

sen (1) et Dreyer (2), d'après une communication de ce dernier, faite au Congrès international de médecine de Paris.

A l'aide des différents procédés que nous avons décrits sommairement, on obtient une véritable immunité acquise contre les divers poisons bactériens et végétaux et les venins. Au contraire avec les méthodes de vaccination que nous avons mentionnées dans le huitième chapitre et qui confèrent une immunité solide contre les microbes, on n'arrive pas à constater, chez les animaux vaccinés, une résistance contre les toxines correspondantes, plus grande que chez les animaux non vaccinés, témoins. Les animaux, si bien vaccinés contre certains microbes qu'ils supportaient sans danger des doses énormes de culture, ne devenaient pas pour cela capables de résister à la dose minima mortelle du poison. On est donc arrivé à cette opinion que l'immunité contre les toxines ne pouvait être obtenue que vis-à-vis de quelques-unes de leurs espèces. C'est pourquoi il faut considérer comme un pas important en avant la tentative de M. v. Behring pour obtenir une immunisation véritable contre la toxine cholérique. Avant lui, on avait souvent et très solidement vacciné diverses espèces animales contre le vibrion cholérique, mais justement ces animaux, même les mieux vaccinés, ne résistaient point à la toxine cholérique. M. v. Behring a suggéré à son élève M. Ransom (3), l'idée d'immuniser des cobayes, non pas avec des cultures microbiennes vivantes ou tuées, comme cela se faisait le plus souvent avant lui, mais exclusivement avec des liquides de cultures, débarrassées des vibrions par filtration. Il a fallu, pour atteindre le but, préparer des liquides assez actifs pour empoisonner sûrement les cobayes témoins, non vaccinés. Les résultats de ces recherches confirmèrent la prévision, de sorte que M. Ransom s'est trouvé bientôt en possession de cobayes, bien vaccinés contre le poison cholérique. Seulement il se trompa en supposant que, dans tous les cas d'immunité acquise vis-à-vis du vibrion de Koch, il s'agissait toujours au fond d'une immunité purement antitoxique. Un travail exécuté à l'Institut Pasteur (4), tout en confirmant les faits découverts par M. Ransom, a conduit à des résultats différents

(1) *C. r. du Congrès international de Médecine de Paris*. Section de bactériologie et parasitologie, 1901, p. 40.

(2) *Ibid.*, p. 43 ; *Zeitschrift f. Hygiene*, 1901. T. XXXVII, p. 250.

(3) *Deutsche medicin. Wochenschr.*, 1895, n° 29.

(4) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896. T. X, p. 257. Metchnikoff, Roux et Salimbeni : *Toxine et antitoxine cholériques*.

au point de vue de leur interprétation. Il a été démontré dans ce travail que l'immunité vis-à-vis du vibrion n'est nullement basée sur une résistance contre sa toxine et qu'il s'agit de deux immunités acquises bien différentes. La vaccination que l'on obtient avec les corps microbiens ne procure l'état réfractaire que contre l'infection par le vibrion vivant, sans la moindre résistance vis-à-vis de la toxine. L'immunité au contraire qui est conférée par l'injection de produits solubles, débarrassés de microbes, est dirigée non-seulement contre la toxine cholérique, mais aussi contre l'infection vibrionienne. Lorsqu'on vaccine un animal avec des cultures entières ou même seulement avec des corps de vibrions, on introduit dans l'organisme traité de la toxine cholérique, mais celle-ci devient dans ces conditions incapable de provoquer l'immunité antitoxique. On dirait que la présence des vibrions constitue quelque obstacle pour la production de cette immunité.

Bientôt après, M. A. Wassermann (1) a pu démontrer que la même règle s'applique également au bacille pyocyanique. Avec des cultures entières de ce microbe, il a obtenu chez les cobayes une immunité exclusivement contre l'infection, tandis qu'avec des cultures en milieu liquide, débarrassées de bacilles, il a pu vacciner ses animaux et contre la toxine pyocyanique, et aussi contre la péritonite infectieuse produite par le microbe vivant. La même immunité double a pu être obtenue chez des animaux de laboratoire vis-à-vis du bacille typhique et de quelques autres bactéries.

Lorsqu'on soumet les animaux aux différents procédés de vaccination contre les toxines, on observe la manifestation de certains phénomènes plus ou moins constants, parmi lesquels il faut signaler avant tout l'ascension de la température, la réaction locale et les modifications des humeurs.

La fièvre est un symptôme très général dans le cours de la vaccination des mammifères. L'hyperthermie s'observe presque toujours à la suite de l'injection des toxines. Elle est très variable dans sa durée et dans son intensité, et ne peut servir d'indicateur du résultat de la vaccination. Sous ce rapport, on a signalé des différences si grandes qu'il a fallu renoncer à établir des lois générales.

La réaction locale est aussi un phénomène qui s'observe très fréquemment pendant la vaccination. M. v. Behring (2) a porté sur lui une grande attention. Il a constaté, avec ses collaborateurs, que

(1) *Zeitschrift f. Hygiene*, 1896. T. XXII, p. 312.

(2) *Allgemeine Therapie der Infektionskrankheiten*, p. 4052.

les chevaux neufs auxquels on injecte sous la peau des doses petites ou grandes de toxine tétanique, ne présentent aucune exsudation au point d'inoculation. Les chevaux qui meurent à la suite d'une intoxication tétanique ou ceux qui en guérissent, se comportent à ce point de vue de la même façon. Au contraire, chez des chevaux qui sont en cours de vaccination et qui sont périodiquement soumis aux doses croissantes de la toxine, la tuméfaction à l'endroit de l'injection ne fait jamais défaut. M. v. Behring attribue cette différence à l'insensibilité primordiale au poison tétanique des éléments vivants qui commandent l'exsudation dans le tissu sous-cutané. Ce n'est qu'au cours de la vaccination que ces cellules deviennent sensibles et capables de manifester une réaction visible. Nous pensons qu'il est plus vraisemblable d'expliquer cette différence par le changement de la chimiotaxie négative des divers éléments qui contribuent à la réaction inflammatoire exsudative, en chimiotaxie positive. Les cellules ne réagissent pas au début, non pas parce qu'elles n'étaient pas sensibles à la toxine, mais plutôt parce qu'elles l'étaient trop. Au cours de la vaccination, elles se sont assez accoutumées au poison pour pouvoir manifester leur réaction inflammatoire normale. Cette explication s'harmonise mieux avec le fait que, pendant la période des vaccinations en général et de la vaccination contre les toxines en particulier, le sang présente le plus souvent une hyperleucocytose plus ou moins nette. Or, nous savons bien que ce phénomène d'hyperleucocytose est une des manifestations les plus saisissables de la chimiotaxie positive des globules blancs. Il est vrai que, par rapport à cette réaction au cours de la vaccination, l'opinion des observateurs n'est pas unanime. M. Besredka (1), à la suite d'un travail sur ce sujet, s'est exprimé d'une façon très précise. « Au cours d'une immunisation contre la toxine diphtérique — dit-il — on observe toujours une réaction notable chez la chèvre, soit au début, soit à un stade avancé de la période des injections, et surtout dans les premières heures qui suivent celles-ci » (p. 322). MM. Nicolas et P. Courmont (2) ont publié un mémoire dans lequel ils soutiennent cette thèse que l'hyperleucocytose « n'est pas nécessaire pour l'immunisation ». Cependant, dans le récit de leurs expériences qui ont été exécutées sur des chevaux vaccinés contre la toxine diphtérique, on voit bien que le nombre des globules blancs s'est trouvé souvent sensiblement augmenté. De plus, ils ont plusieurs fois signalé la

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1898. T. XII, p. 348.

(2) *Archives de médecine expérimentale*, 1897. T. IX, p. 770.

formation au point d'inoculation de tumeurs qui ont abouti même à la suppuration. Dans ces conditions, il n'est pas possible de nier la réaction vaccinale de la part des leucocytes. Plus tard, MM. Nicolas, P. Courmont et Prat (1) ont publié un second travail sur le même sujet, dans lequel ils essaient de confirmer leur opinion sur l'inutilité de l'hyperleucocytose pour la vaccination contre le poison de la diphtérie. Ils donnent des détails de leurs expériences sur plusieurs espèces animales et insistent beaucoup sur les conditions dans lesquelles ils n'ont pas observé d'hyperleucocytose. « Les doses de début ont toujours été extrêmement faibles et additionnées de solution de Lugol pour les atténuer; ce n'est que très progressivement que nous avons atteint des doses plus fortes, car c'est là une des conditions indispensables pour éviter les variations leucocytaires, tout en obtenant une bonne et rapide immunisation » (l. c. p. 974). Ces précautions particulières qui doivent être prises pour éviter l'hyperleucocytose, démontrent bien que ce phénomène se produit le plus souvent au cours de la vaccination. Il est tout naturel qu'en progressant très lentement, avec des petites doses de toxine, on puisse arriver à diminuer ou même supprimer l'afflux des leucocytes; mais ce fait ne peut nullement infirmer l'importance de la réaction leucocytaire dans la vaccination. Seulement, dans ces cas particuliers, cette réaction peut se faire sans que le nombre de leucocytes soit sensiblement augmenté dans le sang. En lisant les détails des expériences des savants lyonnais, on s'assure que, malgré toutes leurs précautions, ils n'ont pas pu éviter l'hyperleucocytose de se produire. Ainsi, dans tous leurs exemples, où ils ont eu soin de compter les leucocytes plusieurs fois par jour, il s'est manifesté une augmentation incontestable de ces cellules. Il y a lieu de rappeler encore que MM. Salomonsen et Madsen, dans l'histoire de leur cheval immunisé contre la toxine diphtérique, signalent la fréquence des tuméfactions et même des abcès. Dans la plupart des cas, le pus était stérile, ce qui rend probable que les globules blancs s'étaient accumulés au point d'inoculation à la suite d'une influence exercée par la toxine diphtérique.

Le changement de beaucoup le plus important et le plus remarquable que l'on rencontre chez les animaux vaccinés contre les toxines et les venins, consiste dans le pouvoir antitoxique de leur sang et des humeurs en général. Ce fait a été pour la première fois, comme nous le

(1) *Journal de physiologie et de pathologie générales*, 1900. T. II, p. 973.

savons déjà, démontré par MM. Behring et Kitasato (1) pour le sang de lapins immunisés contre le tétanos. Le sang entier ou bien le sérum sanguin mélangé avec une quantité de toxine tétanique plus que suffisante pour provoquer l'empoisonnement mortel, empêche l'éclosion de la maladie chez les animaux auxquels on injecte le mélange. Dans leurs premières recherches, MM. Behring et Kitasato maintenaient les mélanges en contact *in vitro* pendant 24 heures, avant d'en injecter à des animaux d'épreuve. Plus tard, ils ont établi que ce contact prolongé en dehors de l'organisme était inutile et qu'on pouvait obtenir de bons résultats en injectant simultanément le sérum des animaux vaccinés et la toxine, et même en les injectant en différents points du corps. Cette découverte a été aussitôt après appliquée par leurs auteurs à la diphtérie et confirmée pour les deux intoxications par un grand nombre d'observateurs.

Pendant quelque temps, on s'est contenté de vacciner des petits animaux de laboratoire et d'établir le pouvoir antitoxique de leur sérum sanguin ; plus tard, on a commencé à vacciner des grandes espèces, notamment des chevaux, dans le but d'obtenir de grandes quantités de sérums antitétanique et antidiphtérique pour l'usage médical. Au cours de ces travaux, on a pu établir les caractères principaux des humeurs antitoxiques. On a voulu isoler du sérum sanguin la substance antitoxique pour la débarrasser de tout mélange inutile et inactif, dans le but de n'employer que l'antitoxine aussi pure que possible. Mais bientôt on a dû renoncer à ce projet, car on a reconnu l'impossibilité de réaliser cet isolement. L'antitoxine est une substance non cristallisable, de composition chimique inconnue, et qui adhère intimement aux substances albuminoïdes du sérum. On la considère le plus souvent comme appartenant aussi au même groupe de corps, mais sans pouvoir prouver cette opinion d'une façon suffisante. M. v. Behring (2) qui a étudié cette question en collaboration avec Knorr, nie formellement la nature albuminoïde de l'antitoxine tétanique. Après avoir constaté que cette substance, lorsqu'on soumet le sérum antitétanique à la dialyse, passe à travers la membrane dialysante, ces savants ont vainement cherché à produire les réactions caractéristiques des albuminoïdes dans le liquide dialysé. Il faut bien dire que ce résultat négatif n'est pas suffisant pour nier la nature

(1) *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1890, n° 49, p. 1113.

(2) *Die praktischen Ziele der Blutserumtherapie*, Leipzig, 1892, p. 52.

albuminoïde de l'antitoxine. Lorsque M. Nencki et Mme Sieber (1) ont essayé de produire les réactions des substances albuminoïdes avec le suc digestif de *Nepenthes* (la plante insectivore bien connue) leur résultat était aussi nul ; mais, après la concentration du suc dans le vide, il a aussitôt donné la réaction caractéristique avec l'acide nitrique, aussi bien qu'avec l'acide acétique, le ferrocyanure de potassium et le réactif de Millon.

Les substances antitoxiques des sérums peuvent être précipitées avec les globulines et se distinguent en général par une assez grande résistance vis-à-vis des influences physiques et chimiques. Sous ce rapport, elles se rattachent aux agglutinines, aux fixateurs et aux précipitines, dont nous avons parlé ailleurs, et se distinguent très nettement des cytases. Les antitoxines résistent bien aux températures qui détruisent les cytases et ne sont altérées qu'au delà de 60°-65°. Les antitoxines sont plus stables que les toxines délicates du tétanos et de la diphtérie, mais elles sont plus faciles à altérer que les toxines du choléra, du bacille pyocyanique et les venins. Gardées à l'état sec, dans le résidu des sérums évaporés et à l'abri de la lumière et de l'air, les antitoxines se conservent pendant très longtemps sans s'affaiblir d'une façon notable. Cette propriété est très importante dans la pratique.

Les antitoxines, ressemblant sous ce rapport aussi aux fixateurs et aux agglutinines, sont des substances humorales dans le sens le plus strict du mot. Elles se trouvent non seulement dans des sérums préparés, mais abondent aussi dans le plasma du sang circulant, ainsi que dans les plasmas de la lymphe et des exsudats. MM. Vaillard et Roux (2) ont constaté que la sérosité, limpide et privée d'éléments cellulaires, de l'œdème provoqué chez des lapins vaccinés contre la toxine tétanique par le ralentissement de la circulation, est aussi antitoxique que le sang. Même l'humeur aqueuse d'un animal très fortement immunisé est antitoxique, quoique à un plus faible degré. Par contre, la salive et l'urine manifestent un pouvoir antitoxique très petit, même quand elles proviennent d'animaux hyperimmunisés contre la toxine tétanique. Le lait, comme l'a démontré d'abord M. Ehrlich (3), est assez riche en antitoxine, quoique beaucoup moins que le sang. D'après l'évaluation de MM. Ehrlich et Wassermann (4), chez le même animal

(1) *Zeitschrift f. physiologische Chemie*, 1901. T. XXXII, p. 318.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1893. T. VII, p. 81.

(3) *Zeitschrift f. Hygiene*, 1892. T. XII, p. 183.

(4) *Ibid.*, 1894. T. XVIII, p. 248.

immunisé, le lait renferme quinze à trente fois moins d'antitoxines diphtérique et tétanique que le sang. Le pus s'est montré toujours moins antitoxique que le sang et le sérum sanguin. D'après MM. Roux et Vaillard (*l. c.* p. 82), le pus de leurs lapins, vaccinés contre la toxine tétanique, a été six à huit fois moins antitoxique que le sérum du sang. Chez le cheval antidiphtérique de MM. Salomonsen et Madsen (1), le sédiment cellulaire du pus a été à peu près deux fois moins antitoxique que le sang.

Pour développer la propriété antitoxique dans les humeurs, les animaux n'ont pas besoin d'appartenir à des espèces sensibles à la toxine correspondante. Les animaux les plus réfractaires de leur nature aux poisons de la diphtérie et du tétanos sont aussi capables de produire des antitoxines. M. Vaillard (2) a établi ce fait pour la poule. Cet oiseau, naturellement réfractaire au tétanos, acquiert le plus souvent un pouvoir antitétanique du sang très manifeste après avoir subi une ou plusieurs injections de toxine tétanique. M. Vaillard a observé que, chez des poules ainsi traitées, à un moment où les humeurs sont antitoxiques, le blanc de l'œuf ne l'est pas. L'antitoxine ne passe donc pas dans cette sécrétion nutritive, comme elle passe dans le lait chez les mammifères. D'un autre côté, comme ceci a été établi par M. F. Klemperer (3), le vitellus de l'œuf des poules traitées avec de la toxine tétanique, acquiert au bout de quelque temps une propriété antitoxique des plus nettes.

Les antitoxines qui font surtout partie des humeurs et ne se rencontrent que peu dans les cellules, exercent une action sur les toxines. Mais quelle est la nature de cette action ? On a beaucoup étudié et discuté cette question qui présente une très grande importance pour le problème général de l'immunité acquise contre les toxines. Dans son premier mémoire rédigé avec M. Kitasato, M. v. Behring (*D. med. Woch.*, 1890, p. 1113) formule sa première thèse de la façon suivante : « le sang de lapin, immunisé contre le tétanos, possède la propriété de détruire la toxine tétanique ». Cette idée de destruction qui enlèverait tout pouvoir toxique au poison, se présentait tout naturellement à l'esprit et fut aussitôt acceptée par un grand nombre de savants. Mais des

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1897. T. XI, p. 324.

(2) *C. r. de la Soc. de Biologie*, 1891, p. 462 et *Annales de l'Institut Pasteur*, 1892. T. VI, p. 229.

(3) *Archiv f. experimentelle Pathologie*, 1893. T. XXI, p. 371.

(4) *Berliner klin. Wochenschr.*, 1893, p. 1266.

faits nombreux s'accumulèrent dans la science qui ne permirent plus d'admettre la destruction réelle des toxines par les antitoxines. Tizzoni a été un des premiers à signaler certaines contradictions entre la théorie de la destruction et les phénomènes qui se produisent chez des animaux injectés avec de la toxine et de l'antitoxine tétanique. Indépendamment de lui, M. Buchner (1) apporta des faits nouveaux qui l'amènèrent à conclure que l'antitoxine, au lieu d'agir directement sur la toxine, exerce son influence exclusivement sur les éléments vivants de l'organisme, les préservant contre l'intoxication. Parmi les arguments mis en avant par le savant munichois, le principal est tiré de l'action différente des mélanges de toxine tétanique et de sérum antitétanique sur les diverses espèces animales. On a bien établi que le cobaye est plus sensible au tétanos que la souris. Pour produire l'empoisonnement mortel avec la toxine tétanique, il faut une quantité absolue plus grande de toxine pour le cobaye que pour la souris. Mais si l'on tient compte du poids de ces animaux, les conditions changent totalement. Ainsi, pour donner le tétanos mortel à un cobaye qui pèse vingt fois plus qu'une souris, il suffit d'injecter au premier une dose tout au plus dix fois plus grande que celle qui est nécessaire pour produire l'intoxication mortelle chez la souris. M. Buchner prépare un mélange de toxine tétanique et de sérum antitétanique qui, chez la souris, ne produit aucun phénomène tétanique ou bien ne provoque que des symptômes faibles et passagers. D'après la théorie de l'action directe, on devrait admettre que dans ce mélange la toxine est totalement ou presque entièrement neutralisée par l'antitoxine du sérum. Mais lorsque M. Buchner injecte à des cobayes la même quantité de mélange, sans l'augmenter en proportion du poids plus grand de ces animaux, il leur donne un tétanos des plus marqués. Il est donc resté dans le mélange une quantité suffisante de toxine libre, dont l'action tétanigène est révélée par le cobaye, espèce animale plus sensible que la souris. Cette expérience de M. Buchner a été vérifiée par plusieurs observateurs. MM. Roux et Vaillard (2) en réalisèrent d'autres qui plaident dans le même sens. Le même mélange de toxine tétanique et de sérum spécifique qui est supporté sans le moindre trouble par des cobayes normaux, donne le tétanos typique à d'autres cobayes de même poids, ayant les meilleures apparences de santé, mais qui ont été immunisés quelque temps auparavant contre

(1) *Münchener medic. Wochenschr.*, 1893, p. 480.

(2) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894. T. VIII, p. 724.

le vibrion de Massaouah. Dans une autre série d'expériences, ils ont injecté à des cobayes une quantité très grande de sérum antitétanique « capable de les immuniser des milliers de fois » et, peu de temps après, une dose mortelle de toxine tétanique. Les cobayes normaux ont parfaitement résisté à cette épreuve, tandis que plusieurs cobayes auxquels on injectait encore des produits d'autres microbes, ont pris le tétanos. Des faits analogues ont pu être recueillis avec des mélanges de toxine diphtérique et de sérum antidiphtérique. M. Roux conclut de ces données « que les antitoxines agissent sur les cellules ». Contre la supposition de la destruction des toxines par les antitoxines, il invoque encore l'influence du chauffage sur les mélanges de ces deux substances. M. Calmette (1) a exécuté, sous l'inspiration et dans le laboratoire de M. Roux, des expériences sur le sérum antivenimeux. Son mélange avec le venin des serpents en proportion telle que ce poison devienne inactif recupère sa toxicité après un chauffage à 68° pendant cinq minutes. Injecté à un animal neuf, celui-ci succombe comme s'il avait reçu le venin pur. Par le chauffage à 68°, le sérum a perdu tout son pouvoir antitoxique sur le venin et ce dernier, qui n'est modifiable qu'à une température beaucoup plus élevée, est resté intact. Un résultat semblable a été obtenu plus tard par M. Wassermann (2) dans ses expériences avec la toxine pyocyanique. Ce poison résiste à des températures encore plus élevées que le venin des serpents, tandis que l'antitoxine du sérum est détruite dans les mêmes conditions que les autres antitoxines. Profitant de ces particularités, M. Wassermann a fait bouillir le mélange de toxine pyocyanique et de sérum antitoxique, en ayant soin de le diluer préalablement avec deux volumes d'eau distillée. Ce mélange qui, sans être chauffé, était tout à fait inoffensif pour les cobayes, est redevenu un poison mortel après la destruction de l'antitoxine.

Ces expériences ont bien prouvé que, dans l'action de l'antitoxine sur la toxine, il ne peut plus être question d'une véritable destruction de celle-ci, opinion qui du reste a été acceptée par MM. v. Behring et Ehrlich eux-mêmes. Mais, comme l'a dit déjà M. Roux au Congrès international de Budapest, en 1894, la manifestation de l'action toxique du venin après le chauffage de son mélange avec l'antitoxine, peut être conciliée avec l'idée que la combinaison entre les deux substances, si elle se produit, doit être bien instable. Cette

(1) *Le venin des serpents*, p. 58.

(2) *Zeitschrift f. Hygiene*, 1896. T. XXII, p. 263.

même réflexion peut être appliquée à l'expérience de M. Wassermann. Aussi actuellement la très grande majorité des savants, sinon tous, admettent que l'antitoxine se combine avec la toxine en une substance inoffensive et instable qui peut être décomposée par la chaleur et par d'autres facteurs. Les recherches sur l'action des antitoxines *in vitro* ont exercé une très grande influence sur cette opinion.

Déjà, les expériences de MM. Denys et van de Velde (1) plaident pour l'action directe de certaines antitoxines. Ces observateurs ont constaté que le sérum des animaux vaccinés contre le staphylocoque, est capable de neutraliser *in vitro* une toxine particulière que M. van de Velde a désignée sous le nom de *leucocidine*. Ajoutée à une goutte d'exsudat de lapin, cette leucocidine détruit au bout de peu de temps les globules blancs, en dissolvant le contenu cellulaire, mais en respectant le noyau. Eh bien, lorsque MM. Denys et van de Velde préparaient *in vitro* des mélanges de leucocytes, de leucocidine et de sérum antileucocidique, les globules blancs se conservaient à l'état normal pendant un temps très long. La leucocidine était donc empêchée dans son action par l'influence directe de l'antitoxine correspondante. Ces faits ont été confirmés par M. Bail (2) et par d'autres observateurs et étendus même à quelques autres toxines microbiennes. Ainsi le bacille pyocyanique produit aussi une leucocidine qui tue les globules blancs et dissout leur contenu (3). Dans le but de faciliter les expériences avec ces poisons leucocytaires et les sérums antitoxiques correspondants, MM. M. Neisser et Wechsberg (4), de l'Institut de thérapie expérimentale de Francfort, ont inventé un procédé qui permet d'observer les phénomènes de destruction des leucocytes et du pouvoir antitoxique dans des tubes à essai, sans avoir recours à l'examen microscopique. Ils ont appliqué dans ce but la donnée, fournie à la science par M. Ehrlich, que les éléments figurés vivants réduisent le bleu de méthylène et, en lui empruntant son oxygène, le décolorent. On introduit donc dans des tubes, des leucocytes des exsudats aseptiques et on verse dessus une solution faible (2 %) de bleu de méthylène. Pour empêcher la réoxydation de cette matière colorante par l'oxygène de l'air, on couvre la

(1) *La Cellule*, 1896. T. XI, p. 359. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1886. T. X, p. 580.

(2) *Archiv f. Hygiene*, 1897. T. XXX, p. 349.

(3) Gheorghiewsky, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1899. T. XIII, p. 299.

(4) *Zeitschrift f. Hygiene*, 1901. T. XXXVI, p. 330.