

A LA MÊME LIBRAIRIE

LA VACCINATION PRÉVENTIVE CONTRE LA TUBERCULOSE PAR LE « B. C. G. », par A. CALMETTE, sous-directeur de l'Institut Pasteur, avec la collaboration de C. GUÉRIN, A. BOQUET et L. NÈGRE. 1927, 1 volume de 250 pages. 22 francs.

MANUEL TECHNIQUE DE MICROBIOLOGIE ET SÉROLOGIE, par le Professeur A. CALMETTE, sous-directeur de l'Institut Pasteur, L. NÈGRE et A. BOQUET, chefs de laboratoire à l'Institut Pasteur. 2^e édition. 1926, 1 volume de 640 pages avec figures, tableaux et planches hors texte. Broché : 42 francs. Cartonné toile 48 francs.

LES VENINS : *Les animaux venimeux et la sérothérapie antivenimeuse*, par A. CALMETTE, membre correspondant de l'Institut et de l'Académie de médecine, directeur de l'Institut Pasteur de Lille. 1907. 1 volume in-8, avec 125 figures. Relié toile : 40 francs.

L'ANKYLOSTOMIASE, *maladie sociale (anémie des mineurs), biologie, clinique, traitement, prophylaxie*, par A. CALMETTE, directeur de l'Institut Pasteur de Lille, et M. BRETON, chef de clinique médicale à la Faculté de médecine de Lille. 1905. 1 volume in-8, avec figures dans le texte. 40 francs.

350.481
WF
350.481
~~101900~~

L'INFECTION BACILLAIRE ET LA TUBERCULOSE

CHEZ L'HOMME ET CHEZ LES ANIMAUX

PROCESSUS D'INFECTION ET DE DÉFENSE
ÉTUDE BIOLOGIQUE ET EXPÉRIMENTALE
VACCINATION PRÉVENTIVE

PAR
A. CALMETTE



TROISIÈME ÉDITION

Avec la collaboration

DE

A. BOQUET et L. NÈGRE

Chefs de Laboratoire à l'Institut Pasteur de Paris.

MASSON ET C^{ie}, EDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, PARIS, VI^e
1928

injecter au cobaye, une seule ou deux fois, à quelques semaines d'intervalle, quatre bacilles au maximum (c'est-à-dire un dix-millionième de milligramme) pesés à l'état frais, essorés et émulsionnés dans un centimètre cube d'eau salée physiologique, on constate que ces animaux ne présentent, dans la suite, aucun engorgement ganglionnaire au voisinage du point d'inoculation et qu'ils restent en bon état apparent. Si on les sacrifie après un an ou dix-huit mois, on trouve chez quelques-uns d'entre eux des lésions tuberculeuses très discrètes, incapables d'entraver le fonctionnement régulier des organes, et qui sont généralement localisées au foie ou dans les ganglions du médiastin. Ces lésions, souvent enkystées dans une coque de tissu fibreux, sont tout à fait analogues à celles que l'on rencontre chez les enfants qui, ayant été infectés de tuberculose bénigne, succombent au cours d'une maladie intercurrente. Elles représentent assez exactement cette *infection bacillaire latente* à laquelle tant d'expérimentateurs ont attribué, — à tort d'ailleurs, ainsi que nous le savons aujourd'hui, — un rôle essentiel dans la protection vis-à-vis des réinfections. C'est aussi la conclusion à laquelle ont abouti les recherches analogues, postérieurement effectuées par LAWRASON BROWN, F. H. HEISE et P. A. PETROFF¹.

En 1924-1925, SELTER² a fait connaître les essais de vaccination qu'il a effectués, lui aussi, avec des bacilles vivants, sur neuf enfants. Il a inoculé ceux-ci avec des doses variant de dix à dix mille bacilles de type humain virulent. Les doses fortes produisaient des nodules suppurés, mais les doses minimales paraissaient bien supportées. Chez tous les enfants la réaction tuberculinique devint positive, ce que SELTER considère, à tort également, comme indispensable pour la production de l'immunité. Leur état général resta satisfaisant. Pourtant l'un d'eux succomba; trois mois après l'inoculation, à une pneumonie. Son autopsie montra un petit nodule tuberculeux ulcéré à l'endroit inoculé, mais les émulsions d'organes viscéraux n'infectèrent pas les cobayes, bien qu'il existât des bacilles dans les ganglions lymphatiques. SELTER ne veut rien préjuger de l'avenir de ces enfants, mais il pense qu'il est permis de recourir à cette méthode d'infection préventive lorsqu'il s'agit d'enfants particulièrement exposés à des contagions familiales massives.

Il a utilisé pour ses expériences un mélange de bacilles vivants intacts et de protoplasma bacillaire soi-disant *vivant*, qu'il obtient en broyant des corps microbiens. Il désigne cette préparation sous le nom de *tuberculine vitale*.

On peut difficilement imaginer que cette méthode, ni aucune autre basée sur l'emploi d'éléments bacillaires *virulents*, fût-ce à la dose de quelques unités, ait jamais la moindre chance d'entrer dans la pratique,

1. Journ. med. Research., 1914, 30, 475.

car les sujets ainsi *infectés*, et *non vaccinés*, demeurent fatalement sous la menace constante d'une généralisation tuberculeuse pouvant survenir à la suite de la caséification lente d'un tubercule.

Citons enfin les essais de vaccination tentés par A. BORREL, L. BOEZ et A. DE COULON¹ sur les cobayes avec une souche BB (provenant de la collection de l'Institut Pasteur) qui avait été isolé par E. BURNET en 1910 et qui, à des doses inférieures à 2 milligrammes, injectées par voie intracardiaque, est bien tolérée. Elle ne détermine que des lésions discrètes et confère aux animaux une résistance appréciable aux inoculations virulentes d'épreuve. Cependant tous les cobayes préparés finissent par succomber plus ou moins tardivement à l'infection tuberculeuse.

II

VACCINATION PRÉVENTIVE EXPÉRIMENTALE PAR LE « BCG » (BACILLE BILIÉ CALMETTE-GUÉRIN)

1° CONSIDÉRATIONS PRÉLIMINAIRES SUR LE MÉCANISME DE L'INFECTION TUBERCULEUSE DANS LE JEUNE ÂGE.

Dans un discours au Congrès de Cassel, le 26 septembre 1903, BEHRING avait émis l'opinion que la tuberculose pulmonaire de l'adulte ne se contracte pas par les voies respiratoires, mais qu'elle a son origine dans le tube digestif et qu'elle résulte presque toujours d'une infection intestinale survenue pendant le jeune âge.

Cette affirmation allait à l'encontre des idées généralement admises, et bien peu nombreux furent les médecins qui lui accordèrent quelque créance. Renouvelée l'année suivante à la Société berlinoise de Médecine interne, elle souleva, de la part de cliniciens éminents, tels que B. FRAENKEL et BAGINSKI, des protestations véhémentes.

L'expérimentation seule pouvait trancher le différend.

Déjà, à cette époque, nous avions entrepris, avec C. GUÉRIN, d'étudier cette question en utilisant, non plus des produits de broyage d'organes de bovins tuberculeux, comme l'avait fait CHAUVEAU en 1887, mais des cultures d'origine bovine, humaine ou aviaire, et en faisant nourrir des jeunes chevreaux par leurs mères dont les mamelles avaient été artificiellement infectées. Nos expériences, publiées en 1905 et 1906², prouvaient que, chez les sujets *adultes*, les bacilles tuberculeux de

1. Annales de l'Institut Pasteur, 1903, 37, 1012.

culture, convenablement émulsionnés, traversent la muqueuse intestinale avec les matériaux constitutifs du chyle et ne sont que très imparfaitement retenus par les ganglions mésentériques, dont la texture diffère beaucoup de celle que l'on observe chez les animaux jeunes. Les ganglions de ces derniers, écrivions-nous alors, montrent les follicules et les cordons folliculaires pressés les uns contre les autres et ne laissent aucun vide dans les intervalles des vaisseaux sanguins. La portion cavernueuse avoisinant le hile est très réduite; les travées sont bourrées de cellules lymphatiques.

Chez l'adulte, au contraire, ainsi que nous avons pu l'observer constamment par la comparaison de nos coupes, la couche corticale montre les follicules plus espacés, séparés par des cloisons fibreuses, et la portion cavernueuse occupe une étendue beaucoup plus grande. En outre, les travées de celle-ci sont lâches, distendues, et on y trouve en grand nombre des vacuoles et de véritables canaux notablement plus larges que les cellules lymphatiques qu'ils renferment.

Quand on réfléchit à ces différences de structure qui se retrouvent également dans les ganglions péribronchiques et dans ceux du médiastin, on comprend que la lymphe, apportée aux ganglions par les canaux afférents jusque dans la couche folliculaire, circule plus lentement chez le jeune animal ou chez l'enfant, s'y filtre mieux et s'y débarrasse, par suite, plus sûrement des bacilles tuberculeux ou des autres microbes qu'elle peut contenir¹. Tandis que les ganglions de l'adulte, aux alvéoles plus lâches, ne constituent qu'un filtre imparfait, rempli de fissures, par où les bacilles sont facilement entraînés vers le hile jusqu'aux canaux efférents et, de là, dans la circulation lymphatique².

Les bacilles tuberculeux qui ont pénétré avec le chyle dans les chylifères de l'intestin franchissent donc très aisément, chez l'adulte, la barrière ganglionnaire mésentérique, dans les leucocytes polynucléaires qui les ont déjà englobés. Ils sont alors charriés par la lymphe jusque

1. C. WEIGERT, en étudiant comparativement les lésions du système lymphatique chez les enfants et chez les adultes, avait déjà formulé cette conclusion que, chez les enfants, le bacille tuberculeux pénètre beaucoup plus facilement dans les lymphatiques de la muqueuse intestinale que chez les adultes. Le même phénomène s'observe également pour le système lymphatique des bronches, des poumons, de la cavité buccale et probablement de la peau. (*Deutsch. med. Woch.*, n° 44, 8 oct. 1903, 735.)

2. On sait que beaucoup de microbes passent avec une grande facilité à travers la muqueuse intestinale des jeunes animaux à la mamelle. RÖMER et BEHRING, EHRLICH, ont montré qu'il en est de même des toxines et des antitoxines. Nous-même avons constaté, en 1895, que le venin de cobra, ingéré, traverse aisément l'épithélium intestinal et tue les jeunes animaux, alors que les animaux adultes peuvent en absorber des doses plusieurs fois mortelles sans accidents.

DISSE (*Berlin. klin. Woch.*, 1903, n° 1) a établi que, chez les nouveau-nés, les cellules épithéliales de l'intestin sont entièrement protoplasmiques. La vraie muqueuse n'apparaît que quelques jours après la naissance. C'est pourquoi, dans les premiers jours de la vie, l'intestin est très perméable aux microbes et aux substances albuminoïdes (toxines et antitoxines).

dans le canal thoracique, puis dans la veine sous-clavière gauche, puis dans le cœur droit, d'où ils sont lancés par l'artère pulmonaire dans le réseau capillaire du poumon. Celui-ci, enserré dans un lacis conjonctif extrêmement dense, les arrête, comme une bougie filtrante retient les microbes. Les granulations tuberculeuses se constituent alors suivant le mécanisme si bien étudié et décrit par A. BORREL en 1893¹.

Dans le jeune âge, lorsque les bacilles tuberculeux ingérés et arrêtés par les ganglions mésentériques sont nombreux et virulents et que les tubercules formés dans la couche folliculaire des ganglions se caséifient, déversant leurs bacilles dans les canaux efférents, les microbes véhiculés par la lymphe, puis par le sang veineux, se dispersent dans le poumon ou dans d'autres organes. Ils sont, à cette époque de la vie, moins facilement arrêtés par les capillaires lâches du poumon que par ceux des organes dont le tissu conjonctif est alors plus dense, tel que celui qui tapisse les articulations, les séreuses et principalement les méninges. Aussi les localisations méningées, osseuses ou articulaires, sont-elles infiniment plus fréquentes chez les enfants que chez les adultes.

Dans tous les cas, chez l'enfant comme chez l'adulte, la rupture des tubercules caséifiés détermine la libération de bacilles qui sont expulsés au dehors (avec les crachats, par exemple dans les tuberculoses pulmonaires ouvertes) ou qui, englobés par de nouveaux leucocytes et charriés par les lymphatiques environnants, vont s'arrêter dans les ganglions voisins (adénopathie trachéo-bronchique de l'enfant) ou traversent ceux-ci pour rentrer par le canal thoracique et le cœur droit, qui les renvoie aux capillaires du poumon avec le sang à hématoser. Ce processus nous est apparu très évident chez plusieurs de nos chèvres adultes infectées par ingestion.

Ainsi s'expliquent les éruptions successives de tubercules qui apparaissent toujours chez les sujets porteurs de lésions caséifiées. Il suffit d'examiner les poumons d'un tuberculeux à cavernes pour constater que le parenchyme pulmonaire porte, à sa surface d'abord, puis dans sa masse, une foule d'îlots de tubercules à tous les stades de développement. Chacun de ces stades correspond, sans nul doute, à une réinfection produite, soit par le déversement d'une nouvelle quantité de bacilles par le canal thoracique dans le torrent circulatoire veineux, soit par une réinfection intestinale occasionnée par la déglutition de crachats bacillifères.

Ces réinfections plus ou moins massives, et se succédant à intervalles plus ou moins rapprochés, jouent, on le sait aujourd'hui, un rôle essentiel dans la genèse de la phthisie pulmonaire et des autres formes de tuberculose chronique, ainsi que de certaines formes aiguës, telles que les méningites.

1. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1893, 7, 593.

On verra par la suite que le rappel de ces faits, que nos expériences déjà anciennes avaient établis, n'est pas inutile pour comprendre la nécessité de faire absorber les bacilles-vaccins à l'enfant, dès son plus jeune âge, par les voies digestives, à un stade d'évolution de la muqueuse intestinale où elle se laisse facilement pénétrer par les microbes, et où ceux-ci ont le plus de chances d'être retenus dans le système lymphatique ganglionnaire.

2° EXPÉRIENCES DE A. CALMETTE ET C. GUÉRIN SUR L'IMMUNISATION DES JEUNES BOVINS CONTRE L'INFECTION TUBERCULEUSE.

PREMIÈRE DÉMONSTRATION DU RÔLE PROTECTEUR D'UNE INFECTION INITIALE LÉGÈRE CONTRE LES RÉINFECTIONS

Dès nos premières expériences d'infection des jeunes bovins par les voies digestives, publiées en 1906¹, notre attention avait été retenue par les importantes constatations suivantes :

1° Un animal auquel on fait ingérer, en un unique repas infectant, une petite quantité de bacilles tuberculeux virulents, finement divisés, contracte sûrement la tuberculose, soit pulmonaire, soit exclusivement ganglionnaire, soit pulmonaire et ganglionnaire en même temps. Il réagit à la tuberculine pendant un à deux mois, quelquefois davantage, et peut guérir.

2° Les animaux ainsi guéris ne sont plus susceptibles — au moins pendant un certain temps — d'être réinfectés, alors même qu'on leur fait ingérer des quantités beaucoup plus considérables de bacilles virulents. Ils sont donc vaccinés.

3° Par contre, les animaux que l'on soumet à deux ou plusieurs réinfections successives par le tube digestif, répétées à courts intervalles, ne guérissent jamais; leurs lésions s'aggravent et évoluent rapidement vers la caséification.

« Ces faits, ajoutions-nous, expliquent pourquoi les bovidés tués dans les abattoirs, et les hommes morts accidentellement, présentent si souvent, à l'autopsie, des lésions tuberculeuses anatomiquement guéries. Ces bovidés et ces hommes ont dû s'infecter assez rarement, au cours de leur existence, pour avoir eu le temps de guérir leurs premières lésions et de se vacciner.

« Un grand nombre d'autres bovidés et d'autres hommes, au contraire, sont devenus et sont restés tuberculeux parce qu'ils ont subi une série de réinfections successives avant de pouvoir guérir les lésions produites par leur première atteinte. »

Ces expériences — qui furent largement confirmées dans la suite par

1. Annales de l'Institut Pasteur, 20, août 1906, 609.

celles de RÖMER¹ (1908-1909) sur le mouton et sur le cobaye, et en même temps par celles de R. KRAUS et GROSZ², R. KRAUS et WOLK³ sur le singe — démontraient pour la première fois qu'une seule contamination bacillaire peu intense détermine, en général, une infection qui reste bénigne et qui confère une résistance manifeste aux réinfections subséquentes, tandis que les contaminations plusieurs fois répétées à courts intervalles, ou massives, provoquent une tuberculose grave, mortelle à plus ou moins brève échéance.

L'année suivante⁴, de nouvelles expériences, confirmatives des précédentes, les notions suivantes, alors toutes nouvelles, se dégagèrent et nous paraissaient devoir s'imposer désormais à l'attention des médecins comme à celles des vétérinaires :

« 1° Chez les bovidés, jeunes ou adultes —, et, écrivions-nous, il en est probablement ainsi dans l'espèce humaine, — la gravité des infections tuberculeuses dépend du nombre des microbes absorbés, de l'adaptation de ceux-ci à l'organisme infecté (autrement dit de leur virulence) et de la fréquence des contaminations.

« 2° Une seule infection, même relativement massive, peut guérir. La guérison définitive est manifestée par l'absence de réaction à la tuberculine, et toute infection guérie confère à l'organisme une résistance marquée à l'égard de nouvelles infections. »

Les observations cliniques signalées en 1886 par MARFAN se trouvaient ainsi vérifiées et l'explication nous était fournie de ce fait, en apparence paradoxal, que la guérison d'une affection tuberculeuse, ou que la persistance de quelques bacilles peu nombreux et peu virulents dans l'organisme, paraît être la meilleure sauvegarde contre la tuberculose évolutive, et en particulier contre la phtisie pulmonaire.

Dès lors, nous étions naturellement conduits à orienter nos recherches vers l'obtention de l'immunité antituberculeuse par l'introduction, dans le système lymphatique de l'organisme, par les voies normales d'infection, — principalement par le tube digestif, — de bacilles tuberculeux vivants, mais privés de virulence.

Il était, en effet, impossible de songer à réaliser pratiquement cette sorte d'immunité, — ainsi que l'ont tenté GERALD WEBB et W. WILLIAMS, — à l'aide de doses, même extrêmement minimes, de bacilles de virulence normale ou affaiblie, car la sensibilité des sujets, — suivant l'espèce ou la race à laquelle ils appartiennent, comme aussi suivant leur âge et leurs conditions d'existence, — est trop variable pour qu'on n'ait pas à craindre de déclancher parfois une infection mortelle.

1. « Sitzungbericht d. ärztl. » (Verein zu Marburg, 19 mai 1908, 22 juillet 1908 et 21 mai 1909).

2. Centr. f. Bakt., 42, 1908.

3. Wiener klin. Woch., 1909-1910. — Centr. f. Bakt. Beitr., 47, 1910.

4. Annales de l'Institut Pasteur, 21, juillet 1907, 531.

Pour atteindre le but vers lequel tendaient ainsi nos efforts, nous nous adressâmes en premier lieu (1906-1907) à des bacilles vivants, d'origine équine, faiblement tuberculigènes, et presque dépourvus de virulence pour le cobaye. Ces bacilles provenaient de la même souche qu'utilisa plus tard H. VALLÉE dans ses essais de vaccination à l'aide d'excipients dits irrésorbables; puis à des bacilles virulents que nous faisons ingérer une ou deux fois, à faible dose et en émulsion fine, à la sonde œsophagienne.

Nous constatons alors que les animaux, ainsi infectés légèrement, offraient après quelques mois une résistance évidente aux réinfections alors même que celles-ci étaient réalisées par voie intraveineuse, et il nous semblait que cette résistance était peut-être due à ce fait que les bacilles de culture, introduits par les voies digestives — donc par les voies lymphatiques — finissent, après un temps plus ou moins long, par se résorber dans les ganglions mésentériques lorsqu'ils n'y sont pas en nombre suffisant pour y créer des lésions, tandis qu'introduits par voie intraveineuse, ils restent vivants et virulents dans les groupes ganglionnaires qui desservent les organes thoraciques et abdominaux.

Cette hypothèse — nous n'avons pas tardé à le reconnaître — était inexacte. Toutefois, en cherchant à la vérifier, nous avons pu nous convaincre qu'il était réellement possible d'utiliser les voies digestives plutôt que la voie veineuse pour conférer aux jeunes bovins la résistance aux réinfections, mais que la voie sous-cutanée était encore plus sûre et plus pratique.

Dans une note à l'Académie des Sciences (28 décembre 1908), nous avons attiré l'attention sur la propriété que possèdent les bacilles tuberculeux d'origine bovine de se cultiver sur pommes de terre cuites dans la bile de bœuf pure, glycinée à 5 p. 100, et maintenues à la température de 38° dans un excès de bile.

Un peu plus tard¹, nous montrions que, par ces cultures sur bile en séries successives, on obtient une race de bacilles atténués qui perd peu à peu toute virulence pour le bœuf, puis pour le singe, puis pour les rongeurs de laboratoire.

Déjà, après une trentaine de cultures sur bile, les réensemencements étant faits environ tous les vingt-cinq jours, un bacille bovin, originairement assez virulent pour que l'injection intraveineuse de 3 milligrammes détermine, chez les veaux âgés de moins de six mois, une granulie aiguë mortelle en quatre à six semaines, est devenu inoffensif pour les jeunes bovins de même âge. Ceux-ci peuvent en supporter 1 à 5 milligrammes, également en injection intraveineuse, sans éprouver le moindre malaise, et on constate qu'ils ont acquis, après environ trente jours, une extraordinaire résistance aux infections d'épreuve.

1. C. R. Acad. des Sc., 150, 2 nov. 1909; 151, 4 juillet 1910. — Annales de l'Institut Pasteur, 27, février 1913, et 28, avril 1914.

La démonstration de ce fait, et aussi de ce que la tolérance des bovidés pour les bacilles virulents est bien fonction de la présence préalable de bacilles tuberculeux vivants dans leur organisme, nous fut fournie par l'expérience suivante¹:

EXPÉRIENCE. — Huit génisses bretonnes, âgées de neuf mois, indemnes de tuberculose, reçoivent dans les veines, à un mois d'intervalle, respectivement 1 et 5 milligrammes de culture de bacille bovin des trente-troisième et trente-quatrième passages sur bile de bœuf.

Trente jours après la seconde inoculation, ces animaux sont éprouvés, en même temps qu'un témoin neuf du même âge et du même lot, par l'inoculation intraveineuse de 3 milligrammes de tuberculose virulente (souche Nocard).

Le témoin présente le tableau clinique ordinaire :

Le seizième jour, la température s'élève brusquement et se maintient à 40° jusqu'à la mort survenue le trente-quatrième jour après l'inoculation.

Aucune des huit génisses vaccinées ne manifeste la moindre hyperthermie. Elles restent parfaitement bien portantes.

Sept d'entre elles sont respectivement abattues un, deux, trois, quatre, huit, douze et dix-huit mois après l'épreuve. A chaque autopsie, les ganglions bronchiques sont prélevés, triturés en totalité et le triturat injecté sous la peau de la cuisse de douze cobayes qui sont examinés et sacrifiés après deux mois.

Les résultats des autopsies et des inoculations sont consignés dans le tableau ci-dessous :

N° DES génisses.	ABATAGE	AUTOPSIE	INOCULATION aux cobayes.
60	1 mois après l'épreuve	Indemne de tuberculose	Tous tuberculeux.
61	2 "	—	—
62	3 "	—	—
63	4 "	—	—
64	8 "	—	—
65	12 "	—	—
66	18 "	—	—
67	Témoin mort en 24 jours	Granulie massive	—

Toutes les génisses vaccinées avec de minimales quantités de bacilles bilinges vivants ont donc conservé, vivants et virulents dans leurs ganglions bronchiques, des bacilles d'épreuve, et ce jusqu'à dix-huit mois, sans que jamais ces bacilles aient manifesté leur présence dans l'organisme de nos bovidés par aucune lésion tuberculeuse évolutive. L'autopsie de chacun d'eux, faite avec le plus grand soin, n'a jamais permis de déceler, dans les différents groupes ganglionnaires, la moindre trace de tubercules, non plus que dans les différents viscères et dans les poumons.

1. Annales de l'Institut Pasteur, 27, février 1913, et 28, avril 1914.

Nous arrivions dès lors à cette conclusion que la tolérance durable des bovidés vis-à-vis de l'infection tuberculeuse est fonction de la présence, dans l'organisme de ces animaux, de bacilles vivants.

D'autres expériences¹ nous avaient apporté la preuve que lorsque des bovidés, qui ont reçu sans aucun dommage des doses énormes de nos bacilles biliés (jusqu'à 200 milligrammes en injection intraveineuse), sont ensuite infectés par la même voie intraveineuse avec des bacilles virulents d'épreuve, ils restent indemnes, mais deviennent susceptibles d'éliminer en nature, avec leurs excréments, une partie de ces bacilles virulents, qui se trouvent ainsi disséminés par intermittence dans le milieu extérieur.

Cette élimination, que nous avons observée et étudiée² aussi chez des animaux spontanément tuberculeux, même chez des sujets porteurs de lésions occultes décelables seulement par les réactions tuberculiques, s'effectue par les voies biliaires et par l'intestin.

Toutefois, il ne semble pas que, chez les bovidés vaccinés avec le bacille bilié et éprouvés, elle soit jamais totale. Des bacilles vivants et virulents, en plus ou moins grand nombre, sont retenus plus ou moins longtemps (jusqu'à dix-huit mois d'après nos constatations) dans les ganglions lymphatiques, surtout dans les bronchiques et médiastinaux. Ils y demeurent à l'état de vie occulte, sans révéler leur présence par aucun trouble de la santé, et il arrive souvent que les animaux qui les portent ont perdu depuis plusieurs mois toute sensibilité à la tuberculine, tout en conservant une résistance manifeste aux réinfections virulentes.

Il apparaît donc clairement que l'état d'immunité, dans la tuberculose bovine, c'est-à-dire l'aptitude à tolérer les bacilles virulents et à les expulser au moins partiellement par les émonctoires naturels des déchets cellulaires de l'organisme (voie hépatico-intestinale), est lié à la présence de quelques bacilles dans le système ganglionnaire lymphatique. Et comme il n'est pas du tout désirable que ceux-ci soient doués de virulence, qu'il y a au contraire un intérêt capital à ce qu'ils ne créent pas de lésions tuberculeuses, il est tout indiqué de peupler, aussitôt que possible, les ganglions avec des bacilles non virulents, tels que nous les fournissons à la race artificiellement obtenue par nous après deux cent trente cultures successives sur bile de bœuf, et dont la stabilité et l'innocuité pour toutes les espèces animales tuberculisables paraissent certaines.

Cette race de bacilles biliés, dénommée, pour la commodité du langage, BCG, nous avons pensé qu'elle pourrait être éminemment apte à réaliser, sans aucun danger, et dès le plus jeune âge de l'animal sensible,

une infestation — nous disons aujourd'hui une *prémunition*¹ — protectrice contre les infections accidentelles virulentes.

Mais, pour nous rendre compte de la valeur de cette hypothèse, il était indispensable de s'assurer d'abord si la prémunition par le BCG est efficace, et pour combien de temps, contre la contamination naturelle par cohabitation continue des jeunes bovins vaccinés avec des bovidés tuberculeux.

A. — Expériences de vaccination des bovins vis-à-vis de l'infection par cohabitation continue avec des bovins tuberculeux.

Ces expériences, commencées le 21 novembre 1912, ont dû être interrompues en août 1915 par la guerre. Néanmoins elles ont fourni des indications qui nous furent précieuses².

Elles ont porté sur dix génisses bretonnes âgées de neuf à dix mois, ne réagissant pas à la tuberculine, donc pouvant être considérées comme probablement indemnes de tuberculose. Quatre ont été réservées comme témoins. Les six autres reçurent, dans la veine jugulaire, une unique injection vaccinale de 20 milligrammes de bacilles d'origine bovine, provenant d'une culture de soixante-dixième passage sur pomme de terre biliée et âgée de deux semaines. Le même jour, ces génisses furent placées, ainsi que les quatre témoins, dans une étable spécialement aménagée pour favoriser la contamination naturelle et déjà habitée depuis deux mois par cinq vaches adultes tuberculeuses.

Afin d'assurer la contamination, les vaches tuberculeuses, soumises à un changement de place hebdomadaire, étaient attachées, comme le montre la fig. 32 ci-après, immédiatement en avant de la rangée des génisses en expérience. Le sol incliné de l'étable était disposé de telle sorte que les déjections des vaches tuberculeuses, entraînées par l'urine, souillaient constamment la litière et les aliments disposés dans une auge commune, sur toute la longueur du rang des génisses.

L'effectif des cinq vaches infectantes fut toujours maintenu au complet pendant les trente-quatre mois que dura l'expérience, ce qui, en raison des morts qui se produisirent, nécessita le passage de dix vaches présentant des signes extérieurs de tuberculose. L'autopsie révéla chez huit d'entre elles l'existence d'une tuberculose avancée; chez les deux autres, on ne trouva qu'une tuberculose discrète des ganglions bronchiques et médiastinaux, excluant peut-être une contagion efficace. Un de ces animaux est resté dans l'étable pendant trente et un mois. Il faut

1. Annales de l'Institut Pasteur, 25, sept. 1911.

2. Annales de l'Institut Pasteur, 1911, 25, 625, et 1913, 27, 163. — C. R. Acad. des Sc., 8 mars 1909.

1. Ce mot a été proposé en 1924 par EDM. SERGENT et DONATIEN pour désigner l'état d'infestation protectrice qu'on réalise dans certaines maladies dues à des protozoaires (Piroplasmoses bovines en particulier).

donc admettre que seulement trois vaches atteintes de tuberculose grave ont séjourné à la fois dans l'étable pendant les essais.

Les génisses témoins, non vaccinées, ont été intercalées chacune entre deux génisses vaccinées.

Trois des génisses vaccinées, sur les six, ont reçu au bout d'un an une seconde injection vaccinante, intraveineuse, de 20 milligrammes de bacilles biliés du quatre-vingt-neuvième passage (culture âgée de vingt et un jours), et deux d'entre ces mêmes génisses ont reçu encore, douze mois plus tard, 20 milligrammes de culture du cent treizième passage.

Après dix-huit mois de cohabitation infectante, aucune des six génisses vaccinées ne réagit à la tuberculine, alors que trois témoins sur quatre sont manifestement infectés.

Une de nos génisses, vaccinée trois fois, était morte étranglée le 1^{er} mars précédent, par suite d'un accident survenu à son collier d'attache. Son autopsie, faite immédiatement, ne permit pas de déceler la moindre lésion tuberculeuse. Les ganglions bronchiques furent prélevés en totalité, triturés et inoculés sous la peau de huit cobayes. Le 23 juillet 1915, ces cobayes, ne présentant pas de lésions locales, sont sacrifiés et reconnus indemnes de tuberculose.

En août 1915, soit trente-deux mois après son début, nous fûmes obligés de mettre fin à l'expérience. L'autopsie de chacun de nos animaux, faite avec le plus grand soin, permit les constatations suivantes :

1° Trois témoins présentaient des lésions tuberculeuses, ganglionnaires et pulmonaires, en général peu étendues, quelques-unes caséifiées. Le quatrième témoin, qui n'avait jamais réagi à la tuberculine, était indemne.

2° Deux des trois génisses vaccinées une seule fois en 1912 ont quelques petits tubercules dans les poumons, ainsi que dans les ganglions bronchiques, médiastinaux et mésentériques.

La troisième est indemne. Ses ganglions, inoculés sous la peau de cinq cobayes, ne donnent pas la tuberculose.

3° La seule génisse vaccinée deux fois en 1912 et 1913, qui restait, était absolument indemne. Ses ganglions, inoculés sous la peau de cinq cobayes, n'ont pas tuberculisé ces derniers.

4° Les deux génisses vaccinées trois fois en 1912, 1913 et 1914, étaient indemnes. Leurs ganglions, inoculés, pour chacune, sous la peau de six cobayes, ne renfermaient aucun bacille infectant.

Nous devons conclure de ces expériences que le bacille bilié, inoculé à dose convenable dans les veines des bovidés sains, confère à ces animaux une tolérance qui se manifeste, non seulement vis-à-vis de l'inoculation expérimentale d'épreuve, mais aussi à l'égard de la contamination par cohabitation étroite et continue dans les étables infectées.

Toutefois, cette tolérance, apparemment liée à la présence de bacilles avirulents dans l'organisme, n'excède pas dix-huit mois après une unique

vaccination. Mais elle peut être entretenue par des revaccinations effectuées chaque année et qui sont, par elles-mêmes, inoffensives.

Dès lors, nous estimions désirable que l'utilisation du bacille bilié fût

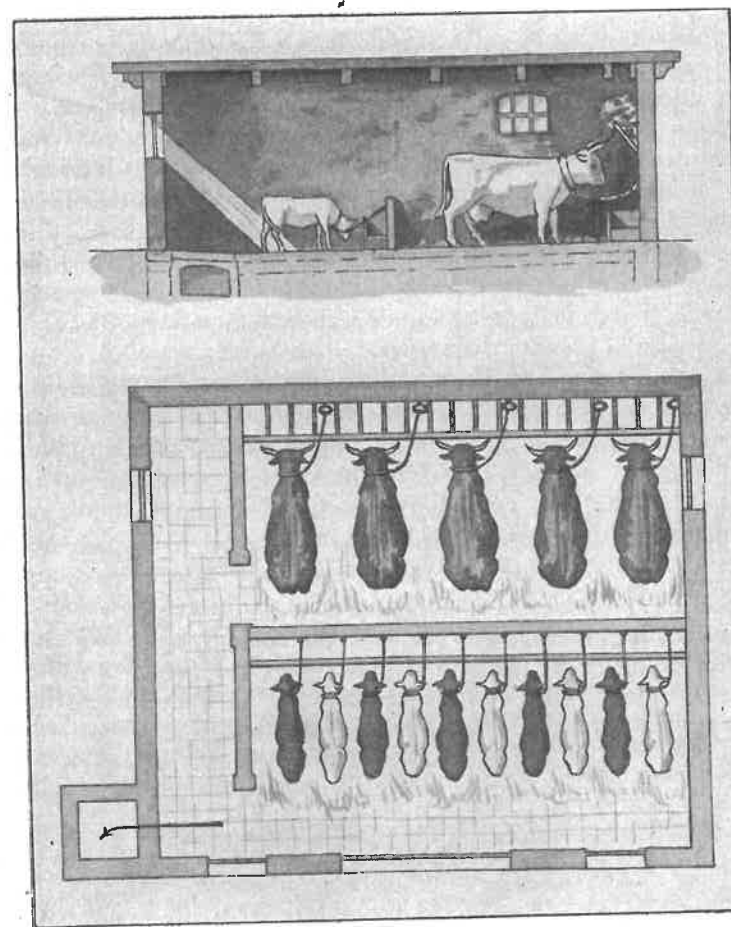


Fig. 32. — Etable disposée pour l'infection tuberculeuse expérimentale par cohabitation.

essayée dans quelques centres d'élevage sur un certain nombre de très jeunes animaux qu'on laisserait dans les troupeaux ou dans les étables infectés, sans les séparer des bovins adultes contaminés.

Nous nous proposâmes donc de réaliser cet essai dans quelques exploitations agricoles bien surveillées et de refaire des expériences de laboratoire qui eussent pour objet de préciser le mode le plus pratique, et le plus efficace en même temps, de prémunition.

B. — Expériences de prémunition des jeunes bovins par une seule inoculation sous-cutanée de « BCG ».

a) LES RÉACTIONS TUBERCULINQUES CHEZ LES ANIMAUX VACCINÉS.

A maintes reprises, au cours de nos précédentes recherches, nous avons été frappés de la rapidité avec laquelle cessaient de réagir à la tuberculine nos animaux vaccinés par voie intraveineuse, alors même que ceux-ci restaient parfaitement tolérants (jusqu'au maximum de dix-huit mois) vis-à-vis des bacilles virulents, également introduits par voie intraveineuse ou absorbés par cohabitation étroite et continue avec des bovidés tuberculeux.

Nous pensions alors que cette tolérance devait être liée à la présence des bacilles avirulents dans l'organisme et qu'elle cessait lorsque l'élimination de ces bacilles par les voies normales d'excrétion (glande hépatique, intestin et glandes mammaires) était achevée.

S'il en était ainsi, on devait essayer de prolonger cette période d'immprégnation vaccinale en introduisant les bacilles avirulents, non plus dans les veines, mais sous la peau. — procédé d'ailleurs plus simple et plus pratique, moins aléatoire aussi, chez le veau, que l'absorption par les voies digestives, — et en renouvelant l'injection sous-cutanée tous les ans, puisqu'elle est inoffensive.

C'est ce que nous avons tenté en 1921 par l'expérience suivante¹ :

EXPÉRIENCE. — Seize génisses bretonnes âgées de sept à huit mois, indemnes de tuberculose, sont divisées en deux lots : huit d'entre elles reçoivent l'inoculation vaccinale dans les veines, les huit autres la reçoivent sous la peau du fanon.

Les épreuves à la tuberculine sont pratiquées, pour tous les animaux de chaque lot, deux mois et six mois après l'inoculation. Elles donnent les résultats que voici :

Premier lot : Inoculation vaccinale pratiquée dans les veines

TUBERCULINATION :	
Réaction positive.	Après 2 mois
— douteuse.	3
— négative.	1
	Après 6 mois
	0
	0
	8

Deuxième lot : Inoculation vaccinale pratiquée sous la peau du fanon

TUBERCULINATION :	
Réaction positive.	Après 2 mois
— douteuse.	8
— négative.	0
	Après 6 mois
	5
	3
	0

1. Annales de l'Institut Pasteur, 38, mai 1924.

La constatation est nette : les animaux vaccinés par inoculation sous la peau conservent la faculté de réagir positivement à la tuberculine plus longtemps que les animaux vaccinés dans les veines.

Nous avons de multiples raisons d'admettre que cette persistance de la sensibilité à la tuberculine est corrélative de la vie symbiotique du bacille tuberculeux avec les éléments cellulaires, non point fibres, mais fibres.

De cette vie symbiotique résulte un complexe cellulaire, analogue au lichen qui est le produit de la symbiose d'une algue et d'un champignon. Lorsque ce complexe est réalisé, et tant qu'il subsiste, tant qu'il échappe aux actions défensives phagocytaires, l'organisme dont il est le parasite réagit d'une façon caractéristique vis-à-vis de nouveaux apports de tuberculine ou de bacilles : c'est ce que nous appelons le « phénomène de Koch », parce que son observation a conduit ROBERT KOCH à la découverte de la tuberculine.

Il apparaît donc que la résistance aux infections ou aux réinfections tuberculeuses — résistance naturelle ou artificiellement provoquée — doit se traduire, comme l'infection elle-même, par la sensibilité à la tuberculine.

Par suite, la réaction tuberculinique positive ne peut plus être considérée comme un critérium d'infection. Elle est bien plutôt, chez les bovidés comme chez l'homme, un critérium d'immunité. Elle révèle seulement l'existence, quelque part dans l'organisme qui réagit, d'un foyer actif ou latent, récent ou ancien, de vie symbiotique d'un bacille, virulent ou non virulent, avec quelque cellule lymphatique, macrophage ou cellule géante.

De ce fait, elle perd définitivement, sinon tout intérêt, du moins toute importance diagnostique, puisque le jour où tous les sujets, hommes ou animaux sensibles à la tuberculose, seront, dans un but de prophylaxie, artificiellement imprégnés de bacilles avirulents, il pourra leur arriver de réagir de la même manière que les sujets infectés.

b) SORT DES BACILLES-VACCINS INTRODUITS SOUS LA PEAU.

Si l'on injecte à un bovidé indenne de tuberculose, sous la peau du fanon, une dose faible de bacilles-vaccins, telle que 2 mgr. 5, on n'observe aucune réaction locale autour du point inoculé et, à aucun moment, dans la suite, l'animal ne réagit à l'épreuve de la tuberculine. Cette dose est insuffisante pour lui conférer une résistance appréciable à l'infection ultérieure par injection intraveineuse de bacilles virulents.

Par contre, si la quantité de bacilles-vaccins injectée est plus considérable, de 50 à 100 milligrammes, il se produit presque immédiatement une lésion locale sur l'évolution et la persistance de laquelle nous revenons plus loin.

Cette lésion n'a aucune tendance à suppurer, et elle finit le plus souvent par disparaître sans laisser de traces.

Pourtant une génisse, qui avait ainsi reçu dans le fanon 50 milligrammes de bacilles-vaccins et qui, dix mois plus tard, fournit une intradermo-réaction positive, conservait autour du point inoculé une lésion d'allure kystique, grosse comme un œuf de pigeon, légèrement fluctuante et flottant librement dans le tissu cellulaire conjonctif. Une ponction à la seringue, après rasage de la peau, permit d'en retirer environ 1 cc. 5 de liquide séreux, faiblement opalescent, ne renfermant aucun leucocyte, mais riche en bacilles granuleux imparfaitement colorables au Ziehl. Une partie de ce liquide, diluée dans 2 centimètres cubes d'eau stérile, est inoculée sous la peau de la cuisse à quatre cobayes. Les quatre cobayes sont restés indemnes de toute lésion locale ou ganglionnaire. Sacrifiés trois mois plus tard, ils furent trouvés parfaitement sains.

Retenons pour l'instant que *cette inoculation massive de bacilles-vaccins est immédiatement, et reste ultérieurement inoffensive.*

Il nous a paru intéressant de rechercher si des bacilles tuberculeux virulents, placés dans les mêmes conditions, c'est-à-dire soustraits à l'action directe des leucocytes, subissaient la même dégradation.

Nous savons déjà que de tels bacilles, enfermés dans des sacs de collodion dont l'élasticité doit être absolue, et placés dans le péritoine de lapins, non seulement ne se multiplient pas, mais cessent après quelques mois d'être inoculables. Pour réaliser l'expérience chez le bœuf, nous avons chargé, sous le vide, des billes de pierre ponce de 10 millimètres de diamètre, d'une émulsion concentrée de bacilles bovins virulents. La charge retenue par une bille était de 2 mgr. 5 de bacilles.

Après incision de la peau du fanon d'un bovidé neuf et dilacération du tissu conjonctif sous-cutané à l'aide de la canule d'un gros trocart, une bille ainsi chargée a été refoulée profondément sous la peau, par la lumière de la canule. La plaie opératoire, scellée par des agrafes de Micher, s'est cicatrisée par première intention. On percevait facilement le corps étranger mobile dans le tissu conjonctif et, autour de lui, une faible réaction cellulaire.

A aucun moment, c'est-à-dire après un, trois et six mois, l'animal n'a réagi à la tuberculine.

Six mois après l'insertion de la bille, celle-ci fut enlevée très aisément par une incision simple à son niveau. Elle n'était retenue que par quelques faibles adhérences conjonctives. Une coque continue, d'à peine 1 millimètre d'épaisseur, l'entourait, exactement appliquée à sa surface, sans interposition de liquide. Le raclage de la face interne de cette capsule ne montrait aucun leucocyte. La bille fut écrasée et triturée au mortier d'agate dans 5 centimètres cubes d'eau physiologique. Le produit de cette trituration montrait au microscope un nombre considérable de bacilles dont beaucoup étaient granuleux, mais faciles à colorer par le Ziehl. Injecté sous la peau de quatre cobayes, il laissa ces animaux indemnes.

Quant au bovidé porteur de cette bille, il fut inoculé, le jour même de l'enlèvement de celle-ci, avec 5 milligrammes de bacilles virulents, par voie intraveineuse. Il succomba cinquante-huit jours après à une granulie pulmonaire aiguë, n'ayant, par conséquent, acquis aucune résistance.

C'est donc que, dans les conditions de cette expérience, aucune symbose ne s'était établie entre les bacilles et les cellules, de sorte que le *phénomène de Koch*, traduisant la résistance aux réinfections, ne pouvait pas se manifester.

Nous avons pu constater d'ailleurs que, même chez le cobaye, la mise en évidence de ce « phénomène » est corrélatrice de la dose de bacilles de réinfection :

Expérience. — Quatre cobayes reçoivent sous la peau de la cuisse droite 0 mgr. 1 de bacilles virulents (pesés à l'état frais). Dix-huit jours plus tard, alors que la lésion locale évolue, ils reçoivent, en même temps que quatre témoins, sous la peau de la cuisse gauche, 0 mgr. 02 des mêmes bacilles. Trente jours après cette inoculation, alors que les témoins présentent tous le ganglion inguinal caractéristique, dur et mobile, aucun des quatre cobayes réinfectés avec cette faible dose n'a présenté de lésion locale nécrobiotique. La peau, autour du point inoculé, reste souple, sans trace d'infiltration sous-jacente, et les ganglions inguinaux sont imperceptibles.

Dans de pareilles conditions, les bacilles de réinfection sont donc fort bien tolérés.

Par contre, si la dose de bacilles réinjectés est sensiblement égale ou plus grande que celle qui a réalisé la première infection, l'organisme tuberculeux ne les supporte pas. Il s'en débarrasse par la formation rapide d'un abcès qui se vide bientôt à l'extérieur, puis se cicatrise. C'est alors le *phénomène de Koch* typique, tel qu'on l'observe chez les bovidés réagissant à la tuberculine auxquels on injecte, sous la peau, une forte dose de bacilles, même peu virulents.

Il arrive sans doute souvent que des bovidés réagissant à la tuberculine, spontanément contaminés, offrent une résistance considérable aux réinfections, même massives. Nous en trouvons un remarquable exemple dans l'expérience que voici :

Expérience. — En 1922, nous possédions une génisse de quatre ans en excellent état d'embonpoint, qui réagissait depuis deux ans à l'épreuve tuberculinique renouvelée tous les six mois, et que nous avions maintenue pendant tout ce long délai complètement isolée de toute contamination de voisinage.

La guérison spontanée ne s'étant donc pas produite, nous lui inoculons, dans la veine jugulaire, 5 milligrammes de bacilles bovins virulents, dose qui détermine constamment une tuberculose aiguë mortelle dans le délai maximum de soixante jours.

Dès la neuvième heure après l'inoculation, la température monte à 41°5 et l'animal est pris de tremblements avec violents accès de toux. La fièvre

reste élevée pendant six jours, mais diminue peu à peu, et tout rentre dans l'ordre. L'appétit et l'embonpoint se maintiennent. Quatre mois après, la génisse est abattue. On trouve, à l'autopsie, sept nodules tuberculeux, gros comme des grains de millet, dans un ganglion trachéo-bronchique, et un tubercule caso-calcaire, de la grosseur d'un grain de chènevis, à l'extrémité antérieure du poumon droit.

Les organes de la cavité splanchnique sont indemnes. On prélève avec des instruments stériles un des ganglions mésojéjunaux, un des ganglions en bordure de l'artère colique, le ganglion de la valvule iléo-cæcale et un ganglion hépatique. Tous ces ganglions, d'aspect et de volume normaux, sont triturés séparément et leur suc exprimé est injecté sous la peau de seize cobayes (quatre pour chaque ganglion). Un mois après, tous ces cobayes sans exception sont porteurs de l'adénite spécifique et la moitié d'entre eux ont des lésions d'inoculation suppurées.

Il est évident que, chez notre génisse, ce sont les petits tubercules de son ganglion trachéo-bronchique et de son poumon droit qui la sensibilisaient à la tuberculine, et il est fort probable que ce sont les bacilles de réinfection, si aisément tolérés par elle, que nous avons retrouvés dans les ganglions, en apparence sains, de sa cavité splanchnique. Mais, ce que nous voulons surtout retenir de cette observation, c'est que notre génisse, atteinte de lésions bénignes de tuberculose depuis plus de deux ans, s'est montrée capable de supporter, sans que sa maladie soit aggravée, une réinfection artificielle par plus de deux cents millions de bacilles de grande virulence.

c) EXPÉRIENCES DE VACCINATION DES BOVIDÉS PAR INOCULATION SOUS-CUTANÉE MASSIVE DE BCG.

L'examen critique des faits qui précèdent, ainsi que les résultats des multiples essais réalisés par nous, et dont il serait trop long de relater tous les détails, nous ayant montré les avantages manifestes de la vaccination par voie sous-cutanée, en un seul temps, par une dose massive de notre bacille avirulent, dénommé BCG, nous avons réalisé, de 1919 à 1924, la série d'expériences que voici :

Protocole. — Vingt génisses bretonnes de sept à huit mois, indemnes de tuberculose, sont réparties en deux lots :

Douze sont vaccinées et *huit*, maintenues dans les mêmes conditions, servent de témoins.

Les douze génisses du premier lot, numérotées de 1 à 12, sont divisées en six groupes de deux animaux (1-2, 3-4, 5-6, etc., etc.). Chaque groupe occupe un box isolé du suivant.

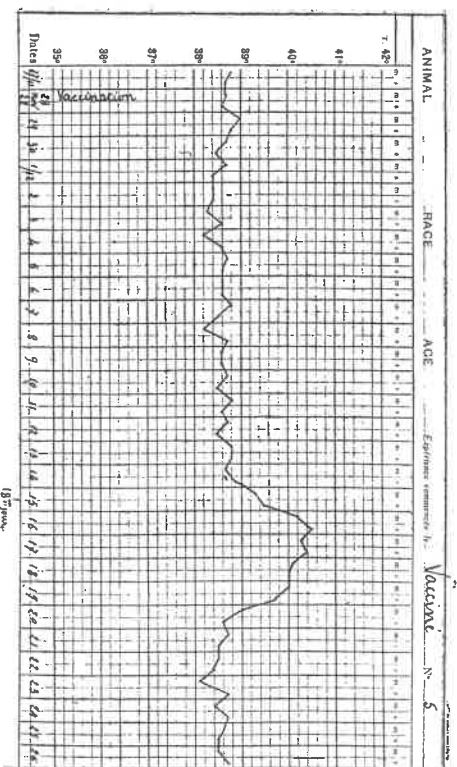
Les numéros impairs reçoivent, dans la profondeur du tissu conjonctif du fanon, une seule inoculation de 100 milligrammes de BCG émulsionnés dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique.

Les numéros pairs sont inoculés de la même manière, mais avec 50 milligrammes seulement de BCG dans 10 centimètres cubes d'eau physiologique.

Nous décidons qu'un témoin sera affecté à chacun de ces six groupes et que l'inoculation virulente d'épreuve sera faite aux animaux de chacun de ces groupes, respectivement un, trois, six, douze, quinze et dix-huit mois après la vaccination, en même temps qu'à son témoin.

Réaction des animaux à l'inoculation vaccinale. — Elle fut la même avec 50 et 100 milligrammes.

1° Réaction locale. — Vingt-quatre heures après l'inoculation, on



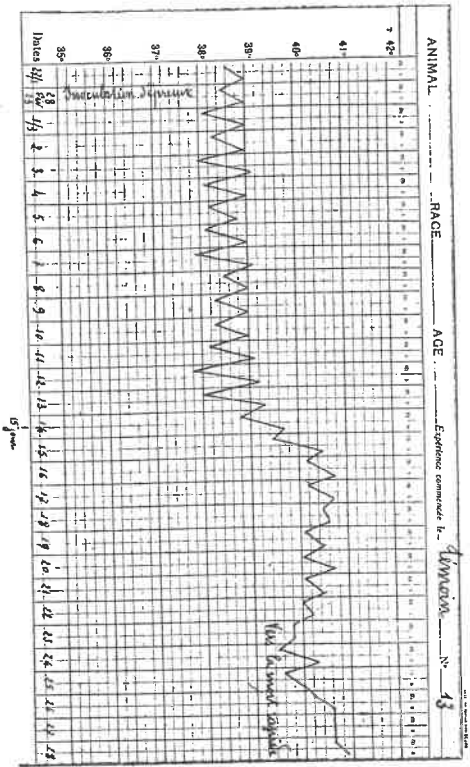
Courbe 1.

constate, dans le tissu conjonctif, l'existence d'une masse oedémateuse molle, grosse comme une noix ou un œuf de poule. Les jours suivants, cette masse se densifie, devient dure, lisse, mobile. Chez quelques animaux (deux sur douze), un oedème de nouvelle formation réapparaît du treizième au dix-huitième jour et semble empâter la petite tumeur ; puis tout rentre dans l'ordre. Cette lésion n'a aucune tendance à suppur.

Un de nos vaccinés (n° 10) mort, vingt-cinq jours après l'inoculation, de gastrite ulcéreuse, nous a permis d'étudier la structure de la tumeur à ce moment. C'était une masse dure comme du caoutchouc, longue de 5 centimètres, épaisse de 2, formée de tissu fibreux, lardacé, emprisonnant des îlots de nécrose de couleur jaune d'or mat, ressemblant à s'y méprendre à de vieilles lésions tuberculeuses d'un ganglion. Ces îlots sont entourés chacun d'une coque résistante dont le contenu, qui s'émulsié facilement, contient un nombre considérable de corps bacillaires assez mal colorables.

La lésion vaccinale, ainsi constituée sous la peau, diminue lentement de volume. Elle reste perceptible au sixième mois et tend à disparaître du dixième au dix-huitième. Elle est toujours indolore.

2° RÉACTION GÉNÉRALE. — La plupart de nos animaux (neuf sur douze) n'ont présenté aucune élévation de température, aucun trouble de la santé ni de l'appétit. Chez 25 p. 100 d'entre eux (trois sur douze), nous avons constaté, du quinzième au dix-huitième jour, une poussée fébrile assez forte (de 38°6 à 40°5) s'accompagnant de tristesse et d'anorexie. La fièvre dure cinq ou six jours, puis disparaît, et l'état général redevient excellent (Courbe 1). Cette hyperthermie tardive rappelle



Courbe 2.

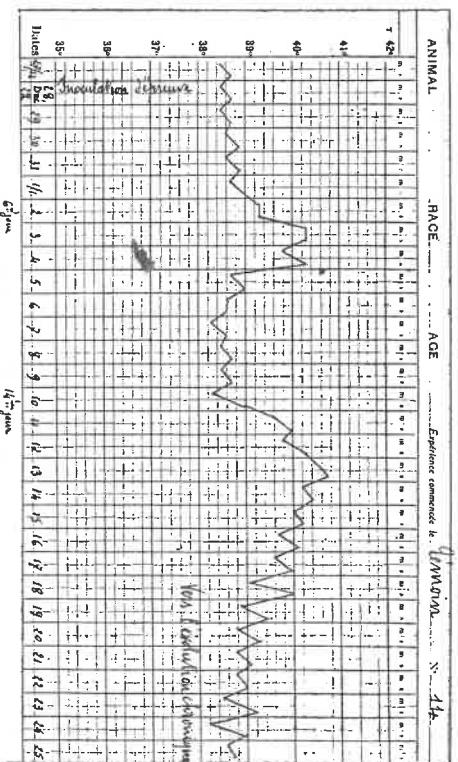
exactement ce que nous constatons lors de nos essais de vaccination par voie intraveineuse. Elle résulte sans doute d'une septicémie bacillaire consécutive au passage d'un plus ou moins grand nombre de corps microbiens dans la circulation sanguine.

3° RÉACTEUR TUBERCULIFÈRE. — Nous avons jugé préférable de ne pas soumettre nos animaux vaccinés à des épreuves périodiques de tuberculine par voie sous-cutanée, afin de ne pas modifier leur état de résistance ou de sensibilisation par une accoutumance intempestive. L'intradermoréaction n'ayant pas, du moins au même degré, le même inconvénient, nous l'avons exclusivement pratiquée.

Cette réaction reste positive tant que persiste la lésion vaccinale du tissu conjonctif, du moins tant que celle-ci demeure perceptible au toucher. Elle ne devient négative qu'à partir du sixième mois chez deux animaux sur sept (29 p. 100). Au douzième mois, un seul réagissait positivement.

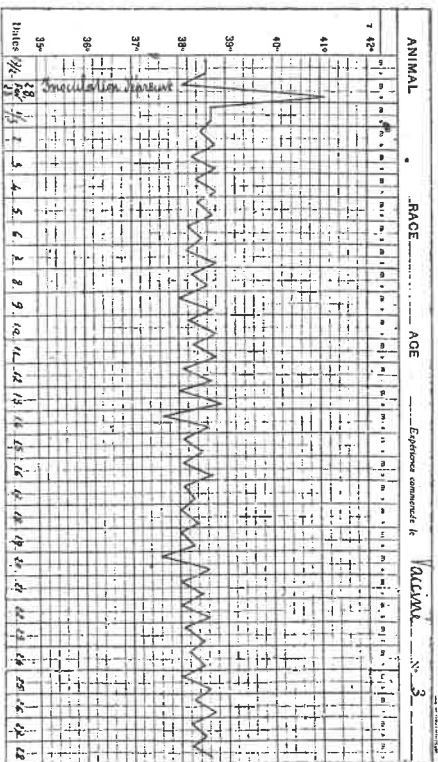
Réaction des témoins à l'inoculation d'épreuve. — Nous avons utilisé

pour nos inoculations d'épreuve un bacille bovin isolé directement par nous d'une lésion pleurale d'abattoir, sur milieu de Pétroff, et dont



Courbe 3.

1/250 de milligramme tue le cobaye dans le délai de quatre-vingt-dix jours après injection sous la peau. La dose employée pour les bovidés a été uniformément de 5 milli-

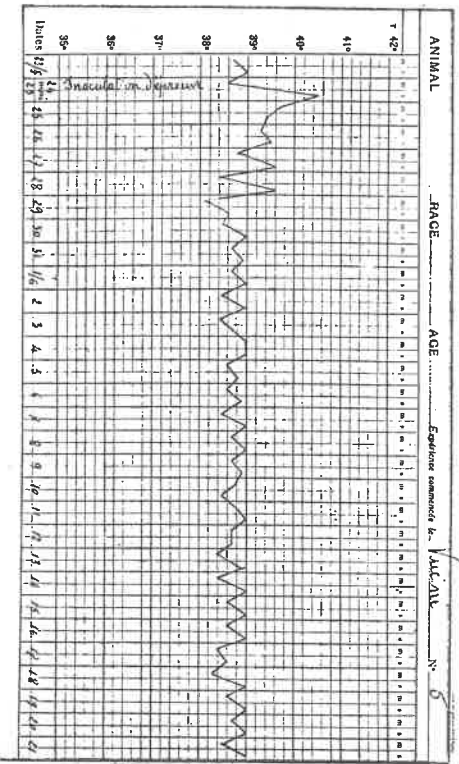


Courbe 4.

grammes (pesés à l'état frais) inoculés dans la veine jugulaire. Chez nos bovidés, l'inoculation d'épreuve n'a jamais été suivie d'une réaction thermique immédiate. Ce n'est qu'après une période d'incuba-

tion de treize à quinze jours qu'on voit brutalement se manifester une violente hyperthermie (2°), en même temps que l'état général devient moins bon. La température reste élevée, la toux est fréquente, le nombre des mouvements respiratoires augmente jusqu'à 80 et plus. La mort survient du trentième au quarante-cinquième jour (Courbe 2). Elle est déterminée par une granulie pulmonaire massive.

Quelques témoins, par exception, ont fait une élévation de température plus précoce, du quatrième au sixième jour (40°), pendant au maxi-



Courbe 5.

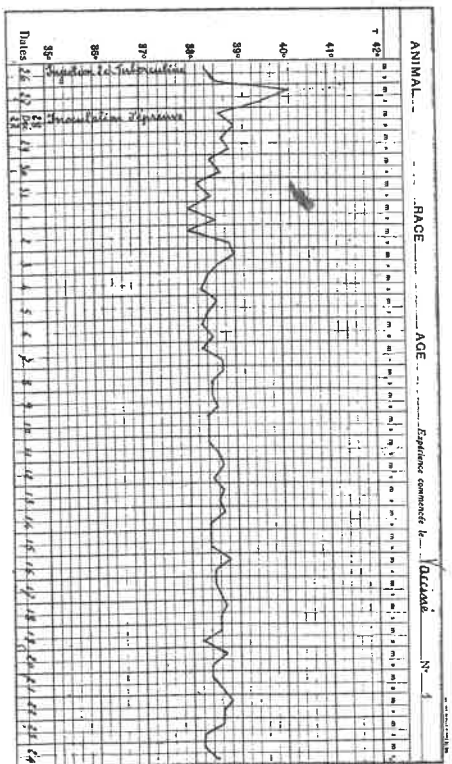
mum trois jours; puis tout est rentré dans l'ordre jusqu'au treizième ou quinzième jour, délai après lequel l'ascension thermique ordinaire débute (courbe 3). Mais, chez ces animaux, le tableau clinique change. Après une hyperthermie qui dure huit à douze jours, avec tendance quotidienne à la baisse, l'état général semble s'améliorer; la respiration est plus facile, la température redevient presque normale. Toutefois, les accès de toux persistent et les lésions de tuberculose militaire évoluent, ne provoquant la mort qu'après plusieurs mois. Cependant elles sont toujours largement constituées dès la fin du deuxième mois.

La réaction thermique hâtive, ainsi observée chez quelques animaux neufs après l'inoculation virulente intraveineuse, nous paraît traduire un état particulier de résistance dont la cause nous échappe. Peut-être est-il dû à une très minime infection bacillaire préexistante, que la tuberculine n'a pas révélée.

Réaction des vaccinés à l'inoculation d'épreuve. — Chez les bovins vaccinés, l'inoculation d'épreuve est toujours suivie immédiatement d'une violente réaction thermique (40°5-41°), dont le maximum est constaté de neuf à douze heures après l'injection intraveineuse des bacilles virulents.

(Courbe 4). Quelquefois cette réaction disparaît très vite, ou bien elle persiste de trois à six jours en s'effaçant graduellement (Courbe 5). Le plus souvent, au bout de vingt-quatre heures, tout est rentré dans l'ordre et, à aucun moment, dans la suite, la santé des animaux ne sera troublée. Rien ne pourra laisser soupçonner l'épreuve extrêmement sévère qu'ils ont subie.

Cette réaction brutale, immédiate, est constante, même chez les vaccinés qui, quelques jours avant l'épreuve virulente, ont une intradermo-



Courbe 6.

négative. Elle est certainement de nature tuberculinique, et en voici la preuve (Courbe 6) :

Expérience. — Trente-six heures avant l'inoculation virulente, chez un vacciné, nous injectons sous la peau 3 centimètres cubes de tuberculine diluée. La réaction thermique se développe de la dixième à la quinzième heure après l'injection. Vingt-quatre heures plus tard, nous faisons l'inoculation d'épreuve avec les bacilles virulents. Celle-ci n'est suivie d'aucune hyperthermie, ainsi que le montre la courbe 6. C'est exactement ce que l'on observe chez les bovins tuberculeux qui réagissent fortement à une première tuberculination et qui ne réagissent plus si on leur réinjecte la même dose de tuberculine deux ou trois jours après.

Résultats des expériences pour chaque groupe de bovins vaccinés.

GRUPPE I. VACCINÉS N°s 1 ET 2; TÉMOIN N° 13.

Les deux vaccinés sont éprouvés, en même temps que le témoin, un mois après la vaccination.

Le témoin 13 est sacrifié, très amaigri, soixante jours après l'épreuve. Son autopsie montre une tuberculose miliaire des poumons avec des tubercules à tous les stades, depuis la tête d'épingle jusqu'au grain de chènevis caséux.

Le vacciné n° 2 est éprouvé, bien qu'il ait, de temps en temps, des accès de toux résultant de ce qu'il était atteint de bronchite vermineuse. Il émettait un jetage muco-purulent contenant des embryons de strongles. Nous avons essayé sans succès de le traiter par des injections phéniquées intratrachéales. L'animal se cachectisa de plus en plus et succomba cinq mois et sept jours après l'inoculation d'épreuve.

Son autopsie, hormis les désordres causés par les parasites, ne permit pas de déceler la moindre lésion tuberculeuse. Le ganglion prétrachéo-bronchique gauche est prélevé, trituré, exprimé, et le produit inoculé sous la peau de quatre cobayes. Trente jours plus tard, les quatre cobayes sont porteurs de l'adénite spécifique.

Cette observation tire un intérêt particulier de ce fait qu'il s'agit d'un animal chez lequel, malgré son état complet de débécance ayant abouti à la mort par cachexie, la protection vaccinale a tout de même empêché l'évolution de la tuberculose virulente.

Le vacciné n° 1, resté en parfait état, est abattu douze mois après l'épreuve. Il est complètement indemne de tuberculose. Le ganglion prétrachéo-bronchique gauche est prélevé, trituré, exprimé, et le produit inoculé sous la peau de quatre cobayes.

Quarante-cinq jours après, les quatre cobayes, qui ne présentent aucune adénite, sont sacrifiés. L'examen le plus minutieux ne révèle chez eux aucune lésion tuberculeuse. Nous reviendrons tout à l'heure sur ce fait, auquel nous attachons une grande importance.

GRUPE II. VACCINÉS N°S 3 ET 4; TÉMOIN N° 14. — Les deux vaccinés sont éprouvés, en même temps que le témoin, trois mois après la vaccination.

Le témoin n° 14 meurt quarante-quatre jours après l'inoculation : granulie pulmonaire massive.

Les vaccinés 3 et 4, en excellent état, sont abattus onze mois après l'épreuve. Ils sont indemnes de tuberculose. Leurs ganglions prétrachéo-bronchiques gauches sont prélevés, triturés, exprimés, et les produits inoculés séparément sous la peau de quatre cobayes. Quarante-cinq jours après, les quatre cobayes inoculés avec le ganglion du vacciné n° 3 sont sacrifiés et trouvés indemnes. Par contre, ceux inoculés avec le ganglion du vacciné n° 4 sont porteurs de l'adénite spécifique.

GRUPE III. VACCINÉS N°S 5 ET 6; TÉMOIN N° 15. — Les deux vaccinés sont éprouvés, en même temps que le témoin, six mois après la vaccination.

Le témoin 15, en très mauvais état, incapable de se tenir debout, est sacrifié soixante jours après l'inoculation d'épreuve. Tuberculose miliaire des deux poumons avec foyers d'hépatisation.

Les vaccinés 5 et 6, en excellent état d'embonpoint, sont abattus huit mois après l'épreuve. Ils sont trouvés indemnes de tuberculose. Leurs ganglions trachéo-bronchiques gauches sont inoculés séparément sous la peau de quatre cobayes; quarante-cinq jours plus tard, les huit cobayes sont porteurs de l'adénite spécifique.

GRUPE IV. VACCINÉS N°S 7 ET 8; TÉMOINS N°S 16 ET 16 bis. — Les deux vaccinés sont éprouvés, en même temps que les témoins 16 et 16 bis, douze mois après la vaccination. (En raison de ce long délai d'une année, nous avons cru nécessaire de prendre deux témoins.)

Le témoin 16 meurt trente-deux jours après l'inoculation : granulie pulmonaire massive.

Le témoin 16 bis, réduit à l'état de squelette, meurt cinquante-huit jours après l'inoculation : tuberculose miliaire suraiguë.

Les vaccinés 7 et 8, en excellent état, sont abattus trois mois après l'épreuve. Ils sont trouvés indemnes de tuberculose. Leurs ganglions prétrachéo-bronchiques gauches sont inoculés séparément sous la peau de quatre cobayes. Quarante-cinq jours après, les huit cobayes sont porteurs de l'adénite spécifique.

GRUPE V. VACCINÉ N° 9; TÉMOIN N° 17. — (Le vacciné n° 10 est mort tout au début de l'expérience, vingt-cinq jours après la vaccination, de gastrite ulcéreuse.)

Le vacciné n° 9 est éprouvé, en même temps que son témoin 17, quinze mois après la vaccination.

Le témoin 17 meurt cinquante-quatre jours après l'inoculation : tuberculose miliaire aiguë.

Le vacciné n° 9, en excellent état, est sacrifié pour la boucherie deux mois après l'épreuve. Son autopsie, faite en présence de M. Bossut, vétérinaire-directeur de l'abattoir de Lille, ne permet de déceler aucune trace de tuberculose, bien que les ganglions bronchiques et médiastinaux paraissent un peu volumineux et succulents à la coupe.

GRUPE VI. VACCINÉS N°S 11 ET 12; TÉMOIN N° 18. — Les deux

vaccinés sont éprouvés, en même temps que le témoin, dix-huit mois après la vaccination.

Le témoin 18 meurt quarante-deux jours après l'inoculation : granulie pulmonaire massive.

Après l'inoculation d'épreuve, le vacciné n° 11 fait la réaction thermique que nous avons précédemment signalée, puis tout rentre dans l'ordre.

Le vacciné n° 12 n'a pas fait cette réaction. C'est à peine si, dans les quatre jours qui ont suivi, sa température s'est élevée un peu au-dessus de la normale. Par contre, du treizième au dix-huitième jour, il fait une hyperthermie assez marquée (39°8), puis sa santé redevient parfaite.

Ces deux vaccinés 11 et 12 sont abattus deux mois après l'inoculation virulente.

Le vacciné n° 11 est tout à fait indemne de tuberculose. Ses ganglions bronchiques et médiastinaux sont un peu plus volumineux et plus mous que d'ordinaire.

A l'ouverture de la cavité thoracique du vacciné n° 12, on constate que les deux poumons sont incomplètement affaissés. Leur consistance est ferme. La coupe montre le tissu pulmonaire dense, scléreux, partout perméable, mais de teinte un peu pâle. On n'y trouve aucune lésion tuberculeuse. Les ganglions bronchiques et médiastinaux, doublés de volume, sont fermes. Ils contiennent des floes blancs, grisâtres, entourés d'une zone sanguinolente, presque hémorragique, sans follicules tuberculeux visibles.

Cette dernière autopsie est intéressante à plus d'un titre. On ne peut mettre en doute que, chez cet animal, les lésions de sclérose ganglionnaire et pulmonaire ne soient la conséquence de l'inoculation d'épreuve. Elles indiquent que ce vacciné depuis dix-huit mois est arrivé au décalimite de sa tolérance vis-à-vis des germes virulents, bien que sa résistance soit encore suffisante pour empêcher de contracter une forme de tuberculose granulique aiguë telle qu'en montre son témoin.

Les observations de nos deux derniers vaccinés attestent en outre que, si la persistance de la lésion vaccinale locale reflète en quelque sorte l'état de tolérance vis-à-vis des bacilles virulents, cet état de tolérance se prolonge manifestement deux et trois mois après que la lésion vaccinale locale s'est effacée.

Revenons enfin sur une constatation faite sur deux de nos animaux des groupes I et II.

Nous avons déjà dit que, chez les vaccinés par voie intraveineuse, nous retrouvions les bacilles d'épreuve, vivants et virulents, dans les ganglions bronchiques, douze et dix-huit mois après l'inoculation.

Or, chez nos animaux vaccinés par voie sous-cutanée, nous constatons

que, douze mois après l'épreuve chez l'un (n° 1), onze mois après chez l'autre (n° 3), les ganglions bronchiques ne sont plus virulents.

Quelle autre interprétation pourrait-on donner de ce fait, si ce n'est que la vaccination sous-cutanée massive confère aux animaux qui y sont soumis une plus grande aptitude à éliminer les bacilles virulents surajoutés, et, conséquemment, qu'elle est plus efficace (en même temps que plus pratique) que l'inoculation vaccinale par voie intraveineuse ?

C. — Principes d'une nouvelle prophylaxie de la tuberculose bovine basée sur les résultats expérimentaux qui précèdent.

Les faits que nous avons rapportés ci-dessus démontrent, mieux encore que ceux exposés dans nos recherches antérieures, la possibilité de conférer aux jeunes bovins, pour une période de temps qui peut s'étendre à plus d'une année, une résistance manifeste à l'égard de l'infection tuberculose, alors même que, de un à quinze mois après la vaccination, cette infection est réalisée de la manière la plus grave, la plus constamment et rapidement mortelle, c'est-à-dire par voie intraveineuse, avec une dose massive de bacilles très virulents.

Ils apportent également la preuve de l'innocuité parfaite de notre bacille-vaccin. Ce bacille a perdu toute aptitude à provoquer l'infection tuberculose. Il est, même à doses fort élevées, inoffensif pour toutes les espèces animales. Il se comporte dans les organes comme un véritable saprophyte, incapable de récupérer sur place sa virulence. Son élimination éventuelle, par le lait ou par l'intestin, n'offre aucun danger pour l'homme ni pour les autres animaux domestiques ou sauvages. Sa dissémination dans les milieux extérieurs ne peut occasionner aucun dommage.

Ce sont là de précieuses qualités que ne possède aucun des bacilles humains, bovins, équins, aviaires, — tous, à des degrés divers, virulents et tuberculogènes, — dont l'emploi comme vaccins a été proposé par divers expérimentateurs (ВЕННИКОВ, R. КОЖИ и ШВЕТЦ, Т.Н. СМИРН, МАС ФАДУАН, S. АНКОЛОВ, Н. ВАЛДЕР) et dont la dispersion dans la nature ne peut pas être dépourvue d'inconvénients.

Chacun sait, en effet, que l'une des principales raisons qui ont fait écarter jusqu'ici l'emploi de ces bacilles comme « bovo-vaccins » par les éleveurs, est la crainte, d'ailleurs fort justifiée, de répandre l'infection tuberculose parmi d'autres espèces animales, particulièrement chez l'homme (surtout chez l'enfant), et aussi chez le porc, ou encore chez les petits mammifères rongeurs (rats, souris) et chez les oiseaux, qui servent trop souvent de véhicules aux infections d'étables ou de basses-cours¹.

1. Les bacilles normaux, même peu virulents, tués par le chauffage, par les antiseptiques (chlore, iode, formol, fluorure de sodium) ou par immersion prolongée dans

Avec notre *bacille BCG*, rien de semblable ne peut être redouté. Nous avons même d'excellentes raisons de croire (on en trouvera plus loin les preuves) que sa large utilisation contribuera à raréfier la *tuberculose-maladie* en généralisant, surtout chez les jeunes sujets, l'*infection latente par un bacille vivant, avirulent et non pathogène*.

Pour nous, en effet, — nous l'avons affirmé et démontré dès 1906, — l'immunité antituberculeuse (ou si l'on préfère la résistance aux réinfections) est liée à la présence de quelques bacilles peu nombreux et peu virulents dans l'organisme. Tant que celui-ci reste ainsi *parasité*, sans que ce parasitisme entraîne des désordres cellulaires ou fonctionnels graves, les réinfections, — pourvu qu'elles ne soient ni trop fréquentes, ni trop massives, — n'auront sur lui d'autre effet que d'accroître sa sensibilisation (ou son intolérance) vis-à-vis des corps microbiens bacillaires quels qu'ils soient, vivants ou morts, et vis-à-vis de la tuberculine.

Mais cette immunité cesse dès que la symbiose initiale « vaccinante » cesse elle-même d'exister, soit que les bacilles vaccinnants aient été détruits par les processus normaux de digestion cellulaire, soit qu'ils aient été éliminés par les émonctoires naturels des microbes (bile, intestin, glandes mammaires). Et alors les bacilles virulents de réinfection, s'il en existe déjà qui soient restés intacts, ou s'il en est introduit de nouveaux dans un organisme dont l'immunité est ainsi éteinte, reprennent ou gardent toute leur valeur de bacilles pathogènes, telle qu'ils l'auraient vis-à-vis d'un organisme vierge de toute infection antérieure.

S'agit-il là d'une véritable *immunité*, au sens que les bactériologistes donnent à ce mot, c'est-à-dire d'un état réfractaire à la maladie ?

Nous estimons que ce n'est pas niable, car cette immunité est parfaitement analogue à celle que réalisent les virus-vaccins vivants atténués, tels que le vaccin jennérien, le vaccin charbonneux, celui du rouget ou celui de la rage. Elle est, comme celle que déterminent ces virus-vaccins, plus ou moins durable suivant la nature, la quantité et la virulence des germes qui la produisent.

Il serait étrange qu'on exigeât d'un vaccin antituberculeux autre chose que ce qu'on exige d'un vaccin anticharbonneux par exemple, c'est-à-dire d'être *efficace et inoffensif*. Chacun sait que l'immunité

la glycérine, dont l'emploi comme vaccin a été également tenté, sont, en général, assez bien tolérés. Nous avons pu constater par de nombreuses expériences, dont quelques-unes sont déjà anciennes (*Annales de l'Institut Pasteur*, avril 1914), que les jeunes bovins auxquels on injecte de tels bacilles acquièrent un faible degré de résistance aux infections virulentes d'épreuve, mais cette résistance fléchit très vite et ne saurait être comparée à celle, beaucoup plus solide et relativement durable, que réalisent les bacilles vivants. Il en est de même pour les animaux sains auxquels on injecte préventivement, dans la circulation veineuse, de la tuberculine à haute dose, des extraits bacillaires ou des émulsions de lipoides bacillaires.

acquise par la vaccination contre le charbon ou contre le rouget ne dure guère plus d'un an, et que celle acquise par la vaccination jennérienne ou par la vaccination antibrucelle s'efface peu à peu dans l'espace d'environ sept années. Pourquoi en devrait-il être autrement pour l'immunité artificielle contre la tuberculose ?

Il est seulement vrai que celle-ci se heurte à une difficulté que ne connaissent pas les autres : c'est qu'elle est *difficilement applicable*, au moins en l'état actuel de la plupart des élevages, aux *sujets adultes*, parce que ceux-ci sont trop souvent, et à des degrés divers, alors même qu'ils ne réagissent pas à la tuberculine, déjà tuberculisés ou infectés par *quelques bacilles virulents*. Chez de tels sujets, l'injection de bacilles-vaccins, comme d'ailleurs celle d'autres bacilles virulents ou atténués (ou même morts), détermine un accroissement de la sensibilité à la tuberculine qui est rendu manifeste par l'apparition du « phénomène de Koch ».

Il est donc *préférable, pour cette raison, d'instituer méthodiquement la vaccination contre la tuberculose en s'adressant aux tout jeunes sujets, dès les premiers jours qui suivent leur naissance*, avant qu'ils aient été exposés à des occasions d'infections abondantes, ou même discrètes, mais répétées, par des bacilles virulents.

C'est ce qui fut fait, depuis 1921, d'abord dans plusieurs centres d'élevage placés sous le contrôle permanent de vétérinaires sanitaires, puis, tant en France qu'en divers autres pays, dans un grand nombre d'exploitations agricoles que l'on a réussi à purger graduellement de tuberculose sans changer quoi que ce soit au mode d'existence, ni à l'habitat des animaux, mais en prenant soin de vacciner tous les nouveaux nés dans les quinze premiers jours de leur vie, de les isoler de tout contact *général* infectant pendant environ 25 à 30 jours, jusqu'à ce que les réactions d'immunité soient établies, et de les revacciner ensuite une fois par an.

Cette méthode d'éradication de la tuberculose offre le grand avantage d'être à la fois simple, économique et parfaitement inoffensive. Elle fournit aux éleveurs le moyen de se protéger contre l'infection tuberculeuse bovine par des moyens plus efficaces que ceux, aussi draconiens qu'inopérants, que la législation actuelle en matière de police sanitaire met à leur disposition.

Celle-ci prescrite, il est vrai, l'isolement des animaux tuberculeux ou même réagissant positivement à la tuberculine, mais elle ne pourvoit pas aux moyens de rendre cet isolement complet et réel.

Elle ordonne bien la désinfection des étables contaminées, mais elle est muette sur les mesures à appliquer lorsque cette désinfection est pratiquement impossible en raison de la détériorité ou de la vétusté des locaux.

Sans doute, les efforts tentés depuis les brillantes campagnes de BANG

en Danemark, de Nocard en France, en vue de réaliser la prophylaxie de la tuberculose bovine par la tuberculination du bétail, ont produit quelques utiles effets. Mais les déceptions des vétérinaires qui ont appliqué systématiquement, avec le plus grand soin, la méthode de Bang, sont devenues nombreuses dans tous les pays, bien que cette méthode ait certainement contribué à réduire notablement la morbidité tuberculeuse. C'est qu'il est arrivé maintes fois que des animaux, reconnus indemnes par l'absence de réaction à la tuberculine, mais provenant d'étables contaminées et qui avaient été introduits dans des milieux où toute contagion intérieure était évitée, ont manifesté cependant, après des temps variables, souvent après un vèlage, une réaction tuberculinique positive. De tels soi-disant « échecs de la méthode de Bang » sont aisément explicables aujourd'hui que nous savons avec quelle lenteur une infection bacillaire discrète crée parfois le parasitisme cellulaire symbiotique qui, seul, rend l'organisme parasité sensible à la tuberculine. Chez le bovin, comme chez l'homme, la réaction tuberculinique peut ne devenir positive que de longs mois, parfois plusieurs années après que la contamination s'est réalisée.

On ne peut donc pas compter sur la tuberculine pour écarter les sujets suspects. Et, dans ces conditions, il paraît assurément préférable de vacciner tout le cheptel, en commençant par les très jeunes animaux, qui sont beaucoup plus sensibles que les adultes à l'infection bacillaire et auxquels, ainsi que nous l'avons établi, il est possible de conférer une résistance manifeste et suffisamment durable à l'égard des contaminations graves, même artificiellement provoquées.

1. EFFETS DU « BCG » SUR LES RONGEURS DE LABORATOIRE.

L'extrême sensibilité des rongeurs de laboratoire, surtout du cobaye et du lapin, à l'infection tuberculeuse qui peut être réalisée et entretenue, chez ces petits animaux, par quelques unités de bacilles virulents, rend particulièrement difficile leur prémunition.

Cependant celle-ci, comme le démontrent les expériences relatées ci-après, peut être manifestement obtenue en se plaçant dans les conditions que nous allons essayer de définir. Mais elle n'est jamais durable. Elle ne produit des effets protecteurs vis-à-vis des infections expérimentales que pendant quelques semaines ou, au plus, quelques mois. Et il n'est pas possible de mesurer son efficacité, ni la durée de celle-ci, vis-à-vis des contaminations naturelles, car l'infection du cobaye, et aussi celle du lapin, par cohabitation dans les cages avec des animaux de même espèce, tuberculeux, est exceptionnelle à ce point que l'on

peut dire que, chaque fois qu'on l'observe, elle est l'effet d'un hasard, On a donc, depuis longtemps, pris l'habitude, dans les laboratoires, d'injecter sous la peau du cobaye, ou dans la veine marginale de l'oreille du lapin, un centième ou un millième de milligramme de bacilles de virulence moyenne, c'est-à-dire respectivement 400 000 ou 40 000 bacilles. De telles doses, relativement minimes, déterminent chez tous les animaux, neufs ou déjà vaccinés avec le BCG, des lésions si étendues et si graves que la résistance des vaccinés finit toujours par fléchir après une lutte de plus ou moins longue durée. Toutefois, chez les vaccinés, les lésions prennent un caractère très particulier de « lésions de résistance » circonscrites et à marche lente.

Dans ces modes d'infection ou d'épreuve, il n'y a rien qui puisse être comparé aux effets d'une contamination naturelle. Or, c'est de ceux-ci qu'il faudrait se rapprocher le plus possible pour apprécier l'efficacité d'une méthode de vaccination sur des animaux qui — l'expérience le prouve — peuvent être strictement infectés et contracter une tuberculose mortelle en cinq à huit mois par l'inoculation (intraveineuse au lapin, sous-cutanée au cobaye) de quarante bacilles, soit un milliardième de milligramme de culture essorée, pesée à l'état frais.

C'est pourquoi nous préférons, surtout chez le cobaye, recourir au procédé si simple et si pratique d'infection par insillation oculaire, que nous avons proposé et étudié depuis 1913 avec G. GUÉRAU et V. GRAYEZ, et qui consiste à laisser tomber sur l'œil de l'animal, dont un aide tient les paupières légèrement écartées, une goutte d'émulsion bacillaire tirée de telle sorte que 1 cc. contienne 1 centigramme de bacilles en suspension fine (donc une goutte = 0 milligr. 5). Cette méthode ne crée aucune lésion locale et elle provoque, avec une parfaite régularité, d'abord la tuberculisation des ganglions du cou, qui deviennent perceptibles au toucher en vingt-cinq à trente jours, puis l'extension lente et progressive du processus tuberculeux aux poumons, ensuite aux viscères abdominaux, amenant la mort le plus souvent en quatre à cinq mois.

Nous y avons eu recours surtout pour l'épreuve de la résistance aux réinfections chez les petits animaux que nous avons essayé de vacciner par voie buccale.

a) COBAYE. — 1° Inoculation sous-cutanée. — Les faibles doses de 0 milligr. 5 à 1 milligr. (chiffres correspondant toujours à la pesée des bacilles à l'état frais) injectées en une seule fois sous la peau, ne produisent ni abcès, ni réaction ganglionnaire, seulement un peu de tuméfaction locale qui se condense en un petit noyau dur, lequel disparaît en deux ou trois semaines, sans laisser de traces.

Avec 3 ou 10 milligr., on voit apparaître très rapidement un œdème auquel succède un petit abcès qui, du dixième au douzième jour, s'ouvre

à l'extérieur, forme un véritable chancre à bords taillés à pic, et qui suppure pendant deux à quatre semaines, puis se cicatrise. Le ganglion correspondant présente une légère tuméfaction, bientôt effacée.

L'infection ne se généralise pas. L'animal reste en parfaite santé.

L'inoculation sous-cutanée de doses, même énormes (jusqu'à 1 gramme), de BCG est parfaitement inoffensive en ce sens qu'elle est incapable de provoquer une infection tuberculeuse mortelle. Toutefois, les doses massives, à partir de 1 centigramme, provoquent l'apparition, sur le foie, la rate et les poumons, de petits follicules tuberculeux qui guérissent spontanément et disparaissent après quelques semaines sans laisser de traces. *Ces tubercules ne sont jamais réinoculables.* Leur présence n'altère pas la santé des animaux.

Il importe de signaler que l'inoculation de fortes doses de BCG provoque fréquemment des infections par *microbes de sortie*, pasteurellose ou autres, qui sont rapidement mortelles.

Si, à l'autopsie, des lésions viscérales sont découvertes, on doit éviter de les confondre avec celles de la pseudo-tuberculose des rongeurs, due au cocco-bacille de MALASSEZ et VIGNAL, bien étudiée et décrite depuis par G. RAMON¹.

Cette maladie, très fréquente dans les élevages, peut être aisément confondue avec la vraie tuberculose si l'on ne prend pas soin de faire un examen microscopique après coloration par la thionine ou le bleu de méthylène phéniqué, et d'ensemencer sur gélose, où la culture se développe en vingt-quatre heures à 37°. (On ne doit pas oublier que, même dans de tels cas, il peut exister dans les lésions de pseudo-tuberculose des bacilles BCG acido-résistants.)

L'inoculation de 1 milligr. en plein derme du coussinet plantaire est intéressante. Elle détermine un œdème sensible qui persiste deux ou trois jours et qui s'efface presque complètement. Puis, du dixième au douzième jour, on voit tout à coup la surface plantaire se tuméfier de nouveau. Il s'y forme plusieurs petits ulcères superficiels d'apparence lupique. Le ganglion poplite correspondant devient volumineux; il peut atteindre les dimensions d'un pois. La région inguinale s'empâte. Les ulcères laissent suinter une sérosité sanguinolente qui contient quelques bacilles granuleux, altérés, presque tous intraleucocytaires.

Au bout de quelques jours, la tuméfaction ganglionnaire disparaît, la lésion locale se couvre d'une croûte épaisse, puis se cicatrise, ne laissant d'autre trace qu'un peu d'épaississement du derme.

2° Inoculation intrapéritonéale. — Dans le péritoine, les petites doses sont parfaitement tolérées. A partir de 3 milligr., on observe une réaction épipléique et mésentérique intense, avec formation de petits amas d'apparence nodulaire, pédiculés, constitués au centre par une agglomé-

ration de bacilles et de polynucléaires; à la périphérie, par des cellules macrophages noyées dans un réseau de cellules conjonctives. Ces nodules, plus ou moins conglomérés, finissent par se résorber. Chez les animaux sacrifiés trois à cinq mois après l'inoculation, et qui sont d'ailleurs restés en parfait état de santé apparente, on ne les retrouve plus.

Pendant la période où ces nodules sont visibles, si on les prélève pour les triturer et qu'on les inocule sous la peau de cobayes sains, ils ne déterminent aucun engorgement ganglionnaire, ni aucune lésion tuberculeuse. Les bacilles, d'ailleurs colorables, qu'ils contiennent, sont donc restés *non vivants*.

L'inoculation de fortes doses de BCG dans le péritoine peut déterminer, comme le feraient des bacilles tués par chauffage, la formation d'abcès froids de la paroi intestinale, compliqués de péritonite adhésive et suivis de la mort de l'animal. Il est alors facile de constater que le pus de ces abcès péritonéaux, inoculé sous la peau de cobayes sains, est incapable de transmettre la tuberculose.

3° Inoculation intracardiaque. — Les doses de 1 à 10 milligr., injectées en une seule fois dans la circulation sanguine par ponction cardiaque, sous le volume de 0 cc. 5 pour les jeunes cobayes, de 1 cc. pour les cobayes adultes, sont parfaitement supportées. Les premiers jours qui suivent, on n'observe rien d'anormal. Puis, tout à coup, vers le quinzième jour, apparaît une brusque tuméfaction de tout le système ganglionnaire, principalement apparente aux aînes et qui persiste pendant une dizaine de jours, puis s'efface définitivement. Les animaux sacrifiés au cours de cette période réactionnelle ne présentent aucune altération viscérale; tous leurs organes sont apparemment sains.

Les doses plus fortes déterminent la formation de granulations tuberculeuses dans tous les viscères, surtout dans la rate, le foie et les poumons. Mais ces granulations, au lieu d'évoluer vers la caséification, régressent, puis disparaissent sans laisser de traces, pas même de sclérose et, au bout de deux à trois mois, la *restitutio ad integrum* est complète.

L'inoculation intracardiaque d'une seule dose de 2 à 5 milligr. de BCG confère aux jeunes cobayes de 150 à 200 grammes une résistance manifeste à l'infection virulente d'épreuve si celle-ci est réalisée environ cinquante jours plus tard, par instillation oculaire de 0 milligr. 5 de bacilles virulents (une goutte d'émulsion fine à 1 centigramme par centimètre cube). Chez les animaux ainsi vaccinés et éprouvés, l'infection virulente reste localisée pendant trois à cinq mois dans les ganglions du cou. Après ce délai, l'évolution de la tuberculose se poursuit et la protection conférée par les bacilles BCG cesse.

Les inoculations préventives sous-cutanées ou intrapéritonéales uniques ou répétées de BCG se montrent en général inefficaces chez le cobaye.

4° Introduction du BCG par voie buccale. — L'absorption intestinale

présente, chez l'animal adulte, des irrégularités qui gênent l'expérimentation. Avec les très jeunes animaux, cet inconvénient n'existe pas. C'est pourquoi nous nous sommes adressés au jeune cobaye dans l'expérience suivante :

EXPÉRIENCE. — Trente-six jeunes cobayes, âgés de huit à trente jours, ingèrent à la pipette six repas de 10 milligr. chacun et quatre repas de 20 milligr. de BCG à vingt-quatre heures d'intervalle (culture finement émulsionnée dans l'eau physiologique avec des billes de verre et filtrée à 1 centigramme de bacilles par cc.).

Ils sont éprouvés trois mois après par ingestion de deux repas infectants, chacun de 5 milligr. de tuberculose bovine virulente, à vingt-quatre heures d'intervalle, en même temps que six témoins qui sont tous morts entre soixante-dix et cent dix jours, avec des lésions de tuberculose généralisée à tous les viscères de la cavité splanchinique et aux poumons.

Parmi les vaccinés :

Un meurt le trentième jour sans lésions tuberculeuses (pasteurellose);

Un succombe le quarantième jour (de pasteurellose également), avec des ganglions mésentériques volumineux, sans autre lésion;

Onze meurent du soixante-dixième au quatre-vingt-dixième jour (pasteurellose), avec adénites mésentériques et quelques petits tubercules sur la rate.

Trois d'entre eux ont de rares tubercules pulmonaires translucides;

Douze meurent du cent dixième au cent trentième jour, avec adénites mésentériques. Six d'entre eux n'avaient pas d'autres lésions. Quatre présentaient un ou deux petits tubercules sur la rate. Deux avaient des lésions de tuberculose étendues aux poumons et à la rate;

Quatre meurent du cent quarantième au cent cinquantième jour, dont un avec adénite mésentérique sans autres lésions, et trois avec tuberculose généralisée;

Sept survivants sont sacrifiés le deux centième jour après l'épreuve. Tous ont de l'adénite mésentérique.

Deux n'ont pas d'autre lésion. Un a de la tuberculose généralisée, et les quatre autres ne montrent que de rares petits tubercules sur les organes viscéraux.

Il est donc évident que l'ingestion préalable de BCG a permis aux jeunes cobayes de résister longtemps (pour quelques-uns pendant plus de six mois) à l'infection artificielle d'épreuve réalisée dans des conditions d'exceptionnelle gravité.

Il est très probable que, si cette infection d'épreuve avait été moins massive, plus discrète, la plupart des cobayes auraient résisté bien davantage.

b) LAPINS. — L'injection sous-cutanée de petites doses de BCG (1 à 5 milligr.) est aussi bien supportée par le lapin que par le cobaye, mais la sensibilité de cet animal aux injections intraveineuses est manifestement plus grande. A partir de 20 milligr., on provoque parfois la formation de foyers de pneumonie dont la masse hépatisée est bourrée

de bacilles. Les animaux succombent alors après deux ou trois semaines.

Le plus souvent, on n'observe aucun signe pathologique. Mais, si on sacrifie quelques animaux pendant les premières semaines, on trouve dans leurs organes, surtout dans la rate, le foie et les poumons, des lésions folliculaires visibles à l'œil nu et qui représentent de vrais tubercules. Ces lésions guérissent spontanément et, après cinq ou six mois, on n'en retrouve plus aucune trace, pas même d'îlots de sclérose.

Si, pendant la phase où elles se manifestent, on prélève des fragments des divers organes qui contiennent ces lésions, pour les triturer et les inoculer sous la peau de cobayes sains, on constate que ces derniers restent indéfiniment indemnes et ne font aucune lésion tuberculeuse, pas même ganglionnaire.

C'est une preuve évidente de la non-virulence du BCG et de son inaptitude à créer des lésions tuberculeuses transmissibles en séries.

Nous avons pu faire supporter à plusieurs lapins jusqu'à 100 milligr. de BCG en injection intraveineuse sans que leur santé soit troublée.

Il ne nous a pas paru que ces injections, à petites ou à grosses doses, par voie sous-cutanée, exercent une action protectrice bien évidente contre l'épreuve d'infection virulente par voie intraveineuse (un centième de milligramme de bacille bovin).

Par contre, il est manifeste que l'inoculation intraveineuse unique de 20 milligr. et, mieux encore, de 30 milligr. de BCG protège le lapin contre une infection tuberculeuse mortelle en cinquante à soixante-quinze jours pour les témoins. Mais cette protection s'efface peu à peu et disparaît aux environs du sixième mois. A partir de ce moment, les bacilles d'épreuve restés dans l'organisme déterminent des lésions rapidement évolutives.

Nous avons cherché à suivre la production des anticorps dans le sang d'un lapin inoculé le 20 janvier 1922 avec 50 milligr. de bacilles biffés dans la veine marginale de l'oreille. Voici les résultats que nous avons obtenus :

Le 2 février, soit après 13 jours, le sérum de ce lapin contenant, par centimètre cube..	5 unités d'anticorps
Le 13 février, soit après 24 jours..	200
Le 1 ^{er} mars, — 39 —	300
Le 15 mars, — 54 —	100
Le 6 avril, — 76 —	20
Le 25 avril, — 95 —	0

La proportion d'anticorps s'accroît donc pendant environ trois mois après l'injection massive de bacilles biffés, puis elle décroît rapidement. Il ne semble cependant pas que ces variations quantitatives correspondent à une diminution de la résistance vis-à-vis de l'épreuve virulente, car les lapins se comportent de la même manière si l'épreuve est faite

seulement trois mois, au lieu d'un mois après l'injection vaccinale.

La disparition des anticorps n'indique pas non plus que tous les bacilles biliés ont été résorbés ou éliminés par les voies naturelles d'excrétion (foie et intestin principalement), car si l'on pratique une injection intraveineuse de 0 cc. 04 de tuberculine brute dans les veines du lapin, alors que la réaction de fixation est devenue négative, l'animal présente l'hyperthermie caractéristique et, les jours suivants, son sérum renferme de nouveau, et cela pendant près d'un mois, jusqu'à cent unités d'anticorps.

Ceux-ci disparaissent ensuite graduellement.

Nous avons aussi naturellement cherché à nous rendre compte s'il était possible de vacciner les jeunes lapins par absorption buccale de BCG.

Voici l'une de nos expériences :

Expérience. — Douze jeunes lapins, âgés de quinze à vingt et un jours, ingèrent à la pipette dix repas, chacun de 20 milligr. de bacilles-vaccins, à vingt-quatre heures d'intervalle. Ils sont éprouvés trois mois plus tard par deux repas injectants de 10 milligr. de tuberculose bovine virulente, en même temps que trois témoins.

L'un des témoins est sacrifié le soixante-douzième jour. Son autopsie montre une adénite mésentérique et quelques granulations à centre caséux sur l'intestin grêle.

Un second témoin est sacrifié le cent vingtième jour : adénite mésentérique volumineuse et tubercules disséminés à la surface des deux poumons.

Le troisième témoin est sacrifié le cent trentième jour : adénite mésentérique, nombreux tubercules sur l'intestin grêle (léon surtout), gros foyers caséux sur le poumon droit et quelques tubercules sur le poumon gauche.

Parmi les vaccinés :

Six sont sacrifiés le cent trentième jour, en très bon état. Deux ont une adénite mésentérique scléreuse, moins prononcée que chez les témoins, et quelques rares granulations sur l'intestin grêle. Trois présentent les mêmes lésions avec, en plus, un petit tubercule sur un poumon. Le quatrième a quelques petits tubercules du volume d'un grain de millet sur les deux poumons.

Les six survivants, restés également en parfait état, sont sacrifiés à la fin du sixième mois après l'épreuve. Tous ont une adénite mésentérique *scd reuze*. Trois n'ont pas d'autre lésion ; trois ont quelques rares tubercules sur les poumons.

L'absorption, répétée plusieurs fois, de bacilles BCG par la voie buccale est donc susceptible de conférer aux jeunes lapins une résistance considérable aux infections massives artificiellement réalisées par la même voie.

2° EFFETS DU « BCG » SUR LES SINGES.

Plusieurs essais préliminaires nous avaient fourni la preuve de l'innocuité, pour les petits singes (*Macacus sinicus* ou *cynomolgus*), du BCG absorbé soit par injection sous-cutanée, soit par injection intrapéritonéale, à des doses de 1 à 5 milligr. Mais, avant d'étendre les essais de vaccination préventive qui avaient pu être tentés sur quelques jeunes enfants dont nous parlerons plus loin, il nous a paru indispensable de pouvoir faire d'abord, en nombre suffisant, des expériences sur des singes de diverses espèces, et particulièrement sur des singes anthropoïdes, tels que les chimpanzés, dont l'extrême sensibilité à l'infection tuberculeuse hors de leur pays d'origine est bien connue.

Mais, en raison même de la facilité avec laquelle ces singes se contactent dans les ménageries et les jardins zoologiques, au contact de l'homme bacillifère, une telle étude ne pouvait être entreprise que dans un pays tropical, où les singes pussent être conservés longtemps en bon état de santé et autant que possible à l'abri des sources de contagion d'origine humaine.

Nous avons heureusement pu utiliser à cet effet les ressources que pouvait mettre à notre disposition une filiale de l'Institut Pasteur récemment créée en Guinée française, près de Kindia, station de chemin de fer qui relie le port de Conakry au Niger.

Notre collaborateur R. WIRBERT, directeur de ce laboratoire, s'est chargé de diriger sur place les recherches dont nous avions élaboré ensemble le programme et de pratiquer l'autopsie des animaux. Ces recherches, commencées en septembre 1923, ont fait l'objet d'un mémoire que les *Annales de l'Institut Pasteur* ont publié en août 1925. On s'est d'abord préoccupé de voir comment les singes de diverses espèces réagissaient aux inoculations ou aux ingestions de fortes doses de BCG.

Il fut ainsi possible de se rendre compte de leur parfaite tolérance. Même 250 milligrammes absorbés *per os* en cinq doses de 50 milligr. chacune, de deux en deux jours, ne déterminaient aucun trouble intestinal ou autre.

Comme on expérimentait sur des animaux de tous âges, généralement adolescents ou adultes, et non plus sur des jeunes, nous avons décidé de nous en tenir, pour nos essais de vaccination, soit à une seule dose de 50 milligr. injectée sous la peau, soit à cinq doses de 50 milligr. admises chacune de deux en deux jours, par voie buccale. Pour l'ingestion, les bacilles, finement émulsionnés, étaient incorporés à de la pulpe de bananes ou d'autres fruits.

Les virus d'épreuve étaient les mêmes que ceux que nous utilisons à Paris : une souche d'origine humaine, dite *Rati* (HR), et une souche d'origine bovine, dite *Vallée* (BV). Nous avons pu nous assurer tout d'abord qu'on infectait constamment les singes de toute taille et de tous âges avec des doses de un cent millième de milligramme de HR ou de BV injectées sous la peau, soit environ quatre cents bacilles, ou bien par l'ingestion de deux doses de un millième de milligramme chacune (soit environ quarante mille bacilles) absorbées à quarante-huit heures d'intervalle. Chez les singes ainsi infectés, la mort survient généralement dans un délai de trois à six mois. Avec des doses plus fortes de cultures virulentes, la durée de la maladie est notablement abrégée.

Nous nous sommes surtout efforcés de réaliser la prémunition contre l'infection, en quelque sorte « familiale », que détermine sûrement une cohabitation étroite et continue, dans une même cage, entre singes, les uns vaccinés, les autres infectés et semeurs de bacilles, d'autres *neufs*, servant de témoins.

C'est cette expérience que nous avons voulu instituer sur une assez vaste échelle pour qu'elle soit aussi concluante que possible. Il n'est pas sans intérêt d'en résumer les résultats. Elle a porté au total sur quinze chimpanzés (trois vaccinés, cinq infectés, sept témoins) et cinquante-six pithéciens (seize vaccinés, vingt infectés, vingt témoins).

Les trois chimpanzés vaccinés sont restés en parfaite santé malgré la cohabitation continue avec cinq chimpanzés infectés, qui sont tous morts *tuberculeux*, et avec sept témoins dont quatre sont morts tuberculeux, tandis que les trois autres succombaient à une infection accidentelle de dysenterie bacillaire.

Sur les seize pithéciens vaccinés, quatre l'avaient été par cinq ingestions, chacune de 5 centigrammes de BCG, et douze par injection unique sous-cutanée de 5 centigrammes de BCG.

Vingt avaient été infectés, dont :

Dix par deux ingestions de 0 mgr. 001 chacune de BV ou de HR à quarante-huit heures d'intervalle ;

Dix par injection unique, sous-cutanée, de 0 mgr. 00001 de BV ou de HR.

Vingt ont servi de témoins.

Sur les dix-neuf vaccinés entre septembre 1923 et février 1924, et qui ont tous vécu en cohabitation continue avec des pithéciens infectés et avec des témoins *neufs*, six étaient encore vivants et bien portants dix-huit mois après le début de l'expérience.

Onze sont morts de diverses maladies ou traumatismes, et aucun d'entre eux ne présentait, à l'autopsie, la moindre lésion tuberculeuse.

Sur les vingt infectés, dix-neuf sont morts tuberculeux avec des lésions généralisées ou localisées aux viscères et aux ganglions abdominaux ; un

avait succombé à une obstruction intestinale huit jours après avoir été infecté par inoculation sous-cutanée.

Sur les vingt témoins, dix-neuf sont morts tuberculeux ; un est mort de pasteurellose seize jours après sa mise en cohabitation. Il ne présentait aucune lésion tuberculeuse.

Aussi longue et continue qu'ait pu être la cohabitation, il paraît démontré qu'une seule injection sous-cutanée de 5 centigrammes de BCG ou bien cinq ingestions de 5 centigrammes chacune en 8 jours (0 gr. 25 au total) suffisent à prémunir les pithéciens adultes contre l'infection par contact prolongé pendant plus d'une année avec des singes porteurs de lésions tuberculeuses sûrement infectantes pour les témoins.

Chez les singes infectés, et aux doses que nous avons employées (par ingestion, deux doses de 0 mgr. 001 à quarante-huit heures d'intervalle ; par injection sous-cutanée, une seule dose de 0 mgr. 00001), nos souches bovine et humaine se sont montrées également virulentes pour le singe. La sensibilité de cet animal, quelle que soit l'espèce à laquelle il appartient (*Papio-babouin*, *Cercopithecus fuliginosus* ou *collaris*, *Cercopithecus patas* et *Callithrix*), paraît être aussi grande vis-à-vis de l'une ou de l'autre origine.

L'évolution de la maladie contractée par contact a été, chez nos témoins, souvent très rapide :

Une fois deux mois ;

Six fois trois mois ;

Douze fois entre quatre et cinq mois ;

Une seule fois elle a dépassé neuf mois.

La contamination par contact des pithéciens âgés de trois à six ans s'est effectuée à peu près aussi facilement et dans les mêmes délais que celle des singes âgés seulement de six à quinze mois.

* * *

Les conclusions suivantes se dégagent de ces expériences :

1° L'inoculation et l'ingestion de doses de BCG jusqu'à 100 milligr. se montrent absolument inoffensives pour les chimpanzés et pour les pithéciens. Elle ne produisent jamais de lésions tuberculeuses et ne provoquent qu'une tuméfaction légère et fugace des ganglions lymphatiques. L'abcès froid, local, que déterminent les injections sous-cutanées, s'ouvre, se vide et guérit sans engorgement ganglionnaire ni aucune complication ;

2° Les chimpanzés et les pithéciens de tous âges peuvent être facilement prémunis, dans les conditions de nos expériences, soit par une seule inoculation sous-cutanée de 50 milligr. de BCG, soit par cinq ingestions (chacune de 50 milligr. en huit à dix jours), contre l'infection tuberculeuse à laquelle on les expose en les soumettant à une cohabitation

continue et étroite avec des chimpanzés et des pithéciens artificiellement infectés et contagieux ;

3° La prémunition ainsi conférée a une durée qui s'étend au delà d'une année ;

4° Elle peut être entretenue par une nouvelle inoculation ou par de nouvelles absorptions par voie buccale de BCG répétées chaque année. L'une et les autres ne présentent aucun inconvénient.

CHAPITRE XLV

VACCINATION PRÉVENTIVE (OU PRÉMUNITION) DE L'HOMME ET PARTICULIÈREMENT DE L'ENFANT NOUVEAUNÉ PAR LE BCG CONTRE L'INFECTION TUBERCULEUSE

A. — LE « BCG », — ENTRETIEN DES CULTURES PRÉPARATION DES ÉMULSIONS VACCINALES. ÉTUDE BIOCHIMIQUE

A. — CULTURES.

La souche BCG qui a servi à toutes nos expériences sur les rongeurs de laboratoire et sur les singes, et qui est utilisée, soit pour la vaccination des jeunes bovins, soit pour celle des jeunes enfants, est directement issue du deux cent trentième réensemencement d'un bacille virulent, d'origine bovine, sur pomme de terre imprégnée de bile de bœuf glycérolisée à 5 p. 100.

Ce milieu, extrêmement alcalin et riche en lipoides (*cholestérine* 0 gr. 410 à 0 gr. 813 p. 1000 ; *lécithine* et *savons neutres* 0 gr. 690 à 1 gr. 317) est, de tous ceux que nous avons essayés, le seul qui nous ait donné le résultat que nous cherchions. Il nous a permis de modifier peu à peu, graduellement, la constitution physico-chimique du bacille, sans nuire à sa virilité ni à ses propriétés antigènes, comme le fit jadis Pasteur pour la bactérie charbonneuse qu'il priva, par la culture en séries successives à la température de 42°5, de son aptitude à former des spores.

Nos cultures sur bile, commencées en 1906, réensemencées tous les quinze jours sur le même milieu, se montraient de moins en moins tuberculigènes. Au bout de quatre années, elles n'étaient plus virulentes pour le bœuf ni pour le cobaye. Elles l'étaient encore pour le cheval et pour le lapin.

Après deux cent trente cultures successives faites en treize années, dans des conditions identiques, à 38°, notre bacille avait perdu toute aptitude à provoquer la formation de tubercules réinoculables.

Il était devenu avirulent pour tous les mammifères domestiques

pages 80