

l'agglutination des microbes qui est importante et dont nous nous occuperons.

§ 1. — GÉNÉRALITÉS

Nous aborderons d'abord la description du phénomène, son historique et son mécanisme avant de passer à son importance et ses applications pratiques.

1° Description. — On appelle agglutination des microbes le

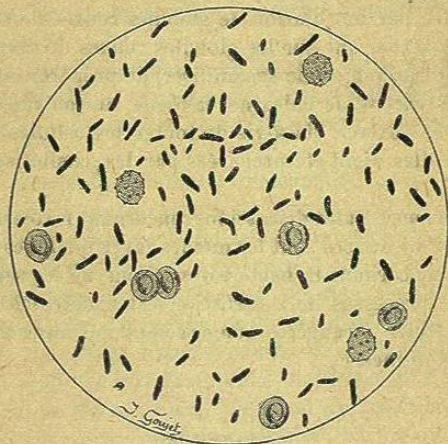


Fig. 101.

Culture de bacille d'Eberth mélangée à du sang non agglutinant.

phénomène par lequel ils se réunissent les uns aux autres pour former des agglutinats, des grumeaux, sous certaines influences que nous allons préciser.

Si l'on prend, par exemple, une certaine quantité de culture liquide de bacilles de la fièvre typhoïde où les microbes sont bien isolés les uns des autres, et qu'on ajoute une certaine quantité du sérum d'un typhique ou d'un animal inoculé avec le

bacille en question, on voit se produire le phénomène de l'agglutination ; on peut observer celui-ci à l'œil nu et au microscope. Dans le tube où l'on a fait le mélange, et qui primitivement était d'un trouble homogène, on voit à l'œil nu se produire de petits grains, qui se réunissent pour former des flocons, lesquels finissent par tomber au fond du tube ; on a alors, au lieu du trouble primitif, une colonne de liquide limpide, et, au fond,

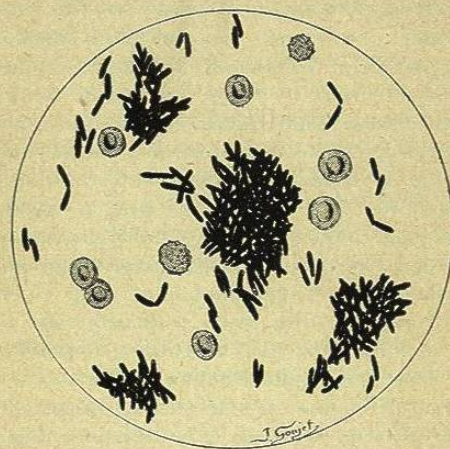


Fig. 102.

Phénomène de l'agglutination. Bacilles d'Eberth agglutinés par leur mélange à du sérum de typhique.

un dépôt floconneux blanchâtre. Au microscope, la culture primitive montrait des bacilles bien isolés les uns des autres et très mobiles ; au contraire la culture agglutinée ne présente presque plus de bacilles mobiles et presque uniquement des amas plus ou moins volumineux, occupant parfois tout le champ du microscope, et formés par des bacilles réunis et comme soudés les uns aux autres ; sur les bords de ces amas, on distingue des bacilles immobilisés par une de leurs extrémités et nageant de

l'autre dans le liquide : il y a eu *immobilisation et agglomération* des bacilles les uns aux autres.

Il ne faut pas confondre cette réaction avec le phénomène de PFEIFFER; les deux peuvent coexister, et l'on voit parfois la mise en granules des bacilles agglutinés, mais les deux phénomènes se présentent le plus souvent isolés. Nous verrons quels rapports existent entre l'agglutination et les pouvoirs bactéricide, immunisant, etc., des sérums.

Le pouvoir agglutinant d'un sérum *peut être mesuré* de la façon suivante : on répartit dans des petits tubes des quantités progressivement croissantes de cultures liquides et on ajoute à chacun d'eux la même quantité de sérum; on voit ainsi que ce dernier peut agglutiner dix fois, cinquante fois, cent fois, etc. son volume de culture microbienne. On l'exprime en disant que le sérum agglutine à 1 (de sérum) pour 10, pour 50, pour 100... (de culture). Ce pouvoir agglutinant peut s'élever très haut. Dans la fièvre typhoïde par exemple il peut monter à 1 pour 500, 1 pour 1.000, et même beaucoup plus; nous avons constaté un cas d'agglutination à 1 pour 10.000 chez un typhique, ce qui veut dire qu'un centimètre cube de ce sérum aurait pu agglutiner dix litres de culture de bacilles typhiques. Certains sérums expérimentaux ont un pouvoir encore plus élevé. Cette question de mesure est extrêmement importante pour les applications de la séro-réaction et l'estimation de la spécificité de celle-ci.

2° Agglutination des cellules. — Les sérums ont la propriété d'agglutiner les cellules vivantes et notamment les globules du sang de même qu'ils agglutinent les bactéries.

a. *Sérums d'animaux neufs.* — Les sérums de certains animaux sains agglutinent les hématies d'animaux d'autres espèces. Par exemple le sérum de cobayes agglutine les hématies du lapin et de la poule; le sérum de chèvre agglutine très bien les hématies de l'homme et du rat.

Un sérum est ordinairement sans action agglutinante sur les globules de l'animal qui a fourni le sérum et même sur ceux des animaux de la même espèce (PAGNIEZ). Mais le sérum des malades

peut agglutiner les globules de l'homme sain : on l'a vu dans la chlorose (DONACH), dans le paludisme (LO MONACO et PANICHI). PAGNIEZ a trouvé l'agglutination des globules dans 64 p. 100 des cas chez 105 malades et surtout dans la tuberculose et dans la fièvre typhoïde.

On peut se demander si ce n'est pas la même action agglutinante, déterminée dans un sérum par une infection sur le bacille infectant, qui agit aussi sur les globules rouges. Cette propriété est indépendante du pouvoir précipitant ou hémolytique d'un sérum (NOLF).

b. *Sérums d'animaux inoculés avec des cellules.* — De même que pour les microbes, l'inoculation de cellules à des animaux développe un pouvoir agglutinant du sérum sur ces cellules. Par exemple le sérum d'un cobaye préparé en injectant à cet animal, dans le péritoine, des globules rouges de lapin, acquiert la propriété agglutinante spécialement pour les globules rouges du lapin. En même temps ce sérum dissout les globules rouges, mais il les agglutine auparavant et ces deux actions sont différentes.

3° Historique. — CHARRIN vit en 1894 que les cultures de bacilles pyocyaniques poussaient en grumeaux et agglutinées; c'était la première observation de l'agglutination *in vitro*. METCHNIKOFF en 1891 observa le même phénomène pour le vibrio Metchnikovi et le pneumocoque. Mais c'est BORDET qui le premier étudia systématiquement les détails de l'agglutination *in vitro* en mélangeant du choléra-sérum à des vibrions cholériques. GRUBER la même année, généralisa l'étude du phénomène, créa le mot « agglutination » et montra que l'on pouvait distinguer les espèces microbiennes par l'action agglutinante d'un sérum spécifique, c'est-à-dire dont l'action ne s'exerce que sur le microbe injecté à l'animal. PFEIFFER et KOLLE confirmèrent et étendirent ces notions. Enfin le 26 juin 1896, WIDAL créait le séro-diagnostic de la fièvre typhoïde, et montrait toutes les applications pratiques qu'on pouvait tirer d'un phénomène, qu'il démontra exister au cours de l'infection, et non pas seulement après l'immunisation comme le voulait GRUBER. L'agglutination du

bacille d'Eberth, par le sérum d'un malade, indiquait donc l'existence d'une fièvre typhoïde. Depuis cette époque les travaux sur la question ont été innombrables, nous retrouverons les principaux plus loin.

4° Spécificité du pouvoir agglutinant. — La réaction agglutinante est-elle spécifique, c'est-à-dire ne se produit-elle rigoureusement avec un sérum donné, que sur le microbe qui a servi à l'infection du sujet ? Cette question capitale a été souvent mal envisagée ; il existe un pouvoir agglutinant naturel non spécifique et un pouvoir agglutinant acquis, et spécifique, lorsqu'il atteint un certain degré.

a. *Pouvoir agglutinant naturel.* — Le sérum d'un grand nombre d'espèces animales agglutine normalement de nombreux microbes. Par exemple, le sérum de cheval agglutine à des taux variables mais relativement élevés : le bacille typhique, le bacille coli, celui de la morve, de la tuberculose, le vibron cholérique, etc. Le sérum humain normal a lui-même une légère action agglutinante sur plusieurs bacilles. Ce pouvoir agglutinant normal est d'ailleurs variable avec l'âge ; nul chez le nouveau-né, il est beaucoup plus faible chez les jeunes sujets que chez les adultes ; la question n'est pas tranchée de savoir si ce pouvoir agglutinant naturel se développe par le fait des infections successives et inévitables, latentes ou non, que subit tout organisme pendant sa vie. En tout cas, le pouvoir agglutinant naturel n'a pas de rapport avec l'immunité naturelle ou avec la résistance des espèces aux infections. Mais cette notion est indispensable pour comprendre la spécificité de l'action agglutinante qui est une *question de degré et non de nature*, car en somme on peut dire que presque tous les sérums agglutinent la plupart des bacilles à une certaine dose.

b. *Pouvoir agglutinant acquis et spécifique.* — Au cours des maladies et dans les inoculations expérimentales, soit de microbes, soit de toxines, le pouvoir agglutinant apparaît s'il n'existait pas, et s'élève bien au-dessus du taux normal s'il existait auparavant. Ainsi, dans la fièvre typhoïde, le pouvoir agglutinant apparaît dans les premiers jours de la maladie

alors qu'il n'existe pas chez le sujet sain, et il s'élève dans le cours de l'affection à des degrés souvent fort élevés ; il s'agit là d'une réaction spécifique surtout par son intensité. De même le développement de la morve chez un cheval détermine l'augmentation du pouvoir agglutinant de son sérum vis-à-vis du bacille morveux (RABIEAUX) ; la réaction dans ce cas est donc spécifique surtout au point de vue quantitatif en ce sens que le sérum du cheval morveux agglutinera davantage le bacille après l'infection qu'auparavant, et au-dessus du taux normal d'agglutination d'un cheval sain.

En pratique *le séro-diagnostic ne pourra donc avoir lieu que lorsque l'agglutination, au cours d'une infection chez un animal, sera supérieure à l'agglutination par le sérum normal d'un individu sain de même âge et de même espèce.*

Quant à la spécificité d'agglutination des sérums expérimentaux, elle est plus discutée. Lorsqu'on atteint un pouvoir agglutinant très élevé avec ces sérums, ce pouvoir s'exerce non seulement sur le bacille inoculé, mais encore sur les bacilles voisins et proches parents de celui-ci. C'est ainsi qu'un sérum d'animal inoculé avec du bacille d'Eberth, et très agglutinant pour celui-ci, sera également agglutinant pour le bacille coli par exemple (RODET) ; mais cette agglutination du bacille coli sera moindre que celle du bacille d'Eberth pour ce même sérum. Mais encore faut-il s'adresser à des bacilles (Eberth ou coli) également agglutinables. Portées sur ce terrain expérimental et artificiel, ces questions sont fort complexes et leur étude nous entraînerait trop loin (voir les travaux de RODET sur le bacille d'Eberth, de S. ARLOING et PAUL COURMONT sur les bacilles de la tuberculose).

5° L'agglutination dans les maladies. — WIDAL ayant observé le pouvoir agglutinant du sérum des typhiques pendant la maladie, montra qu'on pouvait faire le diagnostic de la fièvre typhoïde par le fait de l'agglutination spécifique du bacille d'Eberth par le sérum des malades, dans des conditions données de temps, de dose, etc. On appliqua bientôt les mêmes données au choléra (ACHARD et BENSUAUDE), aux pneumocoques

(GRIFFON), à la coli-bacilliose, à la dysenterie (SHIGA), etc. M. ARLOING en 1898 découvrit le moyen d'obtenir des cultures homogènes de bacilles de Koch, et appliqua le séro-diagnostic de la tuberculose dont l'étude fut poursuivie par MM. ARLOING et PAUL COURMONT.

Il n'y a pas d'agglutination au cours de la diphtérie (NICOLAS), ni du tétanos (J. COURMONT et JULLIEN).

L'apparition et le développement de la substance agglutinante ont été étudiés surtout dans la fièvre typhoïde. La réaction apparaît en général vers le septième jour (WIDAL), mais elle peut être beaucoup plus tardive, ce qui se voit surtout dans les cas graves (PAUL COURMONT) ou même manquer jusqu'à la mort.

Le pouvoir agglutinant une fois établi persiste en général pendant toute la maladie et survit même à celle-ci; le sérum d'un sujet ayant eu la fièvre typhoïde peut rester agglutinant pendant des années. Il y a là une preuve de l'imprégnation profonde déterminée dans l'organisme par une maladie infectieuse.

Le pouvoir agglutinant existe au maximum dans le sang et par conséquent le sérum (WIDAL, PAUL COURMONT); mais il transude dans presque toutes les humeurs de l'organisme; il existe dans les sérosités, les urines, le lait, etc.

On trouvera plus loin un exemple des chiffres que nous avons trouvés dans les différentes humeurs, à l'autopsie d'un typhique.

6° Mécanisme de la réaction agglutinante. — La question la plus importante et encore discutée, est celle de savoir si l'agglutination des microbes peut se produire *in vivo* dans l'organisme même. Pour SALIMBENI et l'école de l'Institut Pasteur, la propriété agglutinante du sérum n'existe pas dans le plasma et les humeurs circulantes et ne se développe qu'à l'air libre et au contact de l'oxygène. L'agglutination n'aurait donc pas la signification d'un phénomène actif, s'exerçant dans le sang ni dans l'organisme et n'aurait pas de rôle dans l'action bactéricide. Cependant ACHARD et BENSUADE ont observé la propriété agglutinante dans le plasma lui-même, sans coagulation du sang. De plus, il est difficile de prouver que l'agglutination ne

puisse réellement pas se passer dans l'organisme, où l'on constate des phénomènes très actifs, tels que l'action bactéricide et le phénomène de Pfeiffer. Il est fort probable que l'agglutination est une réaction préparatoire à l'englobement des microbes et qu'à ce point de vue elle peut servir à la défense de l'organisme. Quant au mécanisme de l'action agglutinante *in vitro* et telle qu'on l'observe facilement, il faut étudier plusieurs facteurs.

A. RÔLE DES SELS. — M. ARLOING a montré le premier l'importance de la composition saline du milieu et sa richesse en chlorure de sodium dans le phénomène de l'agglutination. BORDET a vu que si on prive de ses sels par lavages successifs une émulsion de vibron cholérique, il y a disparition de l'agglutination, qu'on ne peut ensuite reproduire que par addition de sel.

Pour A. VERNER et S. ISMAILOVA les sérums agglutinants sont très riches en fer alors que les sérums normaux n'en contiendraient que des traces; ce fer, proviendrait de la destruction intense des globules rouges au cours de l'infection (fièvre typhoïde). Les sels de fer avec le glycéro-phosphate de soude peuvent agglutiner le bacille d'Eberth et l'injection de ces mêmes sels aux lapins détermine l'apparition d'un pouvoir agglutinant élevé vis-à-vis du bacille d'Eberth.

On sait d'ailleurs qu'un grand nombre de substances chimiques, formol, sublimé, eau oxygénée, etc., agglutinent les cultures de bacilles d'Eberth dans la proportion de 1 pour 1; les solutions de vésuvine et de safranine à 1 pour 1.000, mélangées dans la proportion d'environ 1 pour 7 à des cultures de bacille d'Eberth, les agglutinent très bien. Il ne faut pas exagérer l'importance de ces faits et confondre l'agglutination chimique avec l'agglutination spéciale et se produisant à des taux bien plus élevés par les sérums spécifiques.

B. SUBSTANCE AGGLUTINANTE ET SUBSTANCE AGGLUTINÉE. — Dans la séro-réaction classique, le sérum contient une substance agglutinante qui agit sur les bacilles, lesquels renferment la substance agglutinée; il faut étudier ces deux substances.

a. La substance agglutinante ou agglutinine. — Elle diffère de

l'alexine, car elle n'est pas détruite par la chaleur à $+55^{\circ}$; extrêmement résistante, elle n'est détruite que par le chauffage à $+60-65^{\circ}$. Elle résiste à l'action de la lumière diffuse; cependant nous avons montré qu'un sérum de pleurésie tuberculeuse, par exemple, laissé à la lumière diffuse, se décolore peu à peu, et perd en même temps son pouvoir agglutinant; la lumière solaire agit encore plus vite. Elle résiste également assez bien à la dessiccation et à la putréfaction, mais ces deux actions finissent cependant par la détruire et ce n'est que grâce au pouvoir agglutinant élevé de certains sangs, qu'on a pu les voir agglutiner encore, quoiqu'à un degré moindre, après l'action de ces diverses causes. L'action du froid même très intense paraît également sans action; nous avons observé avec DOYON et CHANOT que la congélation dans l'air liquide, c'est-à-dire à -160° , soit des cultures de bacilles typhiques, soit d'un sérum agglutinant, n'empêche pas ensuite l'action de ce dernier sur les bacilles.

Les agglutinines sont presque complètement arrêtées par les filtres et les membranes dialysantes, et non par certaines membranes vivantes; mais, dans ce dernier cas, il faut compter sur l'action spéciale des cellules vivantes (plèvre, glandes, muqueuse digestive, placenta) et chaque organe retient ou laisse passer la substance agglutinante en partie et à sa manière. Ainsi les diverses sécrétions (lait, urine, bile) contiennent des agglutinines mais en proportion moindre que le sang; les larmes n'en contiennent pas, de même la sérosité d'œdème. Un fait intéressant, qui montre la façon dont les agglutinines traversent les différentes barrières muqueuses ou glandulaires, est le suivant: lorsqu'une nourrice est atteinte de fièvre typhoïde, on voit se développer le pouvoir agglutinant, non seulement dans son sérum, mais dans son lait et dans le sérum du nourrisson; seulement ce pouvoir agglutinant est plus faible dans le lait, et plus faible encore dans le sérum du nourrisson, car successivement la glande mammaire a arrêté une partie des agglutinines, et d'autre part la muqueuse digestive du nourrisson n'a laissé passer qu'une petite partie des agglutinines du lait (P. COURMONT et CADE). En tout cas cela démontre que le pouvoir agglutinant peut se transmettre par le tube digestif.

A l'état normal, le placenta ne semble pas laisser passer les agglutinines; mais dans certains cas, et probablement par altération de cet organe, le sang du nouveau-né peut agglutiner, dans des proportions moindres que le sang maternel.

Les agglutinines, comme l'alexine, précipitent par l'alcool et les réactifs ordinaires des diastases. WIDAL et SICARD ont essayé de voir quelle est la substance albuminoïde à laquelle est liée l'agglutinine; elle est fixée au fibrinogène et à la globuline et non à la sérine.

b. *Substance agglutinée.* — Celle-ci semble être renfermée surtout dans les corps des bacilles. Si on lave une culture microbienne et qu'on l'émulsionne ensuite dans de l'eau salée on peut l'agglutiner avec le sérum correspondant. Dans certains cas, sous l'action du sérum agglutinant, on verrait se modifier la couche périphérique des microbes, qui se gonfle devient visqueuse, et de là résulterait l'adhérence des microbes dans les agglutinats (GRUBER). ROGER a de même observé que le champignon du muguet, dont les modifications sont faciles à observer, s'épaissit, se gonfle sous l'influence du sérum agglutinant; il en serait de même pour le bacille de la peste (ZABOLOTVY) et le vibrion cholérique (KUMPF).

Certains auteurs, à la suite de KRAUSS, ont voulu voir dans l'agglutination des microbes, un phénomène de précipitation d'une substance renfermée non plus dans le corps des bacilles mais dans la partie liquide des cultures. Si l'on mélange du sérum agglutinant au liquide de filtration d'une culture de vibrion cholérique, de bacille typhique, ou de bacille de la peste, on voit se produire des amas floconneux ressemblant à ceux de l'agglutination des microbes: ce produit de filtration contiendrait donc la substance agglutinée ou agglutinable par l'action des agglutinines du sérum. CH. NICOLLE a repris les recherches de KRAUSS et assimilé cette réaction à celle de l'agglutination des corps microbiens eux-mêmes. Il y a cependant de grosses différences. WIDAL a montré qu'un sérum qui agglutine à un taux très élevé une culture totale de bacille typhique, par exemple à 1 p. 1 000, n'agglutinera le produit de filtration qu'à un taux très minime, et presque toujours le même quelle que soit la force

du sérum employé; il n'y a donc pas parallélisme entre ces deux actions. De plus comme l'a vu NICOLLE lui-même, les corps microbiens restés sur le filtre sont encore agglutinables; la substance agglutinée n'a donc pas passé toute entière dans le liquide de filtration; il semblerait pour cet auteur que dans les cultures jeunes la substance agglutinable reste surtout adhérente au corps microbien, tandis que dans les cultures vieilles elle passerait surtout dans le bouillon.

Quoi qu'il en soit il n'est pas démontré que le phénomène de Krauss soit identique au phénomène de l'agglutination, il s'agit plutôt d'un phénomène de précipitation, qui peut d'ailleurs avoir son influence dans l'agglutination totale telle qu'on l'observe dans une culture complète.

c. *Agglutinabilité et pouvoir agglutinogène des microbes.* — Un microbe est agglutinable lorsqu'il est agglutiné par le sérum correspondant. Mais on sait que pour une même race de microbes certains échantillons sont très agglutinables, alors que d'autres ne le sont pas. RODET, REHNS l'ont démontré les premiers. C'est ainsi que les bacilles d'Eberth peuvent n'être pas du tout agglutinables même par des sérums très fortement agglutinants pour d'autres échantillons; cela se voit surtout pour les microbes récemment isolés de l'organisme malade (RODET, JULES COURMONT, BANCEL) ou même des microbes provenant des eaux (CHANTEMESSE). Il est curieux de voir que l'acclimatement aux cultures développe l'agglutinabilité au bout d'un certain nombre de générations. S. ARLOING et PAUL COURMONT ont démontré les mêmes faits pour les bacilles de la tuberculose; le bacille de Koch même en culture liquide homogène, suivant le procédé d'Arloing, est loin d'être toujours agglutinable; certains échantillons peuvent être conservés pendant des années sans devenir agglutinables; d'autre part certains échantillons peuvent perdre leur agglutinabilité pour des raisons inconnues. Ces faits sont très importants et montrent que l'agglutination dépend en partie des propriétés du microbe lui-même et qu'en tous cas, au point de vue pratique, il ne faut jamais se servir pour les séro-diagnostic ou études expérimentales que d'un bacille bien agglutinable.

Le *pouvoir agglutinogène* (PAUL COURMONT) est celui que possèdent les microbes de déterminer par leur inoculation le pouvoir agglutinant du sérum des infectés. Certains microbes semblent très peu agglutinogènes. Ainsi le sérum des diphtériques ou des tétaniques n'agglutine jamais (NICOLAS, J. COURMONT et JULIEN). Bien plus, un microbe ordinairement agglutinogène peut ne déterminer aucune propriété agglutinante dans le sérum de l'infecté lorsqu'il est trop virulent; ainsi les sujets atteints de fièvre tyhoïde très grave ont un sérum souvent dépourvu de toute propriété agglutinante (PAUL COURMONT). De même les bacilles de la tuberculose très virulents ne déterminent à peu près pas de pouvoir agglutinant du sérum (S. ARLOING et PAUL COURMONT). Le pouvoir agglutinogène des microbes semble donc être *en raison inverse de leur virulence*.

B. THÉORIES SUR LE MÉCANISME DE L'AGGLUTINATION. — On peut en distinguer quatre principales.

Une théorie qu'on pourrait appeler biologique est celle de GRÜBER qui attribue l'agglutination aux modifications du corps des microbes sous l'influence des sérums.

La théorie de KRAUSS assimile l'agglutination à un phénomène de précipitation comme pour les précipitines des albuminoïdes (voir p. 901).

Une théorie plutôt chimique attribue l'agglutination à la présence de certains sels dans les sérums, et notamment des sels de fer (voir plus haut).

Enfin pour BORDET, DUCLAUX, l'agglutination serait un phénomène physique par modification de l'équilibre entre les microbes d'une part et le liquide de culture d'autre part, sous l'influence d'un élément étranger, le sérum; et l'agglutination n'aurait d'autre signification que celle de l'agglomération et du dépôt des particules solides dans une émulsion argileuse.

§ 2. — SIGNIFICATION ET APPLICATIONS DE LA PROPRIÉTÉ AGGLUTINANTE

La question du rôle joué par le pouvoir agglutinant des humeurs dans l'infection et l'immunité a une grande importance,