

## CHAPITRE PREMIER

### IMMUNITÉ CHEZ LES ORGANISMES UNICELLULAIRES

Maladies infectieuses des organismes unicellulaires. — Digestion intracellulaire chez les Protozoaires. — Amibodiastase. — Rôle de la digestion dans la défense des Protozoaires contre les parasites infectieux. — Défense des Paramécies contre les microbes. — Rôle de la sensibilité dans la défense des organismes inférieurs.

Immunité des êtres unicellulaires contre les toxines. — Accoutumance des Bactéries aux substances toxiques. — Sécrétion défensive de membranes par les Bactéries.

Adaptation des Protozoaires aux solutions salines. — Accoutumance des levures aux poisons. — Accoutumance des levures au galactose.

La sensibilité des organismes unicellulaires et la loi psycho-physique de Weber-Fechner.

L'immunité des êtres unicellulaires vis-à-vis des maladies infectieuses et contre les agents toxiques est connue d'une façon encore bien incomplète. Et cependant il est très utile de commencer l'étude du problème de l'immunité précisément par ces organismes inférieurs, à cause de la plus grande simplicité qu'ils présentent sous tous les rapports. On peut affirmer que si, dans l'étiologie des maladies de l'homme et des animaux supérieurs, on avait suivi la voie de la pathologie comparée, on aurait établi beaucoup plus tôt la nature parasitaire des infections. Ainsi, à l'époque où les médecins et les vétérinaires se contentaient de signaler la présence des bactéries dans le sang des malades, sans leur attribuer le moindre rôle étiologique, les botanistes et les zoologistes savaient déjà d'une façon précise qu'un grand nombre de plantes et d'animaux inférieurs étaient sujets à des maladies épidémiques, produites incontestablement par le parasitisme de différents organismes des plus simples. Dans la même année 1855, lorsque Pollender (1) publia ses premières observations sur la bactériémie dans le sang des animaux charbonneux, sans pouvoir affirmer le moindre rapport entre ce fait et la cause du charbon, le célèbre botaniste Alexandre Braun (2) fit paraître son travail sur le

(1) *Vierteljahresschrift für gerichtliche und öffentliche Medicin*, 1855, p. 402.

(2) *Ueber Chytridium*, dans *Monatsberichte der Berliner Akademie*, 1855, juin, n° 14.

genre *Chytridium*. Il y fournit la preuve que certaines plantes et infusoires flagellés subissaient l'invasion d'un parasite minuscule et mobile qui se fixait sur la paroi de leur corps, absorbait leur contenu et détruisait ses hôtes, produisant parmi ceux-ci de grands ravages. Le cycle de développement des chytridioms, établi par Al. Braun, ne laissa aucun doute sur l'exactitude de son opinion et permit même d'interpréter des observations plus anciennes de Stein sur la prétendue évolution de certains infusoires, en montrant que les changements observés chez ces êtres, étaient dus à leur invasion par des chytridioms.

Depuis cette époque, on a acquis la certitude que parmi les animalcules unicellulaires, certains flagellés et infusoires ciliés sont sujets à des maladies infectieuses, provoquées par le parasitisme des chytridiacées, rangées dans la classe des champignons inférieurs. De petites cellules mobiles, incolores, se fixent sur la surface des protozoaires ou bien pénètrent dans leur intérieur et absorbent presque totalement leur contenu vivant. Quelquefois ces parasites se multiplient d'une façon extraordinaire et font périr des quantités d'infusoires. Ainsi, M. Nowakowski (1) qui a donné une description très détaillée du *Polyphagus Euglenae*, la chytridiée de l'euglène verte, si commune dans l'eau douce, signale la disparition presque complète des euglènes dans ses bocaux de culture : les parasites « se reproduisent en si grande abondance qu'à la fin ils remplacent les euglènes ».

Parmi les flagellés, sujets à l'infection par les chytridiens, se trouvent presque exclusivement des représentants (*Cryptomonas*, *Chlamydomonas*, *Haematococcus*, *Phacus*, *Volvox*, etc.) qui se nourrissent à la façon des végétaux, c'est-à-dire en n'absorbant que des substances dissoutes dans les liquides environnants. Il est très remarquable que, dans le groupe des infusoires ciliés, le parasitisme des chytridiens s'observe également presque toujours dans les formes enkystées, c'est-à-dire à une époque où les animalcules, entourés de leur enveloppe, ne prennent pas de nourriture. L'invasion par les chytridiens a été constatée pour les kystes des vorticelliens, des oxytrichiniens, des Nassula, etc. (2). Ces faits indiquent que l'absence de la digestion des aliments solides, telle qu'elle se fait chez presque tous les infusoires ciliés, constitue une circonstance favorable à l'in-

(1) *Beitraege zur Biologie der Pflanzen* par Cohn. T. II, 1876, p. 210.

(2) Pour les parasites et les maladies des infusoires, consulter Bütschli, dans *Bronn. Classen u. Ordnungen d. Thier-Reichs*. T. I, 1889, pp. 872, 1823, 1944.

fection par les chytridiens. Tandis que les cultures des volvocinées, des euglènes et de leurs congénères sont presque toujours entravées par des épidémies parasitaires très meurtrières, celles des infusoires ciliés, capables de saisir et de digérer des organismes inférieurs, prospèrent pendant une période très longue. Ainsi Balbiani (1) a vu une de ses cultures de *Paramecium aurelia* se multiplier et vivre dans de très bonnes conditions pendant 14 années de suite. Eh bien, ces infusoires s'accommodent fort bien à de l'eau ordinaire, sans aucun traitement pour la rendre plus hygiénique. Ces eaux pullulent de toutes sortes d'êtres inférieurs, parmi lesquels les chytridiens et une quantité de bactéries. Les paramécies et les infusoires en général se nourrissent de ces organismes et contribuent largement à purifier les eaux. Presque tout le contenu des infusoires ciliés est constitué par un protoplasma digestif. Les bactéries et autres organismes inférieurs capturés, sont transportés dans ce milieu où les particules alimentaires s'entourent de vacuoles transparentes, dans lesquelles les êtres avalés sont tués et digérés. La nourriture, incluse dans les vacuoles, est promené dans l'endoplasma des infusoires, grâce aux mouvements circulaires de cette couche. Les vacuoles digestives se remplissent d'un liquide qui donne une réaction acide franche. Autrefois, pour démontrer cette réaction, on faisait ingérer à des infusoires des petits grains de tournesol bleu qui au bout de quelque temps viraient au rouge plus ou moins intense. L'emploi des couleurs d'aniline a beaucoup simplifié l'étude de la digestion chez les organismes microscopiques. En introduisant une solution d'alizarine sulfoconjuguée dans un liquide, renfermant des infusoires, on peut facilement observer la coloration jaune (caractéristique de la réaction acide) des vacuoles digestives. Lorsque les infusoires avalent des petits grumeaux de substances alcalines, colorées en violet par le réactif, les vacuoles prennent une teinte rouge, ce qui indique aussi l'acidité de leur contenu (2). Une autre couleur d'aniline, introduite dans la technique microscopique par M. Ehrlich (3), le rouge neutre (Neutralroth), permet déjà au bout de quelques minutes de constater la réaction acide des vacuoles digestives. Ainsi chez des paramécies, traitées avec une solution diluée de cette couleur, les vacuoles digestives prennent une teinte rose foncée, qui caractérise les acides. Cette coloration s'observe

(1) *Archives d'anatomie microscopique*, 1898. T. II, p. 595.

(2) Le Dantec, *Recherches sur la digestion intracellulaire*, Lille, 1891, p. 53.

(3) Ehrlich u. Lazarus, *Die Anaemie I*, Wien, 1898, p. 85.

pendant la vie des infusoires, mais aussitôt après leur mort les vacuoles deviennent brunâtres et finissent par se décolorer complètement. Cette réaction, facile à constater, indique la neutralisation de l'acidité des vacuoles par le protoplasma et l'eau ambiante, de réactions alcalines.

Dans un milieu franchement acide, les infusoires digèrent leur proie qui, dans un très grand nombre de cas, est constituée par des bactéries. Ces microbes sont avalés et propulsés dans l'endoplasma digestif à l'état vivant, ce qui est prouvé par les mouvements actifs d'un certain nombre d'entre eux. Au commencement, les bactéries se trouvent isolées dans l'intérieur des vacuoles, mais plus tard elles se tassent en amas plus ou moins compacts. Ces masses de microbes en voie de digestion se colorent en rose très foncé par le rouge neutre et conservent leur forme bacillaire jusqu'à la fin, c'est-à-dire jusqu'à l'expulsion de l'excrément. Il n'y a donc pas de dissolution tant soit peu complète non seulement des bacilles entiers, mais même de leur contenu. Les paramécies, mises en présence de vibrions cholériques, les avalent facilement et en grande quantité. Elles les traitent et les digèrent comme n'importe quel autre microbe. Je n'ai jamais pu voir de transformation des vibrions en granules s'opérer dans l'intérieur des vacuoles digestives.

Toutes les tentatives qui ont été entreprises dans mon laboratoire dans le but d'extraire des paramécies un liquide digestif, n'ont abouti qu'à un résultat négatif. Des quantités très grandes de ces infusoires, obtenus par filtration de cultures abondantes, et macérés par différents procédés, se sont montrées inactives même vis-à-vis des bactéries qui servent à leur alimentation normale.

Il n'est point douteux que la digestion intracellulaire chez les infusoires se fasse par l'action de quelque diastase. Seulement les propriétés de celle-ci, sauf le fait qu'elle peut agir dans un milieu franchement acide, ne peuvent point être révélées, justement à cause de l'impossibilité d'observer son action *in vitro*.

Jusqu'à ces derniers temps, la digestion des Rhizopodes a été encore moins connue que celle des Infusoires. On savait depuis longtemps que les Amibes, les *Actinophrys* et les Rhizopodes en général prenaient dans la plupart des cas une nourriture, composée de plantes et d'animaux inférieurs. Ces corps étrangers étaient englobés dans le corps protoplasmique grâce aux mouvements des prolongements amiboïdes, pseudopodes ou lobopodes. Une fois introduits dans l'inté-

rieur des Rhizopodes, les particules alimentaires s'entouraient d'un liquide digestif, dans lequel on pouvait reconnaître la présence d'acide, au moyen de réaction par les matières colorantes. L'addition d'une goutte de rouge neutre d'Ehrlich aux amibes, en train de digérer les bactéries, révèle aussitôt la réaction (Fig. 1).

M. Rhumbler (1) a décrit avec beaucoup de précision et de détails la façon dont se comportent les amibes en s'incorporant des filaments d'Oscillariées, beaucoup plus longs que leur propre corps. Il a décrit aussi la digestion que subissent ces algues et qui est surtout caractéristique dans des cas où une partie seulement des filaments a été englobée dans l'intérieur de l'amibe et soumise au travail digestif. Tandis que la partie libre de l'Oscillariée conserve ses propriétés normales et se présente colorée en vert bleuâtre, la partie englobée change progressivement de coloration. Elle prend d'abord une teinte vert foncé qui devient ensuite jaune claire, jaune

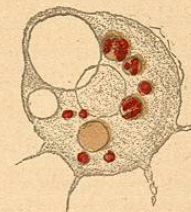


Fig. 1. — Une amibe traitée avec le rouge neutre à 1 %.

rouge, brun et finalement brun rouge. En même temps, la paroi cellulosique de l'algue commence à se ramollir, et les cellules se disloquent en petits tronçons qui ne tardent pas à être rejetés au dehors. Les aliments ne sont presque jamais digérés en entier et il en reste toujours des résidus abondants qui s'expulsent sous forme d'excréments solides.

On savait bien que la digestion chez les Rhizopodes se faisait dans un milieu nettement, quoique faiblement acide, et qu'elle nécessitait l'intervention de quelque ferment soluble. Mais ces notions étaient très vagues jusqu'aux recherches de M. Mouton (2) exécutées avec beaucoup de soin à l'Institut Pasteur. Pour arriver à des résultats précis, il s'est servi de cultures d'amibes sur gélose, faites en commun avec le colibacille qui leur servait de nourriture. Les petits microbes étaient englobés en grande quantité, après quoi ils étaient entourés de vacuoles et soumis à la digestion à l'aide d'un ferment que M. Mouton a pu obtenir *in vitro*. Dans ce but, il prélevait des quantités d'amibes et, après les avoir centrifugées avec de l'eau, il traitait le

(1) *Archiv für Entwicklungsmechanik*, 1898, t. VII.

(2) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 1901. T. CXXXIII, p. 244.

dépôt avec de la glycérine. A l'aide de l'alcool, il obtenait un précipité qui se dissolvait facilement dans l'eau.

Le liquide ainsi obtenu exerçait une influence digestive incontestable sur des substances albuminoïdes. Il liquéfiait facilement la gélatine et attaquait même, quoique faiblement, l'albumine coagulée par la chaleur. Les flocons de fibrine chauffée à 58° restaient inaltérés. Il y avait donc dans le liquide, préparé avec les amibes, une diastase protéolytique, mais d'activité faible. Par contre, le même extrait ne renfermait ni sucrase, capable d'invertir le sucre de canne, ni lipase pour digérer les matières grasses.

L'amibodiastase de M. Mouton doit être rangée dans le groupe des trypsines. Elle est très active dans un milieu nettement alcalin et continue à digérer lorsque le milieu devient faiblement acide (ce qui correspond à la réaction que l'on observe sur des amibes traitées avec des matières colorantes appropriées). Le chauffage de l'amibodiastase à 54° commence déjà à l'attaquer ; la température de 60° la détruit complètement.

La question qui nous intéresse surtout dans cet exposé concerne l'action de l'amibodiastase sur les bactéries. Les expériences nombreuses de M. Mouton, dirigées vers ce point et faites avec des colibacilles vivants, lui ont donné des résultats négatifs. Mais ces microbes, préalablement tués par la chaleur ou par le chloroforme, ont été bien attaqués par le ferment soluble des amibes. Des émulsions troubles de colibacilles morts, incapables de subir une auto-digestion quelconque, devenaient transparentes après quelque temps de contact avec l'extrait des amibes. L'amibodiastase digère donc bien *in vitro* les bactéries mortes, tandis que dans le corps des amibes elle attaque les bactéries englobées à l'état vivant. Il faut en conclure que ce n'est qu'une faible partie de cette diastase qui passe dans les extraits préparés par M. Mouton.

Cette digestion intracellulaire des protozoaires sert non seulement à leur nutrition, mais aussi à leur protection contre les parasites infectieux. Le protoplasma des infusoires, avec ses sécrétions vacuolaires, digère en général tout ce qui est à sa portée. Si les organes internes, comme les noyaux et les vacuoles pulsatiles, résistent à ce processus, cela tient incontestablement à leur propriété de se défendre contre l'attaque des sécrétions digestives. Aussi, comme il ressort des belles recherches de M. Maupas (1), le macronucléus des paramécies,

(1) *Archives de zoologie expérimentale*, 1889. T. VII, p. 446.

à une période déterminée de la vie de l'infusoire, est totalement digéré par le protoplasma, comme n'importe quel corps alimentaire, introduit du dehors. Il faut admettre que le noyau cesse de produire la substance protectrice qui l'empêche d'être digéré dans les conditions ordinaires de l'existence.

Une lutte semblable à celle que l'on observe entre le noyau et le contenu digestif des protozoaires se produit aussi entre ces derniers et les organismes infectieux. Tous les êtres qui, d'une façon quelconque, pénètrent dans l'intérieur du corps d'un infusoire ou d'un rhizopode, sont aussi mis en contact avec l'endoplasma digestif de ces protozoaires. Si les intrus sont tués et partiellement digérés par les sécrétions digestives ou bien expulsés à la façon des excréments, le protozoaire reste indemne et continue sa vie normale. Nous assistons ici à un exemple d'immunité naturelle, due à la digestion intra-cellulaire. Dans le cas contraire, c'est-à-dire lorsque l'organisme étranger résiste à cette action digestive, il s'installe définitivement dans le corps du protozoaire. Si le parasite ne se reproduit qu'en petit nombre, n'excrète aucun poison et, en général, n'exerce aucune influence nuisible sur son hôte, il devient facilement son commensal. Aussi il n'est pas rare de trouver dans le contenu des infusoires et des radiolaires des petits organismes végétaux des genres Zoochlorelles ou Zooxanthelles qui non seulement ne provoquent aucune maladie, mais peuvent même, grâce à l'assimilation de l'acide carbonique, être utiles pour leurs hôtes. Mais il y a des cas où les parasites agissent d'une façon plus ou moins nuisible sur les protozoaires qui les renferment. Alors il se produit une véritable infection, quelquefois mortelle.

Parmi ces maladies infectieuses des protozoaires, la mieux étudiée est celle qui est provoquée par plusieurs représentants d'un genre particulier de microbes, découvert par Johannes Müller en 1855 et qui a fait le sujet d'un travail, exécuté dans mon laboratoire par M. Hafkine (1). J'en ai déjà parlé dans mon ouvrage sur la pathologie comparée de l'inflammation (2), ce qui me permet de me résumer ici très brièvement. Les paramécies sont quelquefois contaminées par des parasites en forme d'aiguille ou de spirille qui pénètrent tantôt dans le macronucléus, tantôt dans le micronucléus, s'y reproduisent abondamment et provoquent une énorme hypertrophie des organes atteints. Malgré cela l'infusoire peut continuer à vivre et à se reproduire, ce qui

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1890, T. IV, p. 148.

(2) *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation*. Paris, 1892, p. 24.

lui permet souvent de guérir de sa maladie. D'un autre côté la paramécie, dans l'organisme de laquelle se sont introduites des spores du parasite, les traite comme n'importe quel corps étranger avalé. Faut de pouvoir les digérer, à cause de la résistance de la membrane de la spore, la paramécie les expulse, comme une substance excrémentitielle quelconque. L'infusoire se conduit de la même façon vis-à-vis des endospores bactériennes. Tandis que les bacilles du foin, si communs dans les infusions où vivent les paramécies, sont digérés dans leurs vacuoles endoplasmiques, les spores de ces bacilles, après un séjour plus ou moins prolongé dans les vacuoles, sont expulsées avec les excréments.

Comme de beaucoup la plus grande partie du corps des protozoaires est constituée par le protoplasma digestif, il est tout naturel que les épidémies infectieuses de ces animalcules soient en général très rares. Les infusoires et les rhizopodes, dont l'organisme est tout particulièrement adapté à se nourrir d'algues inférieures et de bactéries, ne sont pour ainsi dire jamais sujets à des maladies bactériennes. Les infections, observées chez les protozoaires, sont dues le plus souvent à l'invasion des champignons inférieurs, comme des chytridiens, des microsphaeres, des saprolégniées, ou bien à des organismes particuliers que nous venons de mentionner dans les noyaux des paramécies. Et encore ces infections se rencontrent le plus souvent chez des protozoaires incapables de véritable digestion intracellulaire, ou bien dans l'état enkysté, lorsque les infusoires, menant une vie latente, n'absorbent ni ne digèrent aucune nourriture. Comme exception je dois mentionner l'épidémie d'amibes, provoquée par les *Microsphaera* (1), et la maladie des Actinophryens, observée par M. K. Brandt (2) et attribuée à des champignons, voisins du genre *Pythium*. Dans les deux cas, il s'agit de parasites qui vivent et se développent dans l'intérieur du protoplasma actif de ces protozoaires. Il y a bien une partie des parasites qui est expulsée avec les excréments ; mais il en reste une autre qui s'installe dans le protoplasma, s'y multiplie et amène la mort des hôtes. Dans ces exemples, l'action digestive du protoplasma doit être neutralisée ou paralysée par des sécrétions du parasite. Mais ce côté de la question n'a pas encore été abordé jusqu'à présent.

En dehors de la digestion intra-cellulaire et de l'expulsion des parasites par la fonction excrétrice, la résistance des protozoaires contre les maladies infectieuses doit être en partie attribuée à leur grande

(1) *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation*, p. 21.

(2) *Monatsberichte d. Berliner Akad. d. Wissensch.*, 1881, p. 388.

sensibilité. Lorsqu'on observe les manœuvres des amibes ou de certains infusoires au milieu de toute une flore et une faune microscopiques, on est très frappé du choix que ces protozoaires font de leur nourriture. Souvent on voit des amibes rechercher uniquement des diatomées, dédaignant toutes les autres algues, ou bien choisir une espèce de palmellacées au milieu d'une flore très variée. Les infusoires ont aussi leur nourriture de prédilection. Beaucoup de ciliés choisissent presque exclusivement des bactéries ; d'autres, comme les *Nassula*, ont une prédilection particulière pour les oscillariées. L'exemple le plus frappant est présenté par l'*Amphileptus Claparedi*, un cilié vorace qui, au milieu de tous les animalcules, fait un choix exclusif des vorticelliens qu'il dévore, après quoi il se transforme en kyste fixé sur le pédoncule des vorticelliens. Cette sensibilité doit évidemment guider les protozoaires dans leurs relations avec d'autres organismes et leur permettre d'échapper à l'invasion des parasites.

Dans cet ordre d'idées, je dois mentionner une très intéressante observation de M. Salomonsen (1), communiquée au Congrès de Médecine de Paris en 1900. Ce savant a pu constater que presque tous les infusoires ciliés, sentant le voisinage de cadavres de leurs congénères, s'en éloignent rapidement, manifestant ainsi une chimiotaxie négative très accusée. Il est évident que cette propriété doit les mettre souvent à l'abri de la contamination par des parasites, contenus dans le corps des infusoires morts de maladies infectieuses.

Il y a donc toute une série de faits qui peuvent expliquer l'immunité naturelle des protozoaires vis-à-vis des microorganismes pathogènes. Mais jusqu'à présent on ne sait encore rien sur l'existence ou la possibilité d'une immunité acquise chez les animalcules inférieurs dans les maladies infectieuses. On est mieux renseigné sur la résistance des êtres unicellulaires à l'action des poisons solubles qui est, en général, beaucoup plus facile à étudier que l'immunité vis-à-vis des microbes mêmes.

Comme un très grand nombre d'animaux supérieurs sont extrêmement sensibles à l'action toxique des poisons d'origine bactérienne, on s'est demandé si les infusoires pouvaient également être empoisonnés par ces produits microbiens. Dans ce but, M. Gengou (2) a

(1) *Comptes rendus du Congrès international de Médecine tenu à Paris en 1900*. Section de bactériologie et de parasitologie.

(2) Sur l'immunité naturelle des organismes monocellulaires contre les toxines, *Annales de l'Institut Pasteur*. T. XII, 1898, p. 465.