

xique pendant la vie à la suite de blessures ou d'absorption de la nourriture venimeuse. La théorie de l'insensibilité des cellules des organismes naturellement réfractaires aux toxines doit aussi être rejetée, car elle est incompatible avec les faits bien établis. Il reste donc à supposer que les principaux facteurs qui assurent cette immunité naturelle sont des éléments figurés qui s'interposent pour barrer la route aux poisons dans leur acheminement vers les cellules nerveuses, toujours très sensibles à leur action toxique.

## CHAPITRE XII

### IMMUNITÉ ARTIFICIELLE VIS-A-VIS DES TOXINES

Accoutumance aux poisons. — Immunité artificielle contre les toxines bactériennes et végétales et contre le venin des serpents. — Principaux procédés d'immunisation. — Immunisation par les toxines et les toxoïdes. — Vaccination contre la toxine diphtérique. — Phénomènes qui se produisent au cours de la vaccination contre les toxines. — Hyperthermie. — Leucocytose. — Développement du pouvoir antitoxique. — Propriétés des antitoxines. — Mode d'action des antitoxines. — Action des antitoxines *in vitro*. — Leur action dans l'organisme. — Influence des éléments vivants sur la combinaison de l'antitoxine avec la toxine. — Action antitoxique des sérums non spécifiques, des sérums neufs et du bouillon. — L'immunité contre les toxines n'est pas en proportion directe avec la richesse des humeurs en antitoxines. — Hypersensibilité de l'organisme traité avec des toxines. — Diminution de la sensibilité de l'organisme immunisé contre les toxines.

Hypothèses sur la nature et l'origine des antitoxines. — Hypothèse de la transformation des toxines en antitoxines. — Hypothèse des récepteurs détachés des cellules comme source des antitoxines. — Hypothèse de l'origine nerveuse de l'antitoxine tétanique. — Fixation de la toxine tétanique par la substance des centres nerveux. — Les rapports entre la Saponine et la Cholestérine. — Le sérum antiarsénieux. — Rôle des phagocytes dans la lutte de l'organisme contre les poisons. — Le rôle probable des phagocytes dans la production des antitoxines.

Tandis que les savants ne sont arrivés que depuis un peu plus de dix ans à vacciner contre les poisons par des procédés artificiels, les peuples sauvages et ceux de l'antiquité possédaient déjà depuis des temps très anciens des méthodes pour se préserver contre l'effet de certaines substances venimeuses. L'observation fréquente des cas où des doses de poisons, insuffisantes pour donner la mort, amenaient un état résistant plus ou moins durable, devait avoir comme conséquence l'élaboration de moyens artificiels pour empêcher les intoxications.

M. v. Behring (1) pense avec raison que des faits analogues ont dû être connus des médecins de l'antiquité et que c'est dans ces connaissances qu'il faut chercher la source du dogme, professé par Hippocrate, que le même facteur qui produit la maladie est capable aussi d'en préserver.

Pline raconte l'histoire, depuis devenue si généralement connue, de Mithridate du Pont-Euxin qui possédait le moyen de se préserver

(1) *Allgemeine Therapie der Infektionskrankheiten*, Berlin, Wien, 1899, p. 982.



contre beaucoup de poisons par une sorte d'accoutumance et, entre autres, par l'emploi du sang de canards pontins, auxquels il faisait avaler des poisons.

L'accoutumance à l'arsenic des chevaux et des montagnards de Styrie, ainsi qu'à la morphine de tant de morphinomanes de nos jours sont des faits connus de tout le monde. Un homme, accoutumé à la morphine, peut en consommer tous les jours une dose plusieurs fois mortelle. Il y a des cas où l'on arrive à absorber jusqu'à deux et même trois grammes de morphine par jour.

L'accoutumance de l'homme peut être acquise vis-à-vis des substances toxiques de composition chimique la plus diverse, comme l'arsenic, l'alcool, la morphine, la nicotine, etc. Même à une époque où l'on avait déjà beaucoup de connaissances sur l'immunité acquise contre les microbes, on ne savait encore rien sur le mécanisme de l'accoutumance, ni sur la possibilité d'obtenir une immunité spéciale contre les poisons bactériens. La découverte de MM. Charrin et Gamaleïa que les animaux vaccinés contre un microbe sont tout aussi sensibles à leurs produits toxiques que les animaux neufs, a fait dire à M. Bouchard (1), dans le laboratoire duquel elle a été faite, que l'idée de l'accoutumance des cellules aux poisons bactériens doit être complètement abandonnée. Il a développé cette thèse au Congrès international de Berlin en 1890, et l'a formulée de la façon suivante : « Quand on injecte à un animal sain et à un vacciné les produits solubles du microbe qui a vacciné l'un des deux, il faut exactement la même dose pour tuer les deux animaux. Ne parlons donc pas d'entraînement des leucocytes et d'accoutumance des cellules nerveuses aux poisons bactériens : c'est pure rhétorique ». A ce moment-là, on avait commencé seulement à acquérir des connaissances précises sur les toxines des microbes. Pendant toute une époque, on les cherchait parmi les ptomaines, substances très stables, voisines des alcaloïdes ; mais on avait fait fausse route en suivant cette direction. Ce n'est qu'à partir des recherches classiques de MM. Roux et Yersin (2) sur la toxine diphtérique, publiées en 1888 et 1889, que fut révélée la vraie nature des poisons bactériens. Au lieu d'être des ptomaines, ils appartiennent à la classe des ferments solubles, ces substances de composition chimique indéterminée, voisines des albuminoïdes et

(1) *Essai d'une théorie de l'infection*, Berlin, 1890 et *Les microbes pathogènes*, Paris, 1892, p. 33.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1888. T. II, p. 629 et 1889, T. III, p. 273.

tout aussi instables. Les méthodes, employées par MM. Roux et Yersin dans leur étude sur la toxine diphtérique, ont permis bientôt après à d'autres savants de retrouver les toxines analogues de quelques autres bactéries. M. Knud-Faber (1) et MM. Brieger et C. Fränkel (2) ont réussi à préparer une toxine du bacille tétanique, capable de produire chez les animaux des contractures tétaniques aussi typiques que celles qu'on obtient avec des cultures du bacille du tétanos.

Ces travaux ont inauguré une nouvelle ère en Microbiologie et ont permis pour la première fois d'aborder d'une façon scientifique le problème de l'immunité acquise vis-à-vis des toxines bactériennes. Quelques mois à peine s'écoulèrent après la déclaration de M. Bouchard au Congrès de Berlin que parurent, à quelques jours de distance, les premières publications sur la possibilité de vacciner les animaux de laboratoire contre les toxines diphtériques et tétaniques par des procédés artificiels. Dès la découverte de ces poisons, on se mit aussitôt à immuniser contre eux plusieurs espèces animales, mais on se heurta à des difficultés très grandes, car les animaux maigrissaient et mouraient à la longue, après avoir reçu des doses croissantes de toxines. M. C. Fränkel (3) eut l'idée d'affaiblir l'action toxique du poison diphtérique, en le soumettant préalablement à la température de 60°. Indépendamment de lui, MM. v. Behring et Kitasato (4) employèrent dans cette intention, des substances chimiques, notamment le trichlorure d'iode, pour atténuer l'effet des toxines tétaniques et diphtériques. Les animaux qui résistaient bien à ces poisons, ainsi modifiés, se sont montrés capables de supporter des doses de plus en plus croissantes de toxines intactes, très actives. Par ces procédés, on a pu arriver à communiquer une immunité certaine et stable contre ces produits microbiens.

La découverte de la possibilité de vacciner contre les toxines bactériennes a été suivie aussitôt de celle du pouvoir antitoxique du sang des animaux, ayant acquis l'immunité artificielle contre ces poisons. Tout le monde connaît et apprécie à sa valeur cette grande découverte, faite par M. v. Behring en collaboration avec M. Kitasato. Elle a ouvert une voie nouvelle et féconde aux points de vue des plus divers. M. Ehrlich (5) a su l'appliquer à la vaccination des

(1) *Berliner klin. Wochenschr.*, 1890.

(2) *Ibid.*, 1890, n° 41.

(3) *Ibid.*, 1890, n° 48.

(4) *Deutsche medicin. Wochenschr.*, 1890, n° 49.

(5) *Deutsche medicin. Wochenschr.*, 1891, pp. 976 et 1218.



animaux contre les poisons végétaux, ricine, abrine et robine, ce qui lui a permis d'établir des procédés rigoureux d'immunisation et d'obtenir des résultats très importants sur l'immunité contre les toxines en général. Il a réussi en même temps à constater que les animaux, vaccinés contre ces poisons végétaux, qui, par leur nature, se rapprochent déjà des toxines microbiennes, développent dans leur sang une propriété antitoxique des plus manifestes.

Quelques années plus tard, la découverte des antitoxines a pu être étendue aux venins des serpents, ces poisons d'origine animale qui eux aussi présentent une composition chimique analogue à celle des toxines microbiennes et des poisons végétaux, étudiés par M. Ehrlich. Ce sont MM. Phisalix et Bertrand (1) et M. Calmette (2) qui, indépendamment les uns des autres, trouvèrent des méthodes de vaccination contre le venin des serpents et démontrèrent l'existence de la propriété antitoxique du sang chez des animaux immunisés.

Tous ces travaux que nous venons de mentionner brièvement, ont constitué la base fondamentale de nos connaissances actuelles sur l'immunité acquise vis-à-vis des toxines.

Il serait très intéressant d'établir si les animaux inférieurs peuvent être aussi vaccinés contre les substances toxiques, vis-à-vis desquelles ils sont sensibles. Malheureusement, ce problème rencontre dans son étude de très grandes difficultés. Nous avons essayé souvent de le résoudre, en nous servant de différents procédés. Les écrevisses, étant sensibles au venin des serpents et à l'ichtyotoxine du sérum d'anguille, nous avons tenté à plusieurs reprises de les vacciner contre ces poisons. Les résultats ont été si inconstants et même contradictoires que nous avons dû renoncer à en tirer quelque conclusion précise.

Même il est très difficile de vacciner les vertébrés inférieurs contre les poisons. On a essayé plusieurs fois dans mon laboratoire d'immuniser des grenouilles contre la toxine tétanique, mais sans succès. MM. Calmette et Délearde (3) ont obtenu de meilleurs résultats avec l'abrine. Les grenouilles, peu sensibles à cette toxine végétale, mais loin de présenter une véritable immunité naturelle, ont pu être vaccinées contre des doses sûrement mortelles pour les témoins. Seulement, les observateurs que nous venons de citer ont dû procéder avec un grand ménagement et espacer les injections d'abrine à de longs

(1) *C. r. de la Soc. de Biologie*, 1894, p. 111.

(2) *Ibid.*, pp. 120, 204.

(3) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, T. X, p. 683.

intervalles. Le sang de leurs grenouilles vaccinées, non seulement ne s'est pas montré antitoxique vis-à-vis de l'abrine, injectée à des souris, mais a conservé pendant longtemps assez de cette toxine pour être capable d'empoisonner des souris neuves. Cette expérience plaide certainement contre l'hypothèse, d'après laquelle l'immunité acquise des grenouilles dépendrait du développement dans leurs humeurs d'un pouvoir antitoxique spécifique; mais elle est incapable de trancher la question d'une façon définitive, car on pourrait toujours objecter que le sang, étant toxique pour la souris, pourrait être au contraire antitoxique pour la grenouille. L'antitoxine de ce sang serait seulement incapable de neutraliser toute la quantité présente d'abrine. Des nouvelles recherches sont donc nécessaires.

Même chez des vertébrés supérieurs, la difficulté est souvent très grande pour obtenir une vaccination véritable contre les diverses toxines. Ce sont surtout les petits mammifères, qui accusent une grande sensibilité pour ces poisons, dont l'immunité artificielle est difficile à obtenir. Comme l'ont démontré MM. Vaillard et v. Behring, on peut réussir à les vacciner avec des doses croissantes de toxines non modifiées, mais cette méthode demande beaucoup de temps et est souvent dangereuse, ce qui la rend peu pratique. Les poisons qui agissent à travers le tube digestif peuvent mieux servir pour la vaccination, comme l'a démontré M. Ehrlich. Ce savant a dû renoncer à vacciner les souris par des injections sous-cutanées de ricine, à cause des escarres qui se produisaient au point inoculé. C'est alors qu'il a eu recours à la vaccination par voie buccale qui lui a donné de très bons résultats, non seulement pour la ricine, mais aussi pour l'abrine. Seulement ce mode de vaccination n'est applicable que pour un petit nombre de poisons.

On peut encore vacciner des mammifères, même des rongeurs de laboratoire, comme lapins et cobayes, au moyen du venin des serpents non modifié, mais cette méthode est très délicate et doit être très surveillée. Il faut commencer par de très petites doses de venin, les continuer pendant longtemps et n'augmenter la quantité de venin injecté qu'avec une progression très lente. M. Calmette (1) a modifié cette méthode, en insérant à demeure, sous la peau, un petit bâton de craie imprégné de petites quantités de venin et entouré de collodion. Dans ces conditions, le venin diffuse très lentement et d'une façon continue à travers le collodion.

(1) *Le venin des serpents*, 1896, p. 54.



Les grands mammifères, moutons, bœufs, chevaux, peuvent être plus facilement vaccinés avec des toxines non modifiées, mais ils demandent aussi un ménagement tout particulier. MM. Salomonsen et Madsen (1) ont raconté l'histoire de leur cheval, immunisé avec la toxine diphtérique. A une jument de 665 kilos, ils n'ont pu injecter au début qu'un c. c. de cette toxine et ils ont dû augmenter les doses avec une grande prudence.

En présence de toutes ces difficultés de vaccination avec des toxines non modifiées, on procède généralement d'une façon toute différente à l'immunisation des animaux petits ou grands dans le but de recherches scientifiques ou pour la préparation industrielle des antitoxines en grand. On commence à vacciner avec des toxines modifiées par la chaleur ou par des substances chimiques. Les toxines diphtérique et tétanique, celles qui s'emploient le plus dans l'industrie sérothérapeutique, sont soumises au chauffage à différents degrés. C'est M. Fränkel (2) qui le premier a employé cette méthode pour la vaccination contre la diphtérie et M. Vaillard (3) l'a appliquée pour la vaccination contre le tétanos. Elle consiste à introduire des doses massives de cultures filtrées, chauffées à des températures progressivement décroissantes, 60°, 55°, 50°, puis des quantités graduellement augmentées de cultures filtrées dont la toxicité est entière. Ce procédé est très commode pour les petits animaux, mais pour les grands mammifères, on le simplifie de beaucoup, en n'injectant pendant un certain temps que des toxines chauffées à 60° et en les remplaçant plus tard par de la toxine non modifiée.

MM. Phisalix et Bertrand (4) ont appliqué une méthode analogue pour vacciner le cobaye contre le venin de vipère. Ce poison, qui résiste à des températures beaucoup plus élevées que les toxines tétanique et diphtérique, a dû être préalablement chauffé à 80° pour pouvoir être inoculé sans danger à des petits animaux. Dans ces conditions il confère une certaine immunité, mais même chauffé à 80°, il reste encore assez actif pour produire souvent des accidents mortels. Voilà pourquoi, dans la vaccination des animaux pour la préparation du sérum antivenimeux en grand, M. Calmette a eu recours à un au-

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897. T. XI, p. 316.

(2) *Berliner klinische Wochenschr.*, 1890, n° 48.

(3) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892. T. VI, p. 225.

(4) *C. r. de l'Acad. des Sc.*, 1894, 5 février. *C. r. de la Soc. de Biologie*, 1894, 10 février.

tre procédé qui consiste à affaiblir le venin par des substances chimiques.

Ce sont MM. v. Behring et Kitasato (1) qui les premiers se sont servis du trichlorure d'iode pour vacciner les animaux contre les toxines du tétanos et de la diphtérie. Ils l'injectaient avant l'introduction des toxines. Plus tard, ils préparaient le mélange *in vitro* et l'injectaient à des animaux. M. Roux a élaboré une autre méthode qui a l'avantage d'être simple, sûre et facilement applicable. C'est pour cela qu'elle s'est bientôt introduite dans les pratiques industrielle et scientifique. Elle consiste dans l'injection de mélanges des toxines tétanique et diphtérique avec la solution iodo-iodurée de Lugol. L'iode, à faible dose, neutralise ou modifie instantanément ces poisons et est lui-même bien supporté même par les petits animaux. En employant en dose progressive des mélanges, dans lesquels la quantité d'eau iodée devient de moins en moins grande par rapport à celle de la toxine, on arrive sans difficulté à vacciner les animaux les plus sensibles et à leur faire supporter des doses considérables de toxine pure. C'est ainsi qu'on peut immuniser les cobayes contre la toxine du tétanos la plus active. Ce même procédé sert bien pour préparer les chevaux aux injections de toxines non modifiées. Pendant un temps plus ou moins long (selon la sensibilité du cheval), on n'injecte que des toxines, mélangées avec de l'eau iodée de Lugol. Après s'être assuré de l'état résistant du cheval, on peut lui introduire impunément des quantités de plus en plus croissantes de toxine pure, non modifiée.

Pour l'immunisation des mammifères de toute taille (cobayes, lapins, chiens, chevaux) contre le venin de serpents, M. Calmette, à Lille, se sert aussi de venin modifié par des substances chimiques, mais son procédé est différent de ceux que nous venons de décrire. Il injecte pendant plusieurs semaines des quantités croissantes de venin, mélangé à des quantités décroissantes d'une solution à 1 : 60 d'hypochlorite de chaux. Après ce traitement, les animaux deviennent en état de supporter des doses mortelles de venin non modifié et peuvent être injectés avec des doses de plus en plus grandes de celui-ci.

Dans ces dernières années, on s'est mis à vacciner des chevaux contre certaines toxines microbiennes et surtout contre la toxine diphtérique avec des mélanges de toxine et de sérum antitoxique ou bien avec ces deux produits, pris l'un après l'autre. M. Babès (2) le premier

(1) *Deutsche medicin. Wochenschr.*, 1890, pp. 4145, 4245.

(2) *Bullet. de l'Acad. de Méd.*, Paris, 1895. T. XXXIV, p. 216.



a préconisé ce mélange comme le meilleur moyen pour obtenir une immunisation forte et durable. Après lui, plusieurs autres observateurs, parmi lesquels je citerai MM. Pawlovsky et Maksoutow (1), Palmirsky et surtout Nikanoroff (2) se sont occupés de cette question et ont communiqué des résultats très encourageants de vaccination par cette méthode. M. v. Behring (3) la trouve aussi très utile dans certains cas. Ainsi il recommande, pour vacciner des cobayes contre la toxine tétanique, de les injecter avec un mélange renfermant de l'antitoxine et un excès non neutralisé de toxine. Dans ces conditions, il arrive facilement à immuniser ces petits animaux dans des cas où toutes les autres méthodes se montrent impuissantes. Mais, comme procédé général de vaccination contre les toxines, cette méthode ne s'est pas maintenue et M. Roux qui l'a fait essayer plusieurs fois, n'en a pas été du tout satisfait.

Cette méthode d'immunisation avec les mélanges de toxine et d'antitoxine est souvent désignée comme procédé de vaccination par les *toxones*. Sous ce nom, M. Ehrlich (4) a désigné d'abord un produit, développé par le bacille diphtérique dans les milieux de culture, produit moins et autrement toxique que la vraie toxine diphtérique, mais capable de neutraliser l'antitoxine. La notion des toxones s'est présentée à M. Ehrlich à la suite de ce fait fondamental qu'il avait découvert, à savoir que, lorsqu'à un mélange non toxique de toxine et d'antitoxine diphtérique, on ajoute une et même plusieurs doses mortelles de la première, l'animal n'en souffre pas. Pour le faire périr par l'intoxication, il est nécessaire quelquefois d'ajouter plus de 20 doses mortelles de toxine. Pour expliquer ce résultat paradoxal, M. Ehrlich s'est arrêté à la supposition que, dans les produits solubles du bacille diphtérique, il existe deux poisons : la vraie toxine qui accuse une affinité très forte pour l'antitoxine, et la toxone qui possède une avidité moindre pour ce même anticorps. Lorsqu'à un mélange inactif de produits des bacilles diphtériques et d'antitoxine, on ajoute une nouvelle quantité de ces mêmes produits, la toxine surajoutée, grâce à sa plus forte affinité, remplace la toxone de la combinaison antérieure. Il arrive donc que, dans le mélange auquel on ajoute une

(1) *Zeitschrift f. Hygiene*, 1896. T. XXI, p. 485.

(2) *Sur la préparation d'un fort sérum antidiphtérique*, St-Petersbourg, 1897 (en russe).

(3) *Allgemeine Therapie der Infektionskrankheiten*, p. 1093.

(4) *Deutsche medicin. Wochenschr.*, 1898, p. 597.

ou plusieurs doses mortelles du poison diphtérique, c'est seulement la toxone qui se trouve libre, toute la toxine étant combinée avec l'antitoxine. Or, comme la toxone n'est que très faiblement toxique, l'animal résiste sans éprouver aucun trouble sérieux.

M. Madsen (1) a adopté la théorie de la toxone diphtérique et a admis que cette substance n'empoisonne que lentement, ne produit ni névrose, ni perte de poils, mais provoque un petit œdème au point d'inoculation et des paralysies tardives. Les animaux sensibles peuvent mourir de toxones, mais beaucoup plus tard qu'à la suite de l'empoisonnement par les toxines.

Les élèves de M. Ehrlich ont étendu la notion des toxones à d'autres poisons bactériens. Ainsi M. Madsen (2) a décrit une toxone de cette partie du poison tétanique — la tétanolysine de M. Ehrlich — qui dissout les globules rouges. MM. M. Neisser et Wechsberg (3) ont admis l'existence d'une toxone dans le poison, produit par le *Staphylocoque*.

M. Ehrlich admet encore l'existence de *toxoides* dans le poison diphtérique. Mais, tandis que la toxone est un produit engendré par le bacille diphtérique même, les toxoides (protoxoides et syntoxoides) représentent la toxine modifiée en dehors de l'action du microbe. Les toxoides, n'étant pas toxiques, ont conservé toute leur avidité pour l'antitoxine. D'après la conception de M. Ehrlich, la molécule de toxine, sous l'influence de divers facteurs, perd facilement son groupement toxique, capable d'empoisonner l'organisme, ou groupement *toxophore*, tout en conservant son groupement *haptophore*, c'est-à-dire celui qui se combine avec l'antitoxine. Les toxoides représenteraient donc ce groupement haptophore de la toxine diphtérique. Sans être nuisibles aux animaux, les toxoides seraient capables de neutraliser l'antitoxine et de provoquer dans l'organisme la formation de cet anticorps. Dans les essais par la méthode de M. Babès et des auteurs russes que nous avons mentionnés, il y aurait donc, d'après l'avis de M. Ehrlich et de son école, immunisation par les toxoides.

Mais les toxones sont aussi capables de vacciner contre la toxine et la toxone et de donner lieu à la production d'une antitoxine diphtérique, active contre ces deux poisons. C'est ce qu'affirment MM. Mad-

(1) *Zeitschrift für Hygiene*, 1897. T. XXIV, p. 425.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899. T. XIII, pp. 568, 801.

(3) *Zeitschrift f. Hygiene*, 1901. T. XXXVI, p. 325.