378	2952 Pas d'amas Bacilles mobiles	23328	Colonies fusionnées

Comment se fait cette agrégation? Il n'y a pas de doute, c'est par les cils. LÖEFFLER (1), qui a coloré les cils du bacille du foin, nous a appris que ces appendices étaient longs et ondulés. Ces cils s'enchevêtrent sans doute les uns dans les autres et la viscosité naturelle du sérum doit contribuer à rendre stable l'agglomération qui en résulte.

Ainsi se trouve élucidée la contradiction entre les plaques et les préparations microscopiques. Ce sont ces dernières qui méritent créance. Les plaques nous renseignent trop peu d'organismes. Nous devons admettre que la diminution passagère qu'elles indiquent au début de l'expérience est trompeuse. Dès leur entrée dans le sérum chauffé, les bacilles commencent à pulluler. Ce fait montre une fois de plus à quelles erreurs peut conduire l'emploi d'une méthode unique.

La question de la destruction des spores dans le sérum nous paraît avoir une importance telle, qu'elle mérite d'être constatée, non seulement par le microscope et par les plaques, mais par les autres moyens que nous avons à notre disposition pour nous renseigner sur l'état de vie ou de mort des microbes. C'est pour ce motif que nous avons voulu contrôler les résultats obtenus par une méthode de numération déjà ancienne et actuellement peu employée, celle des dilutions.

Voici comment nous avons procédé : nous prenons deux tubes, le premier avec du bouillon, le second avec du sérum non chauffé et tous deuxensemencés abondamment avec des spores du *Bacillus subtilis*. Dans ces cultures, nous prélevons 0,2 ctm. cube que nous introduisons dans 10 ctm. cube de bouillon. Après agitation, nous prélevons encore 0,2 ctm. c. du deuxième tube et nous les introduisons dans un troisième, opération que nous répétons encore sept fois. Nous nous trouvons ainsi en possession d'un certain nombre de dilutions de moins en moins riches en microbes. A partir de la septième dilution, nous faisons avec chaque dilution des ensemencements dans cinq tubes en prélevant pour chaque ensemencement 0,1 ctm. c. Cette opération est répétée à plusieurs intervalles, de façon à enregistrer les fluctuations subies dans le nombre des microbes. Le tableau suivant montre mieux que toutes les explications qu'on pourrait donner, combien cette expérience vient confirmer les résultats acquis par les méthodes plus modernes.

(1) F. LÖEFFLER : *Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, etc.*; Centr. f. Bakt., t. VI, 1880.

TABLEAU VI.

DEGRÉ DE DILUTION	DE SUITE APRÈS			
	SÉRUM		BOUILLON	
	tubes infectés	tubes stériles	tubes infectés	tubes stériles
$\frac{1}{1250}$	5	0	5	0
$\frac{1}{62500}$	5	0	5	0
$\frac{1}{3125000}$	5	0	5	0
$\frac{1}{156250000}$	5	0	5	0
2 HEURES APRÈS				
	SÉRUM		BOUILLON	
	tubes infectés	tubes stériles	tubes infectés	tubes stériles
$\frac{1}{1250}$	0	5	5	0
$\frac{1}{62500}$	0	5	5	0
$\frac{1}{3125000}$	0	5	4	1
$\frac{1}{156250000}$	0	5	4	1
8 HEURES APRÈS				
	SÉRUM		BOUILLON	
	tubes infectés	tubes stériles	tubes infectés	tubes stériles
$\frac{1}{1250}$	0	5	5	0
$\frac{1}{62500}$	0	5	5	0
$\frac{1}{3125000}$	0	5	5	0
$\frac{1}{156250000}$	0	5	5	0

La méthode par dilution, qui transporte les bacilles non plus dans un milieu solide, mais dans un milieu liquide, nous démontre ainsi le même fait que la méthode des plaques : la destruction des spores dans le sérum naturel et leur conservation, si pas leur pullulation, dans le bouillon.

CHAPITRE IV. -- Identité du pouvoir sporicide avec le pouvoir bactéricide.

Dans le paragraphe précédent, nous avons établi que des spores introduites dans du sérum non chauffé meurent rapidement. Les travaux de BUCHNER et d'autres ont établi le même fait pour beaucoup de formes végétantes de microbes. Le pouvoir sporicide est-il identique au pouvoir bactéricide? C'est ce que nous allons examiner.

II. BUCHNER et ses élèves nous ont fait connaître plusieurs propriétés de la substance bactéricide :

- 1^o Cette substance est détruite par un chauffage à 60°;
- 2^o Elle ne développe ses effets qu'en présence de certains sels;
- 3^o Elle tolère la présence d'une certaine quantité d'aliments pour les microbes; mais quand les aliments sont trop abondants, son action se trouve diminuée.

Le facteur qui est la cause de la destruction des spores se trouve-t-il influencé de la même façon?

1. Action de la température.

Nos expériences précédentes établissent déjà que l'action sporicide du sérum est abolie par un chauffage à 60° pendant une heure, mais elles ne nous apprennent pas la température exacte à laquelle se fait cette destruction, ni la durée précise pendant laquelle il faut laisser cette température exercer son action. Les expériences suivantes combleront cette lacune.

TABLEAU VII.

Nous avons 4 portions de sérum, chauffées respectivement à 56°, 58°, 60° et 62° pendant une heure et ensemencées avec des spores provenant d'un bouillon.

	DE SUITE APRÈS	2 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS	9 HEURES APRÈS
SÉRUM CHAUFFÉ 1 H. A 56°	902	0	0	0
SÉRUM CHAUFFÉ 1 H. A 58°	1012	0	0	0
SÉRUM CHAUFFÉ 1 H. A 60°	952	13824 Pas d'amas	26112	Colonies fusionnées
SÉRUM CHAUFFÉ 1 H. A 62°	378	2952	23328	Colonies fusionnées

Dans les deux tableaux suivants, nous rencontrons 3 milieux, un sérum non chauffé, un sérum chauffé pendant 1 heure à 58° et un bouillon.

TABLEAU VIII.

	DE SUITE APRÈS	3 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS	9 HEURES APRÈS	15 HEURES APRÈS
SÉRUM NON CHAUFFÉ	23760	14896	58	0	0
SÉRUM CHAUFFÉ 1 H. A 58°	31964	7344	228	0	0
BOUILLON	21600	34720	60944	69844	∞

TABLEAU IX.

	DE SUITE APRÈS	3 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS	9 HEURES APRÈS	12 HEURES APRÈS
SÉRUM NON CHAUFFÉ	2976	0	0	0	0
SÉRUM CHAUFFÉ 1 H. A 58°	8568	442	30	15	0
BOUILLON	3744	6960	50160	Augmen- tation	Augmen- tation

Ces tableaux montrent à toute évidence que le pouvoir sporicide peut être considéré comme non modifié par un chauffage à 58° pendant une heure. Dans les portions chauffées, la destruction est, il est vrai, un peu plus lente, mais ce fait s'explique très nettement par l'ensemencement un peu plus abondant.

Ces expériences nous apprennent que la modification qui survient dans le sang quand il perd son action sporicide est liée à une température bien précise. On peut admettre que toutes les températures inférieures à 58° sont sans action sur le pouvoir, du moins quand elles n'agissent qu'une heure; mais il suffit que la température monte un peu pour qu'elle modifie immédiatement la façon dont se comportent les humeurs vis-à-vis des spores.

Nous savons que l'action destructive du sérum sur les formes végétales est influencée de la même façon par la chaleur. C'est donc un premier point de ressemblance entre ces deux actions.

Il est peut-être intéressant de connaître le temps pendant lequel la température de 60° doit agir sur le sérum, pour le dépouiller de sa propriété sporicide.

L'expérience suivante nous fournit ce renseignement. Elle comprend plusieurs portions de sérum : une première de sérum non chauffé et les autres chauffées à 60° pendant des laps de temps variables.

TABLEAU X.

	DE SUITE APRÈS	2 HEURES APRÈS	4 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS
SÉRUM NON CHAUFFÉ	12920	5940	837 Immobilité	1560
SÉRUM CHAUFFÉ 1/4 D'HEURE A 60°	9300	7128	2184 Pas de bac. mob.	5814
SÉRUM CHAUFFÉ 1/2 H. A 60°	11742	9384 Amas	5184 Amas	4794
SÉRUM CHAUFFÉ 3/4 D'HEURE A 60°	9709	9072 Amas	4704 Amas	6840
SÉRUM CHAUFFÉ 1 H. A 60°	6912	6120 Amas	4508 Amas	6460

Ce tableau nous apprend que le chauffage pendant 1/4 d'heure exerce déjà une action sensible; après 3/4 d'heure, l'action neutralisante de la chaleur peut être considérée comme accomplie.

2. Nécessité de l'intervention de certains sels.

BUCHNER a établi ce fait curieux que la substance bactéricide se trouve paralysée complètement quand on soustrait à l'humeur les sels qu'elle renferme. Il l'a fait en soumettant le sérum à la dialyse : ce dernier perd alors toute son action sur les microbes. Il récupère au contraire cette action, dès qu'on y ajoute des sels en proportions convenables, ainsi par ex. le chlorure de sodium à 6 ou 7 0/00.

Le même auteur a démontré que l'on peut mettre cette particularité en évidence d'une manière beaucoup plus simple que par l'osmose. Il suffit de prendre deux portions de sérum, de diluer l'une par de l'eau salée physiologique, l'autre par de l'eau distillée et de les ensemercer toutes les deux avec le même microbe. La première portion manifeste une action bactéricide intense, tandis que la seconde devient immédiatement le siège d'un

développement microbien abondant. En procédant d'une façon analogue avec du sérum que l'on fait agir sur les spores du *Bacillus subtilis*, nous arrivons exactement au même résultat.

L'expérience suivante comporte trois sortes de sérum :

1° Un sérum pur ;

2° Un groupe de trois tubes de sérum dilué en proportion de plus en plus forte avec de l'eau salée.

Cette dilution est sans effet sur le pouvoir bactéricide ;

3° Un troisième groupe du même sérum, mais dilué avec de l'eau pure. Dans ce groupe, nous avons une pullulation d'autant plus rapide que la quantité d'eau est plus forte.

TABLEAU XI.

	APRÈS 3 HEURES	APRÈS 7 HEURES	APRÈS 9 HEURES
SÉRUM FRAIS	Beauc. de bâtonnets mal colorés	Sérum transparent	Rien à voir
2 CC. SÉRUM FRAIS + 2 CC. EAU SALÉE	Sérum transparent Pas de bac. bien color.	Comme précédemment	Idem
1 CC. SÉRUM FRAIS + 3 CC. EAU SALÉE	Sérum transparent Pas de bac. bien color.	Comme précédemment	Idem
1/2 CC. SÉRUM FRAIS + 3 1/2 CC. EAU SALÉE	Sérum transparent Pas de bacilles colorés	Comme précédemment	Idem
2 CC. SÉRUM FRAIS + 2 CC. EAU SIMPLE	Sérum transparent Pas de bac. bien color.	Sérum transparent	Beauc. bac. mob., amas qui roulent. Bien color.
1 CC. SÉRUM FRAIS + 3 CC. EAU SIMPLE	Quelq. bac. réfringents Rares bac. bien color.	Sérum trouble Petite culture	Culture
1/2 CC. SÉRUM FRAIS + 1/2 CC. EAU SIMPLE	Assez bien de bac. homog. mob., bien color.	Sérum trouble Culture	Idem

Le rôle des sels est tellement évident dans le tableau qui précède qu'il se passe de tout commentaire. C'est un second point de ressemblance entre le pouvoir microbicide et le pouvoir sporicide.

3. Addition de substances alimentaires.

L'addition d'une certaine quantité de substances alimentaires n'empêche pas le sérum d'exercer son influence destructive sur les spores du *Bacillus subtilis*. Non seulement le sérum tolère de petites quantités de bouillon

nutritif, mais on peut le noyer dans des flots de ce liquide, sans que son pouvoir destructif s'en trouve considérablement amoindri.

TABLEAU XII.

	DE SUITE APRÈS	2 HEURES APRÈS	4 HEURES APRÈS	7 HEURES APRÈS	LENDEMAIN
4 CC. SÉRUM FRAIS	5814	392	252	312	650
3 CC. SÉRUM FRAIS + 1 CC. BOUILLON	3294	351	217	207	405
2 CC. SÉRUM FRAIS + 2 CC. BOUILLON	5928	377	286	288	788
1 CC. SÉRUM FRAIS + 3 CC. BOUILLON	4788	798	475	336	13300
4 CC. BOUILLON	5244	6264	Colonies fusionnées	Colonies fusionnées	∞

Ainsi, on peut ajouter impunément à un volume de sérum trois fois son volume de bouillon sans voir, le jour du mélange, le pouvoir bactéricide paralysé d'une façon sensible (v. 4^e tube); 7 heures après le mélange, le nombre des microbes survivants diffère à peine de celui que l'on trouve dans le tube de sérum pur et le microscope ne décèle pas plus de développement dans l'un que dans l'autre. Ce n'est que le lendemain que le tube additionné si largement de bouillon présente une pullulation franche. A cette époque, les tubes plus faiblement dilués se comportent à peu près comme le tube de sérum pur.

L'addition de sérum frais ne transforme pas seulement le bouillon en un milieu impropre au développement de la spore, il empoisonne également un autre milieu, très favorable, le sérum chauffé. L'expérience suivante, faite sur le même plan que la précédente, avec la seule différence que le bouillon est remplacé par du sérum chauffé, le démontre clairement. De même que 1 partie de sérum frais ajoutée à 3 parties de bouillon suffisait pour enrayer le développement, de même un mélange dans la même proportion de sérum frais et de sérum chauffé se montre impropre à tout développement microbien.

TABLEAU XIII.

	DE SUITE APRÈS	1 HEURES APRÈS	2 HEURES APRÈS	3 HEURES APRÈS	12 HEURES APRÈS
4 CC. SÉRUM FRAIS	6384	912 Pas de bac. se colorant bien	0 Idem	0 Idem	0 Idem
3 CC. SÉRUM FRAIS + 1 CC. SÉRUM CHAUFFÉ	10608	1824 Pas de signe de végétation	480 Idem	0 Idem	0 Idem
2 CC. SÉRUM FRAIS + 2 CC. SÉRUM CHAUFFÉ	9044	5616 Rares bac. se colorant bien	300 Pas de bâton. bien colorés	0 Idem	0 Idem
1 CC. SÉRUM FRAIS + 3 CC. SÉRUM CHAUFFÉ	6912	2420 Assez bien de bât. bien col.	0 Pas signe de vie	0 Idem	0 Idem
4 CC. SÉRUM CHAUFFÉ	1530	312 Amas, bac. mob., colorés	990 Idem	1032 Idem	10920 Idem

Dans cette expérience, on peut noter un fait intéressant, c'est un commencement manifeste de vie dans les tubes 3 et 4. Une heure après l'ensemencement, le microscope y décèle des bâtonnets bien colorables, surtout dans le tube 4; mais une heure plus tard ils ont disparu. Ce phénomène ne s'observe jamais dans le sérum pur. Dans nos tubes 3 et 4, on dirait que l'empoisonnement s'est fait lentement. Un certain nombre de spores sont parvenues à se transformer en bâtonnets complets, adultes, mais ceux-ci ont tous néanmoins fini par succomber.

Ces dernières expériences (tableaux XII et XIII), dans lesquelles nous voyons une dose faible de sérum frais transformer un milieu nutritif en un milieu toxique, ne sont pas un simple objet de curiosité; elles ont une portée considérable. En effet, devant la façon toute différente dont se comportent le sérum frais et le sérum chauffé, on pourrait se demander si la chaleur n'intervient pas en imprimant à l'humeur des modifications qui la rendent facilement assimilable aux microbes? Dans cette hypothèse, le sérum frais constituerait un obstacle au développement de la spore, non pas parce qu'il empoisonne cette dernière, mais uniquement parce qu'il ne contient pas certains principes nécessaires à cet organisme, principes qui y prendraient naissance sous l'action du chauffage; en d'autres termes, le sérum frais serait un aliment incomplet pour le microbe et ne deviendrait aliment complet que sous l'action de la chaleur, par exemple grâce à un dédoublement.

Cette hypothèse se trouve complètement renversée par notre dernière expérience ; en effet, l'addition de bouillon a pour effet d'introduire dans le sérum les substances azotées et ternaires sous leurs formes les plus assimilables, les peptones et les glucoses, en même temps qu'elle y apporte des sels et des produits de désassimilation les plus variés (extrait de viande). C'est ainsi que le tube 4 du tableau XII est beaucoup plus bouillon que sérum : dilué tel qu'il est, il renferme encore 0,75 0/0 de peptone, 0,37 0/0 de glucose et autant d'extrait. Or cette proportion d'aliments si facilement assimilables dépasse de loin les besoins de notre organisme. C'est ainsi que nous l'avons vu se développer parfaitement dans du bouillon dilué au cinquième, au dixième et même dans une simple solution d'extrait de viande à 0,5 0/0. Or qu'est-ce qui l'empêcherait de se développer dans un milieu beaucoup plus riche, si non une cause tout à fait indépendante d'un défaut d'aliments ?

CHAPITRE V. -- Expériences avec le bacille de la pomme de terre.

Désireux d'étendre nos recherches à d'autres organismes saprophytes sporulés, nous avons essayé d'expérimenter avec différentes autres espèces, mais nous n'en avons pas trouvé d'aussi convenables pour cette étude que le bacille du foin. Le plus propice que nous ayons trouvé est le bacille de la pomme de terre, cet organisme qu'on rencontre si souvent sur les pommes de terre incomplètement stérilisées et qui y forme une couche ridée d'un gris sale. Cet organisme est loin de se prêter à ces recherches avec la même facilité que le bacille du foin, et cela pour plusieurs raisons.

1° Les spores sont plus petites et plus difficiles à retrouver au microscope ; mais ce n'est là qu'un inconvénient relativement léger.

2° La germination de la spore se fait avec une lenteur considérable. Si l'on peut admettre que les spores du foin germent toutes en une ou deux heures, les bacilles de la pomme de terre ne commencent à montrer de changement qu'après 6 heures et parfois davantage.

3° Mais l'inconvénient le plus grave est le suivant : malgré tous nos efforts nous n'avons pu obtenir le développement de ce microbe sur nos plaques. Ce moyen de numération nous a donc fait défaut, et nous avons dû nous contenter de l'examen microscopique.

Nos expériences avec cet organisme sont donc moins complètes, que celles faites avec le *Bacillus subtilis*, mais les résultats qui nous ont été

fournis par l'étude de ce dernier nous permettent d'affirmer que le sérum exerce sur les spores du bacille de la pomme de terre la même action sporicide.

Dans l'expérience suivante, nous avons trois portions, la première de sérum frais, la deuxième de sérum chauffé, la troisième de bouillon, largementensemencées avec des spores du bacille de la pomme de terre.

TABLEAU XIV.

	APRÈS 6 HEURES	APRÈS 9 HEURES	LENDEMAIN
SÉRUM FRAIS	Pas signe de développement	Idem	Idem
SÉRUM CHAUFFÉ	Assez bien de bacilles mobiles par champ	Culture de bacilles excessivement vifs	Culture Sérum trouble
BOUILLON	Assez bien de bacilles mobiles par champ	Assez bien de bacilles mobiles	Culture Bouillon trouble

TABLEAU XV.

Expérience semblable à la précédente.

	APRÈS 3 HEURES	APRÈS 6 HEURES	APRÈS 9 HEURES
SÉRUM FRAIS	Pas signe de développement	Idem	Idem
SÉRUM CHAUFFÉ	Pas signe de développement	Rares bacilles mobiles par champ	Petite culture
BOUILLON	Pas signe de développement	Plusieurs bacilles mobiles par champ	Culture

On sera peut-être étonné de voir qu'après 3 heures il n'y a aucune trace de vie dans notre sérum chauffé, ni dans notre bouillon; mais qu'on veuille bien se rappeler que les spores du bacille de la pomme de terre ne germent en général qu'après 5—6 heures.

Enfin, dans l'expérience suivante, nous avons joint la coloration des préparations à l'examen à frais. Comme on pourra facilement s'en convaincre en jetant un coup d'œil sur notre tableau, elle vient en tous points confirmer les expériences précédentes.

TABLEAU XVI.

	APRÈS 8 HEURES	APRÈS 12 HEURES
SÉRUM FRAIS	On n'aperçoit aucun bacille bien coloré	Idem
SÉRUM CHAUFFÉ	Rares bacilles mobiles, bien colorables	Bacilles mobiles et bien colorables
BOUILLON	Plusieurs bacilles bien colorables. Quelques-uns sont assez mobiles	Petite culture de bacilles mobiles, tous bien colorables

Ces quelques expériences, forcément sommaires, prouvent donc l'existence dans le sérum d'un agent capable de détruire les spores du bacille de la pomme de terre et viennent confirmer les résultats que nous avait donnés le *Bacillus subtilis*.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES.

Nous serons bref.

Les adversaires du pouvoir bactéricide des humeurs prétendent que les spores ne sont pas enveloppées dans la même destruction que les formes végétantes, et ils partent de cette assertion pour nier le pouvoir des humeurs et expliquer la mort des organismes par le changement du milieu. Nos recherches démontrent combien cette façon de raisonner est dénuée de fondement, car elles établissent d'une façon péremptoire l'existence d'un pouvoir sporicide entendu dans le sens d'une destruction active.

En effet, trois facteurs seuls peuvent être invoqués pour expliquer la destruction de microorganismes introduits dans un milieu de culture :

1^o Le changement de milieu. Nos expériences étant faites exclusivement avec des spores, ce facteur ne peut entrer en ligne de compte.

2^o L'absence d'une ou de plusieurs substances alimentaires. Ce motif ne peut être invoqué pour expliquer la destruction. En effet, la présence d'aliments en quantité surabondante ne sauve pas de la mort des organismes aussi peu exigeants que ceux employés par nous.

3^o Il ne reste plus qu'à admettre l'existence d'une substance bactéricide agissant à l'instar d'un antiseptique même dans les milieux les mieux composés pour une pullulation microbienne.

Il est vrai que nos conclusions ne concordent pas avec celles de TRAPEZNIKOFF, dont nous citons le mémoire au commencement de notre travail, mais nous croyons que ces dernières ne découlent nullement des expériences instituées.

En effet, si nous analysons les expériences de TRAPEZNIKOFF sur le lapin, les seules qui soient comparables aux nôtres, nous trouvons qu'il a opéré sur cet animal avec les trois organismes suivants :

le *Bacillus anthracis*,
 — *subtilis*,
 — *megaterium*.

Nous admettons volontiers que le bacille du charbon germe et pullule dans les humeurs du lapin, ce microbe étant un organisme pathogène par excellence et tuant à dose infinitésimale. Il est naturel, la théorie du pouvoir microbicide des humeurs l'exige même, qu'il oppose une résistance particulière au sang ou à la lymphe. Aussi ne peut-il servir à mettre en évidence la propriété bactéricide.

Quant aux expériences que TRAPEZNIKOFF a faites avec les spores du *Bacillus subtilis* et du *Bacillus megaterium*, nous trouvons que, loin de servir sa cause, elles plaident plutôt en faveur de la nôtre. L'auteur introduit ces spores dans la chambre antérieure de l'œil chez le lapin et les retire à des intervalles variables. Voici comment il s'exprime à ce sujet :

- Sur les préparations faites avec le liquide de l'œil à divers intervalles, après l'introduction des spores des deux espèces, et colorées à la fuchsine et au bleu de méthylène, on trouvait soit des spores colorées en rouge (c'est-à-dire des spores qui n'ont pas encore subi la germination), soit une absence complète de spores; en tout cas on ne trouvait pas de spores germées. On trouvait bien des leucocytes renfermant des spores; mais on ne voyait pas de bacilles ni de filaments. -

De l'aveu de l'auteur même, tout signe de germination dans l'humeur aqueuse faisait donc défaut; fait singulier, si l'on songe que les spores du foin mettent peu de temps à germer et que l'humeur aqueuse est un milieu dans lequel elles se développent. Aussi, comme nous le disions, ces expériences nous semblent devoir être interprétées plutôt en faveur de l'existence d'une action délétère des liquides de l'organisme sur les spores des espèces non pathogènes. L'auteur russe a du reste compris parfaitement l'interprétation défavorable à son point de vue que l'on pouvait faire de ses expériences et il tâche d'en atténuer la portée en expliquant l'absence de germination par le défaut d'oxygénation.

D'après lui, la chambre antérieure de l'œil ne renferme pas assez d'oxygène pour permettre aux spores des *Bacillus subtilis* et *megaterium* de germer. Outre que cette hypothèse est peu plausible et purement gratuite, elle nous paraît en contradiction formelle avec la germination dans la chambre antérieure de l'œil des spores du *Bacillus anthracis*, auxquelles l'oxygène est au moins aussi nécessaire qu'aux bacilles sus-nommés.

En réalité, l'auteur, qui a fait de nombreuses expériences avec le *Bacillus anthracis*, n'en a fait aucune utilisable avec les spores des saprophytes, puisque de son aveu même, les seules qu'il a instituées avec ces dernières sont entachées d'un vice rédhibitoire. Il a déposé les spores dans un milieu où, d'après lui, elles ne pouvaient se développer à cause du manque d'oxygène; ce n'est pas dans un milieu pareil qu'il est possible d'arriver à un résultat. La première condition nécessaire à ces expériences, c'est de fournir à la spore tout ce dont elle a besoin, et de montrer que malgré cela elle se trouve anéantie.

Quant à nous, nous sommes tenté d'interpréter tout autrement les expériences de TRAPEZNIKOFF avec les spores des saprophytes. Elles n'ont pas pullulé par manque d'oxygène, mais parce qu'elles ont été détruites par le même agent meurtrier qui est contenu dans le sérum.

RÉSUMÉ.

Notre travail se résume dans les propositions suivantes :

1° Le sérum du lapin exerce, du moins après sa sortie du corps, une action destructive intense et rapide sur la spore du bacille du foin.

2° Cette action disparaît quand on chauffe le sérum à 60° pendant une heure.

3° Elle ne s'exerce qu'avec le concours de certains sels.

4° La présence d'aliments en quantité surabondante ne la gêne pas dans sa manifestation. Ce dernier fait prouve que la destruction ne peut pas s'interpréter par la disette, mais qu'elle est bien réellement due à un poison exerçant son action délétère même dans les milieux présentant une composition des plus favorables.

5° La spore du bacille de la pomme de terre semble se comporter comme celle du bacille du foin.

6° *De tous ces faits, nous tirons la conclusion finale que l'on ne peut invoquer la prétendue germination directe, sans destruction, des spores dans le sérum, comme argument pour combattre la doctrine du pouvoir bactéricide des humeurs. Au contraire, la façon dont les spores se comportent dans ce milieu est tout à fait favorable à cette doctrine.*

En terminant ce travail, nous sommes heureux de saisir l'occasion de présenter à Monsieur le Professeur DENYS nos remerciements les plus sincères pour les précieux conseils qu'il a bien voulu nous donner au cours de nos expériences.

EXPLICATION DE LA PLANCHE.

FIG. 1. Culture sporulée du bacille du foin dans le bouillon. La plupart des spores sont libres, quelques-unes sont encore renfermées dans les bâtonnets. Ceux-ci, soit qu'ils renferment encore des spores, soit qu'ils les ont perdues, sont pâles et granulés. Pour simplifier les dessins suivants, ces bâtonnets dégénérés n'ont plus été représentés.

FIG. 2. Commencement de la germination des spores dans le bouillon. Les spores pâles indiquent la première étape de cet acte.

FIG. 3. Idem dans le sérum chauffé.

FIG. 4. Idem dans le sérum frais.

FIG. 5 et 6. État des cultures trois heures après l'ensemencement. FIG. 5. dans le bouillon, FIG. 6, dans le sérum chauffé. On remarquera que dans le bouillon les bacilles sont indépendants; dans le sérum chauffé, ils sont agrégés.

FIG. 7 et 8. Mêmes cultures après cinq heures. FIG. 7. Bouillon, FIG. 8, Sérum chauffé.

FIG. 9 et 10. Mêmes cultures sept heures après l'ensemencement. FIG. 9. Bouillon.

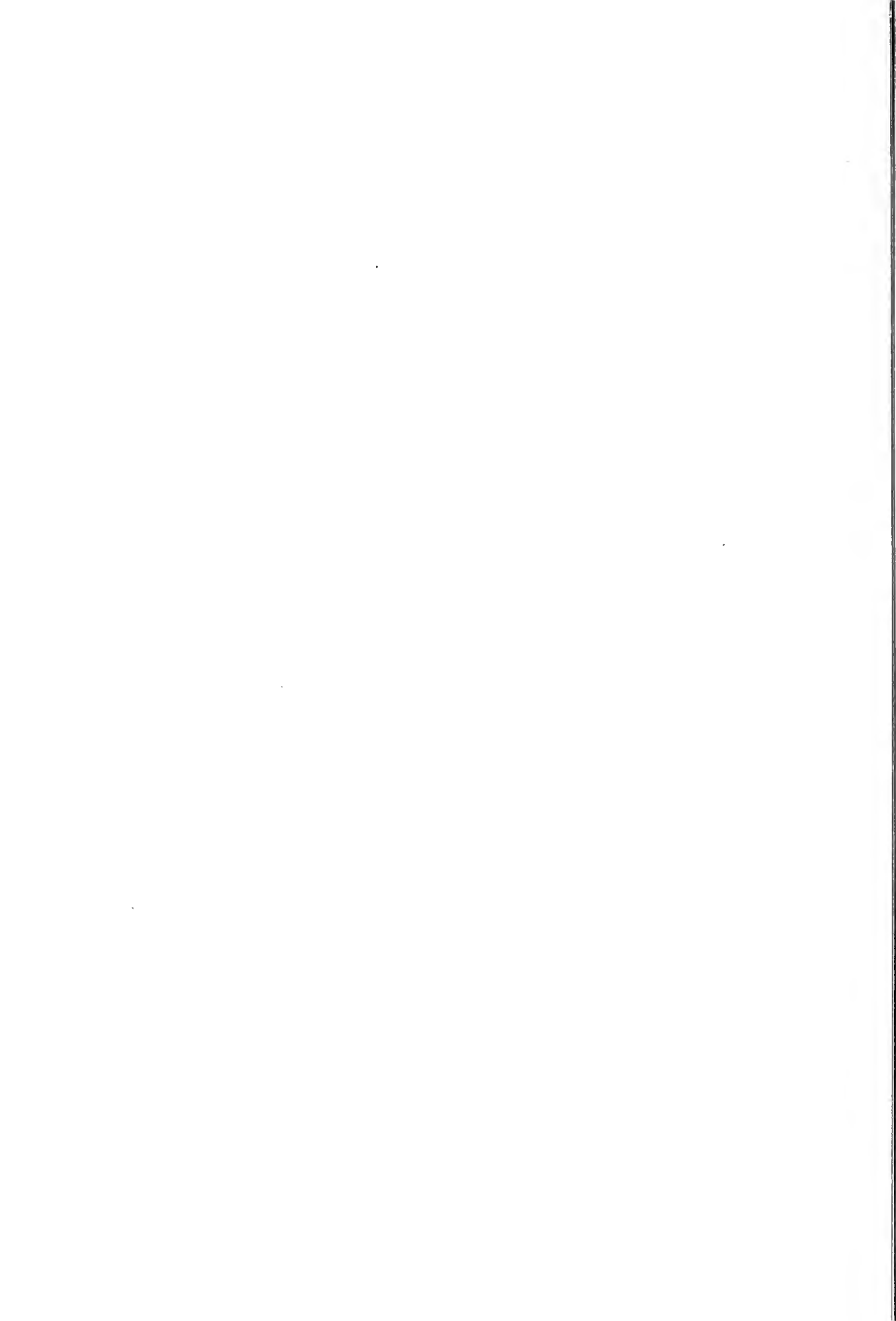
FIG. 10. Sérum chauffé. Mêmes remarques.

FIG. 11, 12 et 13. Elles sont destinées à montrer l'aggrégation rapide des bâtonnets dans le sérum chauffé.

FIG. 11. Culture de bouillon avant le mélange au sérum chauffé.

FIG. 12. État de la même culture immédiatement après l'addition de sérum chauffé. La plupart des bacilles ont formé de petits groupes.

FIG. 13. Même culture cinq minutes après l'addition de sérum chauffé. Condensation des bacilles en groupes formés de nombreux individus.





1



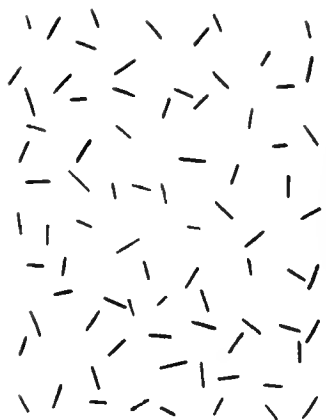
2



3



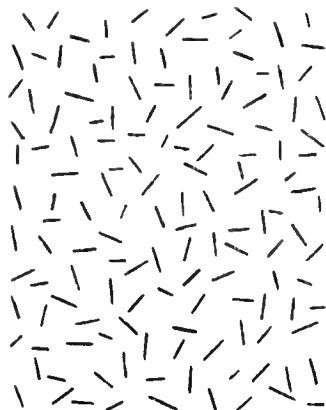
4



5



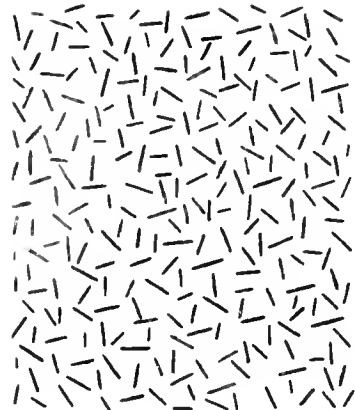
6



7



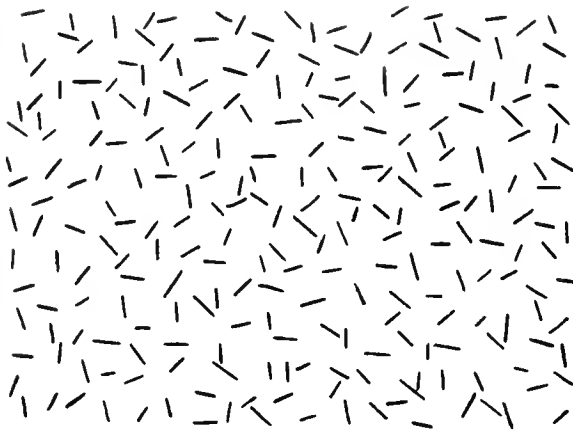
8



9



10



11



12



13





R A P P O R T

ENTRE LE

POUVOIR PATHOGÈNE DES MICROBES

ET

LEUR RÉSISTANCE AU SÉRUM

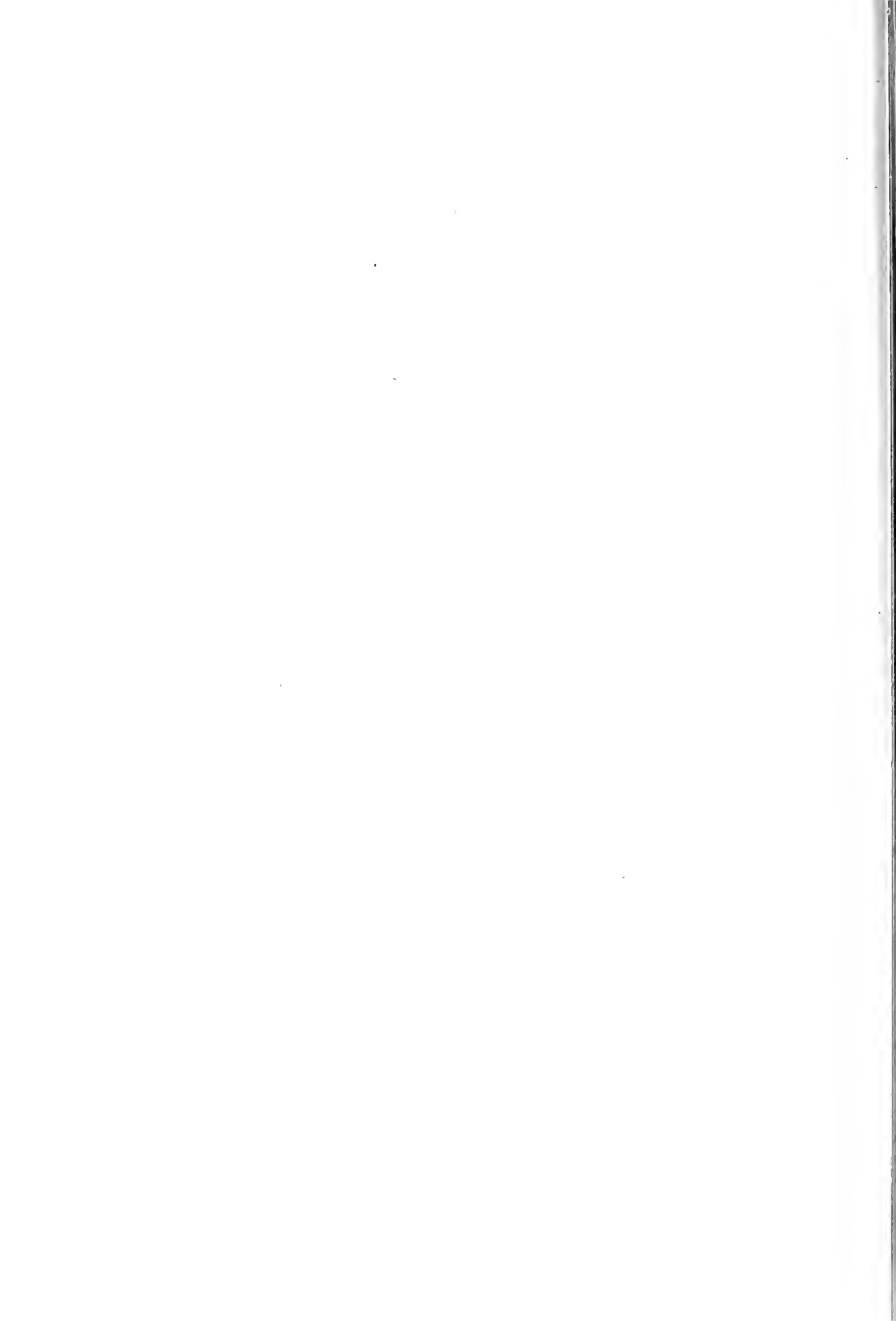
PAR

J. L E C L E F

DOCTEUR EN MÉDECINE ET ASSISTANT AU LABORATOIRE.

(Mémoire déposé le 30 juin 1894.)

(TRAVAIL DU LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
ET DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.)



RAPPORT

entre le pouvoir pathogène des microbes et leur résistance
au sérum.

En parcourant les travaux parus en ces derniers temps sur l'immunité naturelle des animaux vis-à-vis de certaines espèces microbiennes et leur grande réceptivité à l'égard d'autres organismes, nous nous sommes demandé s'il n'existe pas de rapport entre le pouvoir bactéricide des humeurs d'une espèce animale et le pouvoir pathogène des microbes à l'égard de ces mêmes animaux.

La question n'est pas neuve; les partisans de la théorie du pouvoir bactéricide des humeurs, et NISSEN en particulier, ont fait des expériences dans ce sens, sans être arrivés toutefois à établir d'une manière manifeste l'existence de ce rapport. Il nous semble oiseux de faire ici une analyse détaillée de tous les travaux traitant d'une question qui, vu son actualité et l'intérêt tout particulier qu'elle offre au point de vue de la résistance de nos tissus aux infiniment petits, est connue d'un chacun. Cette analyse nous paraît d'autant plus inutile que les données, sur lesquelles on s'appuie pour nier la connexité entre le pouvoir pathogène et la résistance aux humeurs, ne constituent que des faits isolés et ne découlent pas d'une étude systématique. Aussi abordons-nous directement notre sujet.

Nous nous sommes proposé dans les expériences qui suivent d'établir l'existence de ce parallélisme entre la résistance des microbes aux humeurs et leur action pathogène vis-à-vis des animaux et à expliquer jusqu'à un certain point les résultats contradictoires obtenus jusqu'à ce jour par les différents auteurs.

Comme humeur, nous avons choisi le sérum du lapin, qui est doué de propriétés bactéricides éminentes. Cet animal est, en outre, sujet à de nombreuses infections; ce qui nous permet d'étudier un bon nombre d'organismes pathogènes.

Le nombre des microbes expérimentés par nous est de dix : cinq pathogènes et cinq non pathogènes ou saprophytes.

Les microbes pathogènes sont les suivants :

- 1° le bacille de la septicémie des lapins (choléra des poules);
- 2° le proteus;
- 3° le staphylocoque pyogène;
- 4° le bacille pyocyanique;
- 5° le coli-bacille.

Les organismes non pathogènes sont :

- 1° un microcoque rose;
- 2° un microcoque isolé d'une viande en putréfaction;
- 3° un microcoque jaune canari trouvé comme impureté sur une plaque d'agar;
- 4° un bacille rencontré aussi comme impureté et formant sur l'agar des colonies petites, blanches et bien délimitées;
- 5° le *Bacillus subtilis* ou bacille du foin.

REMARQUE IMPORTANTE. Tous ces organismes, pathogènes ou non, ensemencés dans le sérum *chauffé*, y pullulent directement, comme nous nous en sommes assuré fréquemment. Leur destruction ne peut donc être attribuée à l'absence d'aliments convenables.

Quand on veut démontrer le pouvoir bactéricide d'une humeur sur un microbe donné, il est nécessaire de s'assurer avant tout que le changement de milieu n'est pas la cause de la destruction qui pourrait se produire. En effet, pour ce genre d'expériences, on emprunte ordinairement la semence à une culture dans le bouillon, bien plus facile à préparer qu'une culture dans le sérum, et l'on s'expose à interpréter comme effet du pouvoir bactéricide des diminutions dues simplement à des actions physico-chimiques grossières. Il faut donc, si l'on veut recourir pour l'ensemencement aux cultures dans le bouillon, établir par des expériences préliminaires que l'on ne peut pas mettre la diminution observée sur le compte du changement du milieu. C'est ce que nous avons fait pour nos différents microbes. Dans

une série d'expériences, consistant à ensemençer conjointement le sérum frais, c'est-à-dire non chauffé, avec une culture dans le sérum chauffé âgée de 12 à 24 heures et une culture dans le bouillon du même âge, nous avons pu constater que la destruction s'observait, quelle que fut la provenance de la semence. Nous devons pourtant convenir qu'elle s'exerce quelquefois avec plus d'intensité sur la semence provenant du bouillon que sur celle provenant du sérum; mais le fait n'est pas constant; et bien qu'il se présente réellement dans quelques cas, dans d'autres il n'est qu'apparent et s'explique par la différence du nombre d'organismes ensemençés.

Nous donnons ici comme exemples quelques-unes de ces expériences comparatives avec semence de deux origines différentes.

EXPÉRIENCE.

Nous avons différentes portions de sérum frais et de sérum chauffé, ensemençées avec des organismes cultivés tantôt dans le bouillon, tantôt dans le sérum chauffé.

Proteus.

	DE SUITE APRÈS	1 HEURE APRÈS	2 HEURES APRÈS	4 HEURES APRÈS	8 HEURES APRÈS
SÉRUM FRAIS SEMENCE PROVE- NANT DU SÉRUM	1908	1120	2210	2520	∞
SÉRUM FRAIS SEMENCE PROV. DU BOUILLON	1188	700	240	10000	∞

Staphylocoque.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 7 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE SÉRUM	2295	1971	1709	1200	52000	∞
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE BOUILLON	595	100	100	80	21849	∞

Coli-bacille.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 7 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE SÉRUM	13536	6880	2960	58	837	1200
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE BOUILLON	1240	130	70	0	0	20

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 8 H.
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE SÉRUM	4480	280	50	23	644
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE BOUILLON	25200	9360	200	20	575

Coques de la putréfaction.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 8 H.
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE SÉRUM	33600	40	23	4	10500
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE BOUILLON	5880	60	60	22	60

Bacille indéterminé.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 8 H.
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE SÉRUM	8100	60	10	60	875
SÉRUM FRAIS SEMENCE DE BOUILLON	798	175	9	20	70

Bacillus subtilis.

	DE SUITE					
	APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 7 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS						
SEMENCE	1896	33	9	1	28160	122000
DE SÉRUM						
SÉRUM FRAIS						
SEMENCE	65	7	0	0	0	0
DE BOUILLON						

	DE SUITE				
	APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 8 H.
SÉRUM FRAIS					
SEMENCE	19840	100	14	1500	∞
DANS SÉRUM					
SÉRUM FRAIS					
SEMENCE	600	226	50	130	∞
DANS BOUILLON					

Dans tous ces tableaux, nous voyons l'ensemencement suivi de destruction, quelle que soit la culture, sérum ou bouillon, qui a fourni les organismes. Aussi nous croyons-nous autorisé, par ces expériences et par d'autres analogues, à employer les cultures dans le bouillon comme plus faciles à faire et donnant les mêmes résultats que les cultures dans le sérum.

Le plan général de nos différentes expériences est le suivant. Le soir, avant de fixer le pouvoir bactéricide, nous ensemençons des bouillons avec des cultures pures dans la gélatine. Les bouillons passent la nuit dans la couveuse.

D'un autre côté, nous recueillons aseptiquement le sang d'un lapin, et le lendemain nous prélevons le sérum exprimé par le caillot. Ce sérum, pur de leucocytes, est réparti en plusieurs tubes, que nous ensemençons chacun avec une espèce différente de microbes. L'un jour nous prenons telle série d'organismes, le lendemain telle autre série; mais notre choix est constamment dirigé de telle façon que toujours, à côté des microbes pathogènes, se trouvent des représentants des saprophytes. De cette façon, nous pouvons comparer constamment l'action du sérum sur nos deux groupes d'organismes et chacune de nos expériences met en regard les pertes subies par les deux groupes sous l'influence d'un seul et même sérum.

Nous ne comptons pas donner ici la série de ces expériences dans l'ordre où elles ont été faites; la plupart sont reproduites à la fin de ce travail où le lecteur pourra les consulter, s'il en a le loisir. Il nous a paru plus intéressant de les grouper non pas dans leur ordre chronologique, mais en disposant dans un même tableau les résultats obtenus dans chaque expérience pour un microbe donné. De cette façon, on pourra d'un seul coup d'œil se faire une idée de la destruction subie par un seul et même microbe dans les différentes expériences.

Pour juger du pouvoir bactéricide qu'une humeur exerce sur les microbes, il faut tenir compte de deux facteurs :

1° De la quantité d'organismes détruits comparativement au nombre inoculé ;

2° Du moment où commence la pullulation. Car il est un fait d'observation que plus le pouvoir bactéricide est intense, plus cette dernière est retardée.

Nous commençons par les résultats que nous a fournis le groupe des organismes pathogènes, et dans ce groupe, le bacille de la septicémie du lapin.

Les tableaux qui suivent, où se trouvent condensés les résultats obtenus, renferment cinq colonnes. La première renseigne sur le nombre des microbes ensemencés; la seconde sur le chiffre le plus bas observé au cours de l'expérience; la troisième sur le rapport en α/β de ce dernier chiffre avec le premier. La quatrième colonne nous fournit les moyennes de destruction pour un groupe déterminé d'expériences. Ainsi, on aura une moyenne pour les ensemencements de 10000 microbes et plus, une autre pour les ensemencements allant de 10000 à 1000; une troisième pour les ensemencements allant de 1000 à 100; enfin une quatrième, s'il y a lieu, pour les expériences où le chiffre primitif ne dépasse pas 100. Dans la cinquième colonne enfin, nous trouvons le nombre d'heures après lequel la repullulation s'est manifestée.

Nous n'avons guère la prétention d'attribuer à cette dernière colonne une valeur absolument précise; toutefois, comme nos plaques ont été faites en règle générale toutes les deux heures, les chiffres y renseignés ne doivent pas s'écarter de la moyenne d'une façon bien notable.

Nous rangeons nos tableaux en commençant par les microbes qui ont subi la moindre destruction et nous passons graduellement à ceux qui souffrent davantage du contact des humeurs naturelles.

Bacille pyocyannique.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
37604	54432	100	100 0,0	1 heure
6180	12000	100		1 »

Bacille de la septicémie des lapins.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
231552	116736	50,24	50,24 0,0	2 heures
34240	19584	52,59	61 08 0,0	2 »
22800	20160	88,42		2 »
11400	4928	42,23		2 »
3420	3192	93,36	93,36 0,0	4 »

Staphylocoque pyogène.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
33920	20440	60,22	56,92 0,0	4 heures
33600	15080	44,88		9 »
21320	14000	65,66		4 1/2 »
2295	1200	52,27	56,13 0,0	7 »
1750	1005	60		8 »
980	120	12,24	12,35 0,0	2 »
750	0	0		8 »
595	80	13,45		7 »

Proteus.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
96600	63440	65,67	53,37 o/o	4 heures
66640	27000	40,51		4 "
60320	7040	11,67		9 "
59360	39520	66,57		4 1/2 "
45360	22640	49,91		2 "
43520	21060	48,39		4 1/2 "
35400	29680	83,84		4 "
23040	736	3,19		pas apr. 10 h.
19710	22080	100		4 heures
18900	12096	64		4 "
9120	0	0	pas apr. 10 h.	
1950	1254	64,30	48,60 o/o	4 heures
1908	1120	58,70		4 "
1836	2001	100		2 "
1188	240	20		4 "

Bacille commun de l'intestin.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
58240	0	0	17,49 o/o	pas apr. 10 h.
32480	17420	53,64		2 heures
29400	18600	63,26		4 "
27360	0	0		pas apr. 10 h.
25200	20	0,08		8 heures
15800	912	5,07		8 "
13536	58	0,42		7 "
4480	23	0,51	0,13 o/o	7 "
3240	1	0,03		9 "
2048	0	0		pas apr. 10 h.
1240	0	0		pas apr. 10 h.

Microcoque rose.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O.O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION.
216384	61600	28,46	27,42 0,0	2 heures
158968	41760	26,39		pas apr. 10 h.
62640	462	0,74	0,74 0,0	9 heures
7280	0	0	8,28 0,0	pas apr. 10 h.
7000	0	0		pas apr. 10 h.
5700	1890	33,15		8 heures
2090	0	0		pas apr. 10 h.
980	0	0		pas apr. 10 h.
680	0	0	0 0,0	pas apr. 10 h.
370	0	0		pas apr. 10 h.

Microcoque de la putréfaction.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O.O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
33600	4	0,012	0,005 0,0	8 heures
24080	0	0		pas apr. 10 h.
5880	22	0,37	1,14 0,0	8 heures
5320	280	5,26		9 "
2800	0	0		pas apr. 10 h.
2720	0	0		pas apr. 10 h.
2000	0	0		pas apr. 10 h.
750	0	0	0 0,0	pas apr. 10 h.
30	0	0		pas apr. 10 h.

Microcoque jaune canari.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O.O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
5680	150	2,64	50 0,0	pas apr. 10 h.
5600	5480	97,85		2 heures
50	0	0	0 0,0	pas apr. 10 h.

Bacille indéterminé.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O/O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
54080	7280	13,46	11,46 o/o	2 1/2 heures
23680	2240	9,46		2 1/2 »
8100	16	0,19	3,51 o.o	8 »
1520	50	3,28		pas apr. 10 h.
1200	85	7,08	0,37 o.o	9 heures
798	9	1,12		8 »
266	0	0	0,37 o.o	pas apr. 10 h.
126	0	0		pas apr. 10 h.

Bacillus subtilis.

CHIFFRE INITIAL	CHIFFRE LE PLUS BAS	O/O DE SURVIE	MOYENNE DE SURVIE	ÉPOQUE DE PULLULATION
19840	14	0,07	8,01 o/o	5 heures
13000	2076	15,96		pas apr. 10 h.
1896	1	0,05	0,05 o.o	7 heures
600	50	8,33		8 »
100	0	0	1,55 o.o	9 »
100	0	0		pas apr. 10 h.
65	0	0	1,55 o.o	pas apr. 10 h.
60	0	0		pas apr. 10 h.

Après avoir parcouru ces différents tableaux, il n'est pas possible de nier qu'il existe un rapport manifeste entre le pouvoir pathogène et la résistance au sérum. Prise dans son ensemble, cette résistance diminue graduellement des premiers tableaux aux derniers, c'est-à-dire au fur et à mesure qu'on passe des microbes les plus pathogènes aux moins pathogènes.

Comme puissance pathogène, nous pouvons classer les microbes en trois groupes :

1° Ceux qui tuent les lapins par une simple inoculation sous la peau, à l'aide du fil de platine par exemple. Comme type de ce groupe, on peut citer le bacille du charbon.

2° Ceux qui ne tuent plus les lapins après une simple inoculation sous la peau, mais qui les tuent par l'injection d'une petite quantité de bouillon, par exemple 1 centimètre cube. Exemple : le staphylocoque pyogène, le coli-bacille, le proteus;

3° Ceux qui ne tuent les lapins qu'à fortes doses : plusieurs centimètres cubes de culture.

Parmi les organismes que nous avons employés, on doit ranger dans le 1^{er} groupe : Le bacille de la septicémie du lapin.

- 2^{me} " Le bacille pyocyanique.
 Le staphylocoque pyogène.
 Le proteus.
 Le coli-bacille.
- 3^{me} - Le bacille du foin.
 Le coque rose.
 Le coque de la putréfaction.
 Le coque jaune canari.
 Le bacille indéterminé.

Il est à peine besoin, croyons-nous, de légitimer notre classification.

Le bacille de la septicémie appartient bien à ce groupe d'organismes qui tuent les lapins à dose minime. Notre échantillon virulent, comme nous le verrons plus bas, les faisait périr à la dose de 1/100 de centimètre cube.

Dans le second groupe, nous rencontrons des organismes pathogènes non seulement pour les lapins, mais pour d'autres animaux et pour l'homme : le bacille pyocyanique, le staphylocoque pyogène, le proteus, le coli-bacille. Tous ces organismes sont franchement pathogènes. Le proteus, d'après WATSON-CHEYNE, tue les lapins à la dose de 1/10 de cc. Il est inutile de faire ressortir par des exemples la virulence des trois autres organismes.

Enfin, dans le troisième groupe, nous avons tous organismes inconnus dans la pathologie et qui ne sont mortels pour les lapins qu'à doses extraordinaires.

Les trois petits tableaux suivants indiquent suffisamment la faiblesse de leur action pathogène. Ils se rapportent à des lapins inoculés dans la plèvre avec des bouillons du microcoque rose, du microcoque canari et du bacille indéterminé.

Microcoque rose.

NUMÉRO DU LAPIN	POIDS	DOSE INJECTÉE	RESULTATS
I	880 gr.	10 ctm. c.	Meurt après 60 heures
II	1000 gr.	6 ctm. c.	Survit
III	920 gr.	2 ctm. c.	Survit

Coque jaune canari.

NUMÉRO DU LAPIN	POIDS	DOSE INJECTÉE	RÉSULTATS
I	900 gr.	6 ctm. c.	Meurt après 60 heures
II	920 gr.	1 ctm. c.	Survit

Bacille indéterminé.

NUMÉRO DU LAPIN	POIDS	DOSE INJECTÉE	RÉSULTATS
I	1240 gr.	2 ctm. c.	Survit
II	1300 gr.	1,2 ctm. c.	Survit

Notre classification, au point de vue de la puissance pathogène, se trouve ainsi parfaitement justifiée.

Or, si nous rangeons à présent les microbes non plus suivant leur virulence, mais suivant la résistance qu'ils ont opposée au sérum, nous obtenons un ordre à peu près identique. Le seul point important sur lequel il y a divergence est la place occupée par le bacille pyocyanique. Ce microbe, que sa virulence range, pour autant que nous sachions, dans le second groupe, prend la tête de la liste pour la façon dont il résiste au sérum. Voici cet ordre :

- Bacille pyocyanique.
- Bacille de la septicémie du lapin.
- Le staphylocoque pyogène.
- Le proteus.
- Le coli-bacille.
- Le bacille du foin.
- Le coque rose.
- Le coque de la putréfaction.
- Le coque canari.
- Le bacille indéterminé.

C'est la même liste que la précédente avec la différence que le bacille pyocyanique a pris la place du bacille de la septicémie et vice-versa.

Si à présent nous entrons davantage dans les détails, nous pouvons constater que le rapport entre le pouvoir pathogène et la résistance des humeurs est des plus étroits. Pour cela, à côté de chaque microbe, plaçons

la moyenne de survie, pour les différents écarts choisis : 100,000 et au-delà, 100,000 à 10,000, 10,000 à 1000 et 1000 à 0. Nous obtenons les proportions intéressantes suivantes :

100000 ET AU-DELA.

1 ^{er} Groupe	: Bacille de la septicémie	50,24	o.o.
2 ^{me} »	: Coque rose	27,42	»

100000 A 10000.

1 ^{er} et 2 ^{me} Groupes	}	Bacille pyocyanique	100	»
		Septicémie.	61,08	»
		Staphylocoque	56,92	»
		Proteus	53,35	»
3 ^{me} Groupe	}	Coli-bacille.	17,49	»
		Bacille du foin	8,01	»
		Bacille indéterminé	11,46	»
		Coque rose	0,74	»
		Coque de la putréfaction.	0,005	»

10000 A 1000.

1 ^{er} Groupe	: Septicémie	93,36	o.o.	
2 ^{me} Groupe	}	Staphylocoque	56,13	»
		Proteus	48,60	»
		Coli-bacille	0,13	»
3 ^{me} Groupe	}	Bacille du foin	0,05	»
		Bacille indéterminé	3,51	»
		Coque rose	8,28	»
		Coque de la putréfaction.	1,14	»
		Coque canari	50	»

1000 ET AU-DESSOUS.

2 ^{me} Groupe	: Staphylocoque	12,55	»	
3 ^{me} Groupe	}	Bacille du foin	1,35	»
		Bacille indéterminé	0,37	»
		Coque rose	0	»
		Coque de la putréfaction.	0	»
		Coque canari	0	»

Parmi tous ces chiffres exprimant en pour cent la survie des microbes, il en est à peine deux qui ne traduisent pas exactement le pouvoir pathogène de l'organisme qu'ils représentent.

C'est d'abord, pour l'écart de 100,000 à 10,000, le chiffre de 100 0/0 du bacille pyocyanique; ensemencé avec abondance, cet organisme n'a pas subi de destruction, tandis que le bacille de la septicémie, bien plus virulent, a diminué dans une proportion notable (61 0/0 de survie). Nous ne savons à quoi attribuer la manière dont s'est comporté notre bacille pyocyanique; peut-être jouissait-il d'une virulence spéciale, extraordinaire, mais nous n'avons pas eu l'occasion de la fixer par des injections aux animaux. La résistance de notre échantillon au sérum est du reste absolument insolite, si on la compare aux résultats obtenus par d'autres auteurs et à ceux obtenus antérieurement au laboratoire de Louvain par des échantillons différents. D'après l'ensemble de ces résultats, le bacille pyocyanique opposerait non pas une résistance absolue, mais une résistance moyenne propre aux organismes de notre second groupe.

Le second chiffre singulier se rapporte, dans l'écart de 10,000 à 1000, au coque canari qui accuse une survie de 50 0/0, par conséquent plus forte que celle du proteus (48 0/0) et presque aussi forte que celle du staphylocoque (56 0/0). Mais si nous consultons la page 387, nous voyons que, des deux expériences qui ont fourni cette moyenne et qui ont pour point de départ des chiffres sensiblement égaux (5980 et 5000), l'une ne donne que 2,64 0/0 de survie, l'autre par contre 97,85 0/0. C'est ce dernier chiffre, extraordinairement élevé, qui est la cause de la moyenne de 50 0/0. Tous ceux, qui ont la pratique personnelle de la question bactéricide, savent qu'on rencontre quelquefois de ces résultats insolites, qui influencent considérablement les moyennes si le nombre d'expériences est restreint. Pour notre part, nous croyons que le chiffre de 50 0/0 n'exprime pas l'état réel des choses et qu'il est dû à une cause fortuite.

Malgré de rares exceptions dues à des causes fortuites, toutes ces expériences nous permettent de conclure qu'il existe un rapport étroit entre le pouvoir pathogène des microbes et leur résistance au sérum.

Mais ce rapport n'existe pas seulement quand on compare entre eux différents organismes, il est également apparent quand on étudie diverses variétés d'un même organisme, mais se distinguant les unes des autres par leur degré de virulence. La variété la plus pathogène est le plus difficilement détruite. H. VAN DE VELDE a démontré ce fait de la façon la plus lumineuse pour le staphylocoque pyogène. Dans le cours de nos expériences, nous pûmes confirmer son observation sur deux échantillons du bacille de la septicémie des lapins, qui opposaient manifestement une résistance

inégale au sérum. L'un de ces échantillons, notre plus virulent, celui dont il a été question jusqu'à présent, provenait d'un cadavre en putréfaction, dont les sucs inoculés à des souris nous l'avaient donné à l'état de pureté. Le second, moins virulent, provenait de M^r KRAL, de Prague. Ces deux échantillons, ensemencés dans un même sérum, présentaient une sensibilité inégale à la destruction, comme le montre entre autres l'expérience suivante :

		DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 9 H.
SEPTICÉMIE VIRULENTE	SÉRUM FRAIS	3420	3240	3192	26400	537600
	SÉRUM CHAUFFÉ	142272	277440	1113600	∞	∞
SEPTICÉMIE ATTÉNUÉE	SÉRUM FRAIS	5110	3210	2970	1083	63360
	SÉRUM CHAUFFÉ	178416	349240	647520	∞	∞

Dans cette expérience, l'échantillon virulent est à peine détruit et la repullulation commence après 4 heures; l'échantillon atténué subit, au contraire, une diminution des $\frac{4}{5}$ environ et la pullulation se fait après 9 heures.

Or, en injectant dans la plèvre des lapins les mêmes bouillons qui avaient servi à ensemencer les sérum du tableau précédent, nous obtenons des effets parfaitement en harmonie avec les chiffres du pouvoir bactéricide.

Expérience.

	NUMÉRO D'ORDRE DU LAPIN	POIDS	DOSE INJECTÉE	RÉSULTATS
SEPTICÉMIE VIRULENTE	I	680 gr.	1 ctm. c.	Trouvé mort après 7 heures
	II	800 gr.	1 2 ctm. c.	" 7 "
	III	800 gr.	1/10 ctm. c.	Meurt après 24 heures
	IV	820 gr.	1 10 ctm. c.	Trouvé mort après 30 heures
	V	740 gr.	1/100 ctm. c.	" 48 "
SEPTICÉMIE ATTÉNUÉE	I	800 gr.	1 2 ctm. c.	Meurt après 27 heures
	II	800 gr.	1 10 ctm. c.	Pas même malade

Nous pouvons donc conclure que la relation entre la virulence des microbes et leur résistance à l'action bactéricide se manifeste non seulement quand on compare entre eux différents organismes, mais qu'elle s'observe également sur plusieurs échantillons d'une même espèce, mais de virulence inégale.

Cette conclusion n'est pas en harmonie avec l'opinion qui semble prévaloir jusqu'à présent. Généralement, on admet qu'il n'y a pas de rapport entre l'action pathogène d'un microbe et le pouvoir bactéricide des humeurs. Nous croyons inutile d'entamer ici une longue critique des faits sur lesquels est basée cette manière de voir.

Contentons-nous de faire remarquer que beaucoup de ces faits sont sans valeur pour les motifs suivants :

1° Les expériences sont trop peu nombreuses. Bien souvent, il n'y en a qu'une, et sur le terrain qui nous occupe il est absolument nécessaire de les multiplier et de les faire dans des conditions identiques.

2° Les auteurs n'ont pas toujours tenu compte de la virulence du microbe employé.

3° Ils n'ont pas songé au trouble que pouvait introduire dans les résultats le changement du milieu. Cette remarque s'applique spécialement au bacille du charbon, qui est très sensible au changement du milieu (DENYS et KAISIN).

CONCLUSIONS.

1° Il existe, du moins in vitro, un rapport étroit entre le pouvoir pathogène des microbes et leur résistance à l'action destructive des humeurs.

2° Les antihumoralistes n'ont aucun droit d'invoquer comme preuve contre la doctrine du pouvoir bactéricide le manque de relation entre ces deux facteurs.

Qu'il nous soit permis de remercier ici M. le Professeur DENYS, de la bienveillante attention qu'il a bien voulu prêter à nos travaux et des conseils précieux qu'il n'a cessé de nous donner.

APPENDICE.

Ainsi que nous l'avons dit plus haut, nous faisons suivre ici toute une série de tableaux, montrant à ceux qui pourraient y prendre intérêt les expériences telles que nous les faisons au jour le jour.

TABLEAU I.

	DE SUITE APRÈS	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 8 H.
SÉRUM FRAIS SEPTICÉMIE ATTÉNUÉE	46720	40230	6916	26904
SÉRUM FRAIS SEPTICÉMIE ATTÉNUÉE	15456	12880	1512	78792
SÉRUM FRAIS SEPTICÉMIE ATTÉNUÉE	17640	4536	336	19780
SÉRUM CHAUFFÉ SEPTICÉMIE ATTÉNUÉE	16317	21600	291840	∞

TABLEAU II.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 8 H.
SÉRUM FRAIS COQUES ROSES	370	0	0	0	4788
SÉRUM CHAUFFÉ COQUES ROSES	1620	1680	2100	23940	∞
SÉRUM FRAIS SEPTICÉMIE VIRU- LENTE	34240	19584	95200	∞	∞
SÉRUM CHAUFFÉ SEPTICÉMIE VIRU- LENTE	38304	54096	65664	∞	∞
SÉRUM FRAIS SEPTICÉMIE VIRU- LENTE	231552	116736	144229	∞	∞
SÉRUM CHAUFFÉ SEPTICÉMIE VIRU- LENTE	126616	216720	∞	∞	∞
SÉRUM FRAIS SEPTICÉMIE VIRU- LENTE	11400	4928	15435	67488	∞
SÉRUM FRAIS SEPTICÉMIE VIRU- LENTE	46512	20976	34272	268800	∞

TABLEAU III.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 5 H.	APR. 8 H.	LENDEMAIN
SÉRUM FRAIS COQUES ROSES	158968	41760	57120	47376	49392	tube trans- parent
SÉRUM CHAUFFÉ COQUES ROSES	259920	256256	312816	∞	∞	trouble
BOUILLON COQUES ROSES	200816	191520	231264	650168	∞	trouble
SÉRUM FRAIS COQUES ROSES	216384	61600	162816	165984	171072	
SÉRUM CHAUFFÉ COQUES ROSES	341040	332704	417088	∞	∞	
BOUILLON COQUES ROSES	308112	283200	316512	912000	∞	
SÉRUM FRAIS COLI-BACILLE	695751	328320	551040	660919	∞	
SÉRUM FRAIS COLI-BACILLE	169920	111888	177600	289312	515200	
SÉRUM FRAIS COLI-BACILLE	24192	15680	8232	+	∞	
SÉRUM CHAUFFÉ COLI-BACILLE	34400	34656	76720	698000	∞	

TABLEAU IV.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS PYOCYANIQUE	37604	55296	54432	79488	∞
SÉRUM FRAIS PYOCYANIQUE	6480	12096	12000	26712	31710
SÉRUM CHAUFFÉ PYOCYANIQUE	6080	19872	26448	94176	∞
SÉRUM FRAIS BAC. INDÉTERMINÉ	266	0	0	0	0
SÉRUM FRAIS BAC. INDÉTERMINÉ	126	0	0	0	0
SÉRUM CHAUFFÉ BAC. INDÉTERMINÉ	360	626	780	812	1680

TABLEAU V.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 5 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS PROTEUS	1950	1800	1254	3900	17760
SÉRUM FRAIS COQUES ROSES	7280	950	90	∞	0
SÉRUM FRAIS COQUES DE LA PUTRÉFACTION	5720	3125	1960	∞	0
SÉRUM FRAIS COLI-BACILLE	2098	608	252	∞	0

TABLEAU VI.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS COLI-BACILLE	3240	112	30	1	20880
SÉRUM FRAIS COQUES JAUNE CANARI	50	0	0	0	0
SÉRUM FRAIS COQUES ROSES	62640	12800	714	462	∞
SÉRUM FRAIS BACILLE INDÉTERMINÉ	1200	870	85	416	∞
SÉRUM FRAIS BACILLUS SUBTILIS	100	20	0	0	0
SÉRUM FRAIS STAPHYLOCOQUES (VIRULENTS)	33920	26700	20440	53760	∞
SÉRUM FRAIS COQUES DE LA PUTRÉFACTION	5320	2100	280	326	235288
SÉRUM FRAIS PROTEUS	66640	32240	27000	69680	∞

TABLEAU VII.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 5 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS PROTEUS	96600	77520	63440	70560	∞
SÉRUM FRAIS COQUES PUTRÉFACTION	24080	170	0	0	0
SÉRUM FRAIS COQUES ROSES	680	560	160	0	320
SÉRUM FRAIS COQUES JAUNE CANARI	5680	1190	980	600	150
SÉRUM FRAIS BACILLE INDÉTERMINÉ	23680	2240	12480	16660	36960

TABLEAU VIII.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 8 H.
SÉRUM FRAIS BACILLE DU FOIN	rares	0	0	0	0
SÉRUM FRAIS PROTEUS	23040	10240	3920	1020	736
SÉRUM FRAIS BACILLE INDÉTERMINÉ	1520	90	50	60	60
SÉRUM FRAIS COQUES ROSES	7000	192	30	0	0
SÉRUM FRAIS COQUES PUTRÉFACTION	230	20	0	0	0

TABLEAU IX.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS COLI-BACILLE	32489	17420	26560	74880	∞
SÉRUM FRAIS BACILLUS SUBTILIS	60	0	0	0	0
SÉRUM FRAIS PROTEUS	60320	53120	26000	7040	138240
SÉRUM FRAIS STAPHYLOCOQUES	12220	5200	896	720	283

TABLEAU X.

	DE SUITE APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 10 H.
SÉRUM FRAIS COLI-BACILLE	29400	18600	19440	115200	∞
SÉRUM FRAIS BACILLUS SUBTILIS	100	30	0	0	0
SÉRUM FRAIS PROTEUS	45360	40560	48160	22640	∞
SÉRUM FRAIS STAPHYLOCOQUES	19680	18200	15000	7200	212800



É T U D E

SUR LE

MÉCANISME DE LA VIRULENCE

DU

STAPHYLOCOQUE PYOGÈNE

PAR LE

D^r Honoré VAN DE VELDE

ASSISTANT A LA CLINIQUE MÉDICALE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.

(Mémoire déposé le 30 juin 1894.)

TRAVAIL DU LABORATOIRE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
ET DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.



ÉTUDE

sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène.

Dans le présent travail, nous nous proposons d'étudier comparativement sur l'organisme du lapin et du chien l'action d'une variété atténuée et d'une variété virulente d'une même espèce microbienne : le *Staphylococcus pyogenes aureus*. Nous avons entrepris cette étude avec le désir d'obtenir de nouvelles lumières sur la question encore si discutée de la virulence.

A notre connaissance, aucun travail systématique de ce genre n'a encore été exécuté avec cet organisme. Nous pouvons donc nous dispenser de faire l'historique de la question. Mais avant d'entrer en matière, indiquons en quelques mots l'ordre que nous allons suivre.

Dans les *préliminaires*, nous établissons la filiation et la virulence relative de nos deux variétés de staphylocoques.

Notre travail se divise ensuite en deux parties.

LA PREMIÈRE PARTIE se rapporte au lapin. Elle comporte les chapitres suivants :

- Chapitre I.* Effets de l'injection dans la plèvre des deux variétés de staphylocoques.
- Chapitre II.* Du rôle protecteur des humeurs.
- Chapitre III.* Du rôle protecteur des leucocytes.
- Chapitre IV.* D'un poison qui neutralise le rôle protecteur des leucocytes.
- Chapitre V.* D'un poison qui neutralise le rôle protecteur des humeurs.
- Chapitre VI.* Considérations générales et conclusions.
- Chapitre VII.* Question spéciale. Parallèle entre le pouvoir bactéricide du sérum et celui de la partie liquide de l'exsudat.

LA DEUXIÈME PARTIE a traité au chien et étudie la manière dont cet animal se comporte vis-à-vis des deux variétés de staphylocoques.

Préliminaires.

Choix du microbe. — Sa virulence.

Comme nous venons de le dire, nos expériences ont été faites avec une variété atténuée et une variété virulente de *Staphylococcus pyogenes*. Afin de donner de l'unité à nos recherches, nous ne nous sommes pas servi de microbes puisés à deux sources différentes; mais partant d'un organisme peu pathogène, nous l'avons transformé en une variété aussi virulente que possible.

Notre staphylocoque provient d'une fistule cutanée en communication avec une carie tuberculeuse : un peu de la sécrétion purulente, recueilli avec un fil de platine, fut étendu dans un tube d'agar incliné et donna en quelques jours des colonies caractéristiques de staphylocoque. D'une seule colonie bien isolée de ses voisines, nous avons prélevé un peu de semence, avec laquelle nous avons infecté des bouillons. Après 24 heures de couveuse, ces bouillons furent injectés dans la plèvre de trois lapins dans les proportions suivantes :

4 cc. au 1^{er} (Poids 1300).

2 cc. au 2^{me} (P. 1250).

1 cc. au 3^{me} (P. 1250).

Ces trois lapins succombèrent avec une pleurésie : le 1^{er} après 8 heures, — le 2^{me} après 5 jours, — le 3^{me} après 11 jours.

Nous étions ainsi en possession d'un staphylocoque à virulence moyenne, dont il fallait exalter le pouvoir pathogène au plus haut degré possible.

A cet effet, nous fîmes passer le microbe par la plèvre de toute une série de lapins du poids moyen de 1200 à 1350 gr. L'exsudat de chaque lapin était employé à inoculer des bouillons qui, après 24 heures de couveuse, étaient injectés à doses de plus en plus faibles. Le passage à travers cette longue série de lapins devait avoir pour résultat non seulement d'augmenter le pouvoir pathogène, mais aussi de le rendre fixe.

NUMÉROS DES PASSAGES	QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	SUITES DE L'INJECTION
I	4 cc.	Meurt après 8 heures.
II	1 cc.	» 24 »
III	2 cc.	Trouvé mort et déjà froid après 10 heures.
IV	2 cc.	Trouvé mort après 6 heures.
V	2 cc.	Trouvé mort et encore chaud après 7 heures.
VI	1 cc.	Meurt après 7 heures.
VII	1/2 cc.	» 12 »
VIII	1/4 cc.	» 13 »
IX	1/4 cc.	» 10 »
X	1/5 cc.	» 26 »
	1/10 cc.	» 19 »
XI	1/5 cc.	» 22 »
	1/10 cc.	» 10 »
XII	1/20 cc.	» 23 »
XIII	1/40 cc.	» 25 »
XIV	1/10 cc.	» 12 »
XV	1/10 cc.	» 18 »
XVI	1/40 cc.	» 12 »
XVII	1/80 cc.	» 20 »
XVIII	1/160 cc.	» 40 »

Comme on le voit, cette longue série de passages nous mit entre les mains un staphylocoque tuant un lapin à la dose de 1/160 cc.

A ce moment, nous avons jugé utile de fixer de nouveau la virulence du bouillon, avec lequel nous avons injecté nos trois premiers lapins. Afin d'éliminer le facteur ancienneté, nous avons rajeuni ce bouillon en l'inoculant dans un nouveau tube, et c'est ce dernier bouillon de 24 heures que nous injectons comparativement avec un bouillon de 24 heures du dix-huitième passage.

Staphylocoque primitif	}	L. I. 1250 : 4 cc. : meurt en 38 heures.
		L. II. 1200 : 2 cc. : vit encore après 20 jours.
		L. III. 1300 : 1 cc. : » 20 »
Staphylocoque exalté	}	L. I. 1150 : 1/20 cc. : meurt en 18 1/2 heures.
		L. II. 1325 : 1/40 cc. : » » 30 »
		L. III. 1200 : 1/80 cc. : » » 36 »

Les résultats de cette expérience comparative sont des plus satisfaisants: ils nous apprennent non seulement que les passages à travers les lapins ont exalté considérablement le pouvoir pathogène de notre staphylocoque, mais que notre culture primitive avait perdu une partie de la virulence qu'elle avait montrée tout au début de nos expériences. En effet, 2 et 1 cc. tuaient les lapins respectivement en 5 et en 11 jours, tandis que maintenant les mêmes doses les laissent en vie après 20 jours.

Nous nous trouvons donc en possession de deux microbes d'origine identique, dérivant tous les deux d'un seul et même coque et se distinguant l'un de l'autre par une différence considérable de virulence. Comme nous avons eu soin de ne nous servir que de cultures tout à fait comparables par la composition du bouillon, par la durée du séjour à la couveuse (24 h.) et par l'abondance du développement, nous sommes à même d'énoncer en chiffres cette différence. Pour faire ce calcul, il suffit de comparer entre elles les doses de staphylocoque atténué et de staphylocoque virulent qui tuent après le même laps de temps.

Des expériences reproduites dans le tableau précédent et de multiples autres dont il sera question dans le cours de ce travail, il résulte que 1/160 cc. de *V* (1) tue un lapin après 8 jours en moyenne, tandis que notre microbe primitif, le staphylocoque *A*, à son minimum de virulence doit être donné à la dose de 5—6 cc. et plus pour déterminer le même effet. On produit alors la mort après une huitaine de jours avec des lésions identiques à celles des lapins qui ont succombé aux staphyl. *V*. Si nous établissons la proportion entre nos deux variétés de microbes, en nous basant sur les doses qui produisent des effets identiques, nous constatons que leur virulence se trouve dans le rapport de 1/160 cc. à 5 cc., c'est-à-dire de 1 à 800. *En d'autres termes, un seul de nos staphylocoques virulents développe le pouvoir pathogène de huit cents de nos staphylocoques atténués.* C'est précisément à cette différence prodigieuse que nous attribuons en bonne partie les résultats que nous avons obtenus.

Pour conserver à notre variété virulente la plénitude de son action pathogène, nous la soumettions continuellement à des passages répétés à travers les lapins : au commencement tous les trois jours; plus tard, nous étant assuré que cette propriété se conserve assez longtemps dans les cultures, nous nous contentions de répéter ces injections tous les dix jours, en ayant soin toutefois d'employer toujours des doses rapidement mortelles.

Nos recherches ont porté sur les lapins et les chiens, et comme ces animaux se sont comportés d'une façon différente, nous exposerons isolément les expériences entreprises sur chaque espèce.

1) Pour plus de facilité, nous désignerons dans la suite de notre travail par *A* ou staph. *A* notre microbe atténué, peu virulent; et par *V* ou staph. *V* le même microbe dont la virulence a été exaltée.

PREMIÈRE PARTIE.

Expériences sur les Lapins.

CHAPITRE I. — Effets de l'injection dans la plèvre des deux variétés de staphylocoques.

La première tâche, qui s'imposait tout naturellement, était d'étudier dans leurs détails les effets de l'injection de nos deux espèces de microbes aux lapins.

Nous avons fait à ce sujet un grand nombre d'expériences : tantôt nous injectons des doses égales de ces microbes, tantôt des doses faibles de virulents et des doses considérables d'atténués, afin de pouvoir mieux fixer le sort de ces derniers.

Voici comment nous opérons : à un lot de lapins de poids égal, nous introduisons dans la plèvre soit des staph. *A*, soit des staph. *I*. Toutes les heures, toutes les deux heures ou toutes les quatre heures suivant les expériences, nous sacrifions un lapin et nous pouvons assister ainsi à toutes les phases du processus. Chez les lapins injectés avec le staph. *A*, les organismes deviennent de plus en plus rares; au contraire, chez les lapins qui reçoivent des microbes *I*, ceux-ci deviennent de plus en plus nombreux et, au bout d'un petit nombre d'heures, leur nombre devient réellement prodigieux.

La diminution des *A* et la pullulation des *I* s'apprécient facilement par un simple examen microscopique.

Expérience.

Nous prenons deux lots de quatre lapins : à chacun des lapins du premier lot, nous injectons 1 cc. d'un bouillon de staph. *A*; à ceux du second lot, 1/2 cc. d'un bouillon de staph. *I*.

Toutes les deux heures, nous sacrifions un lapin de chaque lot et nous faisons une préparation colorée avec les exsudats.

Le tableau suivant nous donne en résumé les résultats de cette expérience.

QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	HEURES DE SURVIE	EXAMEN DES PRÉP. MICR. COLORÉES
St. A : 1 cc.	2	Beaucoup de microbes par champ : coques, diplocoques et quelques tout petits amas.
	4	Peu de microbes.
	6	Rares microbes.
	8	Microbes (?)
St. V : 1 2 cc.	2	Peu de microbes par champ : moins que les A correspondants.
	4	Assez bien de microbes.
	6	Culture de microbes avec des amas très grands.
	8	Culture: dans chaque champ de gros amas et parmi ceux-ci de très grands.

Nous ne nous sommes pas contenté dans la suite d'un simple examen microscopique, mais nous avons fixé le nombre d'organismes au moyen de plaquesensemencées avec des quantités égales d'exsudat.

Nous avons fait ainsi un grand nombre d'expériences résumées dans les tableaux suivants : la première colonne indique la dose injectée, la deuxième le temps après lequel l'animal fut tué, la troisième donne le nombre des colonies comptées sur les plaquesensemencées chacune avec deux anses de l'exsudat.

Mais comme les chiffres fournis par les plaques ne donnent pas le nombre absolu des microbes, mais seulement le nombre des individus contenus dans deux anses, il est nécessaire, pour avoir la proportion réelle, de tenir compte de la quantité d'exsudat. Pour obtenir des chiffres vraiment comparables, nous avons multiplié les nombres fournis par les plaques par les nombres de centimètres cubes de l'exsudat. Ces chiffres sont consignés dans la dernière colonne. Ils sont l'expression véritable de la pullulation ou de la régression microbienne.

	QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	HEURES DE SURVIE	NOMBRE DE MICROBES TROUVÉ DANS 2 ANSES DE L'EXSUDAT	QUANTITÉ D'EXSUDAT	NOMBRE DE MICROBES CONTENU DANS LA QUANTITÉ TOTALE DE L'EXSUDAT
1 ^r Lot : A	2 cc.	1	(1)	2 cc.	
		2	42,240	4 cc.	168,960
		3	31,620	4 cc.	126,480
		4	8,700	2 1/2 cc.	21,750
2 ^d Lot : V	1/2 cc.	1	700	1 cc.	700
		2	2,940	6 cc.	17,000
		3	19,430	3 cc.	49,290
		4	4,340	7 cc.	30,380
		5	121,000	2 cc.	242,000

Si, dans le lot des virulents, on fait abstraction du quatrième chiffre, la progression est continue et extrêmement rapide. A ce dernier point de vue, les chiffres sont très intéressants : de 40,000 et de 30,000 à la troisième et la quatrième heure, on arrive à 242,000 une heure plus tard.

A un examen rapide, on pourrait trouver singuliers les premiers chiffres des virulents comparés à ceux des atténués; mais n'oublions pas que la dose des V est 4 fois plus faible que celle des A. Cette différence de dose fait encore mieux ressortir la façon différente dont se comportent les deux variétés.

Voici d'autres expériences encore : si l'on n'y observe pas chez les lapins inoculés avec les microbes A la diminution rigoureuse et progressive que nous avons rencontrée dans l'expérience précédente, cette diminution ressort néanmoins de l'ensemble des chiffres.

	QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	HEURES DE SURVIE	NOMBRE DE MICROBES TROUVÉ DANS 2 ANSES D'EXSUDAT	QUANTITÉ D'EXSUDAT	NOMBRE DE MICROBES CONTENU DANS LA QUANTITÉ TOTALE DE L'EXSUDAT
1 ^r Lot : st. A	2 cc.	1	86,864	2 cc.	173,000
		2	176,960	3 cc.	530,000
		3	40,500	6 cc.	243,000
		4	2,280	4 cc.	9,120
2 ^d Lot : st. V	2 cc.	2	8,250	2 cc.	16,500
		3	80,960	4 cc.	323,000
		4	41,536	3 cc.	134,600

(1) Cette plaque manque, mais à l'examen microscopique nous avons constaté beaucoup plus de microbes que chez le lapin suivant

	QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	HEURES DE SURVIE	NOMBRE DE MICROBES TROUVÉ DANS 2 ANSES D'EXSUDAT	QUANTITÉ D'EXSUDAT	NOMBRE DE MICROBES CONTENU DANS LA QUANTITÉ TOTALE DE L'EXSUDAT
1 ^r Lot : st. A	2 cc.	1	1,200	2 cc.	2,240
		3	1,720	2 cc.	3,440
		4 1/2	600	4 cc.	2,400
		6	200	10 cc.	2,000
2 ^d Lot : st. I'	2 cc.	1	450	3 cc.	1,350
		3	161,280	3 cc.	483,840
		4 1/2	873,600	5 cc.	4,368,000
		6	428,100	4 cc.	1,712,508

Une quatrième expérience mérite une mention spéciale à cause de la disproportion entre les doses injectées : d'un côté trois lapins reçoivent chacun 1 cc. de A, tandis que trois autres lapins reçoivent chacun une dose 20 fois moindre de bouillon I', soit 1/20 cc. Nous voyons après 8 heures le nombre des microbes I' dépasser celui des microbes A et à la 12^{me} heure ces derniers ont totalement disparu, alors que les I' ont atteint un chiffre élevé.

	QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	HEURES DE SURVIE	NOMBRE DE MICROBES TROUVÉ DANS 2 ANSES D'EXSUDAT	QUANTITÉ D'EXSUDAT	NOMBRE DE MICROBES CONTENU DANS LA QUANTITÉ TOTALE DE L'EXSUDAT
1 ^r Lot : st. A	1 cc.	4	2,040	11 cc.	22,440
		8	3,600	4 cc.	4,400
		12	0	4 cc.	0
2 ^d Lot : st. I'	1/20 cc.	4	170	2 cc.	340
		8	89,600	2 cc.	179,200
		12	84,560	4 cc.	338,240

Outre les chiffres précédents se rapportant à des lots de lapins, nous en possédons un grand nombre d'autres qui ont été recueillis isolément à l'occasion d'autres expériences. Nous avons réuni dans un même tableau ceux qui se rapportent à des lapins tués après 6—7 heures d'injection.

	QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	HEURES DE SURVIE	NOMBRE DE MICROBES TROUVÉ DANS 2 ANSES D'EXSUDAT	QUANTITÉ D'EXSUDAT	NOMBRE DE MICROBES CONTENU DANS LA QUANTITÉ TOTALE DE L'EXSUDAT
St. A	2 cc.	6-7	3,500	4 cc.	14,000
			3,680	3 cc.	10,040
			780	6 cc.	4,680
			536	8 cc.	4,288
			504	6 cc.	3,024
			825	6 cc.	4,950
			4,450	2 cc.	8,900
St. V	1/10 cc.	6-7	11,560	5 cc.	57,800
			21,420	3 cc.	64,260
			6,320	5 cc.	31,600
			7,840	5 cc.	39,200
			92,036	2 cc.	184,072

Toutes les expériences précédentes, se rapportant aux premières heures qui suivent l'injection, reçoivent une confirmation des plus intéressantes, lorsque nous laissons nos lapins à staph. A vivre plus longtemps ou que nous laissons mourir ceux qui ont reçu des staph. V.

Le tableau suivant en donne le résumé.

	QUANTITÉ DE BOUILLON INJECTÉE	HEURES DE SURVIE	NOMBRE DE COLONIES DANS 2 ANSES D'EXSUDAT	QUANTITÉ D'EXSUDAT	NOMBRE DANS L'EXSUDAT TOTAL
St. A	2 cc.	15	(1) 85	15 cc.	1275
		26	(1) 640	1 cc.	640
		18	(2) 360	10 cc.	3600
St. V	1/10 cc.	40	80,640	12 cc.	967,680
		mortspont.			
		29	(3)		
	1/80 cc.	mortspont.			

(1) Pas vu de microbes sur la préparation colorée de l'exsudat.

(2) Sur la préparation colorée de l'exsudat, nous avons trouvé de rares staphylocoques après avoir cherché longtemps.

(3) La plaque n'a pas été faite, mais une préparation colorée donne des amas de microbes qui recouvrent plusieurs champs du microscope.

Nous pouvons conclure qu'à partir de l'injection les A vont rapidement en diminuant de nombre, les V au contraire deviennent de plus en plus nombreux, au point d'atteindre, après quelques heures, des chiffres très forts.

Outre la marche en sens inverse de leur nombre, les microbes A et V présentent encore d'autres différences : les premiers sont notamment le siège de deux altérations bien caractéristiques qu'on n'observe guère sur les seconds.

1° Ils se gonflent de façon à acquérir un volume 2 à 3 fois plus grand qu'au moment de l'injection;

2° ils perdent leur affinité pour les matières colorantes : au lieu de se colorer fortement, ils se teignent à peine, FIG. 5.

Les virulents, au contraire, restent petits et continuent à se colorer avec une grande intensité, FIG. 6.

Si l'on veut bien observer les altérations que les microbes subissent, nous conseillons de chercher ceux-ci sur la plèvre et non dans l'exsudat, parce qu'à l'époque où ces altérations sont fort prononcées, les microbes sont déjà extrêmement rares. Quand ils ont pour ainsi dire complètement disparu de l'exsudat, il y a encore un endroit de la plèvre où l'on est sûr de les rencontrer en nombre quelquefois considérable, c'est la plèvre qui recouvre le sternum, les cartilages voisins et la partie antérieure du diaphragme. Quand on passe le tranchant d'un scalpel sur ces régions et qu'on fait une préparation colorée avec ce raclage étendu sur un couvre-objets, on obtient souvent des quantités considérables d'organismes qui présentent tous les degrés d'altération. Les autres parties de la plèvre ne présentent que peu d'organismes. Cette accumulation s'explique par le fait que la culture injectée d'abord et l'exsudat ensuite gagnent les parties déclives, représentées par les régions que nous avons indiquées chez l'animal se trouvant dans sa position normale.

Les altérations des microbes se trouvent représentées dans la FIG. 5.

Peu de temps après l'injection, il se produit un autre phénomène digne d'attirer notre attention, c'est l'arrivée des globules blancs : 1 ou 2 heures après l'injection, on note la présence de ceux-ci dans l'exsudat. Ces éléments augmentent en nombre pendant les premières heures et cette diapédèse nous a semblé aussi accusée après l'injection de staph. V que de staph. A. Seulement, à partir de la 2^e, 4^e, 6^e ou 8^e heure, d'après l'individu ou d'après la dose administrée, une différence radicale se manifeste suivant l'espèce de microbes injectés,

Dans les lapins qui ont reçu les staph. *A*, les globules blancs deviennent de plus en plus nombreux, au point de se compter par centaines dans un champ du microscope; de plus, ces globules blancs ont gardé tous les caractères de globules bien conservés (noyau invisible, protoplasme finement granuleux); examinés à la chambre chauffée de ZEISS, ils accusent des déformations aussi étendues et aussi rapides que les globules blancs du sang; plusieurs même poussent leurs pseudopodes à la température ordinaire.

Il en est tout autrement pour les lapins injectés avec la variété virulente : la diapédèse, qui avait été aussi accentuée aux premiers temps que pour les *A*, se ralentit bientôt et, phénomène curieux, les leucocytes sont frappés de mort : leur noyau est visible, leur protoplasme s'est dissous et le corps de la cellule n'est plus représenté que par une membrane mince, contre laquelle est blotti le noyau, FIG. 4. Examinés à la chambre chaude, les globules sont totalement dépourvus de mouvements : en un mot, ils ont tous été frappés de mort.

Nous avons donc ici une différence radicale entre les lapins injectés avec les staph. A et ceux qui ont été injectés avec les staph. V : chez les premiers, les leucocytes arrivés dans l'exsudat restent vivants; chez les seconds, ils meurent en présentant une dégénérescence profonde.

Nous devons ajouter encore que l'on observe dans les deux sortes d'exsudat une phagocytose plus ou moins forte, mais elle s'arrête chez les lapins qui ont reçu les V, dès que leurs leucocytes dégénèrent. La FIG. 5 représente cette phagocytose chez un lapin inoculé avec les *A*.

Si nous résumons les différences constatées jusqu'ici, nous pouvons dresser le tableau comparatif suivant :

Staphylocoque <i>A</i> .	Staphylocoque <i>V</i> .
1. Diminution graduelle des coques.	Tout au plus diminution faible et passagère; en tous cas repullulation rapide.
2. Apparition chez les coques d'altérations consistant en gonflement et perte d'affinité pour les matières colorantes.	Signes de dégénérescence faisant défaut ou étant extrêmement rares.
3. Diapédèse ininterrompue de leucocytes conservant leur vitalité.	Diapédèse bientôt interrompue de leucocytes qui perdent leur vitalité.

Ces différentes constatations sont des plus importantes et nous permettent d'espérer de pénétrer plus avant dans l'intimité de ce qui constitue la virulence; elles nous indiquent dans quelle direction nous devons pratiquer nos recherches. D'un côté, la destruction et la dégénérescence dans l'exsudat des microcoques atténués, alors que les globules blancs sont encore rares, semblent indiquer que les humeurs jouent un rôle considérable dans ce

processus. D'un autre côté, la conservation des globules blancs chez les *A* et leur destruction chez les *V* nous indiquent que les humeurs ne constituent pas le seul élément dont nous devons nous occuper, mais que le leucocyte et la phagocytose doivent attirer également notre attention. Suivant toutes les apparences, ces deux facteurs entrent en ligne de compte : c'est leur rôle que nous allons tâcher de définir.

CHAPITRE II. — Du rôle protecteur des humeurs

du lapin vis-à-vis des staphylocoques atténués et des staphylocoques virulents.

Si réellement les microbes *A* sont plus sensibles aux humeurs de l'organisme que les *V*, cette sensibilité doit se constater quand on ajoute ces microbes au sang et au sérum et quand on y étudie leur sort ultérieur. C'est ce que nous avons entrepris de démontrer dans le chapitre actuel.

A des quantités égales de diverses humeurs, nous ajoutons des doses égales de *A* et de *V* et, par des plaques faites de temps en temps, nous nous assurons du sort des organismes; en outre, par des préparations microscopiques fréquentes, colorées au bleu de méthylène, nous nous rendons directement compte de l'état de la culture. Aussi longtemps que celle-ci ne prospère pas, le nombre d'organismes colorables reste constant ou même diminue; mais dès que la pullulation commence, on y remarque des amas de quatre, six, huit coques, qui deviennent de plus en plus nombreux et volumineux. En même temps, le nombre de coques et de diplocoques libres augmente. Dans beaucoup de tableaux, nous signalons les résultats fournis par le microscope à côté de chiffres donnés par les plaques.

Lorsqu'il s'agit du sang, nous avons un second moyen de contrôle pour nos plaques. Les microbes, dès qu'ils commencent à se multiplier, consomment de l'oxygène, et le sang, d'artériel qu'il était, devient de plus en plus veineux en passant par toutes les nuances de rouge sombre, rouge noir, noir-rouge, noir. Finalement, les globules rouges se dissolvent. Ces modifications sont en raison directe du développement de la culture et constituent un moyen extrêmement simple pour contrôler les progrès de la multiplication.

Le sérum ne se prête naturellement pas à ce mode de contrôle, mais on peut néanmoins par la simple inspection se faire une idée du développement, par le trouble plus ou moins prononcé qu'y détermine la végétation microbienne.

Toutes les expériences suivantes démontrent que bien réellement la variété atténuée périt en plus grand nombre et pullule plus tardivement que

les V. Ces expériences sont nombreuses, mais nous tenons à faire ressortir que les différences entre les deux variétés ne sont pas l'effet du hasard. Chaque tableau est fait avec les humeurs d'un lapin différent.

Nous donnerons successivement les expériences faites avec le sang (§ I), avec le sérum (§ II), et avec la partie liquide d'un exsudat pleural (§ III).

§ I. — *Expériences faites avec le sang.*

	SEMENCE DE BOULLON	IMMÉDIATEMENT APRÈS L'ENSEMENCEMENT	APRÈS 1 HEURE DE COUVEUSE	APRÈS 2 HEURES DE COUVEUSE		APRÈS 4 HEURES DE COUVEUSE		APRÈS 6 HEURES DE COUVEUSE	
Sang de lapin.	A	4,940	2,880	2,750	Préparat. microsc. Peu de microbes.	31,280	817,152	Beaucoup de microb. en petits amas.	Colorat. du sang: rouge sombre.
	V	3,672	2,520	4,140	Assez bien de micr. par champ. Assez gr. amas.	147,840	3,440,000	Petite culture. Grands amas.	Rouge noir.

	SEMENCE DE BOULLON	IMMÉDIATEMENT APRÈS L'ENSEMENCEMENT	APRÈS 1 HEURE DE COUVEUSE	APRÈS 2 HEURES DE COUVEUSE		APRÈS 4 HEURES DE COUVEUSE		APRÈS 6 HEURES DE COUVEUSE	
Sang de lapin.	A	4,880	3,900	4,320	Peu de microbes.	172,000	2,918,400	Prép. micr. Une culture.	Colorat. du sang: rouge noir.
	V	6,960	4,800	3,360 (1)	Beauc. de micr., mais en grands amas.	384,000	Innombrables.	Une culture.	Noir rouge.

(1) Dans cette expérience, si l'on tenait uniquement compte des chiffres 4,320 et 3,360, on serait tenté de considérer la destruction comme atteignant plus fortement les V que les A; mais l'examen microscopique nous donne la clef de cette contradiction apparente. Les V, au lieu de se séparer après la multiplication, comme ils le font habituellement, en individus isolés ou en petits groupes, sont restés agglomérés en grands amas, qui sur la plaque ne fournissent qu'une colonie, exactement comme un coque isolé.

	SEMENCE DE BOUILLON	IMMÉDIATEMENT APRÈS L'ENSEMENCEMENT	APR. 3 HEURES	APR. 5 HEURES	APR. 7 HEURES
Sang de lapin.	A	14,580	3,304	41,216	456,320
	V	17,360	24,880	1,564,000	Innombrables

	SEMENCE DE BOUILLON	PLAQ. IMMÉD. APRÈS L'ENSEMENC.	APRÈS 1 HEURE	APR. 2 H.	APR. 3 H.	APR. 5 H.	APR. 6 H.
Sang de lapin	A	4,200	5,200	3,640	2,750	2,680	10,260
		22,360	15,300	8,960	2,860	12,320	410,400
	V	15,360	9,240	5,040	5,100	24,080	331,200
		19,440	14,400	13,720	15,960	148,720	1,760,000

	SEMENCE DE BOUILLON	IMMÉD. APR. L'EN-SEMENC.	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 3 H.	APR. 5 H.	APR. 6 H.	APR. 12 H.	APR. 24 H. COLOR. DES TUBES
Sang de lapin.	A	30,000	14,080	8,700	4,480	3,080	2,790	121,600	Noir presq. diss.
		56,800	37,576	14,970	8,736	4,950	11,600	506,880	Noir non diss.
	V	27,800	16,000	9,384	12,496	230,400	535,040	Innombr.	Noir part. diss.
		67,760	40,880	35,100	19,296	544,320	1,188,000	Innombr.	Noir dissous.

	SEMENCE DE BOUILLON	IMMÉD. APR. L'EN-SEMENC.	APR. 1 H.	APRÈS 2 HEURES	APRÈS 4 HEURES			
Sang de lapin.	A	34,500	21,000	3,120	Pas de pullulat.	2,730	Rares petitsamas.	Rouge artériel.
	V	21,888	18,720	26,880	Pullulat. Lég. rares petits assombri.	1,160,000	Petite culture.	Rouge sombre.

SEMENCE DE BOUILLON		IMMÉD. APR. L'ENSEMENCEMENT	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 3 H.	APR. 5 H.	APR. 6 H.
Sang de lapin.	A	7,875	5,040	4,600	2,420	1,560	2,520 Rouge.
		26,510	16,200	6,000	5,060	2,240	36,800 Rouge.
	V	8,640	5,100	7,600	10,120	12,500	442,800 Rouge sombre.
		22,880	16,200	16,240	18,200	48,000 A peine assombri.	1,056,000 Rouge noir.

Faisons encore remarquer que les diminutions que nous observons ne sont nullement dues à un changement de milieu, au transport d'une semence du bouillon dans le sang : pour le prouver, nous avons contrôlé les expériences précédentes à l'aide de semences provenant de sérum chauffé.

SEMENCES		IMMÉD. APRÈS L'ENSEM.	APR. 1 H.	APRÈS 2 HEURES	APRÈS 6 HEURES	APRÈS 4 HEURES			
Sang de lapin.	Cultures dans du sérum.	NI	67,320	31,800	25,080	307,200	Coloration du sang : Rouge sombre		
			109,280	48,000	39,800	Assez bien de microbes.	445,440	Beauc. de microbes. Un peu plus sombre que 1.	
		V	29,120	19,240	20,880	1,104,800	Rouge sombre entre 1 et 2.	2,688,000	Noir, dissous.
			109,120	54,080	82,840	Beaucoup de microbes. Beaucoup sous forme de grands amas.	1,653,760	Culture. Noir rouge.	3,057,600
	Cult. dans du bouillon.	NI	39,440	25,940	5,760	21,600	Rouge.	465,920	Noir rouge.
			98,940	78,952	3,000	Peu de microbes.	259,840	Quelques amas par champ.	1,611,080
		V	31,360	19,840	9,180	634,880	Comme 1	3,456,000	Noir, part. dissous.
			71,780	53,280	48,000	Assez bien de microbes.	884,800	Petite culture.	Rouge noir.

Il résulte de ces diverses expériences que les staph. V et A se comportent d'une façon toute différente vis-à-vis du sang : tandis que les premiers ne subissent qu'une diminution faible ou même nulle, les staphylocoques atténués subissent une diminution forte et prolongée et, si la repullation se déclare, elle est très tardive.

On pourrait peut-être nous objecter que les expériences que nous présentons ne sont pas absolument décisives et cela pour deux motifs.

1^o Le sang n'est pas une humeur pure, il renferme des globules blancs. Nous ferons observer que les leucocytes ne jouent qu'un rôle secondaire dans l'action bactéricide du sang de lapin. Ce fait a été démontré par DENYS et HAVET. Ces auteurs ont, en effet, comparé l'action du sang filtré à celle du sang non filtré et n'ont pas trouvé de différence appréciable.

2^o Quand on injecte les microbes dans la plèvre, la lutte entre ceux-ci et l'organisme n'a pas lieu dans le sang, mais bien dans l'exsudat, qui est un liquide dépouillé de globules rouges ou qui n'en renferme que très peu. Nous ne croyons pas que les hématies soient de nature à altérer le pouvoir bactéricide du sang pour les microbes; car, si au lieu de sang, on recourt au sérum, on obtient les mêmes résultats.

§ II. — Expériences faites avec le sérum.

SÉRUMES DANS DOUILLON	IMMÉD. APR. L'EN SEMENC.	APRÈS 1 H.		APRÈS 2 HEURES		APRÈS 4 HEURES		APRÈS 6 HEURES		APRÈS 24 HEURES		
Sérum de lapin.	I	12,210	0	0	0	0	Transpar	0	Pas de microbes	Légèrem.	774,400	Petite culture.
		87,200	3,680	580	Très rares coques et dipl. Pas d'amas.	435	Très rares coques et dipl. Pas d'amas.	Troublé ?	135	Pas de microbes	Troublé.	2,136,400
	V	18,400	4,800	420		0	Transpar.	0	Rencontré	Troublé.	1,366,400	Très grands amas.
		51,200	8,250	1,360	Peu de micr Pas d'amas.	8,640	Peu de micr. Il y a de petits amas.	Légèrem. troublé.	54,040	Petite culture	Très troublé.	1,593,600

Cette expérience est d'autant plus remarquable dans ses résultats que du côté des microbes A nous commençons par un chiffre à peu près double de celui des V.

Une deuxième et une troisième expérience nous fournissent l'occasion de constater pour le sérum une augmentation directe des J'.

		SEM. BOUILL.	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 6 2 H.
Sérum obtenu par action centrifuge.	A		28,720	25,220 Pas de prolifér.	2,400	1,596	76,360 Assez bien de petits amas.
	V		25,344	34,648 (I)	40,480	120,400	147,840 Beaucoup d'amas volumineux.

		SEM. BOUILL.	IMMÉD. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 6 2 H.
Sérum obtenu par action centrifuge.	A		19,360	7,920	3800	720	1300
	V		44,160	51,520	59,040	138,880	202,400 Grands amas.

Dans l'expérience suivante, nous employons à la fois comme semence en culture dans le bouillon et une culture dans le sérum. Cette expérience démontre de nouveau que la différence d'action ne peut nullement s'expliquer par un changement de milieu.

		SEMENCES	IMMÉD. APR. L'EN-SEMENC.	APRÈS 1 H.	APR. 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 6 H.	APR. 8 H.	APR. 10 H.			
Sérum de lapin.	Bouillon.	NI	6,200	250	0	Rien.	0	0	4000	Peu de microbes.	159,360	Beaucoup de microbes, pas d'amas.
		V	5,040	1,510	Rares col.	Rien.	2,200	4800	5,910	Assez bien de microbes	17,600	Assez bien de microbes, grands amas; cfr. chiffres.
	Sérum.	NI	4,140	310	Rares col.	Rien	1 col. sur 61 cb.	230	9,460	Assez bien de micr., surt. en amas.	193,600	Beaucoup de microbes.
		V	8,600	1,120	Rien	Rien.	1,560	13,440	128,000	Beaucoup de microbes.	604,800	Petite culture.

(1) La prolifération est confirmée par la présence de petits amas de 4 à 8 qui n'existent pas dans les préparations faites immédiatement après l'ensemencement.

Si nous résumons toutes ces nombreuses expériences, nous arrivons à un résultat constant : le microbe A est plus sensible que le microbe V aussi bien à l'action du sérum qu'à l'action du sang et cette sensibilité spéciale se fait remarquer de deux façons :

- 1^o *il est détruit en plus grande quantité ;*
- 2^o *sa pullulation, si elle se produit, et beaucoup plus tardive.*

La variété V est beaucoup moins impressionnable; la diminution qu'elle subit est plus faible, moins durable et même quelquefois, le phénomène s'est présenté dans trois de nos expériences, il n'y a pas de diminution; la pullulation commence dès l'ensemencement. Ce fait s'observe surtout quand la dose ajoutée est considérable.

Ces différentes constatations ont été obtenues par trois moyens d'investigation qui se contrôlent les uns par les autres :

- 1^o la numération des colonies;
- 2^o l'examen des préparations microscopiques;
- 3^o les changements extérieurs du sang ou du sérum.

De tout ce qui précède, nous pouvons, croyons-nous, conclure à bon droit qu'une des raisons pour lesquelles la variété virulente tue à moindre dose que la variété atténuée réside dans le fait qu'elle est plus difficilement détruite par le sérum.

Du reste, ce qui le démontre bien, c'est que les expériences avec le sérum donnent les mêmes résultats qu'avec le sang.

Le sérum, tout en exerçant un pouvoir bactéricide considérable sur les staphylocoques atténués, n'a que peu ou pas de prise sur la forme exaltée.

§ III. — *Expériences faites avec la partie liquide d'un exsudat pleural.*

Ces expériences nous semblent avoir encore plus d'importance que les précédentes : en effet, c'est dans ce milieu, et non pas dans le sérum du sang, que se passe la lutte entre le microbe et l'organisme.

Notre sérosité (1) a été obtenue au moyen de l'appareil centrifuge et ne présentait plus aucun élément histologique à l'examen microscopique.

(1) Disons une fois pour toutes que par sérosité nous entendons la partie liquide de l'exsudat.

Dans une première série d'expériences, nous produisons l'exsudat par l'injection de 1 ou 2 cc. de bouillon A à des lapins que nous sacrifions après 7-8 heures. Cet exsudat renferme toujours un certain nombre de staphylocoques vivants, comme on peut s'en assurer en faisant une plaque.

Dans une seconde série, nous provoquons l'épanchement par des staphylocoques tués à 120° et provenant tantôt de cultures V, tantôt de cultures A. Nous n'avons jamais remarqué sous le rapport de la provenance de différence appréciable dans l'intensité de l'exsudation.

A. Nous donnons d'abord quelques tableaux appartenant à la première série, c'est-à-dire celle où l'épanchement a été produit par des staphylocoques A vivants.

	SEMENCES BOUILLON	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 12 H.	APR. 36 H.
Sérosité.	A	14,840	9,570	8,050	14,000 Aucune pullul., gonfl.	1,167,280
	V	13,770	12,672	32,640	649,600 Petite cult.	1,612,800

	SEMENCES BOUILLON	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 2 H.	APR. 5 H.	APR. 14 H.	APR. 36 H.
Sérosité.	A	38,640	12,180 Gonflés.	4,225	0	4,200
	V	30,240	9,880	5,700	22,400	1,030,400

	SEMENCES BOUILLON	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 3 1 2 H.	APR. 5 H.	APR. 14 H.	APR. 36 H.
Sérosité.	A	37,960	12,420	10,800 Coques et diplocoques en partie gonflés.	912 Idem.	0 Pas de microbes.	2,090 Rares microbes.
	V	40,020	23,660	10,200 Pas de dégé- nèrèsc. Commenc form. de tout petits amas de 3, 4.	15,510 Assez nomb. petits groupes de 5, 10, 15, pas de dégénèrèsc.	43,600 Coques et diplocoques, grand amas, organismes petits.	416,000 Petite culture et grands amas.

Cette différence s'observe encore, quand on donne des doses très fortes, comme on peut le voir dans les expériences suivantes :

SÉROSITÉ.	SEMENCES BOUILLON	IMMÉDIAT.	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 5 1/2 H.	APR. 14 H.	APR. 36 H.
		APRÈS						
Sérosité.	A	248,000	115,360	80,960	91,728	52,080	15,876	776,160
	V	543,360	591,840	277,184	212,480	220,400	552,000	1,728,000
						très gonflés pas pullul		
						Beauc. d'org. petits gr. amas.		

SÉROSITÉ.	SEMENCES BOUILLON	IMMÉD.	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 6 H.	APR. 11 H.	APR. 22 H.	APR. 40 H.
		APR.							
Sérosité.	A	267,424	96,120	65,520	13,440	5,504	39,200	23,496	691,680
	V	293,440	103,240	128,040	58,580	114,840	524,160	880,000	1,361,920
		488,800	168,960	133,760	27,360	127,680	648,000	710,400	1,657,600

B. Dans une deuxième série d'expériences, au lieu de produire l'épanchement par des microbes *A* vivants, nous l'avons provoqué par l'injection de produits microbiens.

On remarquera que nous obtenons ainsi un liquide à pouvoir bactéricide plus considérable que précédemment : nous attirons dès à présent l'attention sur ce fait. Il suffit de jeter un coup d'œil sur les trois expériences suivantes et de noter la fréquence des zéros pour s'en convaincre immédiatement : le pouvoir microbicide est tellement fort qu'il atteint non seulement la totalité des microbes *A*, mais aussi tous les microbes *V*, avec cette différence pourtant que les *A* ont succombé après deux heures de contact, tandis que les *V* n'ont succombé que plus tard. Ici encore donc nous retrouvons la résistance inégale sur laquelle nous avons déjà souvent insisté.

	SEMENCES BOUILLON	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 2 H.	APR. 6 H.	APR. 10 H.	APR. 22 H.
Sérosité.	A	9,200	0	0	0	0
	V	14,592	10,080	600	0	0
Sérosité.	A	10,752	0	0	0	0
	V	11,860	5,230	0	0	0
Sérosité.	A	20,020	0	0	0	0
	V	26,680	1,708	0	0	0

Comme nous l'avons dit plus haut, un phénomène qui frappe immédiatement, c'est l'intensité du pouvoir bactéricide de la sérosité quand on l'obtient par injection de cultures mortes. Nous nous expliquons cette exaltation de l'influence bactéricide par ce motif que l'épanchement ne rencontre que des organismes détruits et incapables de pulluler. Dans ce conflit, la sérosité ne perd rien ou ne perd que fort peu de sa force, tandis que, quand elle s'accumule au contact d'organismes vivants, elle épuise une partie de son action.

Non seulement cette différence du pouvoir bactéricide entre les épanchements produits par les cultures vivantes et ceux produits par les cultures mortes se traduit le jour même de l'expérience par le nombre de microbes tués et par la rapidité avec laquelle ils sont détruits, mais elle est encore plus manifeste le lendemain. Ainsi les sérosités de l'épanchement obtenu par les microbes vivants sont constamment troublées le lendemain de l'expérience et elles forment une véritable culture, comme on peut le voir au microscope. Au contraire, les sérosités obtenues par des toxines conservent, même après 24 heures, leur limpidité primitive et quand on lesensemence de nouveau, elles manifestent encore un pouvoir bactéricide intense. C'est ce que nous avons constaté avec les tubes des trois expériences précédentes; comme on peut le voir, leur action meurtrière n'a nullement été épuisée par l'inoculation de la veille.

Réinoculation après 24 heures avec semences A et V dans le sérum.

IMMÉD. APRÈS RÉINOCULATION	APR. 2 H.	APR. 6 H.	APR. 10 H.	APR. 22 H.
5,940	0	0	0	10 col en tout
13,500	2,800	270	Rares.	21,280
10,880	0	0	0	126,560
8,840	3,276	800	34,720	638,400
18,500	274	0	1200	360,000
11,020	6,600	14,190	48,000	403,200

Dans la première de ces expériences, nous pouvons constater que le pouvoir bactéricide vis-à-vis des *A* s'est conservé dans toute sa force : 22 heures après le second ensemencement et 46 heures après le premier, toute pullulation se trouve encore enrayée.

Dans la deuxième, la repullulation est retardée jusqu'au lendemain; le pouvoir bactéricide, quoique affaibli, était donc encore bien conservé.

Dans la troisième, au contraire, le pouvoir bactéricide a subi une diminution marquée, qui s'explique sans doute par l'abondance du premier ensemencement.

Chose curieuse, les staph. *I*, qui ont tous succombé le premier jour, persistent en notable proportion après le réensemencement : ce fait met de nouveau en évidence la résistance inégale de nos deux variétés.

Ici encore comme précédemment, nous avons institué notre expérience de manière à parer à l'objection que le changement de milieu aurait pu exercer son influence; en effet, au lieu d'une semence dans du bouillon, nous avons utilisé des cultures *A* et *I* dans de la sérosité chauffée.

Les résultats, comme on va le voir, sont en parfait accord avec tous les résultats précédents.

		SEMENCE DANS BOUILLON	IMMED.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 6 H.	APR. 9 H.	APR. 12 H.	APR. 24 H.	APR.
			APR.							
Sérosité.	<i>A</i>	}	42,588	910	(?)	0	0	0	1270	5,000
			61,180	625	660	0	0	0	750	6,250
	<i>I</i>	}	29,640	840	910	480	28,768	325,600	Innombr.	
			51,360	1,920	1,040	1,920	73,968	673,430	Innombr.	

Nous avons ainsi exécuté la première partie de notre programme. On se souvient que l'examen de nos animaux tués à court intervalle après l'injection de l'une ou de l'autre de nos deux variétés de staphylocoques nous avait fait émettre l'hypothèse que les humeurs jouaient un grand rôle dans le sort des microbes injectés. En effet, nous avons vu les staphylocoques *A* diminuer progressivement de nombre en présentant souvent des phénomènes de dégénérescence : gonflement et diminution d'affinité pour les matières colorantes. Au contraire, les staphylocoques *I* présentaient une pullulation ininterrompue. Nos expériences sur la façon dont nos deux espèces de microbes sont influencées par le sang, par le sérum et par la

partie liquide de l'épanchement viennent légitimer complètement notre manière de voir; aussi, à moins d'admettre que la puissance bactéricide ne soit une acquisition faite par les humeurs après leur sortie du corps, doit-on attribuer à ces dernières une part considérable dans la résistance du lapin aux staphylocoques. Par leur influence bactéricide considérable sur la variété *A*, elles mettent rapidement hors de combat le plus grand nombre des envahisseurs et contribuent puissamment à préserver l'organisme. Par contre, elles ont peu d'action sur les microbes *I'* et ceux-ci ont rapidement transformé l'exsudat en une culture microbienne.

Dans la sérosité, les *A* présentent une dégénérescence manifeste, égale à celle qu'ils offrent lorsqu'ils sont injectés dans la plèvre : ils se gonflent, prennent de moins en moins la matière colorante et finissent par disparaître. Dans la planche qui accompagne ce travail, on trouvera les différents stades de cette transformation et, à côté, les mêmes stades observés dans une sérosité ensemencée avec les *I'*, FIG. 7 à 12.

CHAPITRE III. — Rôle protecteur des leucocytes.

Jusqu'ici, nous ne nous sommes occupé que de l'action préservatrice des humeurs; mais dans la plèvre de nos lapins sacrifiés nous avons constaté un phénomène qui nous oblige à rechercher et à préciser l'intervention de la *phagocytose*. Ce phénomène, c'est l'incorporation des microbes dans les globules blancs.

Dans ce chapitre, nous allons donc nous occuper successivement des trois questions suivantes.

§ I. La phagocytose joue-t-elle un rôle dans la destruction des staphylocoques?

§ II. Cette fonction s'exerce-t-elle avec la même intensité sur les staph. *I'* et *A*?

§ III. Cette fonction contribue-t-elle pour une part plus grande à préserver le lapin que l'action des humeurs?

§ I. — Première question.

La phagocytose joue-t-elle un rôle important dans la destruction des staphylocoques soit atténués, soit virulents?

Ce serait faire œuvre bien légère que de conclure de l'existence de microbes dans les leucocytes à l'existence de la phagocytose chez le lapin. En

effet, ces staphylocoques, tout dégénérés qu'ils sont, peuvent avoir été recueillis dans cet état par les globules blancs. Nous n'avons même aucune crainte d'affirmer que tel doit être souvent le cas. En effet, dans les préparations faites avec l'exsudat ou le grattage des parois pleurales, on trouve souvent entre les leucocytes un grand nombre de microbes présentant les mêmes caractères de dégénérescence que les organismes inclus dans les globules blancs, caractères que nous avons du reste vu se produire en masse dans la sérosité privée de tout élément organisé.

Pour prouver que les staphylocoques sont tués après leur incorporation dans les leucocytes et non avant, il ne suffit pas de retrouver leurs débris à l'intérieur de ceux-ci, mais il faut établir qu'ils ont été saisis en pleine vitalité.

La démonstration la plus simple paraît consister dans les opérations suivantes : centrifuger un exsudat obtenu par l'injection d'une culture stérilisée, chauffer la partie liquide à 60° pour détruire son pouvoir bactéricide, y réintroduire les globules blancs, ajouter des microbes et fixer le sort de ces derniers par les plaques et l'examen microscopique.

Les expériences que nous avons faites sur ce plan nous ont peu satisfait. Les leucocytes, remis dans la sérosité chauffée, meurent très rapidement et l'action bactéricide est peu marquée : on dirait que l'humeur ainsi traitée est devenue un vrai poison pour les leucocytes. Le sérum se comporte de même. En présence de cet insuccès, nous avons eu recours au bouillon, auquel certainement personne n'attribuera un pouvoir bactéricide. L'exsudat est donc centrifugé et les globules blancs sont mis en suspension dans ce nouveau milieu : ils y conservent leur vitalité pendant des heures et, examinés à la température du corps, ils poussent des pseudopodes exactement comme dans leur milieu naturel. Voici deux expériences de ce genre. Chacune comprend deux portions : la première composée de bouillon additionné de globules blancs, la deuxième de bouillon additionné d'une goutte de la sérosité de l'exsudat : cette dernière a pour but d'exclure de l'expérience toute intervention de la partie liquide de l'exsudat ; en effet, une certaine quantité de sérosité devait rester accolée aux globules blancs, malgré le tassement énergique que leur avait imprimé la force centrifuge au fond du tube, et aurait pu être la cause d'une certaine destruction. Or, l'addition à un bouillon témoin d'une quantité de sérosité, certainement plus considérable que celle qui pouvait être restée dans les interstices de la masse compacte des leucocytes, devait nous mettre à l'abri de cette erreur.

Dans chacune de nos deux expériences, il nous semble que l'action phagocytaire des globules blancs est manifeste. Dans le bouillon avec des leucocytes, nous constatons une diminution considérable des microbes, la deuxième expérience est sous ce rapport bien positive, tandis que dans les tubes témoins additionnés d'une goutte de sérosité nous avons une augmentation rapide. L'opposition entre les deux tubes est encore plus manifeste, si l'on veut bien remarquer que dans le bouillon additionné de globules blancs, les chiffres initiaux sont environ dix fois plus forts que dans les témoins.

	SEMENCE DANS BOUILLON	IMMÉDIAT. APR. L'ENSE- MENCEMENT	APR. 1 1 2 H.	APR. 4 H.
Globules dans du bouillon.	A	128,760	8,320	1,400
Bouillon + goutte de sérosité.		17,920	35,720	Innombr.
Globules + bouillon.		638,400	300,048	100,440
Bouillon témoin + goutte de sérosité.		56,320	553,280	Innombr.

L'intervention des phagocytes est démontrée non seulement en introduisant ces éléments dans un milieu *inerte* où ils continuent à vivre, mais en leur permettant d'agir dans leur milieu naturel, c'est-à-dire la sérosité de l'exsudat. Cette démonstration, en quelque sorte indirecte, se fait en comparant le pouvoir bactéricide de l'exsudat complet à la sérosité obtenue par action centrifuge; si le premier milieu se montre plus bactéricide que le second, il est évident que cette différence doit être rapportée aux globules blancs. Or, c'est précisément ce que l'on constate : l'exsudat complet possède un pouvoir bactéricide manifestement supérieur au pouvoir bactéricide déjà si intense de la sérosité.

Voici une expérience dans laquelle nous employons comme semence un staph. A. On remarquera qu'au début nous avons environ deux fois plus de microbes dans l'exsudat complet que dans la sérosité. Ce désavantage n'empêche pas que, déjà après une heure, le chiffre dans l'exsudat complet est descendu bien loin au-dessous de celui de la sérosité.

		IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 9 H.
Semence bouillon	Exsudat complet	22,440	2,340	200	0	0
	Sérosité seule.	12,400	6,440	3,600	0	0

Dans l'expérience suivante, nous avons comme semence du staphylocoque virulent.

		SEMENCE DANS BOUILLON	IMMÉDIAT APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.
I	Exsudat complet.	I	35,840	3,680	1,920	0
	Sérosité.		33,800	13,524	7,936	2,800

Il y a encore une autre façon d'établir l'intervention des globules blancs : c'est d'ajouter à du sang défibriné des globules retirés d'un épanchement par action centrifuge. Ce sang, tout en étant doué d'un pouvoir bactéricide manifeste, ne possède cette propriété qu'à un degré bien inférieur à la sérosité et de cette façon l'intervention des leucocytes devient apparente. Nous allons rencontrer de suite une expérience de ce genre. Elle comprend quatre portions : d'abord deux portions de sang comme tel, qui nous montrent de nouveau la sensibilité spéciale des staphylocoques atténués pour ce liquide ; ensuite deux portions du même sang additionné de globules provenant de l'exsudat déterminé chez le même lapin et isolés par l'action centrifuge. On remarquera que ce milieu est bien plus microbicide que le premier : la différence est surtout manifeste pour les staphylocoques virulents.

		SEM. BOUIL.	IMMÉDIAT. APRÈS	1 H.	2 H.	3 H.	5 H.	7 H.	10 H.	22 H.	3 JOURS
Sang.	I	.1	24,000	15,000	4,800	725	300	Rares col.	1950	352,000	Innom.
	I	.1	25,700	20,700	11,300	12,768	112,320	1,792,000	Innom.	Innom.	
Sang + glob. bl. de l'exsudat du même lapin.	I	.1	20,700	2,720	360	300	342	345	29 col.	2884	
	I	.1	17,000	2,120	840	840	1450	1,015	1680	10,320	

Non moins intéressante que l'addition de globules à des portions de sang est leur addition à du sérum frais obtenu en centrifugeant du sang frais défibriné. On compare ici le sérum comme tel et le sérum additionné de globules; de plus, nous employons ici une semence de sérum. Les résultats sont toujours positifs.

	SEM. SÉRUM	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 14 H.	APR. 40 H.
Sérum frais du sang.	A	11,320	10,080	73,600	288,000	742,160	Innombr.
	V	22,960	13,160	34,560	499,200	1,868,888	Innombr.
Même sérum + gl. blancs d'un exsudat.	A	23,780	4,410	3,360	1,540	48,160	371,200
	V	14,160	3,500	2,618	840	138,760	976,000

Dans les expériences suivantes, nous comparons la sérosité à l'exsudat complet.

	SEM. SÉRUM	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 14 H.	APR. 40 H.
Sérosité.	A	14,840	7,660	9,570	8,050	14,000	1,169,280
	V	13,740	3,640	12,672	32,640	649,600	220,480
Exsudat com- plet.	A	20,580	4,960	2,400	870	2,170	6,750
	V	103,740	34,000	2,880	1,350	Rares col.	644,800

	SEM. SÉRUM	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.	APR. 6 H.	APR. 9 H.
Sérosité.	A	267,400	96,120	65,520	13,440	5,504	39,200
	V	293,440	103,240	128,040	58,580	114,840	524,160
		488,800	168,960	133,760	27,360	127,680	648,000
Exsudat com- plet.	A	290,832	59,160	308	5,520	12,480	26,840
	V	395,520	34,320	9,204	4,116	8,160	32,760
		589,630	61,440	26,208	4,700	6,384	16,500

CONCLUONS : ainsi se trouve résolue, croyons-nous, la question posée au commencement de ce paragraphe : les leucocytes jouent-ils un rôle dans la destruction des staphylocoques, aussi bien des V que des A? A la suite de nos nombreuses expériences, nous devons y répondre par l'affirmative.

§ 2. — Deuxième question.

Abordons à présent le second point : *la phagocytose s'exerce-t-elle avec la même intensité sur les staph. A et V?*

Nous n'avons pas fait beaucoup d'expériences à ce sujet; mais d'après nos quelques recherches, nous pensons devoir admettre une action spéciale des globules blancs sur la forme la moins pathogène.

Pour résoudre ce problème, il est de nouveau nécessaire de faire agir les globules blancs dans un milieu inerte. Dans l'expérience suivante, ce milieu est du bouillon; elle comprend quatre portions de bouillon : à deux portions, nous ajoutons des globules blancs obtenus par action centrifuge; à deux autres, une goutte de sérosité à l'effet de compenser l'action de la sérosité adhérente aux globules blancs. Tandis que les microbes atténués subissent une diminution considérable au point qu'après 24 heures ils ont presque tous péri, les *V*, après avoir présenté une période presque stationnaire de 2 heures, fournissent au bout d'un jour une vraie culture. Nous admettons volontiers un certain désavantage du côté des globules blancs vis-à-vis des *V* à cause du large ensemencement de ceux-ci; mais l'expérience que nous avons de ce sujet nous permet d'affirmer que la différence dans les chiffres de début n'est pas de nature à modifier essentiellement le résultat. Les portions 3 et 4, dans lesquelles nous avons une augmentation directe, sont là pour témoigner que l'effet bactéricide constaté dans les portions 1 et 2 n'est pas imputable aux traces de sérosité qui pourraient adhérer aux globules blancs.

	SEM. BOUILL.	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 2 H.	APR. 8 H.	APR. 11 H.	APR. 24 H.
Globules dans du bouillon.	A	60,564	39,360	2,250	1,690	Rares col.
	V	119,840	120,320	111,360	784,000	Innombr.
Bouillon + une goutte de sérosité.	A	42,240	101,520		1,060,800	
	V	114,400	188,160		1,000,000	

Si nous pouvons tirer une conclusion de cette expérience, nous devons admettre que les A sont détruits plus facilement par les leucocytes que les V.

§ 3. — *Troisième question.*

Quelle est l'importance du rôle de la phagocytose comparé à celui de la propriété bactéricide des humeurs? Les expériences qui précèdent nous montre qu'à côté de la puissance bactéricide des humeurs intervient un second facteur : les globules blancs en tant qu'agents phagocytaires. Est-il possible de définir l'importance réciproque de ces deux facteurs? Si l'on compare entre elles les expériences où nous avons fixé le pouvoir bactéricide de l'exsudat complet et de la sérosité, il nous semble qu'on ne peut pas méconnaître que le rôle principal revient aux humeurs. A notre avis, la meilleure façon de le prouver est la suivante : d'un côté, on fait agir la sérosité débarrassée de tout leucocyte, et de l'autre, les leucocytes extraits de cette sérosité et mis en suspension dans du sérum qui, nous le savons, a un pouvoir bactéricide inférieur à celui de la sérosité. Or, si nous trouvons que la sérosité à elle seule est plus bactéricide que les globules blancs et le sérum sanguin réunis, il est évident que le rôle principal doit être attribué à la partie liquide de l'exsudat, comme il découle des expériences suivantes.

		SEM. POUILLE.	IMMÉD. APR.	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 3 I 2 H.	APR. 5 H.	APR. 14 H.	APR. 38 H.
Sérosité.	I	38,040	23,760	12,180	15,040	4,225	0	4,200	
	V	30,240	11,200	9,880	15,840	5,700	22,400	1,030,400	
Globules dans sérum non chauffé.	I	19,040	18,460	5,320	7,200	6,820	800,000	Innombr.	
	V	56,400	13,340	10,880	16,000	10,200	4,928,000	Innombr.	
Sérosité.	I	37,960	12,420	19,980	10,800	912	0	2,090	
	V	49,020	23,660	34,160	10,200	15,510	43,600	416,000	
Globules dans sérum non chauffé.	I	56,840	14,500	8,960	4,800	4,940	663,520	Innombr.	
	V	32,940	21,600	7,290	10,800	9,570	2,235,200	Innombr.	

Si le pouvoir bactéricide des humeurs n'est pas une propriété post mortem, il joue dans la résistance du lapin au staphylocoque un rôle plus considérable que la phagocytose.

CHAPITRE IV. — D'un poison qui neutralise le rôle protecteur des leucocytes.

Ce chapitre se divise en deux paragraphes.

§ 1. Existence d'un poison de cette nature.

§ 2. Sa sécrétion par les deux staphylocoques.

§ 1. — *Existence d'un poison qui neutralise le rôle protecteur des leucocytes.*

Chez le lapin, inoculé même avec de toutes petites doses de staph. *V*, les globules attirés dans l'épanchement meurent bientôt : 4, 6, 8 heures après l'injection, ils perdent leur aspect normal, montrent leur noyau et sont incapables de manifester des mouvements amiboïdes. A la mort de l'animal, on trouve généralement tous les globules de l'exsudat dans cet état de dégénérescence. Cette destruction contribue-t-elle à diminuer la résistance du lapin ?

La réponse se trouve contenue dans les expériences précédentes.

Dès qu'il est démontré que les globules blancs sont capables de détruire un certain nombre de microbes, il s'ensuit que leur destruction doit favoriser les entreprises de l'agresseur. Ce résultat est un corolaire forcé de tout ce qui précède. Aussi nous paraît-il inutile d'insister davantage sur ce point. Mais le mécanisme intime du phénomène nous semble digne de nous occuper pendant quelque temps.

Comment se fait cette destruction ? La première hypothèse qui se présente est celle de la fabrication par le microbe d'un poison qui détruit le leucocyte.

Si cette hypothèse est la véritable, les globules sains, vigoureux, que nous ajoutons à un épanchement obtenu par injection de staph. *I*, devront y périr. C'est ce qui se présente effectivement.

L'expérience se fait le mieux de la façon suivante : on centrifuge un exsudat provoqué par l'injection de staph. *I*, de façon à obtenir un liquide débarrassé de tout leucocyte ; on dépose une gouttelette de ce liquide sur un porte-objets, on y ajoute des globules blancs vivants provenant d'un exsudat obtenu par l'injection de staphylocoques morts à un autre lapin, on couvre rapidement d'un couvre objets et on examine la préparation à la température du corps. Dans les premiers moments, on voit les globules blancs pousser des pseudopodes, mais ces manifestations de vie s'arrêtent rapidement :

déjà après une minute, le leucocyte a repris la forme ronde et présente aussitôt des altérations : il pâlit considérablement, on dirait que le protoplasme se dissout dans le liquide ambiant, et le noyau, jusqu'alors invisible, devient nettement apparent. En un mot, ces globules blancs vivants prennent l'aspect des globules qui se trouvaient dans l'exsudat obtenu par les staph. *I* avant d'avoir été centrifugés. Ces phénomènes se succèdent rapidement et s'accomplissent dans le court espace de 2 à 3 minutes.

Pour obtenir cet effet, il n'est nullement nécessaire d'employer l'exsudat comme tel ; on peut le diluer dans de fortes proportions et alors on constate encore la destruction des leucocytes. Comme liquide de dilution, l'eau salée physiologique convient très bien ; par elle-même, elle est inoffensive et des globules blancs mis dans cette solution et portés à la chambre chauffée y conservent leurs mouvements pendant plusieurs heures.

Expérience.

Un exsudat centrifugé, provenant d'un lapin mort par suite de l'injection de staph. *I*, est dilué avec de l'eau salée dans diverses proportions :

1°	1	partie d'exsudat	pour	2	parties d'eau salée.
2°	1	-	-	3	- - -
3°	1	-	-	5	- - -
4°	1	-	-	10	- - -

A ces différentes dilutions déposées en gouttelettes sur des porte-objets, comme il a été dit plus haut, nous ajoutons des globules blancs bien vivants et nous constatons qu'ils parcourent le cycle de leurs altérations : pour les 2 premières dilutions (1/2, 1/3) en 2 minutes ; pour la 3^{me} (1/5) en 5 minutes ; pour la 4^{me} (1/10) en 7 minutes.

Les mêmes globules blancs vivants examinés dans l'eau salée pure conservent leurs mouvements pendant des heures.

Nous avons répété ces expériences un grand nombre de fois et elles nous ont appris :

1° que sous l'influence de l'exsudat virulent, concentré ou peu dilué, cette altération se produit avec une grande rapidité, même avec une quasi instantanéité ;

2° que l'exsudat peut être dilué fortement avec un liquide indifférent sans qu'il perde son action ; cette dernière est seulement ralentie.

De quelle nature peut bien être ce poison ? Nous nous sommes demandé s'il n'appartenait pas au groupe des ferments, c'est-à-dire de ces substances

de nature albuminoïde encore peu déterminée et dont l'action est suspendue ou détruite par un chauffage à 60°. Pour décider cette question, nous avons porté six portions d'exsudat *I'* pendant dix minutes à diverses températures : 50°, 56°, 57°, 58°, 60°.

En introduisant dans ces diverses portions, après refroidissement, des globules blancs vivants, nous avons obtenu les résultats suivants :

à 50°, dégénérescence rapide,

à 55° " "

à 57° " "

à 58°, les globules ne dégèrent plus, mais conservent leur aspect normal et leur motilité.

à 60°, idem.

Cette expérience, que nous avons souvent contrôlée avec des exsudats provenant de divers lapins morts après injection de staph. V, nous apprend que le poison qui tue les globules blancs est détruit vers 50° et nous permet de le considérer comme une substance albuminoïde très instable.

Ce poison qui joue, suivant toutes les probabilités, un rôle considérable dans l'infection, puisqu'il s'attaque à un des facteurs de résistance du lapin, n'a été signalé à notre connaissance par personne. Pour éviter les périphrases, nous proposons de lui donner le nom de *substance leucocide* ou *leucoïcine*, par analogie avec la substance bactéricide des humeurs. Nous avons pensé un instant à l'appeler substance globulicide, mais ce nom a déjà été donné par BUCHNER à des substances de nature albuminoïde dissoutes dans le sérum et qui exercent une action destructive sur les globules rouges et les globules blancs d'espèces animales différentes de celles qui ont fourni le sérum.

§ 2. — *Sécrétion de la leucoïcine par les deux variétés de staphylocoques.*

Les expériences précédentes nous ont permis de découvrir une substance spéciale, produite par les microbes et qui, par son action sur les globules blancs, paraît jouer un grand rôle dans la réceptivité.

Chez nos lapins, nous n'avons réussi à la mettre en évidence qu'après l'injection de staphylocoques virulents. Dès lors, nous devons nous demander si la production de ce poison n'était pas une propriété spéciale du microbe *I'*, qui l'aiderait à prendre le dessus sur l'organisme. Dans l'affirmative, nous aurions pu attribuer la virulence, du moins en partie,

à une propriété nouvelle acquise par les staph. *A* dans leurs passages à travers les animaux. Toujours dans cette hypothèse, le staphylocoque *A* serait dépourvu de cette propriété ou du moins ne la posséderait qu'à un degré tellement faible qu'elle ne pourrait lui être d'aucune utilité dans son agression contre les lapins.

Le seul moyen de trancher la question, c'est de rechercher le poison dans les cultures *in vitro* de nos deux variétés de staphylocoques. Si la fabrication de cette substance est propre au staph. *I*, elle devra faire défaut dans les cultures de staph. *A*. Comme milieux, nous avons choisi le bouillon, le sérum et le sang de lapin. Ces différents milieux étaient ensemencés avec des staphylocoques *A* et *I*, laissés à la couveuse pendant un ou deux jours et essayés ensuite sur des globules blancs bien vivants. En opérant de cette façon, nous avons pu facilement constater la présence du poison dans les trois milieux de culture, aussi bien dans le milieu artificiel que dans les milieux naturels. Cependant, ce poison se forme avec plus d'abondance dans le sang et le sérum que dans le bouillon. Ajoutons de suite que nous n'avons pas pu nous convaincre qu'il était fabriqué en plus grande quantité par le staph. *I* que par le staph. *A*. S'il y a des différences, elles sont si faibles et si inconstantes que nous ne pouvons pas leur reconnaître d'importance dans l'étude de la nature intime de la virulence.

Voici quelques-unes de ces expériences.

Première expérience. — Culture dans du sérum chauffé.

	Culture <i>A</i> .	Culture <i>I</i> .
Après 2 minutes	les leucocytes sont mobiles	mouvements comme dans <i>A</i> .
Après 5 minutes	la plupart montrent leur noyau	comme <i>A</i> .
Après 6 minutes	tous les globules sont immobiles, tous vésiculeux et montrent leur noyau	comme <i>A</i> .

Dans le même sérum non ensemencé, les mouvements sont bien conservés (observation de 15 minutes). Dans les mêmes cultures, mais portées au préalable à 60° pendant 10 minutes, les globules ajoutés ne dégénèrent plus et conservent leurs mouvements.

Deuxième expérience. — Nous comparons ici la production de la leucocidine dans le sang, le sérum et le bouillon.

Les cultures des staph. *A* et *I* dans ces trois milieux sont âgées de deux jours.

Une gouttelette de chacune mise sur un porte-objets est additionnée comme toujours de globules blancs provenant d'un épanchement obtenu par des staphylocoques tués.

Sang	}	A : leucocytes détruits presque aussitôt.
		F
Sérum	}	A : globules détruits presque aussi rapidement que dans le sang.
		F
Bouillon	}	A : leucocytes dégèrent seulement après 14 d'heure.
		F

Il résulte de l'examen de ce tableau que les globules sont détruits avec une rapidité inégale dans ces trois espèces de culture. De nouveau, comme dans l'expérience précédente, il suffit de chauffer ces cultures pendant 10 minutes à 60° pour voir de nouveaux globules y développer leurs expansions avec la même intensité que dans ces trois mêmes milieux nonensemencés (tubes témoins de sang, de sérum et de bouillon).

Cette constatation nous permet d'attribuer la destruction des globules dans nos cultures in vitro au même agent qui opère dans les exsudats.

Les cultures ne doivent pas toujours être si âgées pour contenir la leucocidine. En voici qui sont actives après 24 heures de couveuse.

Troisième expérience. -- Nous opérons toujours sur des quantités égales et de la même façon.

Culture dans du sang.	}	A : globules détruits après 5 minutes.
		F
Culture dans du sérum chauffé.	}	A : globules détruits après 7 minutes (une autre fois après 5 min.).
		F
Culture dans du bouillon.	}	A : globules détruits après 15 minutes.
		F

Ces mêmes cultures chauffées pendant 10 minutes à 60° laissent les globules blancs intacts; nous y avons suivi leur sort pendant 2 heures et pendant tout ce temps ils ont manifesté des mouvements tout aussi nets que dans ces mêmes milieux nonensemencés.

Dans les cultures déjà âgées d'un ou de deux jours, on ne trouve pas plus de leucocidine pour les F que pour les A. Au bout d'un certain temps, elles ont donc fabriqué la même quantité de poison, mais le fabriquent-elles avec la même rapidité? C'est ce que les expériences précédentes ne nous apprennent pas.

Il n'y a qu'un moyen de trancher la question : c'est d'examiner des cultures de même âge, non plus un ou plusieurs jours après l'ensemencement, mais déjà peu d'heures après, afin de surprendre le poison dès son apparition.

Quatrième expérience :

Cultures <i>A</i> et <i>V</i> dans le sérum après 9 h. de couveuse.	}	Après 1 h. de contact, les globules ne présentent rien de spécial.
Mêmes cultures après 21 h. de couveuse.		Après 1 1/4 h. de contact, les mouvements sont conservés.
		Après 3 1/4 h., aucune dégénérescence.

D'après les résultats des autopsies, on aurait pu penser que les *V* fabriquaient peut-être plus rapidement la leucocidine que les *A*, mais cette expérience n'est pas favorable à cette manière de voir.

Dans une cinquième expérience, nous recherchons l'apparition du poison dans des cultures faites dans du sang, du sérum non chauffé et du bouillon; on prélève un peu des cultures à différents intervalles et on y ajoute des globules blancs vivants.

GLOBULES AJOUTÉS A DIVERS INTERVALLES ET EXAMINÉS CHAQUE FOIS PENDANT 1/2 HEURE	CULTURES DANS DU SANG		CULTURES DANS DU SÉRUM CHAUFFÉ		CULTURES DANS DU BOUILLON	
	<i>A</i>	<i>V</i>	<i>A</i>	<i>V</i>	<i>A</i>	<i>V</i>
3 h. après l'inoculation	mouvements conservés comme dans les témoins.		idem		idem	
6 h. » »	idem		idem		idem	
12 h. » »	mouvements actifs partout.		idem		idem	
25 h. » »	idem		idem		idem	
48 h. » »	globules détruits presque aussitôt.		idem		globules détruits après 15 minutes.	

Il n'existe donc pas trace de poison dans les cultures *V* et *A* de 3 heures à 25 heures inclusivement, mais il y existe en quantité après 48 heures.

Dans les diverses expériences rapportées précédemment, nous n'avons pas pu découvrir de différence sensible ni dans la quantité de poison élaboré par nos deux variétés, ni dans l'époque de son apparition. Nous devons pourtant reconnaître qu'une fois nous avons constaté une légère différence. C'est dans l'expérience VI; il s'agit de cultures dans du sérum chauffé : à

un moment donné, la culture *V* se montre un peu plus active que la culture atténuée, mais quelques heures après, la différence avait disparu.

Sixième expérience. — Les globules ajoutés se comportent comme il suit :

	Culture <i>A.</i>	Culture <i>V.</i>
Après 10 minutes.	mouvements actifs	mouvements moindres.
» 15 »	idem	un petit nombre de globules sont ronds et montrent des signes manifestes de dégénérescence.
» 30 »	diminution des mouvements	comme précédemment.

Quelques heures plus tard, les mêmes tubes nous montrent les phénomènes suivants pour une nouvelle addition de globules blancs :

	Culture <i>A.</i>	Culture <i>V.</i>
Après 5 minutes.	mouvements peu étendus	comme <i>A.</i>
» 10 »	aspect granuleux de l'intérieur, mouvements plus rares	comme <i>A.</i>
» 30 »	dégénérescence avancée presque générale	dégénérescence un peu plus forte que <i>A.</i>

Dans le sérum non ensemencé pris comme témoin, les mouvements se conservent bien.

En présence des résultats constants obtenus dans les autres expériences, nous sommes disposé à attribuer la cause de cette différence à un facteur accidentel, tel que l'inégalité d'ensemencement, l'inégalité dans la rapidité de développement, etc., etc.

Afin d'éviter des erreurs au sujet de ce genre de recherches, nous devons pourtant faire remarquer que la leucocidine apparaît quelquefois plus vite dans le sérum ensemencé avec des microbes *V*. C'est quand on opère avec du sérum non chauffé : celui-ci détruisant beaucoup plus abondamment les microbes *A* que les microbes *V*, ces derniers prennent une avance considérable et il est naturel que le poison soit plus rapidement décelable dans leur culture que dans celle des *A*.

Une remarque pour finir. De l'existence en quantité sensiblement égale de leucocidine dans les cultures *A* et *V*, nous avons conclu que les deux variétés de microbes produisaient ce poison en quantité égale. Cette supposition n'est vraie que si le nombre de microbes est le même des deux côtés. Par des plaques faites fréquemment dans le cours de ces expériences, nous nous sommes convaincu qu'il en est réellement ainsi, de sorte que nous pouvons admettre comme un fait établi la production en quantité égale de leucocidine par les deux sortes de microbes.

Résumons brièvement ce chapitre sur la substance leucocidique.

Dans les exsudats de lapins injectés avec des microbes *I* existe un poison spécial qui n'a pas encore été signalé jusqu'ici; il est très instable vis-à-vis de la chaleur : il est détruit à 58° environ. Mis en contact avec des globules blancs vivants, il les tue avec une grande rapidité. Ce poison se forme non seulement dans le corps du lapin, mais également *in vitro*, dans les cultures faites avec le sang, le sérum et le bouillon. Tout en étant produit également vite et en quantité sensiblement égale par les staph. *A* comme par les *I* dans chacun de ces milieux *in vitro*, il s'y laisse pourtant moins vite déceler que dans l'épanchement, où il apparaît quelquefois déjà après 4 heures. Il est du reste plus abondant dans les milieux naturels (sang, sérum) que dans les milieux artificiels (bouillon).

CHAPITRE V. — D'un poison qui neutralise le rôle protecteur des humeurs.

Ce chapitre comporte la même division que le précédent :

§ 1. Existence d'un poison de cette nature.

§ 2. Sa sécrétion par les deux staphylocoques.

§ 1. — *Existence du poison.*

Dans les pages qui précèdent, nous avons vu que le développement du staph. *I* dans l'organisme engendrait un poison délétère pour les leucocytes. On peut se demander si la leucocidine est le seul principe, favorisant l'infection, formé par le staph. *I*. Ici, nous visons spécialement les substances qui détruiraient non pas les phagocytes, mais les substances bactéricides dissoutes dans les humeurs.

On sait depuis longtemps que les produits de sécrétion des microbes favorisent les infections : ils sont même souvent employés dans les laboratoires pour permettre à un microbe peu virulent de prendre pied dans le corps d'un animal. C'est à ces substances que KRUSE a donné le nom de « lysines ». Il est certainement intéressant de rechercher si ces produits sont formés également par les staphylocoques et si la forme *I* les produit en plus grande abondance que la forme *A*.

Commençons par rechercher si des lysines sont produites par les staphylocoques et, pour augmenter nos chances de les trouver, employons une culture de staph. *I*. Pour bien mettre en évidence l'existence de ces corps favorisants, nous avons disposé notre expérience comme il suit :

Comme milieu bactéricide, nous choisissons la sérosité d'un exsudat sans microbes et à cette sérosité nous ajoutons notre culture dans le bouillon débarrassée des microbes au moyen d'une filtration à travers une couche serrée et épaisse d'amiante. La filtration se fait au moyen d'une trompe déterminant un vide presque complet : sous la pression de l'air, le bouillon sort absolument limpide et transparent et des ensemencements abondants faits sur gélatine démontrent qu'il renferme à peine des microbes.

Notre expérience comprend cinq portions.

Les deux premières sont formées de sérosité additionnée de bouillon ordinaire, qui n'a pas étéensemencé : ce sont des tubes-témoins.

Dans les deux portions suivantes, le bouillon pur est remplacé par le bouillon débarrassé de ses staphylocoques par la filtration.

Une cinquième portion est constituée par ce même bouillon pur.

Les cinq tubes sont ensemencés avec des microbes *A.*

Première expérience.

ENSEMENCÉS AVEC BOUILLON <i>A.</i>		IMMÉDIAT. APR. L'ENSE- MENCEMENT	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 1/2 H.	APR. 6 1/2 H.
1.	Sérosité 1 1/2 cc. Bouillon ordin. 1 2 cc.	6,072	750	0	0	0
2.	Sérosité 1 cc. Bouillon ordin. 1 cc.	5,880	2,240	510	0	0
3.	Sérosité 1 1/2 cc. Bouillon filtré 1/2 cc.	4,736	2,772	6,200	8,540	14,720
4.	Sérosité 1 cc. Bouillon filtré 1 cc.	3,740	4,290	4,960	26,880	279,920
5.	Bouillon filtré 2 cc.	2,128	2,464	4,928	40,320	221,760

La conclusion qui découle de cette expérience est des plus évidentes : les sérosités 1 et 2, bien qu'additionnées de bouillon dans des proportions considérables, détruisent rapidement les organismes.

Dans les portions 3 et 4, où le bouillon filtré remplace le bouillon pur, nous avons un résultat opposé. Dans le tube 3, on observe une diminution passagère suivie de pullulation; dans le tube 4, l'augmentation est directe.

Cette différence entre les tubes 1 et 2 d'un côté et 3 et 4 de l'autre côté ne nous semble comporter d'autre interprétation que celle de l'existence de substances favorisantes, de produits qui annihilent l'effet bactéricide des humeurs. En effet, deux hypothèses seules nous paraissent possibles pour expliquer la multiplication directe dans les tubes 3 et 4.

1° L'addition à la sérosité d'aliments non décomposés par une première génération de staphylocoques (peptones, sucres, sels, etc.) a fait de cette humeur un excellent milieu de culture. Mais les tubes 1 et 2 sont précisément là pour nous apprendre que la présence d'aliments ne nuit pas à l'action bactéricide.

2° Du moment que l'hypothèse précédente tombe à faux, il faut bien admettre la seconde : *il existe dans les cultures des staphylocoques certains produits microbiens, les substances favorisantes de plusieurs auteurs, la lysine de KRUSE, qui neutralisent l'action bactéricide des humeurs.*

Ces produits se forment non seulement en dehors du corps, dans les milieux artificiels, mais également dans les humeurs, à l'intérieur des animaux infectés.

Voici deux expériences qui le prouvent. Elles sont faites sur le plan de la précédente; la différence essentielle, c'est que le bouillon est remplacé par un exsudat produit par les staph. *I*, recueilli immédiatement après la mort et filtré également sur l'amianté. La sérosité de la première de ces expériences est la même que celle du tableau précédent; les tubes 1 et 2 renfermant de la sérosité pure remplissent le rôle de témoins; les tubes 3 et 4 sont composés de sérosité et d'exsudat filtré; enfin le tube 5 contient de l'exsudat filtré pur. Tous ces cinq tubes sont ensemencés avec des staph. *A*.

Deuxième expérience.

ENSEMENCÉS AVEC BOUILLON <i>A</i>		IMMÉDIAT. APR. L'ENSE- MENCEMENT	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 1 2 H.	APR. 6 1 2 H.
1.	Sérosité 1 1 2 cc. Bouillon ordin. 1, 2 cc.	6,072	750	0	0	0
2.	Sérosité 1 cc. Bouillon ordin. 1 cc.	5,880	2,240	510	0	0
3.	Sérosité 1 1 2 cc. Exsudat <i>I</i> filtré 1 2 cc.	5,712	3,120	2,940	2,352	870
4.	Sérosité 1 cc. Exsudat <i>I</i> filtré 1 cc.	4,092	1,330	2,800	1,800	1,740
5.	Exsudat <i>I</i> filtré 2 cc.	4,140	3,840	1,920	1,400	6,160

Dans cette expérience, l'influence des lysines est évidente; mais elle est bien plus accusée encore dans la suivante. L'ensemencement est fait également avec des staphylocoques *A*.

Troisième expérience.

ENSEMENCÉS AVEC BOUILLON A		IMMÉDIAT. APR. L'ENSE- MENCEMENT	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 1/2 H.
1.	{ Sérosité 1 1 2 cc. Eau salée 1,2 cc.	41,328	17,430	15,760	3,710
2.	{ Sérosité 1 2 cc. Eau salée 1 1,2 cc.	13,920	6,480	4,224	4,312
3.	{ Sérosité 1 cc. Exsudat I filtré 1 cc.	35,900	33,000	34,544	33,260
4.	{ Sérosité 1 cc. Exsudat I filtré 3 4 cc.	47,424	41,968	56,160	41,328
5.	Exsudat filtré 2 cc.	16,600	45,900	99,680	806,400

Les tubes 1 et 2, témoins, nous donnent une diminution continuellement progressive; dans les tubes 3 et 4, sérosité et exsudat filtré à parties égales ou sensiblement égales, la destruction est négligeable et tombe dans les limites d'erreur possible.

Ces recherches nous apprennent que les microbes V élaborent dans leurs milieux de culture, aussi bien en dehors qu'en dedans du corps, des substances qui favorisent le développement microbien, non pas par l'apport de substances simplement nutritives, puisque le bouillon pur n'a pas cet effet, mais par des produits de désassimilation qui paralysent l'action bactéricide.

§ 2. — *Sécrétion de la lysine par les deux staphylocoques.*

La question que nous devons aborder à présent est celle de savoir si ces produits favorisants sont fabriqués avec la même abondance par les staph. A et les staph. I.

Pour la trancher, il faut comparer l'influence qu'exercent sur une humeur bactéricide, telle que la sérosité, les cultures filtrées des deux variétés de microbes. C'est ce que nous faisons dans l'expérience suivante.

Elle comprend divers tubes : sérosité pure, cultures filtrées pures et mélanges de sérosité et de cultures. Ces cultures sont âgées de 24 heures. Les témoins formés de sérosité et de bouillon nonensemencés ont été négligés, nos expériences précédentes ayant établi que le bouillon ajouté à volume égal à la sérosité ne trouble pas la fonction bactéricide de cette dernière.

Quatrième expérience.

ENSEMENCÉS AVEC BOUILLON A		IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 1/2 H.	APR. 6 1/2 H.
1.	Sérosité pure 2 cc.	1000	400	Rares col.	0	0
2.	Sérosité 1 1/2 cc. Lysine A 1/2 cc.	1300	660	460	0	0
3.	Sérosité 1 cc. Lysine A 1 cc.	1720	1530	450	96,000	1,075,900
4.	Lysine A pure 2 cc.	400	480	600	11,000	292,500
5.	Sérosité 1 1/2 cc. Lysine I' 1/2 cc.	435	160	0	0	0
6.	Sérosité 1 cc. Lysine I' 1 cc.	300	400	100	34,580	720,000
7.	Lysine I' pure 2 cc.	300	1,400	28,800	43,000	277,200

CONCLUSION : Ces cultures filtrées, additionnées à la sérosité dans la proportion de 1 à 3, n'empêchent pas la destruction des microbes dans ce dernier milieu; à parties égales, elles exercent une action favorisante considérable, mais également prononcée pour les staph. A et les staph. I'.

Si de cette expérience unique, qu'il sera nécessaire de répéter, nous pouvons tirer une conclusion, nous devons dire que les lysines sont fabriquées en quantité égale par les deux variétés de microbes; ce fait concorde avec la fabrication de la leucocidine, qui est aussi élaborée en proportion égale par les deux variétés.

APPENDICE. Du reste, les staph. A et I' paraissent se comporter de la même façon pour tous les poisons qu'ils élaborent. Nous nous sommes formé cette opinion en étudiant comparativement les effets des cultures filtrées et des cultures stérilisées à 61° de nos deux variétés. Nous avons fait ces études sur les lapins et les chiens.

Aux lapins, nous avons injecté des cultures stérilisées à 61°, âgées de 2 jours, 7 jours, 15 jours, 3 semaines de couveuse. Les animaux qui reçurent ces poisons jusqu'à 1 cc. par 100 grammes de poids se montrèrent très peu affectés, et, fait précieux à noter ici, ils ne parurent pas plus sensibles aux cultures virulentes qu'aux cultures atténuées.

Si, au lieu de tuer ces cultures par le chauffage, on les tue par le chloroforme qu'on chasse ensuite (procédé qui a l'avantage d'éviter des températures nuisibles à beaucoup de substances), on n'obtient pas de résultats différents.

Enfin, nous avons injecté dans le péritoine de lapins 10 cc. de cultures *A* et *V* dans du bouillon, dont les microbes avaient été séparés par filtration à travers l'amiante. Ici encore rien de prédominant du côté des virulents.

Chez le chien, on peut mettre à profit les variations de la température pour étudier certains côtés toxiques de l'injection de ces cultures stérilisées; les staphylocoques fabriquent, en effet, des substances pyrétogènes; mais ici encore la variété *A* en élabore autant que la variété virulente. Dans le tableau suivant se trouvent les courbes thermométriques fournies par deux chiens, auxquels nous avons injecté deux doses différentes de bouillons de staph. *A* stérilisés par un chauffage d'une demi-heure à 61° C. et celles fournies par deux autres chiens qui ont reçu des doses comparables de bouillons de staph. *V* stérilisés de la même façon.

	STAPH. <i>A</i> STÉRILISÉS		STAPH. <i>V</i> STÉRILISÉS	
	CHIEN I	CHIEN II	CHIEN III	CHIEN IV
Poids	1000 gr.	1400 gr.	1100 gr.	900 gr.
Quantités de cultures reçues	2 cc.	11,2 cc.	2,2 cc.	9 cc.
Température avant l'injection	37°7	38°2	38°3	37°7
Après 2 1/2 heures	40°	40°1	39°7	39°1
" 5 "	38°6	39°6	39°4	39°4
" 7 1/2 "	38°1	39°	39°1	38°4
" 10 "	38°	39°3	39°6	39°
" 20 "	38°8	39°	38°6	38°2

CONCLUSION : Le bouillon *A* a élevé les températures des chiens à 40° et 40°1, températures fébriles; le bouillon *V* a porté chez l'un des chiens la température à 39°7, c'est-à-dire à 0,2 au-dessus de la température 39°5, qu'on peut considérer comme température normale extrême. Chez l'autre chien, la température est restée dans les limites de la température normale.

Si nous voulions tirer une conclusion de ces quatre injections, nous devrions dire que le staph. *A* sécrète plus de substances pyrétogènes que le staph. *V*, mais nous préférons voir dans ces différences un simple effet du hasard: les chiens opposent à ces injections une résistance individuelle

variable. Certains seraient peut-être tentés de voir dans l'absence d'ascension thermique chez le chien IV le résultat d'une intoxication plus forte déterminant une hypothermie, mais l'état général qui n'était pas plus affecté chez cet animal que chez les trois autres ne nous permet pas d'adopter cette interprétation.

CHAPITRE VI. — Considérations générales et Conclusions.

Au commencement de notre travail, nous nous sommes imposé comme tâche de rechercher le mécanisme intime de la virulence du staphylocoque pyogène. Grâce aux expériences qui précèdent, nous croyons avoir éclairci ce sujet et nous pouvons nous poser la question de la façon suivante : pourquoi un staphylocoque virulent parvient-il à se développer dans le corps, même quand il est injecté à des doses minimes, alors que le staphylocoque atténué, à des doses plusieurs certaines de fois plus fortes, ne parvient pas à prendre pied dans l'organisme ?

Plusieurs hypothèses peuvent être formulées.

I. En se basant sur le rôle que jouent les globules blancs comme agents phagocytaires, on pourrait croire que la virulence d'un staphylocoque consiste dans la propriété qu'il possède de sécréter un poison qui met les leucocytes hors de combat. Quand nous eûmes découvert l'existence de la leucocidine, ce mode d'explication s'est présenté immédiatement à notre esprit. Nous avons cru un moment pouvoir définir le staphyl. *V* un staphyl. sécrétant un poison qui détruit les leucocytes. Mais après avoir reconnu que ce poison est sécrété en quantité sensiblement égale par les deux variétés de staphylocoques, nous avons dû abandonner cette hypothèse et nous devons voir dans ce poison leucocidique, non plus la cause première de la virulence, mais une cause secondaire intervenant au cours de la pullulation des staph. pour assurer encore davantage la défaite de l'organisme.

II. Une seconde hypothèse est la suivante. Quand on injecte dans la plèvre des lapins des staph. *V*, on introduit en même temps des substances favorisantes, les lysines, qui neutralisent le pouvoir bactéricide des humeurs. Cette hypothèse découle naturellement de nos expériences faites avec les cultures filtrées. Mais nous ferons remarquer que ces lysines sont fabriquées en quantité égale par nos deux variétés de staphylocoques. Si réellement elles jouaient un rôle capital dans l'infection, ce seraient bien nos staphyl. atténués qui devraient se développer, vu la forte dose que nous injectons, et ce seraient les virulents qui devraient périr.

Pourtant l'élaboration de cette lysine ne doit pas être considérée comme un phénomène négligeable dans l'infection : si elle n'intervient pas comme cause primordiale et déterminante de la pullulation microbienne, une fois que celle-ci a atteint un certain degré, elle doit favoriser la pullulation ultérieure et concourir à assurer la suprématie des microbes sur l'animal.

III. Examinons une troisième hypothèse basée, non plus sur l'élaboration de certains poisons, mais sur une vitalité inégale des deux variétés.

D'après cette supposition, le staphylocoque *V* est un microbe vigoureux, tandis que le staphylocoque *A* représente un individu débilité. Le premier se développe rapidement et la destruction qu'il subit de la part de l'organisme est compensée par sa pullulation rapide et, malgré les pertes subies, il devient de plus en plus nombreux. Le représentant chétif, au contraire, qui est le staph. *A*, ne parvient pas à compenser les pertes qu'il éprouve, et au lieu d'augmenter, il devient de plus en plus rare : en un mot, la virulence siègerait dans une vigueur plus ou moins forte.

Il nous semble que le meilleur moyen de trancher cette question est d'ensemencer les deux formes de staphylocoques sur divers milieux et d'observer la rapidité avec laquelle elles se développent.

Nous devons exposer à ce sujet les faits observés au commencement de nos expériences et ceux que nous avons recueillis dans la suite. Tout au début, nous avons ensemencé avec les deux variétés :

- a) une série de tubes de gélatine,
- b) - - - d'agar,
- c) - - - de bouillon,
- d) - - - d'urine,
- e) une série de tubes avec des pommes de terre.

Une partie de ces tubes a été mise à la couveuse, une autre a été maintenue à la température de la chambre ; par des examens répétés une ou plusieurs fois par jours, nous avons noté le degré de développement, mais nous n'avons pu trouver aucune différence concernant l'abondance et la rapidité du développement sur gélatine, agar, pommes de terre, urine ; seul le bouillon ensemencé avec des staph. *V* s'est troublé un peu plus rapidement que celui qui avait été ensemencé avec des staph. *A*.

Mais comme dans des expériences plus récentes nous n'avons pu confirmer ce retard, nous ne pouvons plus lui accorder de valeur absolue. Cette différence d'écart doit donc être plutôt considérée comme un phénomène accidentel et sans relation directe avec la virulence.

Dans ces différentes expériences, nous avons jugé la vigueur du développement par l'aspect macroscopique; mais entre le moment d'inoculation et celui où la culture commence à apparaître à l'œil nu, il s'écoule un intervalle assez long de 6 ou 8 heures au moins, pendant lequel la rapidité de développement nous échappe. Il n'y avait qu'un moyen d'apprécier cette dernière: c'était d'ensemencer les deux formes de microbes dans un milieu liquide et de faire des plaques à différents intervalles. C'est ce que nous avons fait avec des *A* et des *V* ensemencés dans du bouillon. Les uns et les autres donnèrent le même nombre de colonies, de sorte que l'on doit admettre qu'ils avaient la même puissance de multiplication. Tels étaient les résultats que nous obtenions au début de nos expériences.

Nous devons pourtant reconnaître que dans la suite notre microbe *A* a revêtu peu à peu une allure différente; ainsi ses cultures sur agar étaient manifestement moins épaisses et moins vigoureuses que celles de la forme virulente; phénomène singulier, au fur et à mesure qu'elles devenaient plus chétives, elles perdaient leur pouvoir de pigmentation et dans ces derniers temps leurs colonies ne prenaient plus la coloration jaune: elles restaient absolument blanches. Mais nous le répétons, ces signes de moindre vitalité n'ont apparu que tout à fait dans ces derniers temps et n'existaient pas, ou du moins n'étaient pas constants au début de nos expériences, alors que la différence entre leur pouvoir pathogène était aussi prononcé qu'à la fin. En présence de ces faits, il nous est impossible d'expliquer la virulence par le développement plus rapide du staphylocoque *V* relativement au staphylocoque *A*.

IV. Quatrième hypothèse: la virulence réside dans une résistance plus grande des staphylocoques *V* à l'action phagocytaire des globules blancs. Cette hypothèse tombe immédiatement, si l'on songe que la plus grande partie des microbes *A* introduits dans la plèvre succombent avant que les globules blancs n'apparaissent en nombre efficace sur le théâtre de l'infection. Nous ne voulons pas nier que les staphylocoques *A* ne soient plus facilement pris et tués par les leucocytes, mais de nouveau ici il ne s'agit pas de la cause primordiale de la résistance du lapin.

V. Cinquième hypothèse: la virulence réside dans une résistance plus grande du staphylocoque virulent au pouvoir bactéricide des humeurs.

Nous avons vu au commencement de notre travail que l'on peut injecter les staphylocoques atténués à des doses considérables sans produire l'infection: les microbes diminuent dans une proportion extrêmement forte sans

que l'on puisse rapporter la destruction au travail des globules blancs, ceux-ci ne survenant que lorsque la destruction a déjà atteint des proportions fort considérables. Au contraire, si l'on injecte des doses extrêmement faibles de staphylocoques virulents, la destruction est tout au plus faible, de courte durée, et fait bientôt place à une pullulation ininterrompue. Ces phénomènes trahissent à n'en pas douter une résistance différente aux humeurs.

Mais comment ces dernières agissent-elles? Le staphylocoque *A* dépérit-il tout simplement parce que ce milieu composé surtout d'eau, de sérum et de sels lui est défavorable, tandis qu'il est propice au staphylocoque *V*? Nous ne pouvons l'admettre, car si nous ensemençons les deux variétés dans le sérum ou la sérosité chauffés à 60°, nous trouvons que les deux variétés s'y développent avec la même facilité : ce n'est donc pas la composition globale, grossière, qui détermine la mort du staphylocoque *A*. C'est plutôt un état particulier de ces humeurs, état modifié par l'action d'une température peu élevée et qui n'est autre que l'état bactéricide. Le staphylocoque *A* est un staphylocoque vivement impressionné par le pouvoir microbicide des humeurs et c'est pour cela qu'il disparaît rapidement dans le corps, même quand on l'injecte à doses considérables. Au contraire, le staphylocoque virulent ne se ressent pas ou ne se ressent que peu de l'action délétère des humeurs et il parvient à se multiplier victorieusement au sein de ces dernières; en un mot *l'atténuation ou la non virulence réside dans une sensibilité spéciale vis-à-vis des substances bactéricides, tandis que la virulence réside dans une résistance particulière à la même influence.*

En tenant compte de tous ces faits, voyons comment nous pouvons décrire la succession des phénomènes qui suivent l'injection de nos deux variétés de microbes. Quand on introduit dans la plèvre des staphylocoques atténués, l'irritation causée par ces organismes sur la séreuse produit d'abord une dilatation vasculaire et une transudation abondante de sérosité. Cette dernière véhicule une forte proportion de substances bactéricides, proportion plus forte que celle qui se trouve normalement dans le sérum. Sous l'influence de cette substance bactéricide, les microbes succombent rapidement et en grand nombre. Dans les premières heures de l'infection, la sérosité doit être considérée comme étant le seul élément avec lequel les microbes entrent en conflit. Mais dès la 4^e, 6^e ou 8^e heure, les globules blancs attirés par diapédèse deviennent nombreux et, en absorbant les microbes encore vivants, ils assistent, et peut-être achèvent l'œuvre des humeurs. La

défaite des microbes est d'autant mieux assurée, que ceux-ci, rapidement décimés, n'ont guère le temps de sécréter en quantité suffisante des substances antagonistes (lysines) de la substance bactéricide. Il est vrai que l'injection dans la plèvre d'une grande quantité de bouillon introduit une dose notable de lysine, mais celle-ci n'étant presque plus élaborée à cause de la mort des microbes disparaît par résorption. Ce facteur propice à l'infection se trouve ainsi neutralisé.

Qu'advient-il par contre quand on injecte des staphylocoques virulents, même à dose minime? A cette injection, la plèvre répond comme pour les microbes atténués par la congestion vasculaire et la transudation de la sérosité. Mais les microbes peu sensibles à la substance bactéricide ne périssent qu'en petite quantité; ceux qui meurent sont sans doute des individus moins virulents et présentant pour le poison microbien une sensibilité particulière. Les autres échappent à l'action du poison et entrent en division; ils deviennent peu à peu plus nombreux et bientôt leur envahissement est puissamment favorisé par leurs propres produits de sécrétion: d'un côté, par les lysines, ils neutralisent la substance bactéricide que la transudation inflammatoire amène dans la plèvre; de l'autre côté, par la substance leucocide, ils mettent hors de combat les globules blancs; dès lors, leur pullulation ne connaît plus d'obstacles et, au bout de quelques heures, ils ont transformé l'exsudat en une vraie culture.

Pourtant une objection se présente à l'esprit. Dans les expériences relatées plus haut, nous avons vu que la sérosité exerçait une action bactéricide très intense, même sur les microbes virulents. Dans ce cas, comment expliquer qu'une petite dose de microbes virulents parvient à se développer au sein d'un exsudat? La réponse est facile: au début de l'inflammation, le pouvoir bactéricide de la sérosité n'est guère plus fort que celui du sérum, qui exerce si peu d'action sur les staphylocoques virulents. C'est seulement dans la suite et peu à peu que ce pouvoir s'accroît et atteint un degré élevé, bien supérieur à celui du sérum. Nous nous sommes assuré de ce fait en comparant le pouvoir bactéricide de l'exsudat recueilli à divers intervalles après l'injection. Ainsi, par exemple, l'exsudat recueilli après 1, 2, 4 et même 6 heures d'injection possède un pouvoir bactéricide relativement faible; or, c'est avec cette sérosité à faible pouvoir bactéricide que les microbes virulents entrent en conflit au début. Par les lysines qu'ils sécrètent, ils empêchent le pouvoir bactéricide d'acquiescer toute son intensité et ainsi ils assurent leur triomphe.

Le tableau suivant donne le pouvoir bactéricide des exsudats de quatre lapins tués respectivement 1, 2, 3 et 4 heures après l'injection de staphylocoques atténués. Pour faire les plaques, nous avons employé l'exsudat comme tel, sans ajouter de nouveaux microbes.

LAPINS TUÉS APRÈS	PLAQUES FAITES IMMÉD. APRÈS LA MORT	APRÈS 1 HEURE	APRÈS 2 HEURES	APRÈS 4 1/2 HEURES	APRÈS 8 HEURES
1 Heure	86,864	59,536	63,248	348,000	255,360
2 Heures	176,960	113,120	80,200	48,216	15,960
3 »	40,500	26,166	27,360	9,120	1,200
4 »	2,280	1,200	882	0	0

On remarquera que l'exsudat du premier lapin, recueilli après 1 heure, ne donne qu'une diminution légère; la diminution est plus forte et continue pour le second; pour le troisième, bien que ne débutant pas par un chiffre aussi élevé que le deuxième, la diminution est plus rapide: après 8 heures, le chiffre est réduit au quarantième de ce qu'il était au début, tandis que pour le second, le nombre du début n'a été réduit, après le même nombre d'heures, qu'au dixième. L'augmentation indiquée pour le troisième après 2 heures doit évidemment être considérée comme l'effet du hasard. Enfin, pour le quatrième, en tenant même compte du faible chiffre initial, la destruction est plus forte que pour les autres.

Le tableau suivant, qui résume une expérience pareille à la précédente, confirme l'idée émise ci-dessus d'une façon encore plus nette.

LAPINS TUÉS APRÈS	PLAQUES IMM. APRÈS LA MORT	APRÈS 1 HEURE	APRÈS 2 HEURES	APRÈS 4 HEURES	APRÈS 7 1/2 HEURES
1 Heure	1,120	441	500	520	360
3 Heures	5,376	580	0	0	0
4 1/2 »	600	Rares colon.	Rares colon.	0	0
6 »	200	0	0	0	0

Nous avons cru intéressant de donner à ce sujet encore un petit tableau, où les chiffres initiaux sont à l'abri de toute objection: le second notamment est plus élevé que le premier et malgré cela la destruction y est plus rapide.

LAPINS TUÉS APRÈS	PLAQUES IMM. APRÈS LA MORT	APRÈS 1 HEURE	APRÈS 2 HEURES	APRÈS 4 HEURES
4 Heures	2,500	600	240	0
8 Heures	3,500	250	0	0

On pourrait nous objecter que la destruction plus forte que l'on observe dans les exsudats d'un certain âge est due non pas à un état particulier de la sérosité, mais à un affaiblissement, un état maladif des coques. Nous ne croyons pas cette objection sérieuse, car ayant eu souvent l'occasion de travailler avec la sérosité d'exsudats d'âge divers, obtenus par l'injection de cultures stérilisées, nous avons pu nous convaincre qu'il y a une grande différence entre la sérosité provenant d'un exsudat de six heures et celle provenant d'un exsudat de 12 heures. L'avantage était du côté de ce dernier.

Il découle de tout ceci que les microbes virulents ne rencontrent tout d'abord qu'un faible antagonisme de la part des humeurs qu'ils attirent dans la plèvre et qu'ainsi, malgré leur petit nombre, ils parviennent à prendre pied dans l'organisme.

CHAPITRE VII. — Parallèle entre le pouvoir bactéricide de la sérosité de l'exsudat et celui du sérum.

Dans les pages précédentes, il a été souvent question de la supériorité de la sérosité de l'exsudat sur le sérum du sang et sur le sang lui-même. Ce fait curieux mérite de fixer notre attention pendant quelques instants.

Nous allons examiner 1° si ce fait est constant et 2° à quoi il est dû.

§ 1. — *Constance de la supériorité de la sérosité.*

Dans toutes les expériences que nous avons faites à ce sujet, nous avons trouvé constamment que la sérosité l'emportait de beaucoup sur le sang ou le sérum provenant du même animal. Voici un certain nombre de ces expériences.

		SEMENCES DANS EGUILLON	IMMÉD. APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 3 H.	APRÈS 5 H.	APRÈS 7 H.	APRÈS 9 H.	APRÈS 22 H.	APRÈS 3 JOURS
Même lapin.	Sang	A	24,080	15,000	4,860	725	300	R. col.	1950	352,000	Innombr.
		V	25,704	20,720	11,340	12,768	112,320	1,702,000	Innombr.	Innombr.	Innombr.
	Sérosité (obtenue par microbes A vivants.)	A	14,560	882	0	0	0	0	0	0	0
		V	5,670	1,080	0	0	0	0	0	0	0

		SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉD. APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 7 H.	18 COUV.
Même lapin.	Sérum	A	28,720	25,220	4,400	1,596	76,360	
		V	25,340	34,648	40,480	120,200	147,840	
	Sang	A	37,960	38,948	34,080	1,459,200	Innombr.	
		V	40,800	37,760	94,500	1,366,400	1,728,000	
	Sérosité	A	35,500	13,833	3,100	1,368	864	2,160
		V	29,000	26,553	17,220	15,600	12,720	2,002

		SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉD. APRÈS	APRÈS 1 H.	APRÈS 2 H.	APRÈS 4 H.	APRÈS 12 H.	APRÈS 36 H.
Même lapin.	Sérum obtenu en centrifugeant le sang.	A	11,320	10,080	73,500	288,000	742,160	Innombr.
	Sérosité obtenue par injection de cult. stéril.	A	14,840	7,500	9,570	8,050	14,000	1,169,000

§ 2. — Cause de cette supériorité.

Quelle est la cause de cet accroissement du pouvoir bactéricide? On peut formuler plusieurs hypothèses.

I. Dans la première, il s'agirait d'une sécrétion par le sang de la substance bactéricide. Cette dernière se concentrerait ainsi peu à peu dans la plèvre et communiquerait à l'exsudat son pouvoir intense. Cette interprétation nous semble peu plausible, car si nous comprenons facilement que la congestion vasculaire et la transudation augmentent l'apport de cette substance, nous ne voyons pas bien pourquoi celle-ci s'accumulerait dans la séreuse. Il nous semble que si elle est apportée avec la transudation, elle doit être aussi constamment entraînée avec cette dernière dans le système lymphatique et le système veineux.

II. Une autre hypothèse est celle de la sécrétion par les cellules endothéliales de la plèvre. Si nous ne voyons pas de raisons pour la rejeter, nous ne pouvons pas non plus apporter de faits pour l'étayer.

III. Mais nous inclinons plutôt à placer la cause de l'exaltation du pouvoir bactéricide dans une troisième hypothèse : la sécrétion d'une substance microbicide par les globules blancs. N'oublions pas, en effet, que le maximum de pouvoir est atteint quand les leucocytes sont arrivés en grande quantité dans l'exsudat. En outre, nous croyons pouvoir démontrer la réalité de cette sécrétion par des expériences encore inachevées et que nous espérons publier plus tard.

Quelle que soit la cause de cette singulière exaltation d'une transudation inflammatoire, nous devons voir en elle un moyen que l'organisme met en jeu pour assurer sa victoire dans les régions menacées. Grâce à elle, il parvient à renforcer dans des proportions considérables les moyens défensifs dont il dispose. Des recherches ultérieures devront nous apprendre si ce phénomène se produit ailleurs que dans la plèvre et pour d'autres microbes que le staphylocoque pyogène.

A notre avis, ce renforcement *local* de la résistance, qui joue peut-être un rôle important dans la pathologie, n'a pas encore été signalé. Il est à rapprocher de la réaction *générale* observée par DENYS et KAISIN (1) dans l'infection charbonneuse.

(1) J. DENYS et A. KAISIN : *Recherches à propos des objections élevées récemment contre le pouvoir bactéricide des humeurs*; La Cellule, t. IX, 1893.

DEUXIÈME PARTIE.

Expériences sur les Chiens.

Si nous tenons à rendre compte ici des recherches que nous avons faites sur les chiens, c'est parce que nous y avons rencontré une confirmation inattendue et curieuse du mécanisme de l'infection du staphylocoque chez le lapin, tel que nous l'avons exposé plus haut.

§ 1. — Action bactéricide du sang de chien sur les staphylocoques virulents et non virulents.

Au début de nos travaux, dès que nous avons été en possession de notre variété *A* et *V* de staphylocoques, nous nous sommes empressé de les soumettre à l'action bactéricide du sang, et précisément le hasard a voulu que nous avons commencé par le sang de chien. Nous nous attendions à voir la forme *V* résister plus que la forme *A*; mais quel ne fut pas notre étonnement quand nous vîmes nos deux formes se comporter de la même façon : nous eûmes beau répéter l'expérience, les résultats restaient constants : les virulents succombaient dans la même proportion que les atténués. S'il fallait admettre une différence, elle était plutôt en faveur des virulents, en ce sens que ceux-ci se montrèrent quelquefois plus sensibles que les staph. atténués.

	SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉD.	APRÈS	APRÈS	APRÈS	APRÈS	APRÈS	APRÈS 9 H.
		APRÈS	1 H.	2 H.	4 H.	6 H.	9 H.	COLORATION
Sang de chien normal.	A 3 doses	1,648	1050	800	150	Coloration comme le tube témoin.	756	Comme le témoin.
		8,380	7020	4200	5270	Id.	13,520	Id.
		36,600	21,680	8990	14,720	Légèrement assombri.	Innombrables.	Noir-rouge.
	V 3 doses	1,820	1065	520	320	Coloré comme le témoin.	1,240	Comme le témoin.
		9,600	3300	4,060	1,080	Id.	5,100	Id.
		28,900	12,400	4,680	4,950	Id.	7,000	Id.

Nous avons répété cette expérience en inoculant de fortes doses de cultures *V* et *A* et les résultats obtenus confirment les précédents.

	SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉDIATEMENT	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 4 H.
		APRÈS			
Sang de chien normal.	<i>A</i>	170,240	17,280	8,400	2,530
		388,960	109,850	25,600	36,920
	<i>V</i>	59,400	4,080	1,125	1,760
		339,880	15,300	9,720	11,610

	SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉDIAT.	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 6 H.	APR. 8 H.	APR. 10 H.
		APRÈS					
Sang de chien en réaction.	<i>A</i>	4,500	1300	630	980	216	1950
		24,600	4,340	1,600	900	1088	680
	<i>V</i>	4,800	1,600	280	240	170	2,100
		22,700	5,600	1,960	1500	1600	1,920

Voici une autre expérience faite avec le sang du même chien, mais après addition de globules blancs de l'exsudat produit dans sa plèvre.

	SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉDIAT.	APR. 1 H.	APR. 2 H.	APR. 6 H.	APR. 8 H.	APR. 10 H.
		APRÈS					
Même sang additionné de globules blancs.	<i>A</i>	12,960	1,080	160	150	40	26
		28,800	1,485	120	350	0	72
	<i>V</i>	6,900	1,280	140	200	100	35
		24,320	1,216	160	82	76	17

Outre l'augmentation considérable du pouvoir bactéricide produite par l'addition des globules blancs, fait qui ne nous intéresse pas pour le moment, nous constatons ici une fois de plus qu'il n'y a pas de différence notable entre les staphylocoques virulents et les staphylocoques atténués : tous les deux sont également sensibles à la cause destructrice.

Voici d'autres expériences exécutées avec le sang comme tel.

		SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉDIATEM. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 I 2 H.	APR. 5 H.	APR. 10 H.
Sang de chien normal.	A	2 Doses.	6,720	1,326	220	120	1,710
			29,120	10,500	4,200	4,060	56,000
	V	2 Doses.	5,320	780	208	96	488
			18,850	6,960	1,536	2,139	9,900
							Assombri.
							Assombri.
		SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉDIATEM. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 2 I 2 H.	APR. 5 H.	APR. 10 H.
Sang de chien en réaction.	A	2 Doses.	9,120	1,750	200	150	594
			37,440	8,960	1,830	2,407	4,480
	V	2 Doses.	7,280	1,175	160	110	750
			23,680	7,020	800	870	2,800

Nous avons tenu à fournir ces nombreux exemples sur la façon identique dont se comportent les formes A et V dans le sang de chien pour montrer que ce fait paradoxal n'est pas le résultat du hasard, mais qu'il est constant. Nous avons même pu compléter ce sujet en poursuivant le sort des microbes au moyen, non pas des plaques, mais de l'examen microscopique. Pour rendre les recherches plus faciles, nous avons pris le sang de chien, dont nous avons augmenté le pouvoir bactéricide par l'addition d'exsudat contenant des globules blancs en nombre considérable. A ce mélange, nous avons ajouté un nombre prodigieux de microbes, 0,5 cc. de culture pour 5 cc. de sang, et par des examens microscopiques répétés, nous avons pu constater l'absorption des microcoques par les globules blancs. *D'un examen comparé minutieux, nous avons pu tirer la conclusion que la phagocytose s'exerçait avec autant d'intensité sur les microbes V que sur les microbes A.*

Ceux qui s'intéressent à la destruction microbienne résultant de cette action phagocytaire la trouveront formulée en chiffres exacts dans le petit tableau suivant.

		SEMENCES DANS BOUILLON	IMMÉDIAT. APRÈS	APR. 1 H.	APR. 3 H.	APR. 16 H.
Sang de chien additionné de globules blancs de son exsudat.	A	688,000	139,200	56,400	Culture noir dissous.	
	V	601,120	54,400	19,200	Culture noir dissous.	

Nous pourrions encore ajouter que si, au lieu de sang de chien, on prend le sérum, qui, comme on le sait, est faiblement bactéricide, les virulents se comportent comme les atténués.

Ces constatations, que nous avons faites au début de nos travaux avant d'essayer les humeurs du lapin, nous firent paraître l'immunité enveloppée d'obscurités telles que nous désespérions de les dissiper même partiellement. Ce n'est que lorsque nous eûmes soumis nos deux formes de staphylocoques aux humeurs du lapin que nous eûmes la clef du problème : *pour le chien, il n'y a ni staphylocoques atténués, ni staphylocoques virulents.*

§ 2. Nous avons pu vérifier la vérité de cette assertion non pas une fois, mais cinquante fois, en injectant aux animaux des doses comparables de nos deux variétés. Peu après l'injection, ils deviennent malades, ne bougent plus de place, poussent des cris déchirants comme s'ils éprouvaient des points de côté intenses, mais les phénomènes ne sont pas plus marqués chez les chiens qui ont reçu l'une variété que chez ceux qui ont reçu l'autre. A l'autopsie, on découvre les mêmes lésions : rougeur et injection des plèvres, présence d'un exsudat plus ou moins abondant, plus ou moins riche en leucocytes, tous bien vivants, et quand avec cet exsudat on fait des plaques pour fixer le nombre d'organismes, on trouve que les staphylocoques *A* ne disparaissent pas plus rapidement que les staphylocoques *V*.

§ 3. En présence de ces résultats, nous avons essayé de réaliser chez les chiens, par des passages successifs, ce que nous avons obtenu chez les lapins.

Nous avons opéré treize passages de la variété *A* à travers le chien, mais sans obtenir à la fin de l'expérience un organisme plus virulent pour cet animal que celui du début.

§ 4. Devant cet insuccès, nous avons entrepris des passages avec la forme *V*, mais après le dixième passage il fallait pour produire la mort autant de culture qu'au début; bien plus, par des inoculations aux lapins après le 2^e, le 7^e et le 10^e de ces passages, nous pûmes constater que notre microbe virulent perdait de plus en plus de son action pathogène, puisqu'il fallait des doses de plus en plus fortes pour tuer des lapins : en d'autres termes, notre microbe virulent semblait s'être atténué par les passages à travers les chiens.

Cette égalité d'action du microbe virulent et du microbe atténué injectés dans la plèvre du chien s'accorde merveilleusement avec la façon identique dont ils subissent l'action de son sang in vitro.

Nous trouvons dans ces faits une confirmation éclatante du rôle important que nous avons fait jouer aux humeurs chez le lapin.

Cet animal présente à nos deux variétés de microbes une résistance bien différente, et ce phénomène trouve son écho dans la façon dont ses humeurs se comportent *in vitro*. Le chien, au contraire, qui réagit aux injections d'une façon identique quelle que soit la forme injectée, possède des humeurs qui agissent de la même manière. Nous avons donc bien raison de dire *que la virulence d'un staphylocoque pour le lapin consiste fondamentalement dans la résistance qu'il oppose à l'action bactéricide du sérum.*

CONCLUSIONS.

A. Chez les lapins.

I. On transforme facilement un staphylocoque peu virulent pour le lapin en un staphylocoque doué d'un haut pouvoir pathogène par des passages répétés à travers cet animal.

II. Dans les injections de ces deux variétés de staphylocoques dans la plèvre du lapin, on constate que les atténués diminuent constamment en nombre à partir de l'injection, tandis que les virulents augmentent; les premiers sont en outre le siège de phénomènes de dégénérescence consistant en gonflement et perte d'affinité pour les matières colorantes.

III. Pendant les premières heures qui suivent les injections des microbes, il se produit un exsudat dans lequel on trouve des globules blancs vivants; ces premières heures passées, les leucocytes deviennent de plus en plus nombreux et restent en vie chez les lapins injectés avec des microbes atténués; au contraire, chez les lapins injectés avec des microbes virulents, la diapédèse des globules blancs s'arrête et ceux-ci meurent en perdant leurs mouvements amiboïdes et en laissant paraître leur noyau.

IV. Le sang, le sérum et la partie liquide de l'exsudat exercent sur la forme atténuée une action destructive bien plus forte que sur la forme virulente.

V. Parmi ces trois humeurs, sang, sérum et sérosité, cette dernière se montre de loin la plus active. — On peut voir dans cette suractivité un moyen nouveau que l'organisme met en œuvre pour arrêter la pullulation microbienne.

VI. Les leucocytes, en s'emparant des microbes qui échappent à l'action destructrice des humeurs, contribuent également à la défense de l'orga-

nisme; mais l'action phagocytaire intervient d'une façon beaucoup moins active que l'action humorale, toujours dans l'hypothèse que le pouvoir bactéricide appartient aux humeurs circulant dans le corps. — Les microbes virulents paraissent détruits plus difficilement par les leucocytes que les microbes atténués.

VII. Quelques heures après leur injection dans la plèvre, les staphylocoques virulents sécrètent une substance spéciale non signalée jusqu'ici et qui est la cause de la mort des leucocytes : nous avons donné à cette substance le nom de *substance leucocide* ou *leucocidine*. Elle est détruite par un chauffage de 10 minutes à 58°.

VIII. Cette substance est élaborée aussi bien dans les milieux artificiels (bouillon) que dans les milieux naturels (sang, sérum), aussi bien à l'intérieur du corps qu'à l'extérieur, et en quantité égale par les coques virulents et les coques atténués. Si elle ne se produit pas chez les lapins injectés avec les microbes atténués, c'est parce que ces derniers ne parviennent pas à se développer suffisamment dans la plèvre.

IX. Outre la substance leucocide qui s'attaque aux globules blancs, les microbes atténués et virulents sécrètent des principes qui neutralisent la substance bactéricide des humeurs : ce sont les *lysines*.

X. Ces poisons, leucocidine et lysine, ne peuvent pas être considérés comme un attribut spécial de la variété virulente; ce ne sont pas eux qui font qu'un microbe est victorieux ou non; mais, à un moment donné, ils sont des adjuvants de l'infection.

XI. La nature de la virulence réside dans une tolérance plus ou moins forte du coque vis-à-vis de la substance bactéricide des humeurs : un staphylocoque peu virulent est un microbe facilement détruit par cette substance; au contraire, un staphylocoque très pathogène est un microbe qui lui résiste.

XII. L'accroissement du pouvoir bactéricide de la partie liquide de l'exsudat dépend probablement de l'arrivée des globules blancs dans cet exsudat.

B. Chez les chiens.

XIII. Le staphylocoque virulent est détruit par le sang et le sérum du chien dans les mêmes proportions que le staphylocoque atténué.

XIV. Cet animal réagit aux injections des deux variétés de microbes avec la même intensité.

XV. On ne réussit pas à rendre virulente par des passages à travers les chiens la variété non virulente pour le lapin; de même qu'on ne parvient pas par le même procédé à augmenter la virulence de la variété pathogène pour le lapin.

XVI. A l'encontre de ce que l'on observe pour le lapin, il n'y a pour le chien ni staphylocoque atténué ni staphylocoque virulent. Ce fait confirme d'une façon inattendue l'explication de la virulence que nous avons fournie chez le lapin.

Ce travail a été entrepris au laboratoire d'anatomie pathologique et de pathologie expérimentale de l'université de Louvain. Nous avons pu le mener à bonne fin grâce aux conseils savants et désintéressés de Monsieur le Professeur J. DENYS. Qu'il veuille bien accepter ici l'hommage public de notre profonde gratitude.

EXPLICATION DE LA PLANCHE.

FIG. 1. Exsudat de 4 heures produit dans la plèvre d'un lapin par l'injection de staphylocoques *atténués* et examiné dans la chambre chauffante de ZEISS. Tous les leucocytes se montrent animés de mouvements. Noyau invisible.

FIG. 2. Exsudat de même âge produit par l'injection de staphylocoques *virulents*. Aspect microscopique comme dans la FIG. 1.

FIG. 3. Exsudat de 8 heures produit par une injection de staphylocoques *atténués*. Les leucocytes, tous mobiles, sans noyau apparent, sont devenus plus nombreux.

FIG. 4. Exsudat de 8 heures produit par une injection de staphylocoques *virulents*. Les leucocytes sont morts, sans mouvements, et montrent leur noyau.

FIG. 5. A gauche, le produit de raclage de la plèvre, douze heures après une injection de staphylocoques *atténués*. Ce produit, coloré au bleu de méthylène, présente des microbes à divers stades de dégénérescence, libres ou enfermés dans les leucocytes.

A droite, quelques leucocytes sans microbes, mais avec leurs granulations amphophiles.

FIG. 6. Exsudat de 12 heures, produit par des staphylocoques *virulents*, et examiné à frais. Les leucocytes sont morts et montrent leur noyau; les coques sont très abondants et ne présentent pas de dégénérescence.

FIG. 7 à 12. Sort des staphylocoques atténués et virulents ajoutés à une sérosité, très bactéricide pour les atténués et très peu pour les virulents.

FIG. 7. État des staphylocoques *atténués* dans la sérosité, quatre heures après leur ensemencement. Beaucoup sont gonflés et se colorent mal.

FIG. 8. État des staphylocoques *virulents* dans la sérosité après le même temps. Pas de dégénérescence, mais commencement de pullulation.

FIG. 9. État des staphylocoques *atténués* dans la sérosité, huit heures après leur ensemencement. Leur dégénérescence est plus marquée que dans la FIG. 7.

FIG. 10. État des staphylocoques *virulents* dans la sérosité, huit heures après leur ensemencement. Pas de dégénérescence, mais multiplication active.

FIG. 11. État des staphylocoques *atténués* dans la sérosité, douze heures après l'ensemencement. Dégénérescence complète.

FIG. 12. État des staphylocoques *virulents* dans la sérosité, douze heures après l'ensemencement. Culture, pas de dégénérescence.

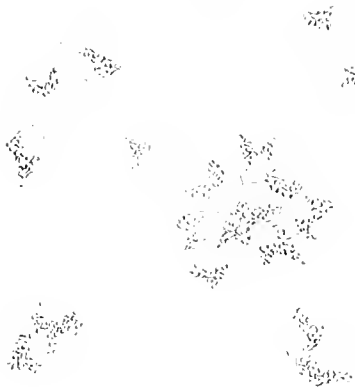




1



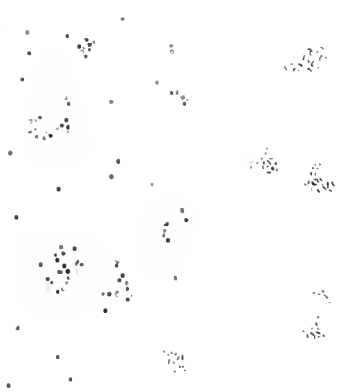
2



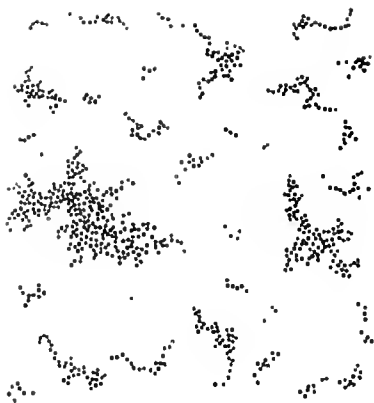
3



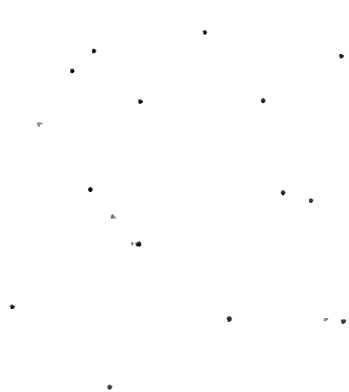
4



5



6



7



8



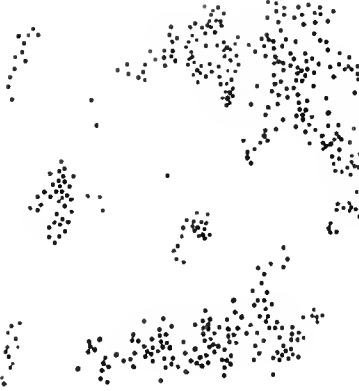
9



10



11



12

A PROPOS D'UNE CRITIQUE

DIRIGÉE CONTRE LE

POUVOIR BACTÉRICIDE DES HUMEURS

PAR

J. DENYS

PROFESSEUR D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE A L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN

(Mémoire déposé le 15 juillet 1894.)



A PROPOS D'UNE CRITIQUE

DIRIGÉE CONTRE LE

POUVOIR BACTÉRICIDE DES HUMEURS

Une des questions les plus intéressantes de la pathologie est assurément celle de l'immunité. Malgré toute l'importance qu'elle présente, il n'est pas nécessaire de reculer de nombreuses années, pour arriver à l'époque où tout ce que l'on savait sur ce sujet se réduisait à la simple constatation d'un certain nombre de faits. L'observation vulgaire avait appris que telle maladie atteignait telle espèce animale, mais épargnait telle autre, que telle affection ne frappait qu'une fois l'individu, mais que telle autre pouvait récidiver un grand nombre de fois. C'était des faits bruts de cette nature qui constituaient tout le bagage scientifique de l'immunité; l'essence, la nature intime, le pourquoi restaient enveloppés d'un voile que l'on ne parvenait pas à soulever.

Seule la découverte des agents pathogènes, des microbes, permit d'aborder ce thème avec des chances de succès. Grâce aux nombreux travaux qui se sont succédé dans ces derniers temps, l'obscurité qui enveloppait ce problème, inabordable autrefois, s'est dissipée en partie, et notre connaissance de l'immunité s'est enrichie de découvertes précieuses et définitives.

Deux points surtout ont stimulé l'activité des chercheurs :

- 1° le pouvoir phagocytaire, représenté surtout par les globules blancs;
- 2° le pouvoir bactéricide des humeurs, représenté surtout par le sérum et la lymphe:

C'est à METCHNIKOFF que revient incontestablement le mérite d'avoir découvert la propriété phagocytaire et de l'avoir fait valoir tant par ses travaux multiples que par ceux de ses nombreux élèves. Mais, emporté sans doute par sa découverte, il a fait à la propriété bactéricide des humeurs une guerre sans merci. Les arguments qu'il a dirigés contre l'existence et

l'utilité de cette propriété pour la défense des organismes supérieurs contre les microbes se trouvent condensés dans un article publié dans la *Semaine médicale* (1). Si les faits sur lesquels il base son argumentation étaient à l'abri de toute contestation, il resterait peu de choses à invoquer en faveur des humeurs; mais il nous a semblé, dans le cours de nos travaux sur l'immunité, que ces faits mêmes ne présentaient pas toute la garantie suffisante et qu'il était souhaitable de les soumettre à un nouveau contrôle. Un de nos élèves, M. J. LECLEF, a bien voulu se charger dans deux publications (2) de la partie la plus importante de cette besogne. Nous réservons les pages qui suivent pour faire quelques remarques complémentaires sur l'article de M. METCHNIKOFF, dont la compétence dans la question de l'immunité est universellement reconnue. Mais avant d'aborder cette tâche, il convient de définir nettement la position que nous prenons.

Nous ne sommes aucunement adversaire du rôle des phagocytes en tant qu'agents destructeurs des micro-organismes. Nous sommes même si peu tenté de contester l'importance de ce rôle que nous croyons avoir fourni, en collaboration avec M. HAVEZ (3), la démonstration la plus claire, la plus simple et la plus frappante de son existence.

Cette démonstration consiste à mettre à profit ce fait que les humeurs du chien sont peu bactéricides. Le pouvoir bactéricide de cet animal siège presque exclusivement dans les leucocytes et il suffit d'éliminer ces derniers pour enlever aux humeurs presque toute leur action sur les microbes. Quand on veut expérimenter sur le sang, on y parvient en filtrant celui-ci à travers du papier Joseph, qui retient les leucocytes. Le sang, ainsi traité, a perdu presque tout son pouvoir microbicide.

Cette expérience a été critiquée par BUCHNER (*Fortschritte der Medicin*, 1894), qui a voulu expliquer la perte du pouvoir bactéricide, non pas par l'élimination des leucocytes, mais par une altération du sang produite par la filtration. Il se fonde, pour légitimer sa manière de voir, sur cette circonstance signalée par nous, que le sang filtré, conservé à la température du corps, devient quelquefois plus rapidement veineux que le sang non filtré.

(1) METCHNIKOFF : *L'immunité dans les maladies infectieuses*; La Semaine médicale, 1892.

(2) J. LECLEF : *Rapport entre le pouvoir pathogène des microbes et leur résistance au sérum*; La Cellule, t. X, 1894. *Étude sur le pouvoir sporicide du sérum*; ibid.

(3) J. DENYS et J. HAVEZ : *De la part des leucocytes dans le pouvoir bactéricide du sang de chien*; La Cellule, t. IX, 1893.

Nous ferons remarquer, en premier lieu, que cette modification n'est pas constante, tandis que le pouvoir bactéricide ne manque jamais de disparaître et, en second lieu, qu'elle n'a été que rarement constatée dans les expériences faites postérieurement à la publication de nos premières observations. Presque toujours le sang filtré avait la même nuance que le sang non filtré et il la conservait aussi longtemps que ce dernier. BUCHNER semble dans sa critique faire allusion à une dissolution de l'hémoglobine produite par la filtration et à laquelle il attribue une action neutralisante sur le pouvoir bactéricide du sérum. Cette remarque nous a amené à examiner la couleur du sérum avant et après la filtration, ce que nous faisons en laissant le sang se déposer; or, dans aucun cas nous n'avons vu la couche de sérum, qui s'était formée à la partie supérieure du sang filtré, plus fortement colorée par l'hémoglobine que celle qui existait à la partie supérieure du sang non filtré. La dissolution des globules rouges ne peut donc expliquer la perte du pouvoir bactéricide.

Du reste, si l'on admet que la perte de la propriété microbicide est due à une altération du sang, comment expliquer que l'addition au sang filtré de globules blancs fait reparaitre cette propriété dans une mesure proportionnelle au nombre de leucocytes ajoutés ?

En faisant la critique du rôle que nous attribuons aux leucocytes du chien, BUCHNER semble avoir oublié que nos conclusions ne se basent pas uniquement sur les résultats obtenus par le sang filtré, mais également sur d'autres expériences, où n'interviennent ni sang, ni papier à filtrer. Ces expériences consistent à centrifuger un exsudat fortement bactéricide. Par cette opération, la partie liquide perd toute son action destructrice, mais elle la récupère dès qu'on lui restitue ses leucocytes. Ici, certainement, on ne peut recourir à une altération des globules rouges par la filtration.

Pour prouver que les altérations des hématies pendant la filtration ne sont pour rien dans la perte du pouvoir bactéricide, rappelons encore que M. HAVEZ (1) a montré, sans recourir à cette opération, que le pouvoir bactéricide du sang de chien est proportionnel à sa richesse en leucocytes.

Enfin, nous sommes d'autant moins ennemi de l'action des phagocytes qu'un de nos élèves, M. H. VAN DE VELDE (2), a prouvé que l'infection du lapin par le staphylocoque est favorisée par un poison sécrété par ce microbe, la leucocidine, et qui se caractérise précisément par son action destructrice sur les leucocytes.

(1) J. HAVEZ : *Du rapport entre le pouvoir bactéricide du sang de chien et sa richesse en leucocytes*; La Cellule, t. X, 1894.

(2) H. VAN DE VELDE : *Sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyrogène*; *ibid.*

Il résulte donc de nos propres expériences et de celles de nos élèves que nous ne méconnaissions nullement le rôle important des leucocytes dans la destruction des microbes vivants. Mais, au point où en sont arrivées nos connaissances, peut-on affirmer que les humeurs soient privées de la propriété bactéricide?

Comme nous le disions plus haut, les éléments dont on dispose actuellement ne nous autorisent nullement à répondre à cette question par la négative.

En effet, passons en revue les objections formulées par METCHNIKOFF contre l'existence du pouvoir bactéricide des humeurs.

Un premier argument invoqué par cet auteur repose sur l'action du changement de milieu. - Transportées, écrit-il, dans le sang ou dans d'autres humeurs animales, les bactéries (si souvent cultivées dans le bouillon ou sur d'autres milieux artificiels) subissent l'action d'un changement brusque de milieu, de sorte qu'un grand nombre périt au bout d'un temps plus ou moins court. Il reste cependant des cellules bactériennes plus vigoureuses qui résistent à l'influence nuisible du changement survenu, s'adaptent à ces nouvelles conditions et produisent une série de générations aptes à vivre dans les humeurs prétendues bactéricides. -

Dans l'idée de METCHNIKOFF, la destruction est la conséquence de phénomènes physico-chimiques grossiers, tels que la plasmolyse. On ne peut certainement pas nier que, lors du changement de milieu, certaines espèces microbiennes périssent. Mais à conclure de là que toute destruction dans le sérum est due à ce facteur, il y a loin. Si on évite le changement de milieu en ensemençant dans le sang des microbes venus dans le sang et dans le sérum des microbes venus dans le sérum, on observe encore dans la plupart des cas une destruction considérable. La chose a été prouvée par HAVEZ et nous pour le bacille commun de l'intestin (1), par VAN DE VELDE pour le

(1) J. DENYS et HAVEZ : Loc cit.

Qu'il nous soit permis de rappeler ici que le rôle pathogène du *Bacillus coli communis* fut établi pour la première fois par L. LARUELLE dans une étude sur les péritonites par perforation (*La Cellule*, t. V), qui renferme déjà la démonstration, refaite dans ces derniers temps par M. TAVEL, du rôle adjuvant joué par le contenu non vivant de l'intestin dans la production de l'inflammation péritonéale. Dans un autre domaine de l'action pathogène du coli-bacille, celui des infections urinaires, le travail de M. MORELLE (*La Cellule*, t. VII) a devancé ceux des auteurs qui ont travaillé le même sujet, comme d'ailleurs AL. KROGINS en convient lui-même.

staphylocoque pyogène (1), par J. LECLEF pour un grand nombre de microbes pathogènes ou saprophytes (2).

Mais la démonstration la plus irréprochable a été fournie par J. LECLEF (3), quand il a établi que les spores du bacille du foin et du bacille de la pomme de terre succombent dans le sérum frais du lapin, tandis qu'elles pullulent dans le sérum chauffé à 60°. Ici, pas moyen d'en appeler à un changement de milieu, puisque la spore se trouve immergée dans le sérum à l'état incerte et avant d'avoir manifesté le moindre indice de vitalité.

Il découle de toutes ces expériences que le changement du milieu ne peut pas tout expliquer, et qu'à côté de lui il existe un facteur puissant, dont le pouvoir se trouve annihilé par l'action encore mystérieuse d'une température de 60°.

Un deuxième argument, invoqué par METCHNIKOFF, est tiré de ce fait que, pour empêcher le développement d'une bactérie, il faudrait plus de substance antiseptique que pour la tuer. A ce propos, il s'exprime comme il suit : « Dans ses recherches sur l'action qu'exercent sur le bacille charbonneux des acides et des alcalis ajoutés au sérum, M. DE LINGELSHEIM a démontré que, pour tuer toutes les bactéries introduites, il faut une quantité de l'agent chimique double de celle qui est nécessaire pour empêcher le développement des mêmes microbes. Si l'action bactéricide des humeurs réside dans une propriété antiseptique analogue, il est tout naturel que le sérum empêche le développement de la bactériidie encore plus facilement qu'il ne la tue. Or, les faits prouvent juste le contraire. Il a été souvent observé, et M. BUCHNER lui-même peut être cité comme témoin, que le même sérum qui exerce vis-à-vis de la bactériidie une propriété bactéricide très accentuée n'empêche nullement la germination des spores et le développement abondant des bactériidies. »

Comme on le voit, le raisonnement est basé sur des propriétés différentes du bacille du charbon et de sa spore. Le développement de cette dernière ne serait nullement entravé par le sérum, tandis que la forme végétante serait détruite en grand nombre.

L'exemple de cet organisme nous paraît fort mal choisi. A notre avis, le bacille du charbon est en grande partie la cause de la confusion

(1) H. VAN DE VELDE : Loc. cit.

(2) J. LECLEF : *Étude sur le rapport entre le pouvoir pathogène des microbes, etc.*; loc. cit.

(3) J. LECLEF : *Étude sur le pouvoir sporicide*; loc. cit.

qui règne sur la question du pouvoir bactéricide. Ce microbe a la réputation d'être détruit énergiquement par certains sérums. Mais, quand avec M. KAISIN (1) nous avons refait les expériences sur ce sujet en employant comme semence, non pas une culture sur milieu hétérogène, mais une culture dans le sang et le sérum mêmes, nous avons trouvé que ces milieux étaient sans action sur lui. Sa destruction dans le sérum n'est donc pas un effet du pouvoir bactéricide et ne peut être opposée à la conservation et au développement de ses spores dans le même milieu.

On doit du reste être très prudent dans le maniement de cet organisme, qui se refuse quelquefois à pousser sur les plaques, alors même qu'il est en pleine végétation, comme nous en avons donné, avec M. KAISIN, un exemple très net.

Aussi, avant de faire intervenir le bacille charbonneux dans la discussion, croyons-nous qu'il sera nécessaire de contrôler les expériences qui ont été faites avec lui, en se mettant bien en garde d'abord contre l'influence du changement de milieu et ensuite contre les conditions qui l'empêchent de fournir régulièrement des colonies sur les plaques.

Les travaux de J. LECLEF sur les spores sont du reste une réponse directe à l'objection formulée plus haut, que pour empêcher le développement d'une bactérie il faut plus de substance antiseptique que pour la tuer. En effet, le sérum enraye le développement des bacilles du foin aussi bien que celui de ses spores. LECLEF aurait pu ajouter qu'il y a non seulement diminution, mais destruction complète des spores ajoutées au sérum. En effet, quand au lieu de percevoir deux anses de sérum pour confectionner les plaques, il ajoutait à un seul tube d'agar la totalité du sérum ensemencé, c'est-à-dire plusieurs centimètres cubes, il constatait que toutes les spores avaient péri. Elles sont donc aussi sensibles aux humeurs que les formes végétantes.

Le troisième argument invoqué par METCHNIKOFF est le suivant : le sérum est très bactéricide pour le bacille du charbon sous la forme de bâtonnet, mais il est incapable d'empêcher la germination de la spore et le développement du bacille charbonneux issu de ce germe. - Si l'immunité contre le charbon est réellement due à l'état bactéricide des humeurs, il est évident que cette immunité doit être tout à fait différente vis-à-vis des bâtonnets et des spores. -

(1) J. DENYS et A. KAISIN. *Recherches à propos des objections récemment élevées contre le pouvoir bactéricide du sang*; La Cellule, t. IX, 1893.

Comme METCHNIKOFF le fait observer, ce postulat de la théorie n'est jamais réalisé dans la nature. Nous en convenons volontiers, mais la conclusion ne nous paraît pas légitime. La contradiction dans les prémisses n'est qu'apparente et repose sur la prétendue intervention du pouvoir bactéricide dans la diminution que subissent les bacilles charbonneux importés du bouillon ou de l'agar dans le sérum. Nous avons vu plus haut ce qu'il faut penser de cette destruction. Ce que nous avons dit à ce propos renferme la solution de cette difficulté.

Un quatrième argument est plus important, il est tiré de ce fait qu'il n'existe pas de corrélation entre la propriété bactéricide des humeurs et l'immunité. Tel animal, qui est réceptif pour un microbe donné, possède un sérum très bactéricide pour ce même microbe; tel autre, qui est réfractaire, est sans action sur lui.

Une discussion détaillée sur ce sujet nous entrainerait trop loin. Les observations qui précèdent et surtout les expériences de M. LECLEF renferment la réponse à la difficulté soulevée.

Les observations de cet auteur sur le rapport qui existe entre le pouvoir pathogène des microbes et leur résistance au sérum nous paraissent absolument concluantes, nous dirons même qu'elles ont dépassé nos prévisions et que nous ne nous attendions nullement à rencontrer un parallélisme aussi rigoureux entre l'action pathogène et la résistance des microbes aux humeurs. Nous pensions, en effet, rencontrer des exceptions qu'il aurait fallu expliquer par une intervention plus énergique des phagocytes ou d'autres facteurs, mais elles ne se sont pas présentées. Aux organismes étudiés par LECLEF, nous pouvons ajouter, d'après les expériences de M. KAMIN, le bacille du charbon, et, d'après d'autres faites avec H. DE MARBAIX, le streptocoque pyogène, deux organismes qui à un degré suffisant de virulence tuent le lapin à doses minimales et qui ne sont pas détruits ou ne le sont que très peu par le sérum. La corrélation entre la propriété bactéricide des humeurs et l'immunité se trouve ainsi vérifiée pour un grand nombre d'organismes.

Toutes ces considérations, toutes ces expériences nous permettent de déclarer que le dernier mot sur le pouvoir bactéricide des humeurs n'est pas dit. Dès à présent, nous pouvons affirmer que le sérum de certains animaux, du moins après sa sortie du corps, est doué d'un pouvoir bactéricide dans

le sens indiqué par NISSEN et BUCHNER, c'est-à-dire qu'il renferme une substance toxique, agissant sur les microbes à l'instar d'un antiseptique et les faisant périr alors que tous les éléments nécessaires à leur développement se trouvent réunis.

Une autre question est celle de savoir si cette propriété appartient également au sang en circulation. Beaucoup de faits parlent en faveur de cette thèse; contentons-nous de signaler le parallélisme indiqué par LECLEF entre le pouvoir pathogène et la résistance aux humeurs et cette singulière exaltation du pouvoir bactéricide de l'exsudat du lapin signalée par VAN DE VELDE (1) et qui serait sans but si l'on niait l'intervention bactéricide du sérum. Ce renforcement local de la résistance doit être rapproché du renforcement général que nous avons signalé avec M. KAISIN (2) dans la maladie charbonneuse.

Il n'y a évidemment que l'expérience pour répondre à cette question. Mais s'il était démontré que le sérum en circulation ne possède pas de pouvoir bactéricide, il n'en faudrait pas moins examiner si ce pouvoir n'entre pas en jeu dans certains cas d'infection et ne concourt pas à déterminer l'issue favorable. Dans cette hypothèse, vu la facilité avec laquelle il prend naissance en dehors du corps, on croirait difficilement qu'il reste perpétuellement enchaîné au-dedans, d'autant plus que dans beaucoup de processus pathologiques, tels que l'exsudation, nous voyons le sérum subir les mêmes altérations que le sang extravasé (coagulation). Enfin, alors même que le sérum se conduirait toujours comme un liquide inerte, il y a lieu de se demander jusqu'à quel point, sorti du corps et doué de pouvoir antiseptique, il serait apte à jouer un rôle dans la thérapeutique.

Ce n'est pas avant d'avoir élucidé ces différents points qu'on pourra considérer l'étude du pouvoir bactéricide des humeurs comme stérile et oiseuse.

(1) VAN DE VELDE : Op. cit.

Ces expériences ont été commencées au mois de février et sont par conséquent antérieures à celles publiées par BUCHNER dans la *Deutsche medicinische Wochenschrift*.

(2) DENYS et KAISIN : Op. cit.



MBL WITVA
WH 1977 9

1958

