

les cytases phagocytaires, se distinguant cependant de ces dernières par une plus grande sensibilité pour les alcalis. M. Kutscher (1), dans ses recherches sur l'autodigestion de la levure, a pu établir des faits analogues.

Les cytases et l'endotrypsine sont donc des endoenzymes, comme le sont aussi l'amibodiastase, l'actinodiastase, la plasmase (fibrinolyse) et la zymase d'E. Buchner. Toutes, elles restent confinées dans l'intérieur des cellules qui les ont élaborées, sans être sécrétées ou excrétées au dehors, comme la sucrase, ou invertine, produite par des levures ou des mucédinées.

Nos connaissances actuelles sur les cytases sont encore bien imparfaites, ce qui n'est pas étonnant, vu la nouveauté de la question. Les cytases que l'on trouve dans le sérum du même animal sont les mêmes, comme nous l'avons vu : la macrocytase qui dissout les hématies est la même qui digère les spermatozoïdes ; la même microcytase digère les bacilles, les spirilles et les cocci. Mais dans les sérums d'espèces différentes, les cytases diffèrent aussi. Ainsi les cytases de chien ne sont pas les mêmes que celles des sérums de lapin ou de cheval. Tandis que la plupart des cytases sont très sensibles à la chaleur et se détruisent déjà à 55°-56°, quelques-unes, comme la microcytase du sérum de rat, résistent à cette température et ne se détruisent qu'à 65°, présentant ainsi un exemple de cytase stable à la chaleur, semblable à celle qui avait été découverte par MM. Ehrlich et Morgenroth.

Il est encore très difficile d'établir si, en dehors des cytases, il existe d'autres endoenzymes dans l'intérieur des phagocytes, c'est-à-dire des ferments solubles qui ne passent pas dans les sérums après la destruction des phagocytes, restant toujours dans l'intérieur de ces cellules. Nos méthodes actuelles d'investigation ne permettent aucune conclusion à cet égard. Nous savons seulement que la digestion des éléments figurés est plus profonde dans l'intérieur des phagocytes que dans les sérums. Ainsi, comme nous l'avons vu dans le chapitre IV, les meilleurs sérums spermotoxiques et hémolytiques ne digèrent jamais ni les spermatozoïdes, ni les noyaux de globules rouges d'oiseaux. Et cependant ces éléments se dissolvent complètement dans le contenu phagocytaire. Cette différence dépend-elle de ce que, dans les sérums, on ne retrouve qu'une faible partie de la macrocytase, ou

(1) *Sitzungsberichte der naturforsch. Gesellschaft in Marburg, 1900.*

bien de l'influence nuisible de l'alcalinité des sérums sur la macrocytase qui agit mieux dans des milieux faiblement acides, ou de la présence dans les phagocytes d'autres endoenzymes, encore inconnues ? Autant de questions auxquelles nous ne pouvons répondre d'une façon précise.

De même que les cellules animales, englobées par les phagocytes dans la résorption (v. chap. IV) deviennent aussitôt perméables aux couleurs, les microbes de l'intérieur des phagocytes, dans l'immunité naturelle, acquièrent la même propriété. Assez souvent les microbes englobés, sous l'influence de l'action phagocytaire, deviennent capables de se colorer par l'éosine (fig. 36). Cette transformation éosinophile a été observée chez le vibron cholérique, le bacille charbonneux et chez le *Proteus vulgaris*. Elle est probablement très répandue parmi les bactéries phagocytées. Ce fait démontre clairement qu'au moins une certaine partie des granulations éosinophiles provient des corps étrangers, englobés par les phagocytes. Une autre partie de ces granulations est probablement due à la transformation de substances solubles, absorbées par les phagocytes. En effet, on voit souvent, pendant l'inflammation, beaucoup de microphages qui ne renferment aucun corps solide étranger, se charger d'une quantité de petites granulations pseudoéosinophiles.

Plusieurs vibrions et bacilles, englobés par les microphages, s'y transforment presque aussitôt en granules sphériques. Le vibron cholérique subit la même transformation dans l'exsudat péritonéal au moment de la phagolyse, ainsi que dans le sérum sanguin. Les bacilles coli, typhique et quelques autres coccobacilles ne se transforment point ou presque pas dans les sérums, mais accusent cette transformation en granules dans l'intérieur des microphages. Les macrophages digèrent au contraire les mêmes microbes (vibrions et coccobacilles) sans qu'ils présentent de signes de ce changement de forme. La membrane bactérienne résiste plus longtemps à l'influence de la digestion phagocytaire que le contenu, mais elle finit aussi par être complètement digérée. Après l'englobement et la destruction des microbes par les phagocytes, il y reste pendant longtemps des débris de forme indéterminée, mais je n'ai jamais pu constater d'excreta solides de ces cellules. Il faut donc croire que les parties indigestes ne s'éliminent pas en dehors des phagocytes.

Nous avons mentionné, dans le récit de la dissolution des globules rouges par les sérums normaux, l'opinion de MM. Ehrlich et Morgen-



roth qui pensent que jamais les cytases ne sont capables de se fixer à ces cellules sans le concours de fixateurs. Ils citent en faveur de leur opinion plusieurs exemples de fixateurs (substance intermédiaire, ou *Zwischenkörper*) qu'ils ont pu découvrir dans le sérum de plusieurs espèces de mammifères. En est-il de même de la microcytase par rapport aux microbes ? Si ce ferment soluble est incapable de se fixer tout seul sur le corps de ces parasites, le concours de fixateurs lui serait indispensable. La propriété bactéricide de la microcytase dépendrait donc de l'existence d'un autre corps (fixateur) qui, peut-être, n'aurait point les phagocytes pour origine. Le problème présente donc, comme on voit, une portée générale considérable.

Dans un de ses mémoires, M. Bordet (1) avait déjà posé cette question de l'existence de la propriété sensibilisatrice (ou fixatrice) dans les sérums neufs. En mélangeant deux sérums neufs, provenant d'espèces différentes, il a pu constater quelquefois l'existence de pareils fixateurs. Ainsi, les vibrions cholériques qui ne subissent pas de transformation granuleuse ni dans le sérum de cheval neuf (qui est capable seulement de les immobiliser et les agglutiner en amas), ni dans celui de cobaye neuf, se transforment facilement en granules lorsqu'on les met en contact du mélange des deux sérums. M. Bordet met du reste en garde contre une généralisation hâtive de cette observation et se propose de faire de nouvelles recherches sur ce sujet. Indépendamment de lui, Moxter (2) a essayé de démontrer la présence de fixateur dans le sérum de cobaye normal. Débarrassé des cytases par le chauffage, ce sérum est incapable de transformer les vibrions cholériques en granules ; mais, lorsqu'on lui ajoute du liquide de l'exsudat péritonéal du même cobaye, la transformation se fait peu de temps après. Cependant, comme cet exsudat était déjà par lui-même en état de produire le phénomène de Pfeiffer, les conclusions de Moxter sur la présence du fixateur dans le sérum de cobaye normal, ne peuvent être acceptées sans une analyse plus profonde des faits, ce qui demande de nouvelles recherches.

Un travail récent, exécuté par M. Bordet (3) en collaboration avec M. Gengou, travail consacré à l'étude de l'absorption des cytases par les microbes, sensibilisés à l'aide de fixateurs, nous renseigne aussi sur la question qui nous préoccupe en ce moment. Il a été facile d'é-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899. T. XIII, p. 295.  
 (2) *Centralblatt f. Bakteriologie*, 1899. T. XXVI, p. 344.  
 (3) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1901. T. XV, p. 289.

tablir la présence du fixateur dans des sérums vis-à-vis du vibron cholérique et de ses congénères, à cause de leur transformation en granules, appréciable à l'examen microscopique. Lorsqu'un sérum qui lui-même est incapable de provoquer cette transformation, la produit aussitôt qu'on lui ajoute un autre sérum, chauffé à 55°, on doit en conclure que le dernier liquide renferme le fixateur cholérique, tandis que le premier ne contient que des cytases. Mais, comme la plupart des bactéries ne subissent aucune transformation analogue dans les sérums, on manque dans ces cas d'un critérium de la présence du fixateur. MM. Bordet et Gengou ont obvié à cet inconvénient, en déterminant la fixation de l'alexine par des bactéries qui ne subissent ni transformation granuleuse, ni aucun autre changement visible. On prend un sérum neuf, non chauffé, qui contient toujours une quantité suffisante de cytases et on le mélange avec un microbe quelconque, par exemple avec du bacille charbonneux ou du coccobacille pesteux. Le sérum, décanté après un contact prolongé avec ces bactéries est tout aussi bien qu'auparavant capable de dissoudre les globules rouges d'espèce étrangère déterminée. Ceci prouve qu'il est resté des cytases dans le sérum, qu'elles n'ont pas été absorbées par les microbes. Répétons la même expérience avec cette différence qu'au lieu de bacilles charbonneux et de coccobacilles pesteux normaux, nous introduisons dans le sérum neuf, non chauffé, ces microbes, sensibilisés par les fixateurs correspondants (c'est-à-dire soumis à l'influence préalable de sérums spécifiques, chauffés à 55°). Après un contact d'une certaine durée avec ces bactéries, le sérum ne sera plus capable de dissoudre les globules rouges d'espèce étrangère déterminée, ce qui démontre que les cytases ont été fixées par les microbes, grâce au concours des fixateurs. On voit donc qu'il est facile de déterminer si un sérum, dont les propriétés sont inconnues, renferme ou non des fixateurs. On le chauffe à 55° et on le mélange avec du sérum neuf, non chauffé, auquel on ajoute des bactéries. Si, après le contact avec ces dernières, le sérum neuf a perdu le pouvoir de dissoudre les globules rouges (qu'il était capable de dissoudre auparavant), c'est que ses cytases ont été absorbées par les microbes, grâce au fixateur qui devait se trouver dans le sérum chauffé. Dans le cas contraire, on conclut à la non-existence du fixateur.

Dans leurs recherches, MM. Bordet et Gengou ont dû souvent employer des sérums neufs, non chauffés, auxquels ils ajoutaient plusieurs espèces de bactéries. Ils ont constaté que, dans ces mé-



langes, les cytases restaient intactes ou à peu près. Ces ferments solubles n'étaient pas ou presque pas absorbés par les microbes, ce qui prouve que, dans les sérums neufs, il n'y a pas de fixateurs en quantité tant soit peu appréciable. De toutes leurs expériences, celle qui nous intéresse le plus a été exécutée avec le *Proteus vulgaris*. Ce microbe, mis en contact prolongé avec le sérum de cobaye neuf, s'est montré incapable d'absorber les cytases d'une façon sensible. Tout au plus en fixait-il des quantités minimales. Il n'y a donc pas de fixateur pour le *Proteus* dans le sérum de cobaye neuf ou bien, s'il en existe, sa quantité est négligeable. Et cependant ce même *Proteus vulgaris*, injecté à des cobayes, est peu de temps après englobé et détruit par les phagocytes qui assurent à l'animal une immunité naturelle des plus stables. La facilité avec laquelle les leucocytes de cobaye dévorent le *Proteus* découle, entre autres, d'une expérience de M. Bordet (1), exécutée à propos d'une tout autre question. Un cobaye, très malade à la suite de l'injection dans sa cavité péritonéale d'un streptocoque très virulent, contient dans l'exsudat du péritoine une quantité de microphages vides, incapables d'englober ces microbes. A ce moment critique, on lui injecte dans le même endroit une masse de *Proteus vulgaris*. « Au bout d'un temps très court, on constate que les leucocytes qui refusaient énergiquement d'englober le streptocoque, se sont avidement emparés du microbe nouveau qu'on leur offre ; au bout d'une demi-heure, la totalité des microbes est à l'intérieur des phagocytes. »

Voilà donc bien une preuve réelle de ce fait que les phagocytes, pour débarrasser l'organisme d'un microbe et lui assurer une immunité naturelle, n'ont pas besoin du secours préalable d'un fixateur extraphagocytaire. Les phagocytes agissent pour ainsi dire *motu proprio* et règlent eux-mêmes la résorption des intrus. La question des fixateurs dans les sérums neufs perd donc pour nous son importance et leur origine ne présente plus d'intérêt essentiel pour le problème qui nous occupe en ce moment.

Peut-on conclure des données que nous venons de résumer que les cytases qui, sous plusieurs rapports, se rattachent aux trypsines, ont encore ce point commun avec elles qu'elles peuvent agir sans le concours de fixateur ? Il est connu, et nous en avons parlé dans notre chapitre III, que la trypsine peut digérer seule, ou en collaboration avec l'entérokinase, ce ferment du suc intestinal qui favorise si puis-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896. T. X, p. 107.

samment l'action des ferments pancréatiques. Est-ce aussi le cas des cytases ? Ce fait que, mis en contact avec le sérum neuf non chauffé de cobaye, le *Proteus vulgaris* est incapable d'absorber les cytases, tandis qu'il est si facilement digéré par les phagocytes, indique plutôt que, pour la fixation des cytases, le concours du fixateur est indispensable. Mais, comme ce fixateur fait défaut dans le sérum, et que malgré cela il doit exister pour le besoin de la digestion, il faut bien en conclure qu'il se trouve dans l'intérieur des phagocytes. Sa quantité est peut-être si faible que, passé dans le sérum, son action se perd totalement ou à peu près. De nouvelles recherches sont nécessaires pour élucider ce point délicat.

Mais peut-être les phagocytes qui, comme nous venons de le voir, peuvent entrer en lutte et englober les microbes sans que ceux-ci soient préalablement touchés par le fixateur, sont-ils incapables de remplir leur rôle sans le concours de quelque autre substance, circulant dans le plasma sanguin ? Parmi ces substances, il y en a une qui agit manifestement sur les microbes, en les immobilisant et en les réunissant en amas. Cette propriété agglutinative se rencontre souvent dans les humeurs normales de beaucoup d'espèces animales et s'exerce vis-à-vis d'un grand nombre de bactéries. On peut la constater non seulement dans le sérum sanguin, mais encore dans les liquides des transsudats et des exsudats et dans certaines sécrétions, comme le lait, les larmes, l'urine. Le mécanisme de cette action agglutinative est encore très peu connu et nous pouvons d'autant plus nous dispenser d'entrer dans les détails à son sujet qu'il ne présente pas une grande importance au point de vue de l'immunité naturelle.

Nous avons déjà parlé dans le précédent chapitre de l'englobement des vibrions cholériques dans la cavité péritonéale des cobayes. Dans les cas où ces animaux manifestent une résistance définitive, les phagocytes dévorent les vibrions à un moment où ils présentent des mouvements très actifs. Même dans la période où la plus grande majorité des vibrions sont déjà saisis par les leucocytes et où il ne reste plus que quelques vibrions libres isolés, ceux-ci se meuvent de façon normale. Ces faits, observés maintes fois, démontrent nettement que la phagocytose, pour s'effectuer, peut se passer d'action agglutinative préalable, ce qui n'empêche pas que lorsque les microbes sont réunis en amas immobiles, ils peuvent être entourés par les leucocytes avec plus de facilité.

Dans le cas du bacille typhique, microbe des plus mobiles, on



observe les mêmes faits qu'avec le vibrion cholérique. On voit souvent, chez des animaux indemnes, les derniers bacilles libres se mouvoir très vivement au milieu des leucocytes, remplis de microbes. Dans beaucoup d'autres exemples d'immunité naturelle, on rencontre constamment des phagocytes, ne renfermant qu'un seul ou un petit nombre de microbes (streptocoques, levures, etc.).

Des exemples de microbes mobiles à l'intérieur des phagocytes prouvent aussi la possibilité pour ces cellules de se passer du concours de substance agglutinative pour leur œuvre protectrice. Le cas le mieux étudié de rapports entre l'immunité naturelle et l'agglutination est celui qui concerne le bacille charbonneux. C'est M. Gengou (1) qui a exécuté à l'Institut bactériologique de Liège un travail très détaillé sur cette question. Il a établi que le bacille du premier vaccin charbonneux pasteurien est agglutiné par le sérum sanguin d'un grand nombre d'animaux. Mais il a constaté que les sérums qui agglutinent le plus ce bacille ne proviennent pas des espèces les plus réfractaires. C'est le sérum humain qui agglutine le plus fortement le bacille du premier vaccin (dans la proportion d'une partie de sérum pour 300 parties de culture) et cependant l'homme n'est rien moins qu'indemne contre le charbon. Le sérum de pigeon est au contraire complètement dépourvu du pouvoir agglutinatif, quoique cette espèce résiste non seulement au premier vaccin, mais assez souvent même au charbon virulent. Le sérum de bœuf, espèce sensible au charbon, est plus agglutinatif (1 : 120) que celui de chien (1 : 100), réfractaire. Il y a parmi ces exemples aussi des cas exceptionnels, où la propriété agglutinative correspond au degré de réceptivité. Ainsi le sérum de souris n'agglutine pas du tout la bactériodie du premier vaccin. Seulement, à côté de cet exemple, il y a celui du rat, espèce d'une sensibilité modérée pour le charbon, dont le sérum possède le moindre pouvoir agglutinant, n'agissant qu'en proportion de 1 : 10. Tous ces faits justifient pleinement le résultat formulé par M. Gengou qu'« on ne peut pas établir de relation entre le pouvoir agglutinant et l'état réfractaire des animaux au charbon » (p. 319). Cette conclusion peut être étendue aux phénomènes de l'agglutination des microbes et de l'immunité naturelle en général.

Parmi les propriétés des humeurs, il en existe encore une qui pourrait jouer un rôle dans l'immunité naturelle contre les microbes. J'ai

(1) *Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, 1899. T. VI, p. 299 et *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899. T. XIII, p. 642.

en vue le pouvoir du sang et de certains autres liquides de l'organisme de neutraliser l'action des poisons microbiens. Peut-être, peut-on se demander, les phagocytes ne sont capables d'entrer en fonction qu'après une action préalable des antitoxines? Après la neutralisation du principal moyen des microbes de nuire à l'organisme, ces parasites, devenus inoffensifs, pourraient alors facilement être détruits par les cellules phagocytaires. Nous avons déjà eu l'occasion d'aborder cette question fondamentale. Ainsi nous avons insisté dans les chapitres précédents sur l'absence de parallélisme entre l'immunité contre les microbes et contre leurs toxines et sur l'exemple des bactéries anaérobies (tétanos, vibrion septique, charbon symptomatique), vis-à-vis desquelles la phagocytose s'accomplit sans aucun concours de fonction antitoxique. Maintenant nous devons passer directement à l'examen de la question des antitoxines dans les humeurs des animaux naturellement réfractaires contre les microbes et de leur rôle éventuel dans cette immunité.

Les cas de sérums antitoxiques chez des animaux normaux sont en général très rares. On pourrait croire que ceux d'entre eux qui sont doués d'immunité naturelle contre les microbes et en même temps contre leurs toxines, présentent un pouvoir antitoxique naturel appréciable. Examinons quelques exemples des plus typiques. La poule jouit d'une immunité très prononcée contre le bacille tétanique et sa toxine; son sang et son sérum cependant ne manifestent aucun pouvoir antitoxique, comme cela a été prouvé par M. Vailard (1) et confirmé par plusieurs autres observateurs. Le rat est très réfractaire à la diphtérie; il résiste à l'inoculation sous-cutanée d'une grande quantité de bacilles diphtériques et supporte bien la toxine diphtérique, injectée ailleurs que dans le cerveau. Eh bien, comme l'a démontré M. Kouprianow (2), dans un travail exécuté sous la direction de M. Lœffler, le sérum sanguin et l'émulsion d'organes de rats gris (*Mus decumanus*) ne jouissent d'aucune propriété antitoxique. Ce fait a été aussi confirmé par d'autres observateurs. M. v. Behring (3), dans un aperçu des phénomènes de l'immunité en général, résume la question qui nous intéresse de la façon suivante: « Nous ne trouvons pas d'antitoxine dans le sang des individus natu-

(1) *C. r. de la Soc. de Biologie*, 1891, p. 464.

(2) *Centralblatt für Bakteriologie*, 1894. T. XVI, p. 415.

(3) Article « Immunität » dans la troisième édition de la *Real-Encyclopedie d'Eulenburg*, 1896.



rellement réfractaires ». Il y a cependant quelques exceptions, peut-être seulement apparentes, à cette règle. Ainsi M. Wassermann (1) a constaté que le sérum sanguin, chez l'homme sain, est quelquefois antitoxique vis-à-vis du poison diphtérique. Les personnes qui fournissaient cette antitoxine affirmaient n'avoir jamais eu de diphtérie. Mais on sait que cette maladie évolue quelquefois d'une façon si bénigne qu'elle peut passer inaperçue. Plus concluant serait l'exemple de chevaux normaux, dont le sérum sanguin, comme l'ont démontré M. Meade Bolton et M. Cobbet, est assez souvent antitoxique pour la toxine diphtérique. Seulement, cette propriété n'est pas propre à l'espèce chevaline en général et chez certains individus elle fait complètement défaut. Ce dernier fait indique que le pouvoir antitoxique des chevaux a été plutôt acquis à la suite de quelque affection, produite par un bacille diphtérique. Cette supposition n'a pas encore été assez étudiée et ne peut pas par conséquent avoir la prétention d'être acceptée comme définitive. Récemment, MM. Max Neisser et Wechsberg (2) ont découvert une antitoxine du sang humain, capable d'empêcher la dissolution des globules rouges par la toxine des Staphylocoques. Ce pouvoir antitoxique est très variable selon les individus et s'explique probablement par le fait que le Staphylocoque est un des microbes des plus répandus parmi la flore bactérienne du corps humain. Les petites affections produites par ces microbes (acnés, furoncles, etc.) sont tellement fréquentes chez l'homme qu'elles peuvent facilement donner lieu à la production d'antitoxine. Seulement dans cet exemple, il s'agirait encore d'un cas de pouvoir antitoxique acquis.

Les exemples que je viens de citer sommairement, ne peuvent nullement ébranler cette thèse générale que les phagocytes, pour remplir leur fonction microbicide dans l'organisme, doué d'immunité naturelle, n'ont pas besoin d'une action préalable des humeurs pour neutraliser les toxines correspondantes.

Les faits et les opinions, analysés dans ces deux chapitres, nous donnent un tableau général des phénomènes qui se manifestent dans l'immunité naturelle contre les microbes. Le trait dominant est représenté par la réaction phagocytaire qui s'observe dans toute l'échelle animale et s'exerce vis-à-vis de parasites appartenant à tous les groupes microbiens. Cette phagocytose se manifeste non seulement

(1) *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1894, p. 120.

(2) *Zeitschrift für Hygiene*, 1901, T. XXXVI, p. 299.

par les macrophages, mais aussi à un degré très élevé par les microphages qui se présentent comme des cellules défensives par excellence contre les microbes. Leur fonctionnement se divise en une série d'actes physiologiques, vitaux, comme la sensibilité pour les microbes et leurs produits, les mouvements amiboïdes qui servent à l'englobement des microbes, et en des processus chimiques ou physico-chimiques, comme la destruction et la digestion des microbes dévorés.

Les phagocytes entrent en lutte contre les microbes et en débarrassent l'organisme, sans avoir besoin d'aucun concours préalable de la part des humeurs. La phagocytose, s'exerçant envers les microbes vivants et virulents, suffit pour assurer l'immunité naturelle. Le pouvoir bactéricide du sérum qui, pendant longtemps, servait de base à une théorie humorale de l'immunité, ne représente qu'une qualité artificielle, développée à la suite du dégagement de la microcytase des leucocytes, éclatés après la saignée. Le pouvoir agglutinatif des humeurs normales ne joue aucun rôle marqué dans l'immunité naturelle.

Les phagocytes, pour accomplir leur fonction, peuvent s'attaquer aux microbes capables de produire leurs toxines. Une action antitoxique quelconque vis à vis de ces poisons bactériens n'est nullement nécessaire pour permettre l'entrée en scène de la phagocytose.

Tout l'ensemble des données, recueillies sur l'immunité naturelle contre les microbes, démontre bien que la destruction de ces parasites dans l'organisme réfractaire ne représente qu'un cas particulier de la résorption des éléments figurés.