

sous la peau, elle produit une vive inflammation locale qu'accompagne une forte fièvre.

Certaines maladies de l'appareil respiratoire provoquent également dans l'organisme la formation de toxines microbiennes. Villiers avait extrait précédemment, des organes de deux enfants morts de broncho-pneumonie rubéolique, un alcaloïde volatil, sternutatoire. Griffiths trouve de même dans l'urine des malades atteints de rougeole, une toxine dont l'injection entraîne la mort avec symptômes pyrétiques des plus marqués. Dans la toux convulsive, c'est une base en $C^5H^{19}AzO^2$; dans la pneumonie, autre principe alcalin, de formule $C^{20}H^{26}Az^2O^5$; de même dans l'angine de poitrine.

L'urine des morveux fournit une substance alcaline en $C^{15}H^{19}Az^2O^6$ dont les effets reproduisent bien les principaux symptômes de la maladie; apparition d'abcès localisés, nodosités dans le poumon et la rate, abcès métastatiques dans les différents organes.

L'épilepsie ne fait pas partie du groupe des maladies infectieuses; cependant Griffiths a trouvé dans l'urine des épileptiques des alcaloïdes analogues à ceux de la rougeole, de la coqueluche, de la diphtérie. Marro ⁽¹⁾ a confirmé les résultats de Griffiths, ce qui tient peut-être à ce que les produits dérivés de nos cellules se rapprochent de ceux des bactéries.

Il faut ajouter que, dans les cultures sur viande de la bactériode, Hoffa a décelé une base peu toxique; Lando-Landi en a vu une seconde capable de tuer les souris.

Je dois aussi mentionner le produit alcaloïdique retiré par Zalzer des bacilles de la tuberculose. Il serait trop long de rappeler toutes les recherches qui, dans ces dernières années, ont exploré ce domaine, sous l'influence des idées émises par Bouchard, Charrin et leur école, touchant le rôle de l'urine comme émonctoire des produits toxiques élaborés dans l'économie par l'activité physiologique des cellules, ou le chimisme des agents pathogènes. L'histoire de ces toxines n'est pas complète: elle n'est qu'ébauchée. Plusieurs points sont à contrôler, de plus nombreux encore restent à découvrir, et beaucoup d'entre eux auraient déjà été mis à jour si l'attention des chercheurs ne s'était depuis quelque temps dirigée plus volontiers du côté d'un autre ordre de toxines, les toxines albumosiques qui nous restent à étudier.

Néanmoins le terrain est suffisamment déblayé à l'heure actuelle pour qu'on puisse considérer comme une notion définitivement acquise la production par les microbes de substances toxiques que la chimie et la physiologie s'accordent à rapprocher des alcaloïdes végétaux par des analogies si étroites que le réactif chimique ou vivant est fréquemment dans l'impuissance absolue de découvrir des différences.

⁽¹⁾ MARRO, *Ann. di Freniatrice*, 1892, p. 172.

III

Toxines microbiennes albumosiques. — HISTORIQUE. — Bien que la recherche des alcaloïdes microbiens dans les milieux de culture où s'étaient développés les agents pathogènes, eût recueilli une ample moisson de faits nouveaux, on n'a pas été longtemps sans reconnaître que certains microorganismes exerçaient par leurs produits solubles une action pathogénique manifeste sans élaborer pourtant la moindre trace d'alcaloïde. On a cherché et trouvé d'autres composés appartenant à un groupe chimique tout différent: ce sont les toxines de nature albumineuse, si remarquables par l'intensité et la variété de leurs actions.

C'est à Arloing ⁽¹⁾ que revient sans conteste le mérite d'avoir ouvert cette voie nouvelle où nombre d'expérimentateurs sont entrés à sa suite. En 1888, le microbiologiste lyonnais, étudiant le bacille de la péripneumonie contagieuse du bœuf, isolait par l'addition d'un excès d'alcool aux bouillons de culture une substance azotée, amorphe, soluble dans l'eau et la glycérine, insoluble dans l'alcool, ne manifestant aucune réaction colorée par l'iode ou l'acide azotique. Cette substance, injectée dans le tissu cellulaire sous-cutané du bœuf, déterminait, en l'absence de tout élément figuré vivant, « une tuméfaction large comme la paume de la main, épaisse, chaude et douloureuse au centre, molle à la périphérie ⁽²⁾ ».

L'année suivante, Arloing démontrait l'existence dans les produits solubles du *Bacillus heminecrobiophilus* d'une diastase douée d'aptitudes zymotiques multiples, et susceptible de dissoudre le tissu conjonctif anémié en produisant un dégagement gazeux ou dominaient l'azote et l'acide carbonique ⁽³⁾.

Quelques mois après les premières publications d'Arloing, de Christmas publiait des résultats de même ordre et isolait par l'alcool des bouillons de culture du staphylocoque une substance provoquant l'œdème de la conjonctive, la décoloration de l'iris et une suppuration légère de la chambre antérieure de l'œil du lapin. « Cette substance, ajoutait l'auteur, est probablement une diastase ressemblant à la substance pyogène que M. Arloing vient de trouver dans des cultures du microbe de la péripneumonie contagieuse ⁽⁴⁾. »

Aussitôt après ces premiers travaux, Roux et Yersin ⁽⁵⁾, Vaillard et Vincent ⁽⁶⁾, Brieger et Fränkel, Hugounenq et Éraud ⁽⁷⁾, Tizzoni et Catani, Bouchard, Charrin, Hankin, Chittenden, Koch, Roussy, Buchner, Mar-

⁽¹⁾ ARLOING, *Comptes rendus*, t. CVI, p. 1565 et 1750, 7 mai et 18 juin 1888.

⁽²⁾ ARLOING, *Comptes rendus*, t. CVI, p. 1566.

⁽³⁾ ARLOING, *Comptes rendus*, t. CVIII, p. 458 et 552; t. CIX, p. 842.

⁽⁴⁾ DE CHRISTMAS, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 2^e année, n^o 9, sept. 1888, p. 478.

⁽⁵⁾ ROUX et YERSIN, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888, p. 629; 1889, p. 275; 1890, p. 585.

⁽⁶⁾ VAILLARD et VINCENT, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1891, p. 1.

⁽⁷⁾ HUGOULENQ et ÉRAUD, *Comptes rendus*, 1891 et 1895.

mier⁽¹⁾, Courmont et Doyon publièrent sur les toxines albumosiques une série de recherches qui seront exposées ultérieurement au cours de ce chapitre.

Nous ferons remarquer, à la fin de cet historique, qu'avant la découverte des toxines microbiennes de nature albumosique, on connaissait des matières albuminoïdes toxiques. C'est ainsi qu'en 1885, deux auteurs américains, Weir Mitchell et E. A. Reichardt, avaient isolé des venins du serpent à sonnette et du serpent mocassin une peptone, une globuline et une albumine vénéneuses. Peu de temps après, Norris Wolfenden retirait du venin sécrété par le *cobra capello* de l'Inde d'autres albumines actives; Kobert démontrait la présence de toxalbumines dans quelques araignées, Viron dans certains liquides hydatiques, sans parler des poisons protéiques retirés par divers chimistes des fruits du ricin, du lupin jaune, du jequirity. Toutes ces observations établissent que, loin de constituer une exception spéciale au groupe des microbes, l'aptitude à élaborer des toxines albumineuses est une fonction physiologique d'ordre général pour toutes les cellules vivantes, qu'il s'agisse d'ailleurs de l'un ou de l'autre règne.

ORIGINE DES TOXINES ALBUMINEUSES. — Revenons aux toxines microbiennes. De tous les problèmes qu'elles soulèvent le premier est celui de leur origine. Dans les cultures où existent des matières protéiques, albumines ou peptones, il est tout naturel de considérer ces substances comme les matières utilisées par le microbe, les albumines vénéneuses provenant des albumines alimentaires. Dans tous les cas, on peut toujours invoquer ce mécanisme sans qu'aucune objection valable y vienne mettre obstacle.

Il en est tout autrement des cultures qui ne renferment pas trace de matières protéiques, mais seulement des substances quaternaires cristallisables, amines, amides, acides aminés plus ou moins complexes, etc., etc. Placé dans un tel milieu, absolument privé d'albumine, l'agent pathogène est-il capable de construire lui-même l'édifice moléculaire si compliqué de ces toxines albumosiques, et, mettant à profit les composés quaternaires dont il dispose, d'effectuer par un procès synthétique la reconstitution des matières protéiques? C'est là un problème des plus importants en biologie générale et dont l'intérêt est incontestablement d'un ordre fort élevé. Aussi a-t-on cherché de plusieurs côtés à le résoudre sans apporter de part et d'autre d'argument bien probant ni surtout de solution décisive.

Fermi⁽²⁾ a cultivé le bacille pyocyanique, le *Micrococcus prodigiosus* et autres microorganismes dans le liquide normal de Nægeli additionné de glycérine, dans un milieu exempt d'albumine par conséquent; il a constaté la production de ferments zymotiques agissant à la façon de la trypsine et liquéfiant la gélatine.

Arnaud et Charin⁽³⁾, ayantensemencé avec le bacille pyocyanique un

(1) MARMIER, *Annales de l'Institut Pasteur*, juillet 1895.

(2) FERMI, *Centr. für Physiol.*, 1891, p. 481.

(3) ARNAUD et CHARRIN, *Bull. de la Soc. de biol.*, 1892.

milieu de culture dépourvu de matières protéiques, ont trouvé plusieurs diastases albumineuses dont l'une hydratait l'asparagine.

Guinochet⁽¹⁾, de son côté, a vu le bacille de Löffler cultivé sur de l'urine normale, produire les toxines diastasiques que donne, en bouillon peptonisé, le microbe de la diphtérie.

Dans un intéressant travail, Outchinsky⁽²⁾ a cultivé plusieurs microbes, le bacille pyocyanique, le *Bacillus prodigiosus*, le vibrion avicide, le bacille-virgule de Koch, dans un milieu de composition suivante :

Eau	1000
Glycérine	40 à 50
Chlorure de sodium	5 à 7
Lactate d'ammoniaque	10
Chlorure de calcium	0,1
Sulfate de magnésie	0,2
Biphosphate de potasse	1

Les microbes se développent bien, surtout si l'on ajoute aux mélanges de l'urée, de l'acide urique ou du sucre. Les bouillons de culture filtrés manifestent une action toxique des plus nettes et des plus énergiques : ils se rapprochent par toutes leurs propriétés des liqueurs diastasiques ordinaires. C'est ainsi que le bacille-virgule donne, après filtration sur bougie, la réaction xanthoprotéique, celles du biuret, de Millon, d'Adamkiewicz. Le liquide se trouble avec les acides minéraux, l'acide acétique, le sulfate d'ammoniaque, le sublimé, l'acétate de plomb, le ferrocyanure acétique, l'alcool, etc., etc. Le précipité fourni par l'alcool constitue une masse amorphe, jaunâtre, difficilement soluble dans l'eau distillée, très soluble dans les alcalis dilués. Ces dernières propriétés paraissent rapprocher la substance des nucléo-albumines; néanmoins, Outchinsky croit plutôt à une albumine beaucoup moins compliquée que la nucléo-albumine. Peut-être aussi se forme-t-il d'autres toxines; car la solution débarrassée par l'alcool de la matière précédente ne cesse pas d'être toxique.

Quoi qu'il en soit, la question ne peut être considérée comme définitivement résolue; elle ne le sera pas tant que les auteurs se contenteront de réactions qualitatives. On sait, en effet, que la plupart, sinon toutes, des réactions de l'albumine se rattachent à la présence dans les corps protéiques de certains groupements moléculaires déterminés; ces réactions se retrouvent dans les dérivés de l'albumine qui contiennent encore ces groupements; il n'est pas jusqu'à la précipitation par le sulfate d'ammoniaque en excès qui ne soit commune aux matières protéiques et à des composés infiniment plus simples. Partant, il ne nous paraît pas

(1) GUINOCHET, *Bull. de la Soc. de biol.*, 1895. — L'expérience de Guinochet n'est pas à l'abri de tout reproche, l'urine la plus normale renfermant toujours des albumines du groupe des mucines que ni l'acide acétique, ni le ferrocyanure, ni les acides forts ne peuvent déceler. (LEBISCH, *Anl. für Harnanalysen*, 1^{re} édition, p. 197; Wien, Urban et Schwartzberg.)

(2) OUTCHINSKY, *Arch. de méd. expér.*, 1895.

absolument rigoureux de conclure sur des réactions qualitatives, fussent-elles multipliées. Hugounenq a constaté, par exemple, que la toxine albumosique de l'orchicoque, qui présente *tous* les caractères des peptones, ne contient cependant que 11,5 pour 100 d'azote, et ne peut être en conséquence considérée comme une matière albuminoïde, au vrai sens du mot. En réalité, l'analyse élémentaire quantitative, c'est-à-dire le dosage précis des éléments, est le seul moyen qui permette de dissiper les derniers doutes.

La preuve faite par tous les auteurs de la toxicité des bouillons, les analogies incontestables que présentent les toxines précipitées par l'alcool avec les diastases, ne constituent pas davantage des arguments décisifs. Ces expériences préjugent en effet la nature des diastases qui, à l'heure actuelle, nous est totalement inconnue. Il est bien vrai que l'action diastatique ne se sépare pas pour nous d'une substance azotée, amorphe et très voisine des corps protéiques; mais rien ne prouve que ce substratum albumineux a un rôle dans les phénomènes fermentatifs. Il ne serait pas impossible que l'action zymotique appartint en propre à une substance non albumineuse noyée, à l'état de trace, dans un amas de matériaux protéiques inertes ou peu actifs. Toutes les hypothèses sont permises sur un sujet aussi plein d'obscurité que celui des ferments solubles.

De ce que les preuves chimiques et physiologiques ne nous paraissent pas jusqu'à présent suffisantes pour asseoir une conviction, il ne s'ensuit pas qu'on doive refuser aux microbes le pouvoir de réaliser la synthèse des matières albuminoïdes aux dépens des corps azotés cristallisables. Les microbes sont après tout des cellules⁽¹⁾, et il n'y a aucune raison pour qu'ils ne possèdent pas les aptitudes fonctionnelles que manifestent les autres cellules. Mais actuellement, cette démonstration qu'on peut présenter comme une éventualité probable, n'a pu être faite que pour certains microbes (Hugounenq); pour d'autres, elle n'a pas été établie d'une façon complète, et elle ne le sera qu'à l'aide de l'analyse quantitative.

EXTRACTION DES TOXINES MICROBIENNES ALBUMOSIQUES. — Nous avons déjà dit quelques mots, au sujet de l'extraction des alcaloïdes, de la préparation des substances albumosiques qui peuvent les accompagner. Voici, croyons-nous, comment il convient de les isoler.

Les cultures doivent être faites, autant que possible, sur un milieu exempt de matières albuminoïdes ou de peptones; car, les substances protéiques préexistantes venant se mêler aux albumoses toxiques élaborées au cours de la fermentation, toute séparation ultérieure est rendue impossible, et il faut se résoudre à n'expérimenter que sur des produits impurs. Malheureusement, c'est là ce qui se produit le plus souvent, un grand nombre de microbes pathogènes ne se développent bien que sur un milieu riche en albumine.

Les liquides de culture filtrés sur porcelaine sont immédiatement

⁽¹⁾ Voy. CHARRIN, *Sem. méd.* — Analogies de la cellule bactérienne et de la cellule organique.

précipités par un grand excès d'alcool fort, à 95° C. : vingt volumes d'alcool pour un seul de bouillon ne sont pas de trop. On abandonne vingt-quatre heures dans l'obscurité, on décante la majeure partie de l'alcool, on jette le précipité sur un filtre et on le lave à l'alcool. La matière est dissoute dans une petite quantité d'eau et soumise à la dialyse pendant une quinzaine d'heures; après quoi, on additionne le liquide aqueux d'alcool absolu en grand excès, on laisse déposer, filtre, lave à l'alcool et dessèche dans le vide. Ces opérations gagnent beaucoup à être faites rapidement et, autant que possible, à l'abri de la lumière.

Il reste souvent dans la liqueur alcoolique, après séparation de la matière, une certaine quantité de substance non précipitée. Soit pour la recueillir, soit pour régénérer l'alcool, il est indispensable de soumettre le tout à une distillation qui, portant sur de grandes masses de liquide altérable, exige une installation particulière d'assez longue durée. Nous nous servons de l'appareil suivant, bien connu d'ailleurs de tous les chimistes.

Une grande cornue tubulée C, en verre résistant, de plusieurs litres de capacité, est chauffée par l'intermédiaire d'un bain-marie à niveau constant, à l'aide d'un fourneau à gaz qu'il est prudent d'envelopper

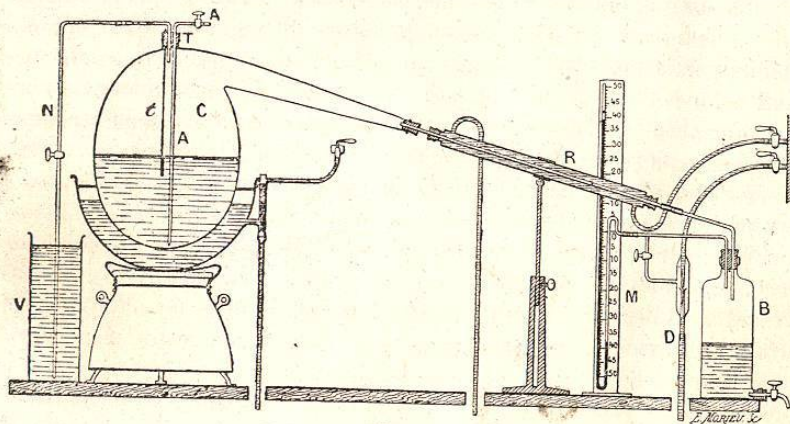


Fig. 1.

d'une toile métallique, autant pour diminuer la chaleur, toujours trop intense, que pour prévenir les dangers d'une explosion en cas de rupture de l'appareil. Par la tubulure T passe un thermomètre *t* et un tube de verre recourbé A terminé en pointe à l'intérieur, et à l'extérieur par un robinet ou mieux par un gros tube de caoutchouc bouché par une baguette en verre. Par ce tube, un peu d'air s'introduit à l'intérieur, y provoque la formation de bulles et régularise ainsi l'ébullition. La tubulure de la cornue C livre également passage à un tube N deux fois recourbé, plongeant dans le vase V et muni d'un robinet; cette disposition assure l'alimentation automatique de la cornue au cours de la distillation. La cornue

est suivie d'un réfrigérant de Liebig R dont les produits de condensation s'écoulent dans un récipient B muni inférieurement d'un robinet de vidange. Ce récipient est en relation avec un manomètre M et une bonne trompe à grand débit D, qui fera le vide dans tout l'appareil, pourvu que les joints soient parfaitement hermétiques.

On peut de la sorte distiller tous les jours sans démonter la cornue et à la température de 45° C. plusieurs litres d'alcool. Néanmoins, la trompe en entraîne toujours une certaine quantité; de plus, vers la fin de l'opération, quand le liquide se concentre, il mousse, et la distillation se ralentit beaucoup. Cet appareil peut rendre des services aux bactériologistes qui étudient les produits de sécrétion des microorganismes; c'est la raison qui nous a engagés à lui consacrer quelques lignes de description.

Reprenons l'examen du produit primitif, séparé par l'alcool fort, purifié par dialyse, et une dernière fois par l'alcool absolu. Avant de le soumettre à une étude chimique ou physiologique, il convient d'apprécier à sa juste valeur le procédé d'extraction que nous avons suivi.

Il ne faut pas oublier, quand on aborde les problèmes de cet ordre, que le produit soluble, même isolé par les méthodes les plus simples et partant les plus sûres, peut n'être pas identique avec la toxine qui préexistait dans le bouillon. En effet, un ou plusieurs éléments toxiques ont été retenus par la porcelaine, soudés au protoplasma microbien, conformément à l'hypothèse si vraisemblable d'Arnaud et Charrin; une autre portion, englobée par la masse visqueuse et gluante qui enveloppe certaines bactéries, a pu rester sur le filtre; enfin, en dehors de toutes ces causes, la porcelaine elle-même intervient. Ce n'est pas un septum inerte, mais bien plutôt une cloison poreuse exerçant sur certaines albumines une fixation élective, modifiant les autres au point de les rendre quelquefois méconnaissables⁽¹⁾. Ainsi donc, le liquide qui s'écoule de la bougie Chamberland n'est déjà plus identique au liquide des ballons de culture: cette filtration, purement physique semble-t-il, a exercé en réalité une action, peut-être profonde, sur les produits solubles.

A plus forte raison les opérations suivantes pourront-elles imprimer des variations diverses à ces matériaux albumineux si instables et si délicats: l'alcool, la dialyse, la dessiccation, en modifiant la constitution moléculaire, en éliminant des éléments cristallins organiques ou minéraux, ont sans doute influencé, et peut-être dans de larges limites, les propriétés chimiques et physiologiques des produits sécrétés. Nous ne pouvons pas affirmer, en étudiant une toxine microbienne, que cette toxine est de tous points identique au produit élaboré par les germes, tel qu'il était dans la culture, et avant toute opération destinée à l'extraire. Ce sont là des raisons qui doivent entraîner beaucoup de circonspection dans les

⁽¹⁾ GAUTIER, *Traité de chimie biologique*. Paris, Savy, 1892. — HUGOENEX, Recherches sur le passage des solutions de caséine à travers la porcelaine. *Ann. de chimie et de physique*, 6^e série, t. XXVIII, 1895. — ARLOING, *Comptes rendus*, 1895.

recherches: il serait puéril de nier qu'elles affaiblissent par avance, dans une certaine mesure, la portée des résultats. Nous croyons cependant que les diverses opérations énoncées plus haut sont indispensables; si l'on y renonçait, on expérimenterait sur des mélanges impurs de produits indéterminés, on serait exposé aux pires erreurs. Sans en méconnaître les inconvénients, il vaut donc mieux suivre la méthode que nous avons indiquée, si imparfaite soit-elle, jusqu'au jour où une connaissance plus approfondie des matières albuminoïdes nous permettra de séparer ces produits sans courir le risque de les altérer.

PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES DES TOXINES ALBUMOSIQUES. — Ce sont des corps amorphes⁽¹⁾, quelquefois blancs, presque toujours jaunâtres, sans odeur, ni saveur, solubles dans l'alcool faible, insolubles dans l'alcool absolu, l'éther, le chloroforme, le benzène, le sulfure de carbone, etc., etc. Malgré leur grande solubilité dans l'eau, ils peuvent être précipités de ce dissolvant par l'alumine et le phosphate de chaux; inutile d'ajouter qu'ils ne sont pas volatils.

A l'état sec on peut les porter quelque temps à des températures assez élevées sans qu'ils perdent leurs propriétés toxiques ou phlogogènes; en présence de l'eau, au contraire, ils s'altèrent vers 65° C.; quelques-uns cependant conservent toute leur activité physiologique jusqu'à 100° C. et même au delà.

On ne peut guère parler de propriétés chimiques quand il s'agit de corps aussi peu connus, et qui n'ont jamais été étudiés à un état complet de pureté. Du reste, les divergences sont grandes parmi les auteurs, quand il s'agit de préciser les caractères des toxines albumosiques. On s'accorde cependant à les considérer comme des corps quaternaires contenant souvent du soufre et toujours du phosphore, en même temps que des proportions très variables de sels minéraux. Plusieurs se comportent, d'ailleurs, comme de véritables albumines: se colorant en jaune par l'acide azotique, en rouge orangé au contact des solutions ammoniacales d'acide diazobenzènesulfonique, réduisant en bleu indigo le mélange de chlorure d'or et d'acide formique; elles présentent en outre les réactions du biuret, de Millon, d'Adamkiewics. La plupart précipitent par l'acide picrique, les iodures doubles, le sublimé, l'azotate d'argent, l'acétate d'urane, plus rarement par le ferrocyanure de potassium acétique. Quelques toxines albumosiques ajoutent à ces réactions chimiques des propriétés zymotiques marquées: peptonisant l'albumine, saccharifiant l'amidon, peut-être même saponifiant les corps gras. Par contre, leur solution peut servir de bouillon de culture et, abandonnée à l'air, se putréfier rapidement, exhalant quelquefois une odeur cadavérique fort désagréable, et tout à fait spéciale pour la matière phlogogène extraite par Hugouenex et Éraud des cultures de l'orchicoque.

L'analyse élémentaire de substances aussi impures et aussi dénuées de

⁽¹⁾ Ils ne présentent d'aspect cristallin que lorsqu'ils sont mélangés à des sels minéraux, avant la dialyse par conséquent.

constantes physiques que les toxines albumosiques, ne saurait fournir des résultats précis, ni surtout définitifs; il serait bon cependant qu'elle fût entreprise plus souvent: car, pour être incomplètes, ces données n'en offrent pas moins un réel intérêt. C'est ainsi que la matière phlogogène de l'orchicoque dose 11,45 pour 100 d'azote, déduction faite d'un peu de cendres, et ne renferme pas trace de soufre, tandis que la peptone qui entraine dans la composition chimique du bouillon était sulfurée et dosait 15,51 pour 100 d'azote. Brieger et Proskauer, qui ont analysé la *tuberculine* de Koch, l'ont trouvée constituée par 16 à 20 pour 100 de cendres, 47 à 48 de carbone, 7 à 7,5 d'hydrogène, 14,5 d'azote et 1,1 de soufre.

Que conclure de ces propriétés? Autant qu'on peut en juger pour des corps aussi peu connus, ces matières diffèrent assez sensiblement de composition élémentaire et de constitution, malgré des analogies plus apparentes que réelles. Par leur teneur relativement faible en azote, elles semblent s'éloigner des matières albuminoïdes, quoique la plupart des caractères analytiques les en rapprochent. Elles en sont cependant plus éloignées que les peptones, et, s'il était permis de hasarder une hypothèse, on dirait que ce sont des produits d'hydratation assez avancée des substances protéiques, peut-être intermédiaires entre les albumines vraies et les alcaloïdes, encore que cette conclusion ne semble pas s'appliquer à toutes les toxines indistinctement.

Quant à leur action sur l'organisme, elle varie beaucoup d'une espèce à l'autre: les unes sont de vrais poisons et agissent comme tels sur les muscles, la circulation, les reins, le poumon, l'intestin, la peau, les épithéliums glandulaires, le système nerveux central ou périphérique (vaso-moteurs)⁽¹⁾, etc., etc. Plusieurs sont pyrétogènes; d'autres provoquent des phlogoses locales dans tous les tissus indistinctement, quelquefois, par une sorte d'action élective, dans un seul organe (Hugouneq et Éraud).

On attribue indistinctement toutes ces réactions physiologiques à des actions fermentatives, et l'on a l'habitude de considérer ces toxines comme des ferments solubles d'une espèce particulière, mais comparables, par l'ensemble de leurs propriétés, aux enzymes des organismes supérieurs, à la pepsine, à la pancréatine, etc. Rien n'est moins démontré; il n'est pas certain que plusieurs de ces matières ne soient pas, au contraire, des produits fermentescibles, susceptibles de fermenter sous l'influence des cellules des tissus. Si plusieurs toxines agissent à des doses minimes, à l'instar des ferments solubles, d'autres, au contraire, ne provoquent de réaction qu'à des doses presque massives et, de par ce caractère, se rangent plutôt parmi les substances fermentescibles que parmi les ferments. D'autres arguments, du reste, que fait naître l'interprétation d'une expé-

⁽¹⁾ La toxine diphtérique influence la respiration, la thermogénèse (ARLOING, LAULANIE), lèse le rein (rein granuleux (HALLION, ENRIQUEZ), le cœur (*id.*), l'intestin, le foie, la rate (COORMONT, DOYON, etc.); le tissu hépatique accroît son activité (TEISSIER, GUINARD), etc.

rience d'Arloing sur laquelle nous reviendrons, militent en faveur de cette théorie. Elle renverse assurément les idées classiques généralement admises; mais, à tout prendre, celles-ci ne sont pas plus solidement établies que celles-là, et en un pareil sujet les idées neuves ont toujours l'avantage de susciter de nouvelles recherches.

Il est du reste fort possible que la théorie actuelle, très simpliste, de l'action des diastases microbiennes, soit modifiée dans ses grands traits ou même complètement renversée avant longtemps. Il existe vraisemblablement des phases intermédiaires entre l'action zymotique des toxines et la réaction de l'organisme vivant. Dans leurs études sur la pathogénie du tétanos, Courmont et Doyon paraissent avoir saisi un stade intermédiaire entre la cause initiale et la production finale des symptômes.

Il nous reste, pour terminer, à décrire quelques-unes des plus importantes et des mieux connues parmi les toxines microbiennes albumosiques.

TOXINES MICROBIENNES ALBUMOSIQUES. — Comme nous l'avons vu précédemment, c'est Arloing⁽¹⁾ qui, le premier, décrit la substance phlogogène précipitable par l'alcool des liquides virulents ou des milieux artificiels où s'était développé le microbe de la péripneumonie contagieuse du bœuf (*pneumobacillus liquefaciens bovis*). C'est une matière blanche amorphe, soluble dans l'eau et la glycérine, azotée mais non albumineuse, dont les effets s'exagèrent à + 80° C., s'atténuent au voisinage de + 100° C. Cette substance, qui paraît être enfermée dans l'atmosphère visqueuse de chaque microbe, produit chez le bœuf une tuméfaction épaisse, chaude et douloureuse, qui rétrocede lentement, après plusieurs jours.

Des cultures du *Bacillus heminecrobiphilus*, Arloing a extrait une diastase très curieuse et dont les propriétés peuvent se résumer comme suit: c'est un produit blanc, soluble dans l'eau, précipitable par l'alcool et qui, injecté dans le testicule bistourné du bélier, provoque la dissolution du tissu conjonctif, la diapédèse, l'infiltration des régions circonvoisines et la formation de gaz. Pour 100 volumes, on a:

CO ₂	18,50
O	2,04
Az	79,66

Cette substance peptonise la fibrine, intervertit la saccharose, saccharifie l'amidon, émulsionne et dédouble les graisses; les diverses zymases ont pu être isolées par le procédé de Danilewski.

Ce qui fait l'intérêt de ce travail, c'est la production abondante de gaz par la seule action du ferment soluble en l'absence de tout ferment figuré; le fait a été mis hors de doute par les expériences répétées d'Arloing: nous croyons cependant que l'explication qu'il en donne ne peut être

⁽¹⁾ ARLOING, *Comptes rendus*, t. CVI, p. 1750

admise sans de nouvelles preuves plus convaincantes ⁽¹⁾. Tout ce qu'on sait sur la chimie des diastases nous les montre comme susceptibles d'un nombre fort restreint d'aptitudes chimiques : leurs procédés de dédoublement se réduisent presque toujours à un phénomène d'hydratation ; la pepsine, les diastases pancréatiques, l'émulsine, la myrosine fixent de l'eau sur la molécule des corps qu'elles dédoublent, rien de plus. Nous ne les voyons jamais provoquer de décomposition moléculaire profonde comme celle qu'accuse le dégagement gazeux de l'expérience d'Arloing. Ce n'est pas que ce dégagement constitue en soi un phénomène impossible à admettre, mais il témoigne d'une activité chimique tellement puissante, si éloignée de tous les mécanismes diastasiques, qu'une autre explication nous paraît plus probable : c'est l'intervention des éléments cellulaires du testicule. Si l'on admet que la substance isolée par Arloing est susceptible de fermenter au contact des cellules de l'économie plus ou moins modifiées, les résultats de l'expérience s'expliquent aisément, ils rentrent dans le cadre habituel des actions chimiques provoquées par les éléments figurés, et ils établissent simultanément que, parmi les substances phlogogènes, il en est qui, au lieu de jouer le rôle de ferment, ne sont que des corps fermentescibles dont la fermentation entraîne les phénomènes de phlogose, compliquée ou non de dégagement gazeux.

Dans leurs études sur la diphtérie, Roux et Yersin ⁽²⁾ ont obtenu, avec les produits solubles du bacille de Klebs et Loeffler, des effets toxiques d'une assez grande puissance. Les animaux en expérience deviennent inquiets, se hérissent, ont des selles diarrhéiques, du tremblement ; la respiration est anxieuse, la mort survient rapidement. A l'autopsie, épanchement dans la plèvre et congestion généralisée des viscères. Les animaux tels que les souris, qu'une forte dose de bacilles n'affecte pas, montrent aussi une remarquable résistance. Le poison diphtéritique ne développe toute son énergie que dans les milieux alcalins : des doses très modérées d'acide entravent son action toxique, l'air et la lumière paraissent également la diminuer ; une température de 100° C. suffisamment prolongée la fait disparaître. Cette toxine est soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool ; les précipités d'alumine et de phosphate de chaux l'entraînent : elle dialyse lentement, et provoque à très faible dose des accidents mortels.

Ces résultats sont à rapprocher des toxines alcaloïdiques extraites par Villiers et Griffiths des organes et de l'urine des diphtéritiques : nous avons parlé de ces corps, nous n'y reviendrons pas.

Des bouillons de culture de l'*Orchiococcus urethrae*, Hugounenq et Éraud ont extrait une substance solide, amorphe, jaunâtre, sans odeur

⁽¹⁾ Pour que l'explication d'Arloing s'imposât comme le résultat obligé de son expérience, il faudrait démontrer que le testicule du bélier est mort et qu'il n'y reste plus un seul organite vivant. Il suffit d'énoncer cette condition pour démontrer les difficultés d'un pareil contrôle.

⁽²⁾ ROUX et YERSIN, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 2^e année, n° 12, décembre 1888, p. 629 ; 1889, p. 275 ; 1890, p. 585.

ni saveur, soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool fort et qui réagit comme une peptone vis-à-vis des réactifs habituels : réactions du biuret, de Millon, d'Adamkiewicz, acides nitrique, picrique, phosphotungstique, sublimé, acétate de plomb, tannin, iodures doubles, etc., etc. Cette matière se différencie pourtant des peptones par l'absence de soufre, et par sa faible teneur en azote (11,44 au lieu de 15 pour 100). Elle s'en distingue d'ailleurs encore plus nettement par ses propriétés phlogogènes : inactive dans les autres tissus, elle détermine dans le testicule, surtout chez les jeunes animaux, une fonte purulente de l'organe qui ne laisse après elle, à la place du testicule, qu'un petit noyau atrophié et racorni ⁽¹⁾.

La chimie pathologique du choléra est encore très confuse : nous avons vu précédemment que plusieurs auteurs, tels que Brieger, Nicati et Rietsch, Pouchet, Villiers, Klebs, avaient isolé des toxines alcaloïdiques des bouillons de culture du bacille de Koch, aussi bien que du sang ou du contenu intestinal des cholériques. Ces recherches avaient eu pour point de départ l'observation faite par Koch que, le vibron pathogène ne pénétrant pas dans l'organisme infecté, ses effets généraux devaient être mis sur le compte d'un produit soluble et diffusible, d'un poison chimique ⁽²⁾. Les recherches de Brieger, Klebs, Nicati et Rietsch démontrèrent bien l'existence de ptomaines prévues par le bactériologiste allemand, mais ces bases avaient trop peu d'activité pour rendre compte des phénomènes toxiques de l'infection cholérique. Force fut donc de chercher ailleurs la cause de l'empoisonnement.

Brieger et Frankel démontrèrent alors dans les milieux de culture où s'était développé le bacille-virgule, l'existence d'une matière albuminoïde insoluble dans l'eau et dans l'alcool, inoffensive pour le lapin, toxique pour le cobaye ⁽³⁾. Cette substance, précipitable par le sublimé, l'acétate de plomb, le ferrocyanure acétique, est riche en soufre ; elle donne la réaction de Millon et celle du biuret. Injectée aux animaux, elle produit des abcès et des pseudo-membranes. Quand on la chauffe vers 60° C., elle perd son activité. Petri, au contraire, a isolé une véritable peptone soluble dans l'eau, précipitable par l'alcool, mais non par le sulfate d'ammoniaque. Cette substance, que le nitrate mercurique colore en rouge, serait d'ailleurs peu active. Bien que Scholl ⁽⁴⁾ et Hueppe ⁽⁵⁾ aient confirmé les assertions de Petri, ces expériences ne doivent être acceptées que sous réserve, à cause des conditions différentes et peu précises où se sont placés les auteurs.

L'existence du poison cholérique n'en est pas moins certaine, ainsi que l'a démontré Bouchard ⁽⁶⁾ quand il a vu les urines cholériques pro-

⁽¹⁾ HUGOULENQ et ERAUD, *Comptes rendus*, 1891 et 1895.

⁽²⁾ GAMALEIA, *Arch. de méd. expér.*, 1892, p. 172.

⁽³⁾ BRIEGER et FRENKEL, *Berl. klin. Woch.*, 1890, n° 11 et 12.

⁽⁴⁾ SCHOLL, *Berl. klin. Woch.*, 1890, n° 41.

⁽⁵⁾ HUEPPE, *Deutsche med. Woch.*, 1891, n° 55.

⁽⁶⁾ BOUCHARD, *Congrès de Grenoble*, 1885. Voy. aussi Bosc, *Ann. Past.*, 1895. Voy. aussi RANSOM.

voquer chez les lapins la diarrhée, l'albuminurie, puis l'anurie consécutive, enfin l'algidité. Mais ce poison, qui paraît être énergiquement fixé par les bacilles comme l'a indiqué Cantani⁽¹⁾, est difficile à isoler, et de plus fort altérable. Pour Gamaleïa⁽²⁾, les toxines proviennent des corps vibroniens; elles paraissent constituées par une petite quantité de substance insoluble dans l'eau pure, soluble dans les alcalis dilués, précipitable par l'alcool, les acides, le sulfate de magnésie, assez semblable aux toxalbumines de la diphtérie et du tétanos, et, comme elles, très voisines des nucléoalbumines. En injection intraveineuse, ces toxines déterminent l'apparition des symptômes typhiques du choléra humain.

Ce serait là le poison primitif qui préexisterait dans la cellule microbienne. Par l'action d'une température élevée et peut-être sous d'autres influences, il fournirait un poison secondaire, insoluble dans l'eau acidulée, soluble dans les alcalis, précipitable par l'alcool, l'acide acétique et l'acétate de plomb. Cette substance, qu'une température de 120° maintenue pendant une heure n'altère pas, serait, au contraire, facilement détruite par les alcalis bouillants; elle provoque chez les animaux une inflammation exsudative intense au point d'inoculation, des convulsions et la mort. Il s'agirait, d'après Gamaleïa, d'une nucléine dérivée de la nucléoalbumine primitive dont le dédoublement facile rendrait compte de la pluralité des toxines et, par voie de conséquence, des divergences rapportées ci-dessus.

Parmi les maladies infectieuses, une des mieux étudiées dans le mécanisme profond de sa pathogénie est certainement le tétanos. Nous avons indiqué antérieurement les résultats publiés à ce sujet par Brieger, auxquels il faut joindre les recherches de Kitasato et Weyl. Ces auteurs avaient été conduits à considérer comme étant les poisons du tétanos, des toxines alcaloïdiques dont ils avaient déterminé la formule et étudié les propriétés. Ces résultats, contestés de divers côtés, ont finalement été reconnus inexacts par Brieger lui-même qui avait opéré, au cours de ses premiers travaux, sur des cultures impures. Knud Faber⁽³⁾, le premier, démontra que le poison tétanique, loin de se rapprocher des alcaloïdes, était au contraire une matière albumosique, un ferment soluble.

Tizzoni et Catani, puis Vaillard et Vincent⁽⁴⁾, ont confirmé les résultats de Knud Faber et établi que la substance active des bouillons de culture du bacille de Nicolaïer était une masse amorphe, ambrée, inodore, très soluble dans l'eau, peut-être susceptible de liquéfier la gélatine, difficilement dialysable, précipitable par l'alcool en flocons grisâtres, entraînée par le phosphate de chaux ou l'alumine, incapable de digérer l'albumine

(1) CANTANI, *Deutsche med. Woch.*, 1886, n° 45.

(2) GAMALEÏA, *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1888 et 1892. — *Comptes rendus*, 1890. — *Bull. de la Soc. de biol.*, 1889.

(3) KNUD FABER, *Berl. klin. Woch.*, 1890, n° 51.

(4) VAILLARD et VINCENT *Ann. de l'Inst. Pasteur*, 1891, n° 1, p. 1.

et d'intervertir le sucre, tout comme la toxine diphtérique, avec laquelle elle présente d'étroites analogies.

Une température de + 65°, l'action de la lumière et surtout de l'air détruisent l'activité de cette toxine dont l'extraordinaire puissance est une des particularités les plus curieuses. Vaillard et Vincent ont pu établir que la substance, précipitable par l'alcool, provoquait un tétanos mortel chez le cobaye à la dose de 0^{sr},000 25, et que, chez la souris, 0^{sr},000 000 25 suffisaient pour donner la mort. Comme la matière précipitée par l'alcool est certainement impure, que peut-être même elle ne contient que des traces de substance active, il s'ensuit que la dose mortelle de toxine pure est représentée par un chiffre infinitésimal, et tout à fait hors de proportion avec la dose mortelle des poisons les plus violents, comme la digitaline cristallisée ou les bases de l'aconit.

C'est là un point qui n'est pas sans importance, car le mécanisme invoqué par Vaillard et Vincent pour expliquer la genèse du tétanos a été critiqué par Courmont et Doyon⁽¹⁾, qui ont substitué à la théorie du poison direct la théorie du ferment soluble et des intoxications secondaires provoquées par ce ferment. Une courte explication est indispensable.

Vaillard et Vincent admettent que la matière albumosique isolée par eux est un poison *direct*, agit en vertu de l'action toxique qui lui appartient en propre, sur l'organisme, qu'elle tétanise et tue. Pour Courmont et Doyon, au contraire, la substance si active étudiée par Vaillard et Vincent n'a pas d'action directe lui appartenant en propre, elle n'agit qu'en provoquant, à titre de ferment soluble et aux dépens des matériaux de l'économie, des fermentations zymotiques déterminant à leur tour, par un processus secondaire, la production d'une toxine qui intervient alors directement comme agent tétanisant.

A l'appui de leur conception pathogénique, Courmont et Doyon ont apporté un certain nombre de preuves. C'est d'abord la constance de l'incubation: jamais les produits solubles ne déterminent d'accident immédiat à la façon de la strychnine; quelle que soit la dose, il s'écoule toujours une période plus ou moins longue entre l'injection des toxines et l'explosion des phénomènes tétaniques. Cet argument qui, tout en ayant sa valeur, n'est cependant pas sans réplique, est confirmé, du reste, par des observations d'un autre ordre: les animaux à sang froid, tels que la grenouille, sont réfractaires au tétanos pendant l'hiver, mais le prennent fort bien en été, pourvu que la température extérieure dépasse + 50°. Ce n'est là, du reste, qu'une question de température; car si, en plein hiver, on chauffe artificiellement les grenouilles jusqu'aux environs de 50°, elles cessent d'être réfractaires et contractent la maladie par l'injection des seules substances solubles, en dehors de tout germe, bien entendu.

L'incubation et l'influence favorable de la chaleur sur le développement

(1) COURMONT et DOYON, *Bull. de la Soc. de biol.*, décembre 1892, mars, juin et octobre 1895. *Arch. de physiol.*, janvier 1895. — *Comptes rendus*, mars 1895. — *Revue de méd.*, janvier 1894. — NICOLAS, *Bull. de la Soc. de biol.*, octobre 1895.

des accidents tétaniques concordent bien avec l'hypothèse de Courmont et Doyon, à savoir que les produits solubles sont des diastases sans autre action immédiate que celle de provoquer, dans l'économie, une fermentation productive de toxines tétanisantes. Si, du reste, comme l'ont fait ces auteurs, on transfuse à des animaux sains le sang d'un autre animal en pleine crise tétanique, ou, si on leur injecte les produits solubles extraits par l'eau des muscles d'un animal sacrifié en plein tétanos, les animaux injectés présentent des convulsions tétaniques immédiates, sans période d'incubation intermédiaire. Cette dernière expérience, qui a toujours été faite avec des cultures filtrées, n'a donné de résultats probants que sur la grenouille; toutefois, si on la rapproche des arguments tirés de l'incubation, de l'influence des températures favorables aux processus fermentatifs, enfin des doses vraiment infinitésimales auxquelles les produits solubles du bacille de Nicolaïer tétanisent, tuent, on trouve un ensemble de raisons qui rendent la théorie de Courmont et Doyon d'autant plus séduisante que les travaux récents de Guinard, de Phisalix, sur l'action des venins, lui ont apporté un nouvel argument⁽¹⁾. — Il est juste de reconnaître que divers auteurs, Conrad Brunner, Gumprecht, etc., entre autres, n'ont pas conféré un tétanos immédiat en injectant les humeurs des tétaniques; les légers spasmes enregistrés s'observent, si on a recours à des produits normaux; or, c'est là, c'est cette réalisation immédiate qui constitue, en définitive, la seule preuve inattaquable de l'hypothèse de Courmont et Doyon.

D'ailleurs, il est vraisemblable que les idées actuelles sur la pathogénie des accidents dus aux toxines microbiennes iront se compliquant de plus en plus: à la place du phénomène direct, simple, pour ainsi dire brutal, on saisira des stades transitoires, toute une série de réactions chimiques qui rattacheront la matière soluble initiale à la réaction finale de l'organisme. La théorie de Courmont et Doyon marque donc une phase nouvelle dans l'évolution des idées: il importait de la signaler en passant⁽²⁾.

Dans les fausses membranes de la diphtérie, Tangl a décelé une toxalbumine. — Dans les cultures du bacille de Klebs-Löffler, Proskauer et Wassermann ont rencontré deux albumoses de toxicité différente, une jaune et une blanche. — Löffler a montré que la glycérine permettait d'extraire une partie de ces poisons diphtéritiques.

Il importe également d'indiquer que Weyl, à l'aide de la soude caustique, a retiré une mucine des cultures du bacille de la tuberculose, mucine assez riche en phosphore, mucine qui, d'après Kossel, serait peut-être une nucléo-albumine.

Volkow, Gamaleïa, Brühl, en étudiant le vibron avicide, ont reconnu que les principes vaccinaux pouvaient être volatils. — Dans les bouillons

(1) PHISALIX, *Arch. de physiol.*, juillet 1894.

(2) Cette théorie appliquée aux accidents morbifiques ce que l'on sait du mécanisme de l'immunité, attendu que ce sont les tissus qui, sous l'influence des toxines, engendrent les composés bactéricides ou anti-toxiques.

du bacille virgule cholérique, Scholl a trouvé des corps aromatiques⁽¹⁾; Petri, de la tyrosine, des toxopeptones; Emmerich, Tsuboi des nitrites; dans ceux du bacille du côlon, on découvre de l'hydrogène sulfuré, du méthylmercaptan, d'après Karploï; dans ceux du bacille de la morve, une substance brunâtre, assez active, suivant Finger, Bromberg, etc.

Beaucoup de microbes fabriquent des pigments: rouge, vert, bleu, jaune; d'autres, principalement des anaérobies, engendrent des gaz; plusieurs produisent des acides, spécialement des acides gras; la plupart consomment de l'oxygène, émettent des éléments azotés, ammoniacaux en grande partie, etc., etc.

Il importe, pour expliquer les intoxications d'origine microbienne, de tenir compte de ces composés, de la diminution de l'oxygène par concurrence vitale, de la disparition d'une série d'éléments, dont, par le fait de cette concurrence, les tissus sont privés. Il faut aussi tenir compte de l'apparition des produits ordinaires de l'évolution des bactéries, des substances azotées, ammoniacales, des acides gras, de l'acide carbonique, de l'acide lactique, etc., des pigments, des corps aromatiques, des gaz, etc.

Toutefois, les accidents sont surtout attribuables aux sécrétions spécifiques, aux alcaloïdes, aux albumoses, aux diastases, aux nucléines, aux nucléo-albumines, etc. — Parmi ces composés, on rencontre donc, nous l'avons vu, des corps morbifiques; on y rencontre aussi ceux qui plus ou moins directement font naître l'immunité. — Connaissant le microbe, les causes propres à lui permettre d'agir, les symptômes, les lésions qu'il crée, les éléments capables, avec les associations bactériennes, d'influencer la gravité ou la bénignité, la marche, l'évolution de ces troubles, connaissant les propriétés des toxines que ce microbe utilise pour engendrer la maladie, il importe de voir si on peut prévenir l'infection.

CHAPITRE XI

L'IMMUNITÉ

HISTORIQUE. — IMMUNITÉ NATURELLE. — IMMUNITÉ ACQUISE. — THÉORIE DE LA SOUSTRACTION. — THÉORIE DE L'ADDITION. — LES TOXINES NE VACCINENT PAS PAR ELLES-MÊMES. — LEUR ÉLIMINATION. — DOCTRINE DE L'ACCOUTUMANCE. — DOCTRINES DIVERSES. — ÉTAT BACTÉRICIDE. — CHIMOTAXIE. — PRINCIPES ANTI-TOXIQUES. — SÉROTHÉRAPIE. — LES BACTÉRIES CHEZ LES VACCINÉS. — HÉRÉDITÉ DE L'IMMUNITÉ. — L'IMMUNITÉ PROPRIÉTÉ CELLULAIRE.

Immunité naturelle connue anciennement. — Immunité acquise également anciennement connue; son mécanisme étudié récemment. — L'immunité au travers des âges.

(1) Voy. aussi travaux de RANSOM