

Précipitines bactériennes, diagnostic de *B. botulinus* dans les conserves alimentaires par la méthode des Thermoprécipitines

Autor(en): **Bornand, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **9 (1918)**

Heft 2-3

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984329>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Précipitines bactériennes, diagnostic de *B. botulinus* dans les conserves alimentaires par la méthode des Thermoprécipitines.

Par Dr. M. BORNAND, privat-docent à l'Université de Lausanne.

(Laboratoire cantonal du service sanitaire.)

Les premières observations concernant les précipitines datent de 1897. *Kraus*¹⁾ fit la constatation qu'un antiserum typhique ou cholérique mis en présence d'un filtrat de culture homologue y détermine un précipité. Ce fait fut confirmé par *Nicolle*²⁾ en expérimentant avec *Bact. coli*; par *Marmorek*³⁾ avec des cultures de streptocoques

Dans la suite, *Tchistovitch* et *Bordet* observent qu'on obtient aussi des serums précipitants en immunisant des animaux au moyen de substances albuminoïdes solubles.

Uhlenhuth en donne la première application pratique pour la détermination de l'origine des taches de sang en médecine légale.

Au point de vue zoologique, le plus grand travail qui a été fait est celui de *Nuttal*, lequel avec 900 sangs différents, 30 antisera et 16 000 réactions⁴⁾ a pu grouper une quantité d'espèces zoologiques et a établi la parenté des diverses espèces animales.

Les recherches sur les précipitines ont donné lieu à une multitude de travaux; les applications de cette méthode ont été extrêmement nombreuses, il serait trop long de les décrire ici. Qu'il me suffise de dire qu'en particulier pour l'analyse des substances alimentaires, on a préparé des antisera pour l'albumine du miel, pour la recherche des œufs, du lait dans des produits désignés comme devant en contenir; pour différencier les albumines végétales entre elles, spécialement dans les farines, les champignons, les huiles, etc.

Mais c'est pour le contrôle des viandes, et particulièrement la recherche de la viande de cheval dans les préparations de charcuterie que la méthode des précipitines a reçu la plus grande application pratique dans les laboratoires d'analyses alimentaires.

On a même eu recours à ce procédé biologique pour la détermination de la nature des viandes; c'est ainsi que *Clarke*⁵⁾ démontre à la justice californienne qu'une viande saisie chez un hôtelier provient d'un cervidé (*Odocoileus columbianus*) dont la chasse est interdite et pas d'un ours comme l'inculpé le prétend.

¹⁾ Handb. d. path. Mikroorganismen von Kolle et Wassermann; T. II, Jena 1913, p. 771.

²⁾ Ann. de l'Institut Pasteur 1898, p. 165.

³⁾ Cité par *Tchistovitch*: Ann. Institut Pasteur 1899, p. 406.

⁴⁾ Cité par *Uhlenhuth*: Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweissdifferenzierungsverfahrens, p. 5, Jena 1909.

⁵⁾ Bull. Pasteur 1914, p. 731.

Personnellement il y a quelques années j'ai pu établir qu'une viande marinée que la gendarmerie supposait être du chamois était en réalité du chien comme l'affirmait l'aubergiste.

Dans le domaine médical et spécialement pour le diagnostic des affections parasitaires, la méthode des précipitines a donné lieu à de nombreuses recherches.

Dans les affections à parasites animaux, pour le diagnostic de l'échinococose en particulier, on a constaté que le serum du malade, mis en présence de liquide hydatique, ou de l'extrait de la membrane donne naissance à un précipité; des observations analogues ont été faites avec le serum de personnes atteints de diverses affections à helminthes.

Dans les maladies à protozoaires, *Caronia*¹⁾ a fait la constatation que le serum d'enfants atteints de *Leishmaniose* donne un précipité en présence d'extraits de culture de ces parasites. *Winkler* et *Wyschelewsky*²⁾ ont tenté d'appliquer le précipito-diagnostic à la détermination des affections à trypanosomes, de la dourine en particulier; l'antigène est constitué par des trypanosomes broyés avec des perles de verre dans la solution physiologique; l'extrait est mis en contact avec le serum de l'animal malade. Il apparaît rapidement un anneau opaque; cependant la réaction n'est pas d'une spécificité absolue.

Dans la syphilis, d'après *Fornet* et *Schereschewsky*, le serum de syphilitiques mis en contact avec celui de paralytiques généraux peut donner naissance à un anneau caractéristique.

Pour *Russo*³⁾ la méthode par précipitation a peu de valeur pour le diagnostic de la syphilis.

Mais c'est surtout pour l'étude des maladies microbiennes que la précipito-réaction a été le plus expérimentée.

Dans la morve, ce sont *Dediulin* et *Wladimirof*⁴⁾ qui démontrent les premiers qu'il existe dans le serum des chevaux morveux des anticorps précipitants.

Ces recherches sont confirmées par *Miessner*⁵⁾, et il en déduit que le précipito-diagnostic est un bon procédé qui ne nécessite pas les dilutions qui compliquent la technique de la déviation du complément.

*Pfeiler*⁶⁾ constate que cette méthode a de la valeur surtout si l'on est en présence de cas récents, mais lorsque la maladie est ancienne, les résultats sont douteux.

¹⁾ Ztschr. f. Immunitätforsch. T. 20, p. 174.

²⁾ Rev. gén. de méd. vét., 1912, T. 20, p. 270.

³⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 62, p. 589.

⁴⁾ Cité par *Miessner*: Centralbl. f. Bakt., T. 51, p. 185.

⁵⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 51, p. 185.

⁶⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 45, p. 596.

*Panisset*¹⁾, *Konef*²⁾, *Boyd*³⁾ tout en utilisant des antigènes différents confirment la valeur du procédé.

*Vaney*⁴⁾ constate que le sérum de chevaux morveux donne un précipité avec des extraits de malléine diluée, mais il conclut de ses expériences qu'au point de vue pratique, la précipito réaction ne donne pas de bons résultats pour le diagnostic de la morve.

Dans la méningite cerebro-spinale, *Vincent et Bellot*⁵⁾, démontrent qu'en ajoutant du sérum anti-méningococique au liquide cephalo-rachidien des individus malades, on observe la formation d'un précipité; lorsque le méningocoque est absent, la réaction est négative. Ces recherches ont été confirmées par *Lemoine, Gählinger et Tilmant*⁶⁾ qui constatent que la réaction est aussi nette avec des liquides cephalo-rachidiens conservés pendant huit jours à un mois qu'avec le liquide frais. De même, *Salebert et Louis*⁷⁾, *Letulle et Lagane*⁸⁾ obtiennent les mêmes résultats que les auteurs ci-dessus.

Quant à *Dopter*⁹⁾, la réaction de précipitation n'est pas spécifique pour le méningocoque de *Weichselbaum* seul; on obtient des réactions positives avec des extraits de pseudoméningocoques. Il s'agit de précipitines de groupe comme le démontre l'épreuve de la saturation des précipitines.

Avec des extraits du groupe des bactéries capsulées (*Bact. pneumoniae Friedländer, Bact. rhinoscleromatis, Bact. ozenae*), *Pages et von Eisler*¹⁰⁾ immunisent des lapins; l'antisérum pour *Bact. pneumoniae* donne un fort précipité dans l'extrait de la culture homologue et un faible précipité avec des extraits de *Bact. rhinoscleromatis* et pas de réaction avec *Bact. ozenae*.

*Panichi*¹¹⁾ obtient un sérum précipitant pour *Bact. pneumoniae*.

Dans les affections tuberculeuses humaines ou bovines, *Bonome*¹²⁾ annonce en 1907 qu'on peut les différencier par la méthode des précipitines; les sérums précipitants proviennent des sujets atteints de tuberculose; l'antigène est formé tantôt par l'extrait d'organes tuberculeux, tantôt par celui de cultures de bacilles de Koch.

*Vallée et Finzi*¹³⁾ ajoutent à des sérums d'animaux tuberculeux un antisérum précipitant pour la bacille de Koch et obtiennent des précipités spécifiques.

¹⁾ Comptes Rendus soc.-biol., T. 68, 1910, p. 123.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 47, p. 138.

³⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 52, p. 597.

⁴⁾ Comptes Rendus soc.-biol., T. 68, p. 700.

⁵⁾ Bull. Pasteur, 1909, p. 690.

⁶⁾ Bull. Pasteur, 1909, p. 691.

⁷⁾ Bull. Pasteur, 1909, p. 692.

⁸⁾ Comptes Rendus soc.-biol., T. 66, p. 758.

⁹⁾ Comptes Rendus soc.-biol., T. 66, p. 1055.

¹⁰⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 42, p. 660.

¹¹⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 43, p. 188.

¹²⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 42, p. 391.

¹³⁾ Comptes Rendus soc.-biol., T. 68, p. 259.

*Porter*¹⁾ expérimente avec les sérums de 381 tuberculeux et de 301 personnes cliniquement indemnes; il constate que la réaction n'est pas constante. *Squadrini*²⁾ essaye d'appliquer la méthode par précipitation pour reconnaître si une viande provient d'un animal sain ou tuberculeux; *Borghesi*³⁾ fait les mêmes recherches avec le lait; *Gloyne*⁴⁾ constate que des extraits pleuraux bacillifères donnent un précipité au contact de l'ancienne tuberculine.

Pour le diagnostic de la peste chez les cadavres de rats, *Piras*⁵⁾ obtient de bons résultats par précipitation; la réaction est encore positive avec des extraits d'organes conservés 68 jours à 20—25°.

Thermoprécipitines.

En expérimentant avec des sérums anticharbonneux, *Ascoli* et *Valenti* constatent que parfois ces sérums se montrent doués de la propriété de provoquer un précipité dans les liquides contenant des substances bacillifères charbonneuses.

Ils observent ce phénomène trois fois sur 30 sérums examinés⁶⁾.

Ces auteurs réussissent à préparer des antisera charbonneux fortement précipitants et observent que mis en présence d'extraits de muscles, d'organes d'animaux morts du charbon sang de rate il se forme rapidement un anneau de précipité⁷⁾.

Les organes sont triturés avec du chloroforme; après quelques heures de contact, on décante le chloroforme, on place les morceaux d'organes ou de muscles dans la solution physiologique, on laisse macérer deux heures et on filtre sur papier, amiante ou bougie poreuse. Au filtrat qui doit être clair, on ajoute cinq à dix gouttes de sérum anticharbonneux.

Ascoli et *Valenti*⁸⁾ constatent encore qu'on obtient identiquement le même résultat en faisant l'extraction à chaud. Ce deuxième procédé est basé sur le fait que les précipitogènes bactériens sont très résistants à l'égard de la chaleur; c'est ainsi que la substance précipitable des bacilles du Rouget du porc supporte sans altération une ébullition prolongée, et même le chauffage à sec à la température de 160° pendant 45 minutes comme l'a démontré *Hecht*⁹⁾.

La découverte des deux savants italiens a donné naissance à une nouvelle méthode pour le diagnostic des infections bactériennes: la méthode des *thermoprécipitines*.

¹⁾ Bull. Pasteur, 1910, p. 201.

²⁾ Bull. Pasteur, 1912, p. 944.

³⁾ Bull. Pasteur, 1913, p. 311.

⁴⁾ Bull. Pasteur, 1916, p. 466.

⁵⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 71, p. 69.

⁶⁾ Cité par *Gasperi*: Rev. gén. méd. vét., T. 18, p. 553.

⁷⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 58, p. 63; Comptes Rendus soc.-biol., 1911, p. 194; La Thermoprécipitine, Milan, 1914.

⁸⁾ Travaux cités.

⁹⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 67, p. 371.

La technique de la réaction est la suivante: On prend quelques grammes du matériel à examiner que l'on place dans une éprouvette; on y ajoute 4—5 cm³ de solution physiologique et l'on place le tout dans un Bain-Marie bouillant pendant trois à cinq minutes.

Après refroidissement, on filtre sur papier, amiante ou sur bougie poreuse et le liquide clair est mis en contact avec le sérum précipitant. Si le matériel examiné est charbonneux, au point de contact des deux liquides, il se forme un anneau blanc.

Cette réaction est d'une importance capitale pour le diagnostic du charbon bactérien. L'examen bactériologique postmortem de cette affection est aisé à faire si l'on a du matériel frais; mais en présence d'organes putréfiés il devient très difficile, sinon impossible.

Ces insuccès proviennent de la faible résistance de *Bact. anthracis* qui est détruit dans les cadavres en 24—48 heures par la bactériolyse. D'après *Ascoli*, on peut tirer profit dans les organes infectés des substances dérivant de la lyse des bactéries, substances qui sont d'autant plus abondantes que le matériel est plus altéré ce qui convient parfaitement pour la recherche par thermoprécipitation. La putréfaction qui gêne la recherche bactériologique soit par examen direct, par culture ou inoculation, n'a aucune action pour la recherche par précipitation.

C'est ainsi que *Casalotti*¹⁾ obtient une réaction positive avec de la pulpe de rate et le suc musculaire d'une vache ayant succombé au charbon bactérien et dont le cadavre était enfoui à 2 m de profondeur depuis 45 jours et avait été arrosé de pétrole. *Flemming*²⁾ expérimente avec des organes conservés dans l'alcool à 96° pendant deux à cinq jours. *Lebre*³⁾ avec des organes conservés 4 mois dans l'alcool, les réactions sont encore positives.

*Granucci*⁴⁾ constate que le dessèchement pendant une année, la conservation dans l'alcool pendant 1 an, ne gênent nullement la réaction.

*Pio-Silva*⁵⁾ obtient une réaction positive avec 4 saucissons renfermant de la viande charbonneuse et il constate que ni la salaison, ni le dessèchement des muscles n'entravent la réaction, etc.

Schütz et *Pfeiler*⁶⁾ ont pu diagnostiquer 22 cas de charbon bactérien de bovidés qui avaient échappé aux méthodes bactériologiques; la thermoprécipitation leur a permis d'assurer le diagnostic dans 109 cas sur 110 chez le cheval, la chèvre, le mouton, le chevreuil; d'après ces auteurs la méthode d'*Ascoli* doit être considérée comme la plus sûre pour établir l'existence de l'infection charbonneuse.

¹⁾ Bull. Pasteur, 1912, p. 67.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 53, p. 495.

³⁾ Cité par *Flemming*.

⁴⁾ Centralbl. f. Bakt., T. 53, p. 492, Ref.

⁵⁾ Rev. gén. méd. vét., 1912.

⁶⁾ Bull. Pasteur, 1914, p. 665.

La seule difficulté que présente cette méthode est l'obtention d'un anti-sérum fortement précipitant. D'après *Ascoli* et *Valenti* ¹⁾ on ne peut établir une formule pour l'immunisation, cela dépend de facteurs individuels des animaux, et qui échappent à l'observation.

Ainsi *Markof* ²⁾ constate que sur 10 chevaux immunisés, trois seulement donnent un sérum précipitant convenable.

Bierbaum ³⁾ utilisant 4 sérum, un envoyé par *Ascoli* et trois de *Sobernheim* n'obtient de résultats certains qu'avec celui d'*Ascoli*, du reste ce dernier auteur sur 40 sérums préparés n'a pu en utiliser que 9. *Tempel* ⁴⁾ demande pour avoir une garantie et que la méthode d'*Ascoli* puisse être utilisée avec efficacité, que les sérums précipitants soient préparés sous le contrôle de l'Etat.

La réaction est-elle spécifique? En faisant agir le sérum anticharbonneux sur des extraits d'organes frais ou putréfiés d'animaux non charbonneux, on n'observe aucun anneau.

Gasparini ⁵⁾ constate qu'en infectant, en saturant l'organisme d'un animal par un excès de bacilles pseudocharbonneux ou anthracoïdes, on peut obtenir une réaction positive; cependant ces expériences ont été exécutées dans des conditions artificielles et anormales. Dans les conditions naturelles, la multiplication de ces germes ne peut jamais s'opérer dans les organes de telle façon qu'il y ait du protoplasma précipitable en quantité suffisante pour obtenir une réaction positive. *Bierbaum* ⁶⁾ observe aussi, que des extraits de bacilles pseudocharbonneux donnent un faible précipité avec le sérum anticharbonneux.

Il serait trop long de citer dans ce travail toutes les recherches, observations faites sur l'emploi des thermoprécipitines pour le diagnostic du charbon bactérien, je me suis borné à indiquer celles qui paraissent le plus intéressantes. En résumé on peut dire que tous les expérimentateurs qui ont utilisé la méthode d'*Ascoli* lui ont reconnu une grande valeur pour le diagnostic du charbon bactérien. Le grand avantage de ce procédé est d'être exact et rapide.

A côté du diagnostic du charbon sang de rate, la méthode d'*Ascoli* a été appliquée à celui du *Rouget du porc*. Alors que pour la première de ces affections les expérimentateurs sont unanimes à recommander la thermoprécipitation pour en assurer le diagnostic, il y a par contre beaucoup de contradiction dans les travaux parus sur la méthode d'*Ascoli* dans le *Rouget du porc*.

Zagaja ⁷⁾ étudie 28 cas de *Rouget*; la recherche biologique confirme le diagnostic bactériologique; cependant dans trois cas, l'anneau de précipité

¹⁾ Travaux cités.

²⁾ Bull. Pasteur, 1914, p. 665.

³⁾ Rev. gén. méd. vét., 1911, T. 18, p. 409.

⁴⁾ Bull. Pasteur, 1913, p. 588.

⁵⁾ Travail cité.

⁶⁾ Travail cité.

⁷⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 56, p. 364.

est peu marqué; la réaction est positive même avec du matériel putréfié. *Schulte* ¹⁾ constate qu'il faut disposer d'un antisérum fortement précipitant, *Gauss* ²⁾ remarque que la réaction apparaît plus vite avec des extraits de reins et de cœur qu'avec ceux de rate, muscle, foie. *Isabolinsky* et *Patzevitch* ³⁾ lui attribuent une grande valeur, la réaction est plus nette avec des organes putréfiés qu'avec des organes frais. *Declich* ⁴⁾ obtient 77 réactions positives sur 87 recherches, même après conservation des organes dans l'alcool.

Pour *Macorescu* ⁵⁾, l'anneau de précipitation est plus manifeste avec des antisera un peu vieux qu'avec des frais; le précipitogène du Rouget résiste à 100° pendant 40 minutes; la dessiccation et la congélation sont sans influence sur la réaction, la putréfaction paraît plutôt favorable.

Par contre, pour *Seibold* ⁶⁾ la réaction n'a rien de bien spécifique et l'on ne doit pas s'en tenir pour l'appréciation uniquement à la recherche biologique, mais aussi aux épreuves bactériologiques et à l'inoculation à l'animal.

Drescher ⁷⁾ conclut de ses expériences que la thermoprécipitation dans le Rouget ne peut être utilisée comme moyen de diagnostic; cela provient du fait que les bacilles sont peu nombreux dans les organes et par conséquent il n'y a pas assez d'antigène.

Pfeiler et *Rœpke* ⁸⁾ trouvent que cette méthode est inutilisable pour le diagnostic pratique du Rouget; souvent on la trouve positive alors que l'examen bactériologique est négatif, ou bien on n'obtient aucun anneau de précipitation dans maint cas où cependant l'inoculation à la souris a été positive.

Iwicki ⁹⁾ a constaté qu'il se forme souvent des précipités avec des extraits d'organes d'animaux non atteints de Rouget, surtout s'il s'agit de cadavres en putréfaction.

Malgré ces résultats contradictoires, on peut cependant conclure que pour le diagnostic de cette affection la méthode d'Ascoli a de la valeur comme moyen de contrôle à côté de l'examen bactériologique et de l'inoculation. Du reste, les observations ne sont pas encore assez nombreuses pour se prononcer d'une façon définitive.

Pour le diagnostic du *Charbon symptomatique*, *Hecht* ¹⁰⁾ démontre que la méthode d'Ascoli est applicable.

¹⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 59, p. 202.

²⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 56, p. 679.

³⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 67, p. 284.

⁴⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 57, p. 161.

⁵⁾ Bull. Pasteur, 1914, p. 209.

⁶⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 58, p. 104.

⁷⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 58, p. 559.

⁸⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 77, p. 469.

⁹⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 71, p. 523.

¹⁰⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T., 67, p. 371.

Pour identifier la tuberculose dans les crachats, *Faginoli*¹⁾ utilise avec succès la *Thermoprécipitation*; chez onze malades chez lesquels on n'a pas trouvé de bacilles de Koch dans les expectorations, la réaction biologique donne dix résultats positifs; quelque temps après on décèle dans ces crachats le bacille de la tuberculose.

*Missiroli*²⁾ et *Warner*³⁾ préconisent la méthode d'Ascoli pour déceler les bacilles de la peste dans les cadavres de rats. D'après *Missiroli* la réaction est encore positive avec des cadavres de rats abandonnés à la putréfaction pendant 30—40 jours; les extraits qui conviennent le mieux sont ceux provenant de la rate ou des ganglions lymphatiques.

Pour la fièvre de Malte, *Viganò*⁴⁾ en fait le diagnostic par thermoprécipitation; les extraits proviennent de la rate ou du foie d'animaux ayant succombé à l'infection.

Dans la blennorrhagie, *Schürmann*⁵⁾ fait des extraits des produits suspects (sécrétion, vaginale, pus) et les met en contact d'un sérum précipitant antiblennorrhagique, il constate au bout de quinze minutes la formation d'un anneau de précipitation.

Ces expériences n'ont pas été confirmées par *Friedberger* et *Heyn*⁶⁾ qui observent que toute albumine humaine est précipitable par le sérum antigonococcique; cela provient du fait que les gonocoques qui servent à l'immunisation sont cultivés sur des milieux au sang, l'albumine de ce dernier est introduite dans l'organisme de l'animal par l'inoculation. La réaction proposée par *Schürmann* ne peut donc être utilisée.

Le Professeur *Galli-Valerio*⁷⁾ expérimente avec 25 sécrétions blennorrhagiques dans lesquelles *mic. gonorrhæ* a été décelé microscopiquement, il obtient 24 réactions positives et une négative; avec 16 sécrétions où il n'a pas été décelé de gonocoque: 15 réactions positives et une négative, mêmes résultats en expérimentant avec trois pus à staphylocoques et une dilution de sérum normal.

Comme l'antisérum utilisé renfermait de l'acide phénique pour sa conservation, le professeur *Galli-Valerio* suppose que cet antiseptique est la cause de la formation de ces faux précipités et qu'il y a lieu de faire de nouvelles expériences avec un antisérum ne renfermant pas cet agent conservateur.

*Emmerich*⁸⁾ étudie 250 cas par la méthode proposée par *Schürmann* et il conclut qu'elle donne des résultats incertains.

¹⁾ Münchner Med. Wochens., 1913, p. 1480.

²⁾ Bull. Pasteur, 1915, p. 291.

³⁾ Bull. Office Internat. Hyg. Publique, 1915, p. 121.

⁴⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 70, p. 200.

⁵⁾ Bull. Pasteur, 1916, p. 715.

⁶⁾ Bull. Pasteur 1917, p. 293.

⁷⁾ Correspondenzbl. f. Schweizer Aerzte, 1917, Nr. 25.

⁸⁾ Bull. Pasteur, 1917, p. 640.

Quelques expérimentateurs ont étudié si la méthode d'*Ascoli* est applicable au diagnostic des infections paratyphiques, particulièrement dans des cas d'empoisonnement par les viandes, et si des extraits de viande qui ont provoqué l'intoxication donnent une réaction positive avec un antisérum homologue.

C'est ainsi que *Reinhardt*¹⁾ prépare l'antisérum précipitant en immunisant des lapins par injections sous-cutanées de cultures tuées de *Bact. paratyphi B*.

Comme matériel de recherches, il utilise les muscles et organes des souris, cobayes, lapins qui ont succombé à une infection à *Bact. paratyphi B*. Avec des extraits de foie, cœur, rate, il obtient des précipités presque immédiats; ni la putréfaction, ni la conservation des organes pendant 75 jours dans l'alcool à 90° n'entravent la réaction; la méthode est simple, rapide et donne de bons résultats.

*Rothacker*²⁾ confirme les observations précédentes en expérimentant avec *Bact. paratyphi B*; *Bact. enteritidis Gärtner*. *Murschel*³⁾ considère la réaction comme spécifique pour le *paratyphus B*, il utilise des extraits de rate, cœur, foie, reins, poumons, muscles, d'animaux qui ont succombé à cette affection. *Kübler*⁴⁾ remarque qu'il faut employer des antisera fortement précipitants si l'on a recours au procédé d'*Ascoli* pour le diagnostic des infections déterminées par *Bact. enteritidis Gärtner*. *Isabolinsky* et *Patzevitch*⁵⁾ préparent des antisérum précipitants pour *Bact. typhi*, *Bact. coli*, *Bact. paratyphi A, B*, *Bact. enteritidis Gärtner*. Ils ne constatent aucune spécificité, aussi bien en expérimentant avec les cultures filtrées de ces différents germes qu'avec des extraits d'organes d'animaux qui ont succombé.

Ils observent qu'on obtient des réactions de précipitation de groupe, mais pas spécifique pour l'un ou l'autre de ces germes; par conséquent, la thermoprécipitation ne peut être appliquée dans des recherches d'empoisonnement par les viandes.

Diagnostic de *Bac. botulinus* dans les conserves alimentaires par thermoprécipitation.

Les réactions sérologiques, et en particulier les recherches de précipitation avec les germes anaérobies ont été peu étudiées.

A ma connaissance il n'est fait mention dans la littérature au sujet de ces précipitines que les observations de *Leclainche* et *Vallée*⁶⁾ qui constatent qu'un antisérum gangréneux précipite instantanément une culture en bouillon de *Vibrion septique*; *Bachmann*⁷⁾ observe la formation d'un précipité

¹⁾ Ztschr. f. Fleisch- u. Milchhygiene, T. 23, p. 53.

²⁾ Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 16, p. 491.

³⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 58, p. 92.

⁴⁾ Centralbl. f. Bakt. Ref., T. 59, p. 269.

⁵⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 70, p. 192.

⁶⁾ Ann. de l'Institut Pasteur, 1900, p. 595.

⁷⁾ Centralbl. f. Bakt., O. T. 37, p. 359.

avec des cultures d'*Oedème malin* mis en présence d'un antisérum spécifique; enfin Hecht¹⁾ expérimente avec le *charbon symptomatique*.

Aussi j'ai voulu me rendre compte si l'immunisation d'un lapin avec des extraits de culture de *Bac. botulinus* permet d'obtenir un antisérum précipitant pour ce germe, et si l'on peut déceler par thermoprécipitation la présence de *Bac. botulinus* dans les conserves alimentaires.

Un lapin de 3 kg 450 gr est immunisé par inoculation sous-cutanées aux deux cuisses avec des extraits de culture de *Bac. botulinus*²⁾. La culture de ce germe est faite en surface sur agar glycosé dans les tubes de Fränkel. Un fois l'air complètement remplacé par l'hydrogène, les tubulures de l'appareil sont scellées à la lampe et les tubes placées à l'étuve à 35°. Après 48 heures, on obtient une culture abondante qui est raclée, émulsionnée dans la solution physiologique (5 cm³) puis placée dans un agitateur pendant 5—6 heures; l'émulsion est filtrée, chauffée à 70° pendant 15 minutes. L'extrait de deux cultures ainsi traitées est inoculé sous la peau des cuisses du lapin.

Les inoculations sont faites tous les trois à quatre jours; l'animal en a reçu huit.

Huit jours après la dernière injection, l'animal est saigné suivant la technique de Uhlenhuth; une partie du sérum est filtré sur bougie Silber-schmidt, l'autre est conservée sous toluol pour les premières expériences de précipitation³⁾.

Technique de la réaction. Une culture en surface de *Bac. botulinus* âgée de 48 heures sur agar glycosé est raclée, émulsionnée dans 10 cm³ de solution physiologique, puis placé dans un appareil à agiter pendant 5—6 heures, ou à l'étuve à 37° pendant 12 heures en agitant à plusieurs reprises.

L'extrait est filtré sur amiante ou centrifugé de façon à obtenir un liquide clair.

La réaction de précipitation est faite à la température ordinaire dans les petites éprouvettes coniques que nous avons décrites avec le *Professeur Galli-Valerio*⁴⁾.

A 0,2 cm³ de l'extrait sont ajoutés 0,1 cm³ d'antisérum; après cinq minutes on observe un léger louche qui se traduit après un quart d'heure par des flocons de précipité. Les témoins sont constitués 1° par un extrait de culture de *Bac. botulinus* auquel est ajouté du sérum normal de lapin,

¹⁾ Travail cité.

²⁾ La culture de *Bac. botulinus* et celles des différents germes utilisés pour ces recherches proviennent de souches de la collection de l'Institut d'Hygiène et de Parasitologie que Monsieur le Professeur Galli-Valerio a mis à ma disposition ce dont je l'en remercie sincèrement.

³⁾ Après 5 inoculations, une prise de sang à l'oreille du lapin a été faite pour juger du pouvoir précipitant du sérum. Comme ce dernier n'était pas suffisamment élevé, j'ai procédé à deux nouvelles inoculations puis à une troisième; j'ai saigné ensuite complètement le lapin, car j'ai constaté que la force de l'antisérum ne pouvait pas s'accroître davantage.

⁴⁾ Ztschr. f. Immunitätsforsch., T. 7, p. 331.

2° solution physiologique + antisérum pour *Bact. botulinus*. Dans aucun des tubes témoins il n'a été observé la formation d'un précipité.

L'antisérum a été expérimenté sur des extraits des cultures des bactéries suivantes: *Bact. typhi*, *Bact. coli*, *Bact. paratyphi* β , *staphylococcus pyogens aureus*; *sarcina lutea*, *Bact. subtilis*; *Bact. mesentericus*, *Bact. œdematis maliqui*; *Bact. chauvoci*, Bacille du groupe *butyricus* isolé de conserves. Avec aucun de ces germes je n'ai observé la formation de précipité.

L'activité de l'antisérum est donnée dans le tableau suivante:

Dil. de l'antisérum	Extrait <i>Bact. botulinus</i>	Observations
1 : 10	0,1 cm ³ + 0,2 cm ³	ppté après 15 minutes
1 : 50	0,1 » + 0,2 »	» » 15 »
1 : 100	0,1 » + 0,2 »	» » 25 »
1 : 1000	0,1 » + 0,2 »	» » 1 heure
1 : 5000	0,1 » + 0,2 »	» » 12 heures
1 : 10 000	0,1 » + 0,2 »	pas de ppté.

J'ai constaté que le précipitogène de *Bact. botulinus* est très résistant vis-à-vis de la chaleur.

Des émulsions de *Bact. botulinus* ont été placées dans un Bain-Marie bouillant pendant 3,5, 10, 15, 30 minutes, puis filtrées et additionnées d'antisérum: dans tous les cas j'ai obtenu la formation d'un précipité dans un laps de temps variant de 5 à 20 minutes.

Mettant à profit la thermostabilité du précipitogène de *Bact. botulinus* j'ai voulu constater si l'on peut diagnostiquer par thermoprécipitation la présence de ce germe dans des conserves alimentaires artificiellement infectées.

A cet effet trois boîtes de conserves de bœuf braisé, une boîte de conserves de harengs, et une boîte de petits pois ont étéensemencées aseptiquement avec des spores de *Bact. botulinus*; le petit trou fait aux boîtes pratiquer l'ensemencement est fermé par une goutte de soudure.

Les conserves ont été abandonnées à la température de la chambre; après un mois, les boîtes de bœuf braisé et de harengs présentent un léger bourbage du couvercle; les boîtes de pois restent intacts. Au bout de cinq mois les couvercles de toutes les boîtes sauf celui de la conserve renfermant les légumes sont fortement bourbés.

A l'ouverture, une grande quantité de gaz à odeur butyrique se dégagent; l'examen microscopique et la culture du contenu des conserves démontrent la présence de *Bact. botulinus*.

Environ 5 grammes du contenu sont placés dans une éprouvette avec 10 cm³ de solution physiologique à 8,5 ‰; les tubes sont plongés cinq minutes dans un Bain-Marie bouillant. Après refroidissement, l'extrait est filtré sur papier, puis sur amiante jusqu'à obtention d'un liquide clair; 0,2 cm³ de ce dernier sont placés dans les petites éprouvettes coniques et additionnés de 0,1 cm³ d'antisérum précipitant pour *Bact. botulinus*.

Pour ces expériences j'ai utilisé l'antisérum filtré sur bougie poreuse; j'ai pu constater que la filtration avait affaibli le pouvoir précipitant; il

