

Le pouvoir pathogène de *Dermatophilus congolensis* est-il lié à la diffusion d'une toxine ?

par P. PERREAU

avec la collaboration technique de P. GAYT et M. T. BOTTO

RÉSUMÉ

Le pouvoir pathogène de *D. congolensis* n'est pas en relation avec la production d'une toxine, pour autant que le montrent des tests de toxicité effectués sur des lapins, des souris, des embryons de poulet et des cellules d'embryon de veau ; la recherche d'une endotoxine, comme celle d'une exotoxine, est restée sans succès.

Des essais effectués *in vivo* avec des lapins porteurs de chambres de culture dans le péritoine, ont confirmé ces résultats.

Chacun sait que le pouvoir pathogène de *Dermatophilus congolensis* est encore mal connu. La pathogénie de l'infection reste mystérieuse et les échecs répétés qu'obtiennent les pathologistes lorsqu'ils veulent reproduire la maladie, aussi bien sur les animaux de laboratoire que sur le bétail, sont là pour témoigner que tout n'est pas encore très clair.

L'hypothèse de la production d'une toxine ou d'un produit toxique de métabolisme par cet actinomycète a été plusieurs fois avancée pour expliquer la « sortie » des lésions cutanées et l'état d'émaciation des malades à lésions étendues.

G. MEMERY et L. MEMERY (3) l'avaient proposée pour expliquer la mort par cachexie de lapins inoculés par voie parentérale avec de grosses doses de cet actinomycète.

Plus récemment D. S. ROBERTS (5,6) s'attachait à l'étude de l'étiopathogénie de la streptothricose et parvenait à cette conclusion que le pouvoir pathogène de *D. congolensis*, absolument indépendant d'une toxine ou d'un produit quelconque issu de la lyse du germe, n'était lié qu'à l'irritation d'ordre mécanique qu'entraînait la

pénétration et la multiplication de l'actinomycète dans les gaines des follicules pileux.

Nos propres recherches corroborent cette dernière opinion ; aussi nous paraît-il utile d'en faire connaître les résultats.

Les essais de mise en évidence d'une toxine (ou d'un métabolite toxique), entrepris en 1964, portaient du principe que cette toxine hypothétique pouvait être soit une exotoxine diffusant librement dans le milieu environnant pendant la croissance et la multiplication du germe, soit d'une endotoxine libérée seulement lors de la lyse des éléments mycéliens.

On sait déjà depuis longtemps que cette distinction entre exotoxine et endotoxine peut être, à l'occasion, assez artificielle ; du moins permettait-elle de se fixer des méthodes de travail.

Nous avons donc essayé d'obtenir des cultures aussi denses que possible à partir de souches récemment isolées, puis cherché à déclencher des phénomènes toxiques par inoculation de tout ou partie de ces cultures à une série d'organismes de sensibilité croissante : lapin, souris, embryons de poulet, cellules de culture.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Souches de *dermatophilus congolensis* :

Ce sont des souches de notre collection (F_{11} , F_{19} , F_{18}) isolées en Afrique Centrale (Tchad) ; elles n'ont, depuis leur isolement, qu'un ou deux passages en milieu artificiel et ne montrent dans leurs caractères morphologiques (aspect des colonies, pigmentation, structure microscopique) rien qui puisse faire soupçonner une dégradation dans le sens de l'évolution décrite récemment par R. VIGIER et J. BALIS (8). Leur « phase R » est indiscutable.

2. Culture :

La culture de l'actinomycète a toujours été effectuée en fermenteur selon une méthode déjà décrite (4), afin de disposer d'une masse mycélienne maximum en phase de croissance très

active, ce qui autorise dans une certaine mesure à penser que le milieu de culture sera riche de produits diffusibles du métabolisme bactérien.

Le milieu utilisé est le même : Bacto-Tryptose Difco à 2 p. 100, Yeast-Extract Difco à 0,25 p. 100, glucose à 0,2 p. 100, chlorure de sodium à 0,5 p. 100.

On y ajoute 5 p. 100 de sérum de cheval ou de bœuf ; la stérilisation est faite exclusivement par filtration (Seitz EKS II).

Toutefois, la vitesse de la turbine du fermenteur est limitée à 230 tours/minute ; cette moindre agitation, entraînant une moindre aération, permet à l'actinomycète de rester plus longtemps dans sa phase mycélienne de croissance (cf. fig. n° 1) et de retarder ainsi le stade terminal de la résolution définitive en cocci. Dans de telles conditions, les « zoospores » sont particulièrement nombreuses et mobiles.

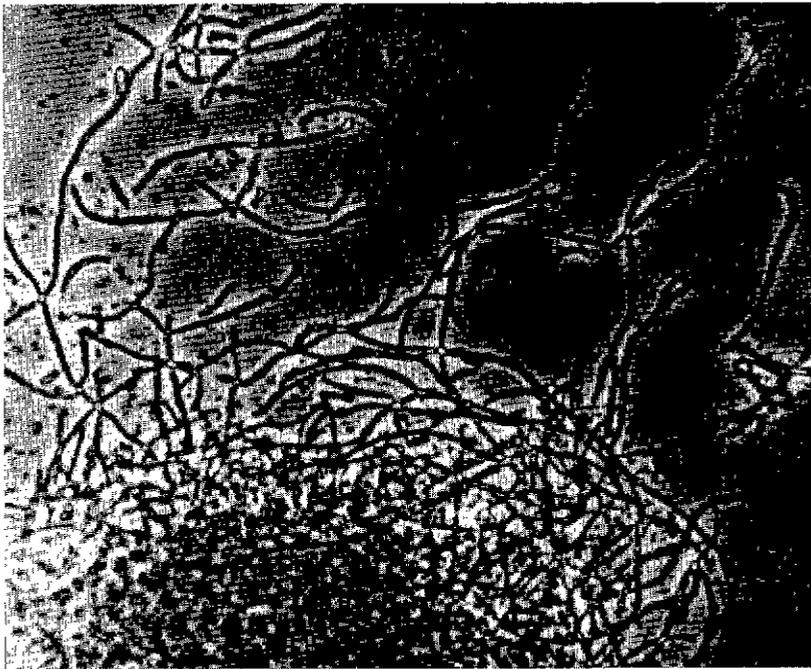


Fig. 1. — On voit nettement, à la périphérie de la touffe, les hyphes en croissance, cernées par leur capsule (Zeiss, 8×40 , contraste de phase)

3. Recherche d'une exotoxine ou d'un produit toxique diffusible du métabolisme.

Considérée *a priori* comme une substance diffusant librement au cours de la multiplication de l'actinomycète, elle était donc recherchée

dans le milieu lui-même, en cours et en fin de culture.

Celle-ci durait 3 jours ; des prélèvements étaient pris à la 20^e, 25^e, 30^e, 45^e et 54^e heures et immédiatement centrifugés à 4 °C et à haute

vitesse (centrifugeuse Servall RC₂, 20 minutes à 27.000 g). Leur surnageant était, en partie, injecté sans délai à des souris à la dose de 1 ml par la voie intrapéritonéale (un lot de 6 souris par échantillon) ; le reste était congelé et lyophilisé pour être reconstitué ensuite à la moitié de son volume initial (concentration doublée), dialysé 8 heures contre du sérum physiologique pour rétablir l'isotonie, stérilisé par filtration et inoculé aux organismes révélateurs.

De chaque filtrat à double concentration :

- un lapin recevait 10 ml par la voie veineuse.
- 4 embryons de poulet (âgés de 10 jours) recevaient respectivement 0,25 ml, 0,50 ml, 0,75 ml et 1 ml par la voie allantoïque.
- 4 tubes de Leighton de cellules de rein de veau recevaient respectivement 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml et 0,4 ml (simple addition au milieu).

4. Recherche d'une endotoxine :

Considérée *a priori* comme contenue dans les éléments bactériens (au sens de l'endotoxine des germes gram-négatifs) elle était recherchée en premier lieu dans le mycélium et dans les spores mobiles, puis dans le milieu.

Le mycélium récolté en fin de culture était lavé par centrifugation et lyophilisé.

La méthode d'extraction employée était celle de Westphal et Luderitz (9) traitement des bactéries par le mélange eau-phénol à 65 °C, la phase aqueuse étant seule recueillie et dialysée.

La toxicité de l'extrait concentré et lyophilisé fut recherchée chez le lapin par deux voies :

α) l'intraveineuse, afin de rechercher les signes classiques d'hyperthermie et de leucopénie accompagnés de « tymphos » que provoquent les endotoxines microbiennes.

β) l'intradermique, afin de déceler un éventuel effet irritant ou dermo-nécrotique (1).

Les spores mobiles, récoltées aussi au terme de la culture furent simplement séparées du mycélium par centrifugation différentielle et filtration sur couche de coton ; elles furent soumises au même traitement que les éléments mycéliens.

Comme on pouvait admettre qu'en fin de culture, la lyse bactérienne, souvent intense dans une culture agitée, avait libéré une quantité notable de cette endotoxine présumée, le même

traitement au phénol à chaud fut appliqué au milieu (54^e heure).

En outre, une partie aliquote de celui-ci fut soumise, après précipitation isoélectrique (acidification à pH 4,5 par l'acide acétique) et élimination du précipité, à un fractionnement à froid par l'éthanol (1, 2, 3 et 4 volumes) de façon à extraire la ou les fractions polysidiques, éléments possibles d'un complexe toxique lipido-glucidique.

5. Essai de toxicité par culture *in vivo* :

Les tests précédents furent complétés par des cultures de l'actinomycète *in vivo* chez le lapin, au moyen de deux procédés :

a) Introduction, par laparotomie dans la cavité péritonéale du lapin, d'un sac de cellophane (marque Nojax Visking, porosité 2 à 4 μ) d'un volume de 20 cc et contenant 15 ml d'une culture de 24 heures de *D. congolensis*.

Les lapins étaient anesthésiés par injections intraveineuses successives d'acépromazine (*) et de thiopental sodique (**); l'opération était terminée en une quinzaine de minutes. Leur surveillance durait un mois au minimum.

b) Introduction par la même voie et au même lieu, chez le lapin, d'une chambre à diffusion d'un modèle identique à celle décrite par L. C. LLOYD (2) pour la recherche de la toxicité de *Mycoplasma mycoides*.

Les membranes Millipore VC, qui constituaient les parois de la chambre, ont une porosité moyenne de 100 μ , ce qui permet donc aux molécules les plus grosses (toxine protéique ou complexe lipido glucidopolypeptidique) de diffuser librement dans le liquide péritonéal.

6. Animaux d'expérience :

Les lapins de race Blanc du Bouscat pesaient de 2 à 3 kg ; les souris pesaient 20 g au minimum. Étaient observées :

a) les modifications du comportement des souris et des lapins dès la fin de l'injection intraveineuse ou intrapéritonéale.

b) les variations de leur formule leucocytaire et du nombre de leurs leucocytes.

(*) Vetranaquil Lathévet.

(**) Nesdonal Spécia.

Pour les embryons de poulet, âgés de 10 jours, un mirage quotidien permettait de s'assurer de leur survie ou de leur mort ; dans ce dernier cas, la cause en était recherchée, car il était important d'éliminer la mortalité par contamination microbienne.

7. Cellules de rein de veau.

Nous avons employé des cellules de rein d'embryon de veau, à leur 13^e passage, entretenues en hydrolysate de lactalbumine à 0,5 p. 100 dans la solution de Earle, enrichi par 10 p. 100 de sérum de veau.

Il ne s'agissait pas là de lignée continue, mais de simples cellules de souche, de morphologie uniforme, à tapis très régulier, à vrai dire beaucoup plus fragiles que des cellules de première explantation.

RÉSULTATS

A. Recherche d'une exotoxine (Métabolite toxique de diffusion libre)

1. Souris :

Après l'injection intrapéritonéale de 1 ml des divers prélèvements (20, 25, 30, 45 et 54 heures), aucune souris ne présente dans les heures qui suivent le moindre symptôme pouvant faire penser que ces prélèvements sont toxiques.

Les variations de la leucocytémie et de la

formule leucocytaire de ces souris, observées une heure après l'injection, apportent peu de renseignements.

On observe deux phénomènes :

a) l'établissement d'une leucopénie modérée, non visible cependant chez les souris qui ont reçu le prélèvement n° 2 (25 h).

b) l'abaissement significatif du taux des lymphocytes associé à l'accroissement relatif du taux des polynucléaires.

Chez les souris témoins qui ont reçu 1 ml de milieu stérile dans le péritoine, les mêmes variations s'observent, mais à un degré moindre.

2. Lapins :

L'injection intraveineuse des échantillons (10 ml à double concentration par animal, soit 20 ml de milieu) ne provoque l'apparition d'aucun symptôme de toxicité ; comme pour les souris, elle est très bien supportée.

Le nombre des leucocytes n'est pas modifié de façon bien régulière et on n'observe pas de leucopénie ; par contre, après un délai variable (de quelques heures à 24 heures) survient toujours une phase d'hyperleucocytose (cf. tableau I). Il ne semble pas qu'il s'agisse d'un phénomène intéressant puisque cette même hyperleucocytose apparaît chez le lapin témoin qui n'a reçu dans la veine que du milieu normal stérile.

TABLEAU N° I

Variations de la leucocytémie en fonction du temps chez les lapins éprouvés par la voie veineuse

Lapins inoculés avec le prélèvement de :	Temps en heures, après l'injection intraveineuse							
	0	0,5	1	2	3	5	7	24
20 h	9.200	13.800	12.400	13.400	12.000	16.600	13.900	20.300
25 h	7.800	5.600	6.600	7.000	6.200	12.700	9.800	22.800
30 h	15.800	26.200	15.000	20.600	20.200	16.700	17.000	43.900
45 h	8.200	7.400	6.400	2.100	9.600	35.200	12.600	20.000
54 h	8.600	8.800	7.600	5.200	8.200	9.800	11.000	13.800
Lapin témoin (milieu stérile)	7.600	10.400	13.200	13.200	17.200	8.250	14.000	8.800

L'établissement de la formule leucocytaire de ces mêmes lapins montre, comme chez les souris, une inversion du rapport lymphocytes-polynucléaires, ceux-ci diminuant en pourcen-

tage relatif au bénéfice des premiers. Là encore, un phénomène identique s'observe chez le lapin témoin, encore que cette inversion y soit moins marquée et plus fugace.

C'est de la 4^e à la 8^e heure après l'injection que cette variation est la plus nette (cf. tableau II) ; la formule est retournée à la normale 24 heures après.

Les prises de température, effectuées en même

temps que les numérations, ont permis de tracer les courbes de la figure n° 2 ; on y voit que la réaction d'hyperthermie est d'une ampleur proportionnelle à l'âge de la culture qui fournit le prélèvement. En d'autres termes, la richesse du

TABLEAU N° II

Variations de la formule leucocytaire chez les lapins éprouvés par la voie veineuse

Lapins n°	1		2		3		4		5		Témoin	
Age de la culture	20 h		25 h		30 h		45 h		54 h		milieu stérile	
Neutrophiles	17	71	38	75	22	77	4	74	34	83	15	60
Eosinophiles	-	-	1	1	-	5	-	-	1	-	-	1
Basophiles	3	6	1	1	9	4	-	2	1	2	2	7
Lymphocytes	73	23	60	23	66	13	96	21	64	9	83	31
Monocytes	7	-	-	-	3	-	-	3	-	6	-	2

Pour chaque prélèvement, la première colonne représente la formule sanguine du lapin avant l'injection, la deuxième, la formule au moment de sa variation maximale observée (4 à 8 heures après).

FIGURE n°2

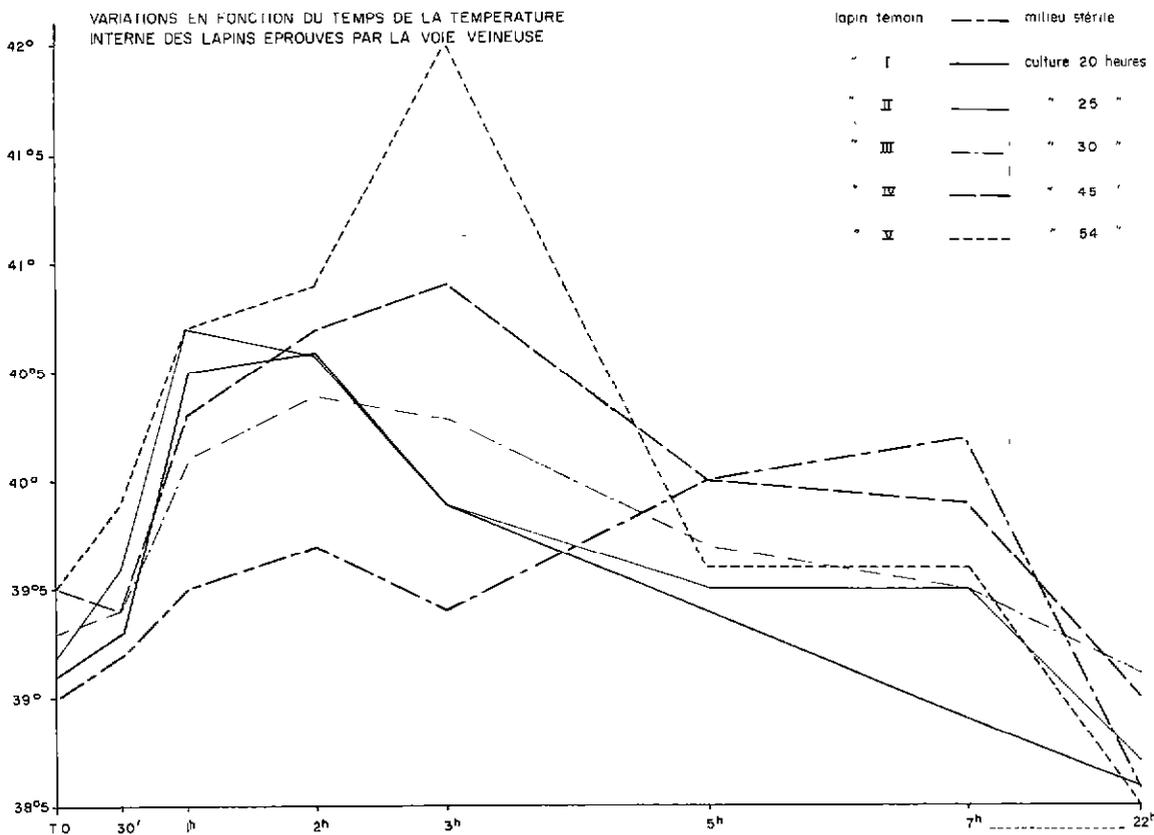


Fig. 2. — Variations en fonction du temps de la température interne des lapins éprouvés par la voie veineuse.

milieu en substances pyrogènes augmente avec la durée de la culture ; l'augmentation de température maximale (2° 5) est observée chez le lapin qui a reçu le milieu de culture de 54 heures.

3. Embryons de poulet :

L'inoculation par la voie allantoïque des mêmes prélèvements (cultures de 20, 25, 30, 45 et 54 heures) aux doses indiquées précédemment n'ont entraîné la mort d'aucun embryon.

Dans une première expérience, deux embryons avaient succombé respectivement en 5 et 6 jours avec des filtrats de culture de 20 et 25 heures ; ces accidents étaient d'ordre traumatique. Les mêmes échantillons injectés à d'autres embryons dans une seconde série de tests les ont laissés survivre.

Le fait le plus remarquable est l'innocuité du filtrat de la culture de 54 heures, à la dose de 1 ml (à double concentration).

4. Cellules de rein de veau :

Celles-ci, comme les embryons de poulet, ont parfaitement supporté l'addition au milieu de culture des mêmes prélèvements aux doses déjà citées.

Les photos des figures n° 3 et 4 montrent qu'après 6 jours d'observation il n'existe aucune différence significative entre l'aspect des cellules témoins et celui des cellules mises au contact du filtrat de la culture de 54 heures.

B. Recherche d'une endotoxine

Le traitement du mycélium par la méthode de Westphal permet d'obtenir, après dialyse, centrifugation et lyophilisation, un composé polyosidique (ou lipopolyosidique) que nous avons déjà utilisé pour des tests sérologiques (4) ; cette technique est un procédé de choix pour l'isolement des endotoxines bactériennes dont l'inoculation intraveineuse est suivie des effets classiques : prostration, polypnée ou dyspnée, leucopénie intense et brutale suivie d'hyperleucocytose, pic d'hyperthermie.

Aucun de ces signes n'est retrouvé ici ; la figure n° 5 permet de suivre chez deux lapins, inoculés respectivement avec 10 µg et 50 µg de l'extrait, les effets de l'injection intraveineuse.

Les variations de température interne sont faibles : 0° 5 et 1° 1 d'amplitude maximale.

Le phénomène le plus curieux est la double variation, de type ondulant, du nombre des leucocytes, qui s'effectue dans le même sens que celle de la température ; rien de commun donc avec la crise d'hyperthermie et la leucopénie caractéristiques provoqués par l'injection des complexes toxiques lipopolyosidiques.

Les spores traitées de façon identique par le phénol à chaud ne permettent pas davantage l'isolement d'un antigène doué de propriétés toxiques.

Les extraits obtenus toujours par la méthode de Westphal appliquée au milieu de fin de culture (56 heures) et injectés dans la veine des lapins à la dose de 100 µg n'entraînent ni hyperthermie ni leucopénie ; les extraits obtenus avec ce même milieu par précipitation à l'éthanol se révèlent tout aussi inoffensifs.

Par la voie intradermique, tous les extraits au phénol à chaud (mycélium, spores, milieu de fin de culture) sont incapables de provoquer le moindre effet dermo-nécrotique à la dose de 500 µg sous le volume de 0,1 ml ; on observe seulement un érythème discret durant 24 heures et dont rien ne subsiste au bout de 48 heures.

Cette absence d'effet vraiment irritant s'observe aussi avec les extraits obtenus par précipitation à l'éthanol avec le milieu de fin de culture (à 1, 2, 3 et 4 volumes), à la même dose et sous le même volume.

Par contre, une réaction érythémateuse accusée et durable survient après injection intradermique de 0,1 ml d'un antigène total de lyse par les ultrasons de *D. congolensis* (1 g de germes secs dans 100 ml d'eau distillée) ; cependant, après 3 jours, la peau retourne à son état normal sans que soit apparue la moindre escarre.

C. Recherche d'un pouvoir toxique *in vivo*

Qu'ils aient reçu dans le péritoine la chambre à diffusion ou le boyau de cellophane contenant la culture de *D. congolensis*, les lapins n'ont pas montré le moindre signe clinique d'intoxication.

Pendant les premiers jours, ils ont souffert manifestement des seules suites opératoires (douleur de la paroi abdominale, voussure du dos). L'énorme corps étranger qu'ils hébergeaient dans leur cavité péritonéale les a gênés, semble-

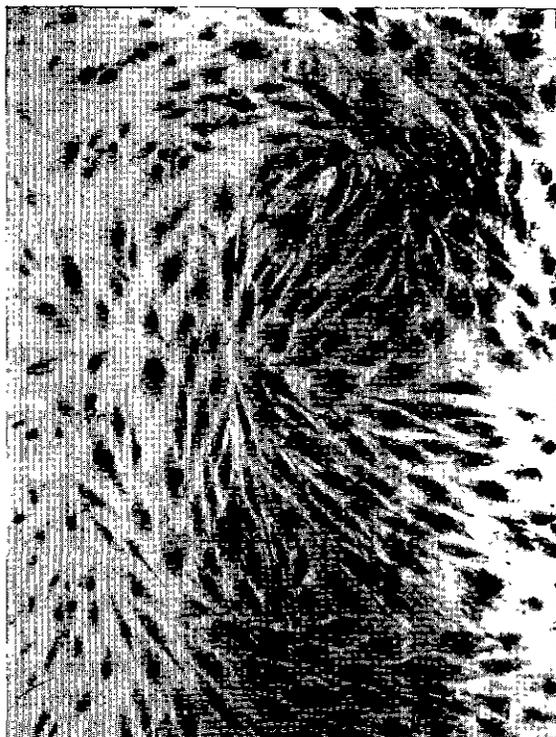


Fig. 3. — Nappe cellulaire après 6 jours de contact avec le milieu de la culture de 56 heures (0,4 ml par tube de Leighton).

Fig. 4. — Cellules témoins, ce tube a reçu 6 jours avant 0,4 ml du milieu stérile.

FIGURE n°5

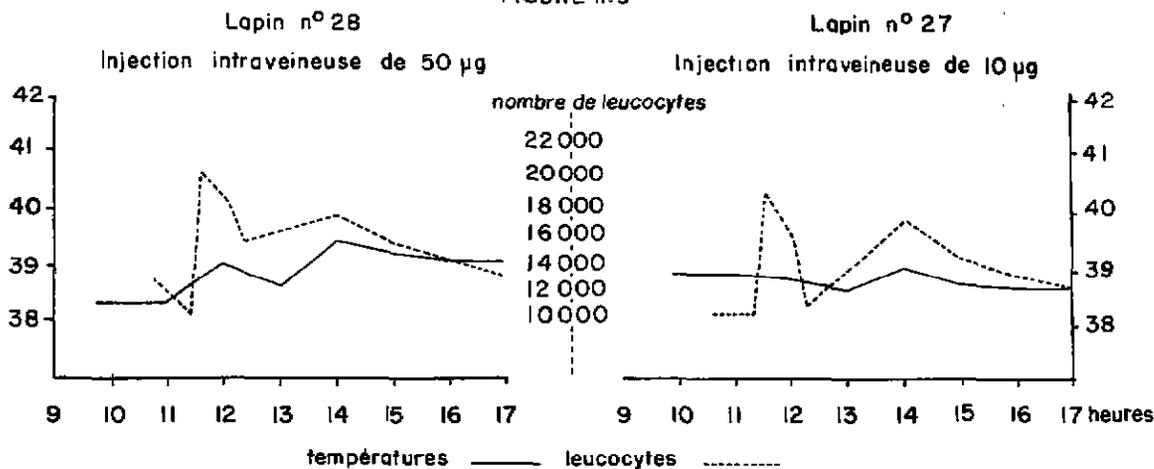


Fig. 5.

Lapin n° 28 injection intraveineuse de 50 µg.

Lapin n° 27 injection intraveineuse de 10 µg.

tail, jusqu'à ce qu'il soit fixé par des adhérences ou enrobé solidement dans l'épiploon.

Dans les semaines qui suivirent, le comportement de ces animaux fut très normal, tout comme leur température interne et leur forme leucocytaire.

Au cours de cette surveillance, des tests sérologiques hebdomadaires (hémagglutination indirecte), montrèrent qu'aucun lapin n'élaborait des anticorps spécifiques, ce qui donnait dans une certaine mesure l'assurance que boyaux de cellophane et chambres à diffusion ne permettaient pas la sortie du germe dans la cavité péritonéale.

Ces animaux furent sacrifiés de 4 à 6 semaines après l'intervention et on trouva, dans tous les cas, une gangue conjonctive réactionnelle enrobant complètement la chambre à diffusion ou le boyau à dialyse ; ces derniers n'avaient pas été fixés lors de leur introduction dans le péritoine, mais très rapidement ils furent immobilisés, le plus souvent dans l'épiploon, dans le reste des cas sur la paroi abdominale, par des brides lâches et très vascularisées se moulant sur eux pour se transformer en gangue conjonctive (cf. fig. nos 6 et 7).

Cette gangue ouverte laissait apparaître une pseudocavité kystique à face interne tapissée d'un exsudat muqueux ; sur cette dernière, une attache conjonctive fixait la chambre de diffusion qu'elle engainait étroitement dans un feuillet mince à fine vascularisation. Entre ce feuillet et chaque disque Millipore s'intercalait un disque de fibrine de faible épaisseur (1 mm). Les néoformations conjonctives qui recouvraient les boyaux de cellophane possédaient cette même structure générale, mais la couche de fibrine constituait un véritable manchon au contact du boyau.

Interposée donc entre la paroi filtrante et le feuillet conjonctif, elle était associée à une double infiltration cellulaire : celle des granulocytes neutrophiles, extrêmement abondants, attirés là par chimiotropisme et celle des histiocytes, en nombre plus réduit et en pleine activité de macrophagie. Dans un cas, on trouva des cellules géantes à noyaux multiples (4 à 10).

D. congolensis fut isolé sans difficulté à l'intérieur des chambres et des boyaux ; dans ces derniers, la masse mycélienne était énorme et la culture d'allure croûteuse adhérait fortement à la face interne de la paroi.

Dans les chambres de diffusion, la masse mycé-



Fig. 6. — Boyau de cellophane, contenant environ 20 ml de culture, fixé dans l'épiploon et recouvert de sa capsule conjonctive ; à son extrémité supérieure, l'accumulation des neutrophiles nécrosés a créé une zone purulente aseptique.

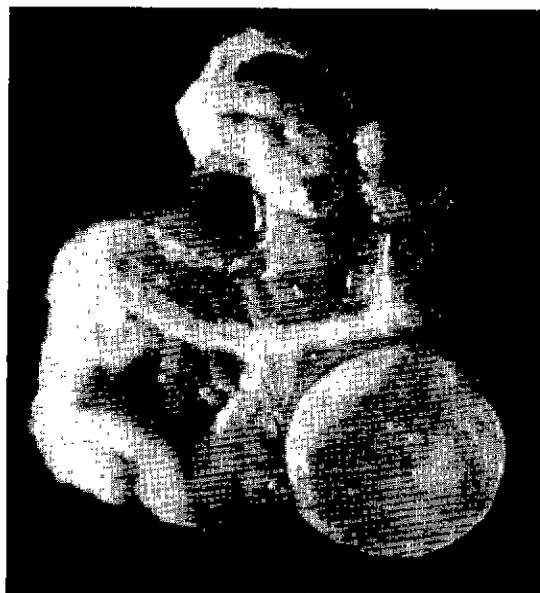


Fig. 7. — Chambre de diffusion incluse dans une mince capsule conjonctive, très vascularisée et appendue à l'épiploon ; bien qu'elle contienne une culture dense de *D. congolensis*, la réaction inflammatoire reste discrète.

lienne équivalait au moins à cinq fois celle de l'inoculum.

Aucun élément de *D. congolensis* n'a pu être isolé dans la cavité des gangues conjonctives, à l'extérieur des chambres de culture lorsque celles-ci n'étaient pas endommagées (rupture accidentelle d'un disque Millipore, collage insuffisant).

Aucun lapin n'avait perdu de poids ; bien au contraire, la plupart d'entre eux avaient engraisé. Leur foie et leurs reins, en parfait état, ne semblaient pas avoir subi d'atteinte toxique ; pas la moindre hypertrophie ou congestion hépatique, qui aurait témoigné d'une activité anormale de détoxification. Ajoutons que l'état général des lapins dont les chambres n'étaient pas étanches était resté très satisfaisant ; l'actinomycète dans tous les cas était resté enfermé dans la gangue conjonctive.

DISCUSSION

1) Comme on peut le voir, il fut impossible au long de ces essais de déceler une toxine proprement dite ou un métabolite toxique.

Il est vrai que nous avons recherché une toxicité hypothétique à partir du germe en culture ; on pourra donc objecter qu'*in vivo*, dans les lésions cutanées, le métabolisme de l'actinomycète peut être différent, ce qui n'est après tout qu'une autre hypothèse.

Toutefois il nous semble raisonnable de penser, compte tenu de la sensibilité des méthodes employées (notamment des cultures cellulaires), de la richesse des cultures qui nous ont fourni les matériaux de travail et de l'ordre de grandeur des échantillons injectés, que ces résultats ont quelque valeur.

2) Les extraits obtenus en traitant par la méthode de Westphal le mycélium, les spores ou le milieu de fin de culture ne contiennent donc pas d'endotoxine au sens classique du terme, ainsi que ROBERTS (5) l'avait déjà observé en employant des extraits à l'acide trichloracétique.

Celui que nous avons préparé à partir du mycélium, avec un rendement de 2,5 p. 100 en moyenne (rapport des poids secs), est capable de sensibiliser des hématies à l'action d'un sérum agglutinant ; de nature polyosidique ou lipopolyosidique et non toxique, il est présent

dans l'actinomycète vraisemblablement sous la forme d'un complexe protéine-polyoside intracellulaire (somatique ou de surface), les préparations les plus actives étant obtenues avec des germes en pleine croissance par lyse en eau distillée, traitements aux ultra-sons, cycles de gel-dégel, etc...

La lyse spontanée des éléments mycéliens fait qu'on le trouve aussi dans le milieu après un certain temps de culture (48 heures au moins).

Toutefois, après extraction au phénol, il se caractérise difficilement par la précipito-diffusion en milieu gélifié, la ligne de précipitation étant floue et discrète.

Rappelons qu'avec des fractions lipidiques de ce germe, obtenues par traitement à l'acétone ou au chloroforme, ROBERTS n'avait pas davantage réussi à mettre en évidence un pouvoir toxique ou nécrotique de ces préparations.

3) Le milieu ne contient pas d'exotoxine, au sens classique du terme, et de quelque nature qu'elle puisse être.

Le milieu de fin de culture est riche en polyosides non toxiques et c'est un phénomène assez frappant de le voir devenir de plus en plus visqueux à mesure que la culture se prolonge.

A partir de 100 ml de milieu, après une première précipitation isoélectrique à pH 4, on obtient en moyenne par addition successive de 4 volumes d'alcool et après dialyse et lyophilisation, 0,311 g d'un polyoside purifié dépourvu de toute toxicité.

On ne peut manquer de trouver ici une analogie avec les levanes ou les dextrans extracellulaires libérées dans le milieu par certaines bactéries (*B. subtilis*, *Azotobacter*, etc...).

Ce polyoside extracellulaire se détache de la capsule, très visible en microscopie en contraste de phase (cf. fig. 1) qui gaine les hyphes mycéliennes ; ROBERTS (5) a d'ailleurs suggéré que sa résistance et sa viscosité pouvaient être des facteurs de fixation des hyphes dans les gaines pileuses et l'épiderme.

Il est très vraisemblable que, dans notre procédé de culture, cette diffusion dans le milieu fut grandement facilitée par l'agitation et l'emploi d'un anti-mousse. Ce polyoside est un haptène qui précipite en gélose en face d'un immunsérum récolté chez un bovin sévèrement atteint de la maladie naturelle ; il semble

cependant incapable de sensibiliser des hématies à l'action d'un sérum agglutinant.

Il n'est sans doute que peu responsable de l'activité pyrogène du milieu terminal car, à la dose de 500 µg injectée dans la veine, il ne provoque chez les lapins de 2 kg qu'une élévation de température de 0,3 à 0,5 °C.

4) L'absence d'altération de l'état général des lapins porteurs de chambre de culture nous semble parfaitement en accord avec les autres résultats.

S'il est vrai que les boyaux à dialyse ont pu empêcher la diffusion de toute grosse molécule, les filtres Millipore VC étaient très perméables.

Chez le lapin témoin porteur d'une chambre ne contenant que du milieu stérile, on observe le même processus d'encapsulation dans une gangue conjonctive ; mais, au contact des filtres, on ne retrouve pas l'infiltration intense par les polynucléaires et ce sont les histiocytes qui dominent.

CONCLUSIONS

Dans les conditions de nos expériences, il

s'est révélé impossible de déceler une toxine soit dans les constituants soit dans les substances issues de la croissance et du métabolisme de *D. congolensis*.

Aucun phénomène toxique local ne pouvant être à l'origine des lésions, il se confirme donc que le rôle pathogène de cet actinomycète est vraisemblablement lié à sa seule multiplication dans l'épiderme des animaux.

Les cas de mort des grands ruminants, survenant après des évolutions cliniques rapides, ne sont sûrement pas attribuables à l'action d'une toxine spécifique ; il devient certain que, pour expliquer ces accidents, les recherches doivent s'orienter vers le rôle des complications microbiennes associées et celui des phénomènes d'allergie, au sens le plus large de ce terme.

*Institut d'Elevage
et de Médecine vétérinaire
des Pays tropicaux.*

*Laboratoire de Microbiologie
Maisons-Alfort.*

SUMMARY

Is the pathogenicity of *Dermatophilus congolensis* related with a toxin production ?

The pathogenicity of *D. congolensis* is not related with the production of a toxin, as far as shown by several tests carried out in rabbits, mice, chick embryos and calf embryo cells cultures.

Attempts to evidence an endotoxine like-substance as well as an exotoxin, have been unsuccessful.

These results have been assessed by some experiments carried out in rabbits having a culture chamber in their peritoneal cavity.

RESUMEN

Se liga la patogenicidad de *Dermatophilus congolensis* con la difusión de una toxina ?

No está asociada con la producción de una toxina la patogenicidad de *D. congolensis*, según lo que demuestran las pruebas de toxicidad efectuadas en conejos, ratones, embriones de pollo y células de embriones de ternero ; no se llevó a cabo la búsqueda de una endotoxina así como la de una exotoxina.

Ensayos efectuados *in vivo* en conejos portadores de cámaras de cultivo en el peritoneo comprobaron los dichos resultados.

BIBLIOGRAPHIE

1. LARSON (C. L.), RIBI (M. D. E.), MILNER (K. C.) and LIEBERMAN (J. E.). — A method for titrating endotoxic activity in the skin of rabbits. *J. Exp. Med.*, 1960, **111** (1) : 1.
2. LLOYD (L. C.). — Tissue necrosis produced by *Mycoplasma mycoides* in intraperitoneal diffusion chambers. *J. Path. Bacteriology*, 1966, **92** (1) : 225.
3. MEMERY (G.) et MEMERY (L.). — La streptothricose cutanée. V. Note sur le pouvoir pathogène du micro-organisme de la streptothricose bovine. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.*, 1962, **15** (1) : 5.
4. PERREAU (P.) et CHAMBRON (J.). — Immunologie de la streptothricose cutanée des bovins. Essai de vaccination. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays trop.*, 1966, **19** (3) : 263.
5. ROBERTS (D. S.). — Penetration and irritation of the skin by *Dermatophilus congolensis*. *Br. J. exp. Path.*, 1965, **46** (6) : 635.
6. ROBERTS (D. S.). — The histopathology of epidermal infection with the actinomycete *Dermatophilus congolensis*. *J. Path. Bact.*, 1965, **90** : 213.
7. ROBERTS (D. S.). — Rapport du C. S. I. R. O. 1965-1966, p. 43.
8. VIGIER (R.) et BALIS (J.). — Variabilité et antigénicité de *Dermatophilus congolensis*. *Rev. Elev. Méd. Vét. Pays trop.*, 1967, **20** (1) : 67.
9. WESTPHAL (O.) und LUDERITZ (O.). — Chemische Erforschung von Lipopolysacchariden gramnegativer Bakterien. *Angewandte Chemie*, 1954, **66** : 407.