

injections répétées, obtenir un sérum cytotoxique pour tous les animaux de son espèce, à l'exception du seul individu injecté : on appelle les sérums jouissant de cette propriété exclusive, *sérums isotoxiques*.

Le pouvoir cytolytique des humeurs, qu'il s'agisse de la bactériolyse, de l'hémolyse ou de la destruction de toute autre cellule, résulte, d'après M. Bordet, de l'action combinée de deux substances distinctes : l'*alexine* (nom donné par Büchner aux substances protectrices auxquelles il attribuait le pouvoir bactéricide) et la *sensibilisatrice* (1). L'*alexine* n'est nullement spécifique; elle existe dans tout sérum, et elle agit indifféremment dans les phénomènes de bactériolyse ou d'hémolyse. Mais la sensibilisatrice est, au contraire, spécifique; elle n'existe que dans le sérum des individus immunisés et, à chaque genre de phénomène cytolytique, correspond une sensibilisatrice particulière. L'*alexine* est détruite par le chauffage à 55° C., tandis que la sensibilisatrice résiste à cette température. On peut donc, par le chauffage, obtenir un sérum ne contenant que la sensibilisatrice.

La sensibilisatrice est ainsi appelée parce qu'elle rend la cellule ou le microbe sensible aux effets de l'*alexine*. On a comparé son action à celle des mordants qui rendent les tissus aptes à fixer les matières colorantes. Cette sorte de mordantage des cellules et des bactéries par une sensibilisatrice appropriée leur fait fixer l'*alexine*, qui exerce alors sur elles son action destructive.

Si donc on ajoute à du sérum antimicrobien le microbe correspondant, par exemple à du sérum antityphique du bacille d'Eberth, on peut arriver à débarrasser ce sérum de son *alexine*, parce que les microbes (2), sous l'action de la sensibilisatrice spéciale, fixent l'*alexine*. Si ensuite, à ce sérum dépouillé d'*alexine*, on ajoute des globules rouges d'un animal et du

(1) L'*alexine* a reçu aussi les noms de cytase (Metchnikoff), complément (Ehrlich et Morgenroth); la sensibilisatrice, ceux de fixateur, philocytase (Metchnikoff), substance intermédiaire, ambocepteur (Ehrlich et Morgenroth), anticorps (Pfeiffer).

(2) Les bacilles morts conviennent aussi bien que les bacilles vivants.

sérum hémolytique pour ces globules, mais chauffé à 55°, et ne renfermant, par conséquent, qu'une sensibilisatrice et point d'*alexine*, le mélange qui en résultera ne renfermera aucune trace d'*alexine*, de sorte que, en dépit de la présence de la sensibilisatrice antihématique, l'hémolyse fera défaut, et le sérum restera clair. Au contraire, si le premier sérum n'était point antimicrobien, s'il ne renfermait point de sensibilisatrice antityphique, son *alexine* n'aurait pas été fixée, et aurait ensuite exercé son action destructive sur les globules rouges influencés par la sensibilisatrice hémolytique, de sorte que le sérum se serait coloré en rouge.

Voilà donc une réaction qui permet de s'assurer si un sérum possède une sensibilisatrice spécifique. C'est la *réaction* dite de *fixation* de Bordet. Elle a, en somme, pour principe de rechercher si la fixation de l'*alexine* du sérum examiné a pu s'opérer sur les microbes, ce qui suppose l'existence de la sensibilisatrice spécifique; quant à l'hémolyse, elle n'intervient que secondairement, à titre de phénomène indicateur destiné à montrer si l'*alexine* a échappé ou non à la fixation.

Décrite d'abord par MM. Bordet et Gengou (1) chez les animaux immunisés et chez l'homme convalescent, elle a été trouvée aussi par MM. Widal et L. Le Sourd (2) au cours de la fièvre typhoïde humaine, de sorte qu'on peut la faire concourir, dans certains cas, à établir le diagnostic (3).

Voici la technique suivie par MM. Widal et L. Le Sourd :

Un premier temps consiste à préparer le sérum que l'on veut examiner, c'est-à-dire à le dépouiller de son *alexine* dans le cas où il contiendrait la sensibilisatrice. On mélange dans un tube à essai : 9 gouttes du sérum à examiner, chauffé à 56°, contenant,

(1) J. BORDET et O. GENGOU, Sur l'existence de substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens (*Ann. de l'Institut Pasteur*, mai 1901, p. 289).

(2) WIDAL et L. LE SOURD, Existence de la sensibilisatrice dans le sérum des typhiques (*Bull. et Mém. de la Soc. médic. des hôpit.*, 14 juin 1901, p. 624). — L. LE SOURD, Recherches expérimentales et cliniques sur la présence d'une substance sensibilisatrice spécifique dans le sérum des typhiques (*Thèse de Paris*, 11 déc. 1902, n° 94).

(3) MM. Widal et Le Sourd ont proposé le terme d'*hémolyso-diagnostic*.

par conséquent, la sensibilisatrice sans alexine; puis 5 gouttes d'une émulsion très trouble de bacilles d'Eberth, provenant d'une culture jeune sur gélose, délayée dans de l'eau salée physiologique; enfin, 2 gouttes d'un sérum frais, provenant d'un sujet sain, c'est-à-dire dépourvu de sensibilisatrice, et non chauffé, c'est-à-dire contenant encore son alexine. Ce mélange est abandonné à lui-même pendant cinq heures, pour permettre aux bacilles sensibilisés de fixer toute l'alexine.

Le second temps consiste à rechercher si l'hémolyse révélatrice de la persistance de l'alexine se produit. On mélange : 1 partie de globules rouges de lapin, obtenus en centrifugeant du sang défibriné, et débarrassé de toute trace de sérum par trois lavages successifs à l'eau salée physiologique, suivis de centrifugation et de décantation; et 2 parties de sérum antihématique, provenant d'un cobaye ayant subi préalablement, dans l'espace de plusieurs semaines, des injections de sang défibriné de lapin; ce sérum a été chauffé à 56°, pour détruire son alexine et ne laisser subsister que la sensibilisatrice antihématique.

Il ne reste plus alors qu'à mettre en présence les deux mélanges précédents; pour cela, dans le tube qui renferme le premier, on ajoute 4 gouttes du second. S'il ne s'est pas produit d'hémolyse au bout de quelques heures, c'est que la réaction est positive. Mais il est toujours bon de faire un tube témoin, avec le sérum d'un individu non infecté, pour être sûr qu'avec ce sérum l'hémolyse se produit dans le mélange final.

MM. Widal et L. Le Sourd ont trouvé la réaction de fixation 58 fois sur 61 cas de fièvre typhoïde. Elle apparaît parfois dès le premier septénaire, mais plus souvent dans le second, et acquiert son maximum à la convalescence, pour décroître ensuite. Elle est nettement indépendante de la réaction agglutinante, qui apparaît tantôt avant elle et tantôt après.

Les recherches faites dans la tuberculose ont montré que la réaction peut s'y rencontrer; mais les résultats sont beaucoup moins probants (1).

(1) F. WIDAL et L. LE SOURD, La sensibilisatrice dans le sérum des tuberculeux (*Bull. et Mém. de la Soc. méd. des hôp.*, 5 juill. 1901, p. 787).

Il est fort intéressant de savoir que les sensibilisatrices spécifiques peuvent exister chez l'homme au cours des maladies infectieuses; mais la longueur et la complexité des manipulations nécessaires pour mettre en évidence la réaction de fixation l'empêche d'être un procédé vraiment clinique. On n'y pourrait recourir qu'en des circonstances bien exceptionnelles et, sous le rapport de la valeur pratique, pour la fièvre typhoïde en particulier, elle ne saurait évidemment soutenir la comparaison avec la recherche de l'agglutination.

Un point intéressant qui mérite d'être signalé, c'est que l'influence sensibilisatrice du sérum actif s'exerce à un très faible degré sur des microbes voisins, comme il arrive également, ainsi que j'ai eu l'occasion de vous le dire, pour l'agglutination. MM. Bordet et Gengou ont constaté que le sérum antityphique influence aussi le coli-bacille; seulement ce dernier microbe n'est alors capable de fixer que de minimes quantités d'alexine, de sorte que le degré de la réaction est très différent, ce qui permet d'éviter toute erreur.

La propriété agglutinante et la propriété lysogène sont, comme je vous l'ai dit, indépendantes. Les agglutinines et les lysines semblent être des substances distinctes, car le pouvoir agglutinant s'atténue à 65° et disparaît à peu près à 78°, tandis que le pouvoir lysogène, en raison de la résistance de la sensibilisatrice, ne s'atténue qu'à 75°.

Enfin, il est encore une autre propriété, qui coexiste souvent avec les précédentes, mais qui en est toutefois distincte : c'est la propriété précipitante, due à des substances particulières appelées précipitines.

Kraus (1) avait observé que dans les cultures microbiennes filtrées, débarrassées par conséquent des bactéries, le sérum agglutinant provoque la formation d'un précipité floconneux; il pensa que cette précipitation était liée au phénomène de l'agglu-

(1) R. KRAUS, Ueber spezifische Reactionen in Keimfreien Filtraten aus Cholera, Typhus und Pestbouillonculturen erzeugt durch homologes Serum (*Wiener klin. Wochenschr.*, 30 avril 1897, n° 18).

tion, la substance agglutinable dissoute dans les cultures se précipitant en grumeaux lorsqu'on ajoutait l'agglutinine contenue dans le sérum. En réalité, il s'agit là d'un phénomène tout à fait distinct de l'agglutination. MM. Bordet (1) et Tschistovitch (2) ont établi que si l'on fait à un animal des injections répétées de sérum d'un autre animal d'espèce différente, le sérum du premier acquiert la propriété de précipiter celui du second : par exemple, lorsqu'un lapin a reçu plusieurs injections de sérum humain, son sérum précipite le sérum d'homme.

Cette réaction est fort sensible et se manifeste même lorsque le sérum actif est en dilution étendue. Elle a donné lieu à des applications pratiques fort intéressantes.

Uhlenhuth l'a introduite en médecine légale pour la recherche du sang humain (3). Vous savez quelle difficulté rencontre l'expert pour distinguer le sang humain de celui des animaux lorsqu'il examine des taches de sang par les procédés ordinaires. La tache est délayée dans un peu de liquide et examinée au microscope; mais si l'on distingue assez facilement, d'après la forme, les globules d'oiseaux de ceux de mammifères, il est impossible de distinguer entre eux les globules des divers mammifères, car les différences de diamètre qui peuvent se rencontrer suivant les espèces ne sont pas très grandes et d'ailleurs, la mesure du diamètre est sans valeur le plus souvent dans les conditions où a lieu l'examen, à cause des altérations que font subir aux hématies la dessiccation et le délayage. Au contraire, la réaction précipitante répond à ce desideratum et accuse des différences très nettes entre le sang de l'homme et celui des animaux domestiques.

La réaction précipitante paraît susceptible d'être recherchée

(1) J. BORDET, Le mécanisme de l'agglutination (*Ann. de l'Institut Pasteur*, mar. 1899, p. 225); Agglutination et dissolution des globules rouges par le sérum (*Ibid.*, avril 1899, p. 273).

(2) TH. TSCHISTOVITCH, Études sur l'immunisation contre le sérum d'anguille (*Ann. de l'Institut Pasteur*, mai 1899, p. 406).

(3) UHLENHUTH, Eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten insbesondere zum differenzial diagnostischen Nachweise Menschen Blutes (*Deutsche medic. Wochenschr.*, 1901, n° 6, p. 82, et n° 17, p. 260).

alors même que le sang à examiner est fort ancien : Ziemke a pu l'obtenir avec le sang d'un cadavre enterré depuis dix ans.

D'autres applications pourront sans doute être faites de cette réaction précipitante du sang. A titre de fait curieux, je vous signalerai que chez un malade qui en trois jours avait reçu par injection sous-cutanée la dose totale de 120 centimètres cubes de sérum antidiphthérique, fourni comme vous le savez par des chevaux, MM. Linossier et Lemoine ont constaté que le sérum de ce sujet précipitait le sérum de cheval.

Lorsqu'on recherche cette réaction précipitante, il importe de ne la considérer comme valable que si elle se produit en une ou deux heures, car si l'on attendait plus longtemps, comme on opère en milieu non aseptique, les souillures microbiennes pourraient produire dans le liquide un trouble qui prêterait à la confusion. Pour la même raison, il convient aussi que le sérum actif soit employé frais (1).

La propriété précipitante est inhérente aux albumines du sérum, semblable en cela à la propriété agglutinante; et suivant Nolf (2), la précipitine est une globuline, ou du moins se sépare du sérum, avec les globulines. Aussi la réaction est-elle applicable à tous les liquides albumineux de l'organisme.

On l'a rencontrée notamment dans les urines albumineuses. MM. Leclainche et Vallée (3) ont injecté de l'urine de malades albuminuriques au lapin et ont ainsi développé dans le sérum de cet animal la propriété de précipiter l'albumine de l'urine humaine. Et ce qui prouve qu'il s'agit là d'une réaction spécifique, c'est que, comme l'a vu Mertens (4), ce sérum actif de lapin, qui précipite le sérum humain et l'urine albumineuse humaine, ne précipite pas l'urine albumineuse de lapins atteints

(1) G. LINOSSIER et G.-H. LEMOINE, Quelques remarques sur la recherche médico-légale du sang à l'aide des sérums précipitants (*Bull. de l'Acad. de médecine*, 25 mars 1902).

(2) P. NOLF, Contrib. à l'étude des sérums antihématiques (*Ann. de l'Institut Pasteur*, mai 1900, p. 297). — A. FALLOÏSE, Contrib. à l'étude des sérums précipitants (*Ibid.*, nov. 1902, p. 833).

(3) LECLAINCHE et VALLÉE, *Soc. de biologie*, 19 janv. 1901.

(4) V. E. MERTENS, *Deutsche med. Wochenschr.*, 1901, p. 161.

de néphrites (1). On peut donc, à l'aide de ce sérum actif, reconnaître si l'albumine trouvée dans l'urine humaine provient bien des albumines du sang, ou si c'est une albumine étrangère, introduite par exemple par l'alimentation.

Or, c'est précisément ce qui a été fait par MM. Linossier et Lemoine (2), chez un malade atteint d'albuminurie orthostatique qui supportait mal le régime du lait cru et avait subi, sous cette influence, une recrudescence d'albuminurie. La présence d'une albumine provenant du lait put être constatée dans son urine, parce que le sérum d'un lapin, injecté avec du sérum de génisse, la précipitait. Cette albumine d'origine bovine n'était pas, d'ailleurs, la caséine du lait, comme le montra l'analyse chimique. Mais, bien entendu, une partie seulement de l'albumine urinaire provenait du lait, et une autre, la plus grande, dérivait du sang, car la précipitation était encore plus accentuée lorsqu'on faisait agir le sérum de lapin injecté avec du sérum humain.

Ascoli (3) a trouvé, de la même manière, que chez les albuminuriques, après l'ingestion d'œufs crus, l'urine renfermait de l'ovalbumine.

Le lait a été soumis à la réaction précipitante, qui permet de reconnaître l'espèce animale qui l'a fourni. En effet, M. Bordet (4) avait constaté que les injections de lait de vache au lapin communiquent au sérum de ce dernier la propriété de précipiter la caséine du lait de vache, et Uhlenhuth (5) a établi ensuite

(1) Il est à remarquer que le précipité fourni dans les urines albumineuses par le sérum actif n'est pas toujours proportionnel à la dose d'albumine évaluée chimiquement au moyen de la précipitation par l'acide azotique. Le sérum actif précipite mieux la globuline que la sérine. — G. LINOSSIER et G.-H. LEMOINE, Sur les substances précipitantes des albumines (précipitines) contenues dans certains sérums spécifiques (*Soc. de biologie*, 25 janv. 1902, p. 83).

(2) G. LINOSSIER et G.-H. LEMOINE, Utilisation des sérums précipitants pour l'étude de certaines albuminuries (*Soc. de biologie*, 12 avril 1902, p. 415).

(3) ASCOLI, *Münch. med. Wochenschr.*, 11 mars 1902.

(4) J. BORDET, Le mécanisme de l'agglutination (*Ann. de l'Institut Pasteur*, mars 1899, p. 240).

(5) UHLENHUTH, Neuer Beiträge zum spezifischen Nachweis von Eiereiweiss, auf biologischen Wege (*Deutsche med. Wochenschr.*, 15 nov. 1900). — SCHLOSSMANN et MONO (*Münch. med. Wochenschr.*, 7 avril 1903) ont séparé dans le lait la caséine et une autre albumine, la lactalbumine : le sérum du lapin injecté avec du lait

que ce sérum ne précipite que la caséine du seul lait de vache.

La réaction précipitante peut s'obtenir avec tous les liquides albumineux de l'économie : salive, sperme, macérations de tissus, exsudats liquides. C'est donc une réaction très générale et vous avez pu voir, par les faits que je viens de vous exposer, quelles applications ingénieuses et utiles on est en droit d'en attendre.

Son mécanisme est encore peu connu : on l'attribue à une sorte de combinaison entre la substance précipitante ou précipitine du sérum actif et une substance précipitable, non spécifique, du sérum ordinaire. La précipitine s'atténue à la température de 60° C. et se détruit à 65°; la substance précipitable reste intacte à 60°.

La réaction précipitante est, comme je vous l'ai dit, spécifique. Cependant cette spécificité n'est que relative, comme l'ont fait remarquer MM. Linossier et G.-H. Lemoine. En effet, le sérum précipitant agit non seulement sur celui de l'espèce animale qui l'a fourni, mais aussi sur celui des espèces voisines. Par exemple, la précipitine active pour le sang humain l'est aussi pour le sang de singe : c'est un fait intéressant, dont il est bon d'être averti, mais qui, dans la pratique, ne pourrait être la source que d'erreurs bien exceptionnelles. De plus, si la réaction précipitante a lieu pour le sérum de plusieurs espèces, elle diffère du moins beaucoup dans son degré. Ainsi, d'après les recherches de MM. Linossier et G.-H. Lemoine, le sérum de lapin ayant reçu du sérum de génisse, précipite le sérum de génisse et le sérum humain; seulement, tandis qu'il est actif pour le premier à 1 p. 5000, il n'agit sur le second qu'à 1 p. 50. Il en résulte qu'en ayant soin de diluer suffisamment le sang suspect, on évitera toute confusion.

On s'est encore demandé si la réaction précipitante était

de vache précipite les solutions de caséine et de lactalbumine de vache; le sérum du lapin injecté avec la solution de lactalbumine de vache précipite cette solution, mais non celle de lactalbumine de femme. Le sérum du lapin injecté avec du lait de femme précipite la lactalbumine de femme et aussi le sérum humain.

spécifique pour une albumine donnée et s'il existait une précipitine spéciale pour chaque substance albuminoïde. La question a été résolue diversement par les expérimentateurs. Il ressort des recherches de MM. Linossier et G.-H. Lemoine qu'il n'y a pas de précipitine spécifique pour chaque albumine. L'injection de sérine, aussi bien que celle de globuline, développe la précipitine; mais la précipitine obtenue par les injections de globuline est la plus active; d'autre part, la précipitine obtenue par les injections de sérine se montre plus active pour la globuline que pour la sérine.

Ces notions sont intéressantes et méritent d'être rapprochées des données analogues fournies par l'étude des agglutinines et des lysines. Pour ces substances aussi, la spécificité n'est pas absolue: c'est surtout une question de degré. Le phénomène de l'agglutination des microbes et des hématies, celui de la bactériolyse et de la cytololyse, et celui de la précipitation des humeurs albumineuses peuvent s'observer sous l'influence d'une foule d'actions diverses, tant physiques que chimiques, et n'ayant rien de spécifique. La spécificité apparaît lorsqu'on emploie les réactifs biologiques, les produits d'organismes ayant réagi envers les bactéries, les cellules ou les humeurs considérées. Mais il y a des degrés dans cette spécificité. Nous avons vu que le sérum agglutinant de l'infection paratyphique peut agglutiner aussi le bacille d'Eberth, que la réaction de fixation obtenue avec le bacille d'Eberth se produit aussi avec le coli-bacille, que la précipitine du sérum humain agit aussi sur le sérum d'autres mammifères. Seulement il y a des différences souvent considérables dans l'intensité de la réaction. Il en résulte que la valeur pratique de ces réactions subsiste et qu'on peut aisément, en général, éviter toute confusion. Mais il n'en est pas moins d'intérêt d'observer qu'il y a en quelque sorte des échelons intermédiaires dans la spécificité, que là comme ailleurs la nature procède par transitions graduelles, et qu'en somme, ce qui caractérise la spécificité de ces réactions diverses, c'est le degré de leur sensibilité.

## DIX-NEUVIÈME LEÇON

### BASES DE LA CRYOSCOPIE MÉDICALE

Définition. — Notions élémentaires sur la congélation des dissolutions, la concentration moléculaire, la pression osmotique et leur rôle en biologie. — La plasmolyse et l'hématolyse.

On appelle *cryoscopie* (de *κρύος* froid, *σκοπεῖν* examiner) une méthode physique qui consiste à déterminer le point de congélation des solutions (1). Ce mot a été employé pour la première fois par le physicien français Raoult, professeur à Grenoble, dans une communication faite à l'Académie des Sciences le 22 juin 1885.

L'eau pure congèle à 0°; l'eau contenant des substances dissoutes congèle au-dessous de 0°: ce point de congélation varie nécessairement suivant la solution considérée; on le désigne par la lettre Δ. Le produit de la congélation des solutions aqueuses est de la glace pure, et non, comme on le croyait jadis, un mélange solidifié d'eau et de corps dissous.

Entreprise depuis plus d'un siècle, l'étude des lois qui régissent la congélation des solutions a été surtout faite par Raoult.

(1) La cryoscopie médicale a fait l'objet d'un très grand nombre de recherches, pour l'indication et l'analyse desquelles nous renvoyons le lecteur français aux travaux suivants: F. BOUSQUET, Recherches cryoscopiques sur le sérum sanguin, la plasmolyse et l'isotonie chez les êtres vivants (*Thèse de Paris*, 26 janv. 1899, n° 183); — A.-M. CHANOT, Considérations sur la pression osmotique et quelques propriétés des dissolutions. Applications à la biologie (*Thèse de Lyon*, 25 juil. 1899, n° 166); — H. CLAUDE et V. BALTHAZARD, La cryoscopie des urines, in *Actualités méd.*, Paris, 1901; — P. MULON, Applications médicales de la cryoscopie (*Thèse de Paris*, 29 mai 1901, n° 387); — LÉON BERNARD, La cryoscopie et ses applications cliniques (*Rev. de médecine*, févr. 1902, p. 210); — F. WIDAL et E. LESNÉ, Applications médicales de la cryoscopie, in *Traité de pathol. génér.* de Bouchard, t. VI, p. 661, 1902.