

CHAPITRE VIII

APERÇU DES FAITS SUR L'IMMUNITÉ ACQUISE CONTRE LES MICROBES

La découverte des virus atténués et son application à la vaccination contre les maladies infectieuses. — Vaccination par les produits microbiens. — Vaccination avec les sérums. — Immunité acquise de la grenouille contre la maladie pyocyanique. — Immunité acquise contre les vibrions. — Destruction extracellulaire du vibron cholérique. — Rôle de deux substances dans la production du phénomène de Pfeiffer. — Spécificité des fixateurs. — La phagolyse et son rapport avec la destruction extracellulaire des vibrions. — Le rôle de la phagocytose dans l'immunité acquise contre les vibrions. — Sort des spirilles de la fièvre récurrente dans l'organisme de cobayes immunisés. — Immunité acquise contre les microbes de la fièvre typhoïde et de la maladie pyocyanique. — Immunité acquise vis-à-vis des bacilles du rouget des porcs et du charbon. — Immunité acquise contre le Streptocoque. — Immunité acquise des rats contre le Trypanosome.

Certaines notions sur l'immunité acquise sont d'origine tout aussi ancienne que celles sur l'immunité naturelle. Comme, depuis très longtemps, on savait déjà que l'homme est par sa nature réfractaire à plusieurs maladies, très graves pour le bétail, de même on savait qu'après une première atteinte d'une maladie contagieuse, comme la variole, la rougeole, la scarlatine, la fièvre typhoïde, etc., l'homme acquiert une immunité durable. On connaissait que la même règle s'applique aux animaux domestiques et que par exemple les bœufs, guéris de peste bovine ou les moutons, guéris de clavelée, deviennent réfractaires à ces maladies.

Les découvertes de la variolisation et de la vaccination, comme procédés pour communiquer la résistance de l'homme contre la variole, ont fait notablement progresser les connaissances sur l'immunité acquise. Les recherches sur les propriétés du vaccin ont amené déjà quelques résultats importants. Mais ce n'est que depuis les travaux de Pasteur, exécutés avec ses collaborateurs, MM. Chamberland et Roux d'abord, Thuillier, plus tard, qu'on a pu commencer l'étude de l'immunité acquise par la méthode vraiment scientifique. Le premier jalon dans cette série de découvertes qui ont inauguré une voie si

féconde à la science et à l'art médical, a été posé par le fait de l'atténuation des microbes. Le petit coccobacille du choléra des poules s'est trouvé après plusieurs semaines de culture en bouillon notablement atténué dans sa virulence. Pasteur a eu l'idée de vérifier si les poules qui avaient bien résisté à l'inoculation de ces microbes atténués, avaient acquis une véritable immunité vis-à-vis du choléra des poules virulent. L'expérience confirma sa prévision et amena la découverte du vaccin contre cette maladie. Aussitôt on se mit à appliquer la méthode à d'autres épizooties infectieuses et peu de temps après, Pasteur, Chamberland et Roux trouvèrent le moyen de préserver des moutons et des bœufs contre le charbon bactérien. Dans ce but, ils durent empêcher ce bacille de produire des spores (ce qu'ils réussirent en le cultivant en bouillon à la température de 42° 5), car les spores fixent la virulence et empêchent l'atténuation. Après avoir vaincu ce principal obstacle, Pasteur et ses collaborateurs ont vu leurs cultures, dépourvues de spores, s'atténuer sous l'influence de l'air et se transformer en vaccins. Ils ont pu de cette façon préparer leurs deux vaccins charbonneux qui trouvèrent bientôt une application si large dans la pratique. Peu d'années plus tard, Pasteur et Thuillier ont trouvé les vaccins contre le rouget des porcs et, en collaboration avec MM. Roux et Grancher, Pasteur fit la première application de ses découvertes à la vaccination de l'homme contre la rage.

La voie ainsi ouverte fut parcourue par beaucoup d'autres savants et donna lieu à un grand nombre de découvertes remarquables. La vaccination avec des microbes est devenue méthode courante et trouva bientôt, entre les mains de MM. Arloing, Cornevin et Thomas, son application au charbon symptomatique ou bactérien. Le pas suivant dans cette marche progressive de la science fut réalisé par la découverte de MM. Salmon et Smith qui démontrèrent, pour la première fois, à propos du Hog-Choléra, la possibilité de vacciner non seulement avec des microbes, mais aussi avec des liquides de culture, dans lesquels s'étaient développées ces bactéries. Ces liquides, complètement débarrassés de microbes par filtration, préservaient les animaux d'expérience du Hog-Choléra virulent. Cette découverte, au premier moment un peu incertaine, fut bientôt confirmée et élargie par des travaux d'autres savants. MM. Beumer et Peiper l'étendirent à la maladie expérimentale des petits animaux de laboratoire, provoquée par le bacille typhique ; M. Charrin l'appliqua à la maladie qu'il obtint avec le bacille du pus bleu. MM. Chamberland et Roux préparèrent des

vaccins avec des produits solubles du vibrion septique et du bacille du charbon symptomatique. Depuis ces travaux, les vaccinations par les produits microbiens sont devenues courantes dans tous les laboratoires de recherches, les vaccinations pratiques (charbons bactérien et bactérien, rouget des pores, rage) ayant conservé la méthode d'inoculation des virus vivants.

L'histoire comparée de l'immunité acquise est encore très peu avancée. Les faits sur l'adaptation des organismes unicellulaires à toutes sortes d'influences nuisibles de nature physique ou chimique permettent de prévoir que l'immunité acquise est tout aussi générale chez les êtres vivants que l'immunité naturelle ; seulement, il est impossible, dans l'état actuel de la science, de confirmer cette hypothèse par des données précises et expérimentales. La cause de cet état imparfait réside dans la grande difficulté qui se présente pour exécuter des expériences sur des animaux inférieurs. La plupart des Invertébrés ne vivent pas assez longtemps en captivité et ne sont pas accessibles aux inoculations répétées, indispensables pour obtenir une immunité acquise bien manifeste contre les microbes. M. Kowalevsky (1) le célèbre zoologiste russe, a essayé de vaincre toutes ces difficultés en s'adressant aux Myriapodes. Il a constaté d'abord que les Scolopendres, inoculées avec des bactériidies, en meurent, pendant les chaleurs de l'été, avec une quantité de bacilles charbonneux dans le sang. Mais lorsque la température ne dépasse pas 17°-18°, un assez grand nombre de ces Myriapodes survivent. La même survie a été observée après l'injection du premier vaccin pasteurien. M. Kowalevsky a utilisé les Scolopendres, ayant résisté à la première injection de bactériidies, pour voir si elles avaient contracté une immunité acquise. Les résultats n'ont pas été absolument démonstratifs et M. Kowalevsky les a formulés dans la phrase suivante : « Je ne puis donc pas dire que je suis arrivé à résoudre la question de la vaccination, qui me paraît cependant très probable » (p. 607).

En présence de cette indécision, j'ai demandé à M. Mesnil de faire une nouvelle tentative, en se servant de Scolopendres et en les inoculant avec des bacilles charbonneux. Mais ces animaux se montraient si délicats et si peu capables de vivre longtemps dans les conditions artificielles de leur captivité, que l'essai a dû être bientôt abandonné. J'ai tâché d'obtenir de meilleurs résultats avec des larves d'*Oryctes*

(1) *Archives de Zoologie expérimentale*, 1893, 3^e série. T. III, p. 591.

nasicornis, mais ici encore je me suis heurté à des difficultés trop grandes. Ces insectes manifestaient une immunité naturelle absolue vis-à-vis de certains microbes, tandis que pour d'autres ils accusaient une sensibilité insurmontable. Il est de toute évidence que l'immunité acquise ne doit pas s'obtenir facilement chez les Invertébrés.

Il a donc fallu remonter l'échelle animale et s'adresser aux Vertébrés « à sang froid ». Le choix s'est arrêté tout naturellement sur la grenouille. J'ai prié M. le Dr Gheorghiewski (1), qui travaillait dans mon laboratoire, d'essayer de vacciner ces batraciens contre la maladie pyocyanique. Je dois dire d'abord que le bacille du pus bleu est pathogène pour la grenouille. Il la tue à la température ordinaire du laboratoire, ainsi qu'à celle de l'étuve, à 30°-37°. Dans le premier cas, la dose mortelle est beaucoup plus forte que dans le second, mais il est toujours facile de produire une infection mortelle. Sous ce rapport, le bacille pyocyanique est donc beaucoup plus avantageux pour l'étude que la bactériodie ou tant d'autres microbes. M. Gheorghiewski vaccinait ses grenouilles vertes (*Rana esculenta*), habituées à vivre à l'étuve à 30°, en leur injectant tous les 4 à 7 jours des doses considérables de cultures pyocyaniques, chauffées à 80° pour tuer tous les microbes. Quelques (3-4) semaines après, les grenouilles préparées devenaient plus résistantes vis-à-vis du bacille pyocyanique que les témoins, placés dans les mêmes conditions. Les grenouilles, inoculées avec la dose mortelle de bacilles vivants, manifestaient sûrement un certain degré d'immunité acquise, quoique faible. Elles supportaient bien la dose sûrement mortelle pour les témoins ou même une dose et demie, mais mouraient dès qu'on leur injectait la dose deux fois mortelle. Le liquide lymphatique des grenouilles vaccinées agglutinait faiblement (1:20-1:30) le bacille pyocyanique, en lui fournissant en même temps un excellent milieu de culture. M. Gheorghiewsky a pu s'assurer que l'agglutination était insuffisante pour assurer l'immunité aux grenouilles. Aussi les bacilles agglutinés en amas se présentaient comme très virulents.

L'examen détaillé des phénomènes qui se passent chez les grenouilles immunisées a révélé les faits suivants. Pendant les premiers moments, les bacilles, injectés dans le sac lymphatique dorsal, se trouvent libres dans le liquide en conservant bien leur forme et sans se transformer en granules. Les microbes se répandent avec rapidité

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899. T. XIII, p. 314.

dans tout le corps, transportés par le courant lymphatique. Mais déjà très peu de temps après l'inoculation, quelques leucocytes commencent à englober les bacilles du pus bleu qui se transforment en boules dans l'intérieur de ces cellules. Plus tard, la réaction phagocytaire s'accroît et au bout de 15 à 20 heures, tous les bacilles se trouvent déjà à l'intérieur des leucocytes. Il a été facile de s'assurer que ces microbes ont été englobés à l'état vivant. Au bout de 48 heures après l'inoculation, on ne trouve plus dans la lymphe du sac dorsal de bacilles ni en dedans, ni en dehors des cellules. Mais, ensemencé sur des milieux nutritifs, ce liquide donne des colonies du bacille pyocyanique jusqu'à 15 et même 18 jours après l'inoculation.

On peut conclure de ces faits que les Vertébrés « à sang froid » sont capables d'acquérir l'immunité à un faible degré et que, dans cette immunité acquise, on constate une phagocytose prononcée, mais pas de pouvoir bactéricide des humeurs.

Afin de se rendre compte d'une façon plus complète du mécanisme de l'immunité acquise, il est nécessaire de l'observer chez des Vertébrés supérieurs, chez lesquels on obtient facilement cette immunité à un degré très élevé. Nous devons donc nous adresser aux mammifères et passer en revue un nombre suffisant d'exemples, avant de présenter aux lecteurs un résumé général de la question.

Pendant longtemps, les recherches sur l'immunité acquise se résument presque uniquement à l'analyse des faits observés chez des animaux soumis aux vaccinations anticharbonneuses à l'aide des deux vaccins pasteurisés. On a réussi à rassembler de cette façon un grand nombre de faits importants, dont les principaux doivent être présentés au lecteur. Seulement, avant d'aborder ce sujet, il est indispensable de donner une orientation générale sur l'immunité acquise des animaux de laboratoire vis-à-vis des vibrions, car cet exemple domine pour ainsi dire tout le chapitre sur l'immunité acquise contre les microbes.

Dans leurs recherches sur le pouvoir bactéricide des sérums, MM. v. Behring et Nissen (1) ont examiné entre autres plusieurs échantillons de sérums, provenant d'animaux vaccinés contre divers microbes. Tandis que, dans la majorité de leurs exemples, l'immunité acquise ne provoquait aucune augmentation de ce pouvoir, le sérum sanguin de cobayes, bien immunisés contre le vibron de Gamaleïa

(1) *Zeitschrift für Hygiene*, 1890. T. VIII, p. 412.

(*Vibrio Metchnikovi*), se montrait beaucoup plus bactéricide vis-à-vis de ce microbe que le sérum de cobayes neufs, sensibles. Ces auteurs arrivèrent à la conclusion que, dans l'immunité acquise, au moins dans le cas du vibron nommé, le principal rôle est accompli par une substance bactéricide qui se développe dans les humeurs des animaux vaccinés. Ils se contentèrent de cette constatation, sans avoir essayé d'établir la marche du phénomène de la destruction des vibrions dans l'organisme de cobayes vaccinés. C'est M. R. Pfeiffer (1) qui, en collaboration avec M. Issaëff, a cherché à combler cette lacune. Seulement, au lieu du vibron de Gamaleïa, ces observateurs ont concentré leurs efforts sur l'étude de l'immunité acquise des cobayes contre le vibron cholérique. Comme ce microbe est en général moins virulent que le vibron de Gamaleïa, pour obtenir l'infection mortelle, il faut l'injecter non pas dans le tissu sous-cutané, mais dans la cavité péritonéale. Nous avons vu déjà dans le chapitre VI que le vibron cholérique, inoculé dans le péritoine du cobaye, y rencontre une vive opposition de la part des leucocytes qui saisissent les vibrions vivants et virulents et, les digérant, en débarrassent l'organisme. Mais, lorsqu'on augmente la quantité des vibrions, ceux-ci se multiplient, malgré la réaction phagocytaire ; on les voit pulluler dans la cavité péritonéale, d'où ils envahissent les vaisseaux lymphatiques et sanguins et amènent la mort de l'animal. Il est donc facile de provoquer une infection mortelle chez le cobaye par le vibron cholérique. Mais il est facile aussi de vacciner ces animaux contre cette maladie expérimentale. Il n'y a qu'à leur inoculer une quantité non mortelle de vibrions cholériques vivants, ou bien à leur injecter une culture de ces microbes, tués par la chaleur, ou du liquide de culture, débarrassé des vibrions par filtration. Tous ces procédés amènent, au bout de peu de temps, l'immunité acquise des cobayes. Si, à ce moment, on leur retire un peu de sang et que l'on ajoute au sérum une petite quantité de vibrions cholériques, *in vitro*, on pourra facilement constater leur disparition sous l'influence de la substance bactéricide, dissoute dans le liquide. Sous ce rapport, il y a donc une grande analogie avec le fait établi par MM. v. Behring et Nissen au sujet du vibron de Gamaleïa.

Lorsque l'on injecte dans le péritoine de cobayes vaccinés une certaine quantité de culture cholérique qui renferme des vibrions viru-

(1) *Ibid.*, 1894. T. XVII, p. 355 et *Deutsche medic. Wochenschr.*, 1896, pp. 97 et 119.

lents et bien mobiles, et que l'on prélève avec un tube effilé du liquide péritonéal, on constate que les vibrions ont subi dans l'organisme réfractaire des modifications profondes. Déjà peu de minutes après l'injection des vibrions, les leucocytes disparaissent presque totalement du liquide péritonéal ; on n'y trouve que quelques petits lymphocytes et une grande quantité de vibrions, dont la majorité s'est déjà



Fig. 39. — Phénomène de Pfeiffer du vibron cholérique dans le péritoine.

transformée en granules (fig. 39), présentant le phénomène de Pfeiffer des plus typiques. A côté de granules ronds, on observe des vibrions gonflés, d'autres ayant conservé leur forme normale, mais tous absolument immobiles. Quelques granules ainsi constitués se réunissent en petits amas, d'autres restent isolés dans le liquide. Lorsqu'on ajoute à la goutte pendante qui renferme des vibrions transformés, un peu de solution aqueuse étendue de bleu de méthylène, on voit que certains granules se colorent d'une façon très intense, tandis que d'autres ne prennent qu'une teinte très pâle, à peine visible. Beaucoup de ces granules sont encore vivants, car il est facile de les voir se développer en dehors de l'organisme, et s'allonger en nouveaux vibrions. Mais une grande quantité de granules ne manifestent plus aucun signe de vie et sont évidemment morts. M. R. Pfeiffer et quelques autres observateurs affirment que les granules peuvent se dissoudre complètement dans le liquide péritonéal comme un morceau de sucre se dissout dans l'eau. Nous avons beaucoup cherché cet acte de disparition des granules dans des gouttes pendantes du liquide péritonéal, mais le nombre de ces vibrions transformés ne diminuait jamais, même après plusieurs jours, et nous n'avons pas pu non plus saisir le phénomène de la dissolution des granules. Il est quand même incontestable que la transformation granuleuse est une manifestation de lésions très graves, subies par les vibrions cholériques sous l'influence du liquide péritonéal de l'organisme immunisé.

On a voulu préciser le mécanisme du phénomène de Pfeiffer et M. Fischer (1) a cherché à le réduire aux influences osmotiques, exer-

(1) *Zeitschrift für Hygiene*, 1900. T. XXXV, p. 4.

cées par les sels des liquides, dans lesquels sont suspendus les vibrions. Ceux-ci, sous l'action des milieux plus riches ou plus pauvres en sels que le liquide dans lequel ils s'étaient développés, présenteraient une augmentation de leur pression intérieure, à la suite de laquelle les vibrions gonfleraient ou laisseraient échapper à l'un de leurs pôles une gouttelette sphérique de protoplasma. Cette explication n'a pas été suffisamment appuyée par son auteur et ne peut être considérée comme démontrée. Au contraire, on est forcé d'admettre que la transformation granuleuse est due à une action fermentative de l'exsudat péritonéal, comme nous le verrons plus tard.

Pendant que les vibrions subissent dans le péritoine d'un cobaye immunisé cette transformation, l'animal se rétablit d'un malaise tout passager et continue à vivre, tandis que les cobayes neufs, non vaccinés, meurent avec une quantité énorme de vibrions qui grouillent dans l'exsudat péritonéal. La différence entre les deux animaux est tout à fait saisissante et on comprend facilement que M. Pfeiffer, impressionné par elle, ait pu attribuer l'immunité acquise de ses cobayes uniquement à la transformation granuleuse, provoquée par une substance bactéricide, contenue dans les humeurs des animaux immunisés.

La facilité avec laquelle on se rend compte du changement de forme des vibrions sous l'influence des liquides de l'organisme, favorise beaucoup l'étude de la substance bactéricide. Avant de passer à la question du rôle de cette substance dans l'immunité acquise, nous devons nous arrêter sur les propriétés principales de celle-ci. Très manifeste dans le liquide péritonéal, le pouvoir de provoquer le phénomène de Pfeiffer l'est aussi dans le sérum sanguin de cobayes immunisés, ainsi que l'a démontré M. Bordet. Une goutte de ce sérum, lorsqu'il est tout frais, transforme facilement, et au bout de peu de temps, une quantité de vibrions en granules. Mais il suffit que le sérum ait plusieurs jours de date ou bien qu'on le chauffe à 55° pendant une heure, pour que la substance qui produit le phénomène de Pfeiffer disparaisse totalement. Cette particularité dénonce aussitôt la présence de microcystase dans les humeurs de cobayes, ayant acquis l'immunité contre le vibron cholérique. Seulement, le sérum sanguin et le liquide péritonéal de ces animaux, après avoir été dépouillés de leur microcystase par le chauffage à 55° ou 56°, conservent un pouvoir remarquable sur les vibrions. Ces microbes ne subissent plus la transformation granuleuse, sous l'influence des humeurs chauffées,

mais, ils s'immobilisent, s'agglutinent en amas et acquièrent une sensibilité particulière à l'action de la cytase. J'ai (1) pu démontrer, bientôt après la découverte du phénomène de Pfeiffer, que cette transformation granuleuse peut être obtenue *in vitro* dans les conditions suivantes. On prépare une goutte pendante avec du sérum sanguin de cobaye vacciné contre le vibrion cholérique, sérum qui a perdu le pouvoir de transformer par lui-même les vibrions en granules. On y ajoute une gouttelette de lymphé péritonéale d'un cobaye neuf, non vacciné ; cette lymphé renferme des leucocytes morts ou vivants et est, à elle seule, également incapable de produire le phénomène de Pfeiffer. Eh bien, lorsqu'au mélange de ces deux liquides, inactifs quand ils sont employés séparément, on ajoute un peu de vibrions cholériques, ceux-ci ne tardent pas à se transformer en granules. Cette transformation, obtenue *in vitro*, est tout à fait pareille à celle qui se produit dans le péritoine de l'animal vacciné.

M. Bordet (2) a fait dans mon laboratoire un travail très complet sur le phénomène de Pfeiffer en dehors de l'organisme et a trouvé que, dans mon expérience, on peut remplacer la lymphé péritonéale par le sérum sanguin de cobaye neuf, sans que pour cela la transformation granuleuse subisse la moindre entrave. M. Bordet a approfondi notablement cette étude et est arrivé à ce résultat que le phénomène de Pfeiffer est dû à l'action de deux substances. L'une d'elles se trouve dans le sérum sanguin et dans le liquide péritonéal de cobaye vacciné contre le choléra, chauffés à 55°-56° ou dépouillés par un autre moyen quelconque de leur pouvoir de transformer, seuls, les vibrions en granules. Cette substance résiste à cette température et ne perd son action qu'après le chauffage à 68°-70°. La seconde des deux substances, celle qui se trouve dans la lymphé péritonéale ou dans le sérum sanguin de cobaye neuf, est au contraire détruite à 55°-56° et n'est autre que la cytase (ou l'alexine) ordinaire, présente dans les liquides des animaux normaux.

Les faits que nous avons relatés à propos du phénomène de Pfeiffer dans les humeurs des animaux immunisés doivent donc être interprétés de la façon suivante. L'exsudat péritonéal ou le sérum sanguin frais de ces animaux produisent facilement la transformation granuleuse, parce que, dans ces liquides, se trouvent réunies les deux substances nécessaires. Mais, comme la microcytase est une substance très

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895. T. IX, p. 433.

(2) *Ibid.*, p. 462.

labile qui, sous l'influence du temps ou du chauffage à 55°-56°, se détruit, les liquides des animaux immunisés la perdent avec une grande facilité. Le sérum sanguin devient donc, après quelques temps de séjour en dehors de l'organisme, incapable de transformer les vibrions en granules. Seulement, lorsqu'on lui ajoute un peu de cytase qui se trouve dans le sérum sanguin ou dans la lymphé péritonéale de cobaye neuf, la transformation se produit avec une grande rapidité. On restitue donc au sérum des animaux immunisés, devenu inactif, sa propriété de provoquer le phénomène de Pfeiffer. Cette interprétation, formulée par M. Bordet, correspond à tout l'ensemble de faits connus et est acceptée d'une façon générale.

Comme les liquides des animaux immunisés, devenus incapables de transformer les vibrions en granules, conservent leur pouvoir d'immobiliser ces microbes et de les réunir en amas, on pourrait se demander si cette substance agglutinative ne serait pas la substance thermostabile qui est nécessaire pour la production du phénomène de Pfeiffer. Pendant quelque temps, on a pu croire en effet que ce phénomène est dû à la microcytase, agissant sur des vibrions, impressionnés d'abord par la substance agglutinative. Celle-ci résiste au chauffage à 55°-56° et n'est détruite qu'à des températures plus élevées ; elle se conserve dans le sérum sanguin longtemps après que la cytase a complètement disparu. L'analogie entre la substance agglutinative des liquides des animaux ayant acquis l'immunité, et la substance thermostabile des mêmes humeurs est incontestable et pourtant ces deux substances ne sont pas identiques. Toute une série de faits, dont nous ne tarderons pas à entretenir le lecteur, démontrent cette thèse d'une façon définitive. Un sérum peut être très agglutinatif sans être capable de faciliter la transformation des vibrions en granules, et inversement. La substance qui favorise le phénomène de Pfeiffer et qui se trouve dans les humeurs de cobayes immunisés est une « substance fixatrice » analogue à celles que nous avons déjà rencontrées dans les sérums des animaux, habitués à résorber les divers éléments cellulaires. De même que dans la résorption des cellules, dans la destruction des microbes, les fixateurs sont aussi spécifiques. Celui qui favorise la transformation en granules est non seulement différent des fixateurs qui sensibilisent les hématies ou les spermatozoïdes, mais est aussi différent des fixateurs qui sensibilisent les autres bactéries. Cette spécificité a été dévoilée et beaucoup étudiée par M. Pfeiffer qui a établi qu'elle peut servir même pour la

distinction des espèces bactériennes. Un sérum de cobaye, immunisé contre le vibrion cholérique, sensibilise uniquement ces vibrions à l'action de la microcytase. Même des vibrions voisins, comme beaucoup de vibrions des eaux, par exemple, ne sont pas sensibles au fixateur du sérum anticholérique. D'un autre côté, les sérums, obtenus après l'inoculation de ces vibrions aquatiques, sont incapables d'amener la transformation granuleuse chez le vibrion cholérique.

Lorsqu'à un seul et même animal, on injecte plusieurs espèces vibrioniennes, on obtient un sérum ou un liquide péritonéal qui produisent le phénomène de Pfeiffer avec les vibrions de toutes les espèces qui ont servi à faire les inoculations. Ce sérum antivibrionien ne renferme qu'une seule cytase pour les vibrions, mais contient autant de fixateurs différents qu'il y a eu d'espèces inoculées.

La transformation des vibrions en granules, lorsqu'elle se produit fortement vis-à-vis des vibrions virulents, sous l'influence des liquides de l'organisme d'animaux immunisés, est un indice très précieux de la présence simultanée de la cytase et du fixateur spécifique. Comme nous l'avons exposé plus haut, au commencement de ce récit sur l'immunité acquise de cobayes contre le vibrion cholérique, le phénomène de Pfeiffer se manifeste dans le liquide péritonéal de ces animaux déjà peu de temps (3 à 20 minutes) après l'inoculation des vibrions. Ceci démontre que, dans ce liquide, il y a réellement les deux substances réunies et que le fixateur et la cytase se trouvent dissous dans le plasma de l'exsudat. En est-il de même dans toutes les parties du corps des cobayes immunisés ? Si, au lieu du péritoine, nous introduisons le vibrion du choléra dans le tissu sous-cutané ou dans la chambre antérieure de l'œil de ces animaux, le phénomène de Pfeiffer ne se produira pas du tout. Les vibrions, isolés ou réunis en petits amas, ne subissent pas de transformation granuleuse ; ils conservent bien leur forme vibrionienne normale et restent vivants beaucoup plus longtemps que dans le péritoine. On en trouve qui vivent encore 24 heures après l'injection sous la peau et plusieurs (4-6) jours dans la chambre antérieure de l'œil. Lorsqu'on introduit le vibrion cholérique dans l'œdème de la patte, produit à la suite de ralentissement de la circulation, le phénomène de Pfeiffer n'aura pas lieu non plus et les vibrions survivront pendant un temps assez long. Ces faits indiquent bien que dans le liquide de l'œdème passif, comme dans l'humeur aqueuse de l'œil ou dans le tissu sous-cutané, il n'y a pas les deux substances nécessaires pour amener la transformation granuleuse. Mais sont-

elles absentes toutes les deux ou bien n'y en a-t-il qu'une seule qui manque ? Cette question est facile à résoudre à l'aide de l'addition aux liquides mentionnés de sérum de cobaye neuf, sérum qui, par lui-même, est incapable de produire le phénomène de Pfeiffer. M. Bordet (1) a fait ces expériences et est arrivé au résultat que le liquide de l'œdème passif du cobaye immunisé, additionné de sérum neuf, transforme le vibrion cholérique en granules, mais en moindre proportion que ne le fait le sérum du même cobaye immunisé, chauffé à 55°-56°, et également additionné de sérum neuf. Il y a donc lieu de conclure que le liquide de l'œdème ne renferme pas de cytase, mais contient une certaine quantité de choléra-fixateur, moindre cependant que celle qui se trouve dans le sérum sanguin. Quant à l'humeur aqueuse de l'œil des animaux immunisés, les expériences analogues ont démontré qu'elle ne renferme aucune des deux substances, nécessaires à la production du phénomène de Pfeiffer.

A l'aide des faits que j'ai rapportés sommairement, on arrive à la conception suivante. Chez l'animal, immunisé contre le vibrion cholérique, la microcytase se trouve dans l'exsudat péritonéal, mais ne passe ni dans le liquide de l'œdème passif, ni dans l'humeur aqueuse de l'œil ; le choléra-fixateur se trouve également dans le liquide péritonéal et passe dans l'œdème, mais ne pénètre pas dans le liquide de l'œil. Ceci indique que la microcytase se trouve dans les humeurs, riches en leucocytes, et manque dans celles qui ne renferment que très peu ou pas du tout de ces cellules.

L'introduction de vibrions dans la cavité péritonéale de cobayes immunisés, amène aussitôt le phénomène de Pfeiffer et provoque en même temps la disparition de la plupart des leucocytes de la lymphe du péritoine. Nous avons eu déjà plusieurs fois occasion de parler de cette phagolyse, car elle se produit à la suite de l'injection de sang, de sperme ou de toutes sortes de liquides dans le péritoine. La phagolyse est d'autant plus forte que la quantité de liquide injecté est plus grande et que sa température diffère plus de celle du péritoine normal.

M. Pierallini (2) a étudié dans mon laboratoire la phagolyse dans la cavité péritonéale du cobaye et est arrivé à plusieurs résultats, dignes d'attention. De tous les liquides, par lui employés, tels que eau, bouillon, cultures microbiennes filtrées, solution physiologique de chlorure

(1) Contribution à l'étude du sérum chez les animaux vaccinés. *Annales de la Soc. r. des sciences naturelles et médicales de Bruxelles*, 1895. T. IV.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897. T. XI, p. 308.