

CHAPITRE XII

PRODUITS SOLUBLES MICROBIENS

L'étude des produits solubles microbiens est une des parties les plus importantes et les plus difficiles de la bactériologie.

§ 1. — NOTIONS GÉNÉRALES

Pour apprendre à isoler les produits solubles, il faut d'abord posséder quelques notions sur leurs propriétés, leur nature, leur origine.

1° Existence des produits solubles. Histoire de leur découverte. Leur importance. — Le microbe est un être vivant; il a besoin, pour pousser, pour se reproduire, d'emprunter aux milieux dans lesquels il végète les substances nécessaires à la fabrication de son protoplasma. Nous avons déjà rapidement énuméré, au chapitre III, quels sont les aliments indispensables à la vie des microbes. Tantôt les substances nutritives sont directement utilisées, tantôt elles sont au préalable transformées par des *ferments solubles*, sécrétés par le microbe lui-même. C'est ainsi, par exemple, qu'un microbe du lait, le *Tyrothrix tenuis*, décrit par DuCLAUX, sécrète une diastase : la *caséase*, qui rend la caséine soluble dans l'eau et conséquemment absorbable. C'est ainsi que le *Bacillus amylobacter* produit une diastase qui attaque l'enveloppe cellulosique des cellules végétales et rend l'utricule azotée abordable aux microbes qui doivent s'en nourrir. La liquéfaction de la gélatine du sérum solidifié, la redissolution du caillot du lait par

certains microbes sont dues à des diastases sécrétées par ceux-ci. Les microbes se nourrissent donc en absorbant les substances nutritives ambiantes, telles qu'elles se présentent, où préalablement modifiées par des produits solubles sécrétés par les microbes eux-mêmes.

Il en résulte naturellement de profondes transformations dans la composition du milieu nutritif où a végété le microbe; certaines substances n'existent plus, d'autres ont fait leur apparition. Ces dernières ont été directement élaborées par le microbe (sécrétions) ou proviennent des modifications chimiques survenues dans le milieu sous l'influence des sécrétions; on les appelle les *produits solubles microbiens*.

Nous ne pouvons, dans un ouvrage élémentaire, nous appesantir sur toutes les transformations chimiques, d'ailleurs encore mal connues, des matériaux alimentaires des cultures microbiennes. Établissons simplement, au début de ce chapitre, que, par le fait même qu'ils sont des êtres vivants les microbes émettent des *produits solubles*, qu'ils retiennent dans leur protoplasma ou qu'ils laissent diffuser dans un milieu ambiant. Nul ne leur a jamais contesté cette propriété vitale : la sécrétion de diastases digestives, de matières colorantes (retenues dans le protoplasma du *M. prodigiosus*, diffusant de celui du *B. pyocyaneus*), etc., n'a jamais soulevé de polémiques¹; il n'en a plus été de même lorsqu'on a voulu faire jouer un rôle aux produits solubles microbiens dans l'explication de l'*action pathogène des microbes virulents*. C'est précisément des substances solubles microbiennes *ayant un rôle en pathologie* que nous allons uniquement nous occuper.

La *découverte du rôle* des produits solubles microbiens en *pathologie* est entièrement lyonnaise. Elle appartient à TOUSSAINT et à CHAUVÉAU (1878-1886). CHAUVÉAU montra qu'on pouvait produire, très rapidement, chez des moutons, tous les symptômes du charbon, en leur transfusant du sang frais provenant

¹ La sécrétion de diastases par les champignons, connue antérieurement, plaidait, par analogie, en faveur des produits solubles microbiens.

d'un animal charbonneux ; la soudaineté de l'évolution de la maladie ainsi provoquée indiquait qu'elle était due, non à l'introduction et au développement ultérieur des microbes, mais bien à une *intoxication* par injection des poisons solubles sécrétés dans le sang charbonneux du premier animal ; les *toxines* étaient découvertes. Le microbe pathogène créait l'infection en inondant l'organisme de *produits solubles toxiques*. Mais c'est surtout à propos de la *vaccination* que TOUSSAINT et CHAUVEAU développèrent leurs idées sur le rôle des produits solubles microbiens. TOUSSAINT, donnant l'immunité avec du sang charbonneux chauffé, et qu'il croyait sûrement privé de bacilles ; CHAUVEAU, montrant que les agneaux issus d'une brebis, inoculée avec du *B. anthracis*, sont doués d'immunité, montrant que les moutons algériens résistent à une faible dose de virus charbonneux mais succombent à une dose plus forte, avaient condensé un faisceau d'expériences tendant à faire admettre que l'immunité acquise était due à l'*addition* de substances nouvelles sécrétées par les microbes.

Malheureusement, les expériences des savants lyonnais ne parurent pas inattaquables ; le chauffage de TOUSSAINT (+ 58°) pouvait ne pas avoir détruit tous les microbes du sang charbonneux ; le placenta des brebis de CHAUVEAU pouvait, à la rigueur, avoir laissé passer quelques bacilles. Aussi, PASTEUR et son école combattirent-ils très vivement la théorie des produits solubles. Pour PASTEUR, le microbe agissait directement par lui-même ; il causait les symptômes du charbon en absorbant l'oxygène des hématies¹, il vaccinait par *soustraction*, en enlevant à l'organisme une substance nutritive indispensable à la vie du microbe ; toute nouvelle inoculation restait sans effets, les nouveaux arrivants trouvant un terrain *épuisé*.

La lutte entre la *théorie lyonnaise de l'addition* et la *théorie*

¹ La résistance fut moins marquée vis-à-vis des produits solubles toxiques que vis-à-vis des produits solubles vaccinaux. Dès 1880, PASTEUR avait produit des symptômes, chez la poule, en lui injectant un extrait de bouillon du choléra des poules. En 1877, il avait même supposé que le *B. anthracis* dissolvait les globules rouges à l'aide d'une diastase.

parisienne de la soustraction a duré jusqu'en janvier 1887, époque à laquelle PASTEUR, dans une lettre à DUCLAUX, se rangea à l'opinion de CHAUVEAU, ne pouvant expliquer autrement ses propres découvertes sur le traitement antirabique.

Cette même année 1887 vit surgir les preuves définitives du rôle des produits solubles en pathologie infectieuse. Les expériences de WOLRIDGE, de SALMON et SMITH pouvaient être critiquées. Il n'en était pas de même de celles de CHARRIN, qui annonçait, en mars 1887, la production de symptômes déterminés par injection des toxines sûrement aseptiques (cultures filtrées) du *B. pyocyane* et, en octobre 1887, la possibilité d'augmenter la résistance du lapin, vis-à-vis du *B. pyocyane*, par injection préalable de ces mêmes substances solubles extraites des cultures. Deux mois plus tard (décembre 1887), ROUX et CHAMBERLAND vaccinaient contre le *Vibrio septique* avec les produits solubles retirés des cultures. L'année suivante (février 1888) ROUX démontrait que le *B. Chauvei* fabrique aussi des substances immunisantes ; CHANTEMESSE et WIDAL faisaient des travaux analogues avec le *B. typhique*. La *vaccination chimique* était mise hors de toute contestation. Cette même année 1888 vit naître la découverte, par S. ARLOING, de la nature diastasique de certains de ces produits solubles.

On sait le nombre immense de travaux parus depuis cette époque sur le rôle et la nature des produits solubles microbiens. La voie ouverte par TOUSSAINT et CHAUVEAU a conduit au chapitre le plus important de la pathologie infectieuse expérimentale, prélude indispensable de l'étude des lésions microbiennes, des symptômes infectieux, de la vaccination, du sérodiagnostic, de la sérothérapie, etc. Le microbe est, avant tout, un fabricant de toxines ; la maladie infectieuse est une intoxication ; la vaccination, la prédisposition sont des actes chimiques : telles sont les idées dominantes de la science bactériologique actuelle.

2° Produits extra et intra-protoplasmiques. — Insistons d'abord sur un point capital. Une culture microbienne peut ne pas contenir de toxines dans sa partie liquide, bien que le

microbe ait fabriqué des substances très toxiques. En d'autres termes, la culture filtrée peut paraître inoffensive, sans qu'on puisse refuser au microbe la propriété toxigène. C'est que certains microbes sécrètent des toxines qui *diffusent* hors de leur protoplasma et se répandent dans les liquides nutritifs (*véritables toxines solubles, extraprotoplasmiques*), tandis que d'autres conservent ces toxines dans leur protoplasma; *il n'y a pas de diffusion*; il faut extraire ces *toxines intraprotoplasmiques (poisons des corps des microbes)* à l'aide de procédés spéciaux.

La plupart des produits solubles que nous étudierons sont des toxines extraprotoplasmiques (*poisons diphtérique, tétanique, etc.*). On peut citer, parmi les intraprotoplasmiques : les *tuberculines*, la *malléine*, différents *vaccins extraits du corps du bacille de la peste* (vaccins de HAFKINE, de TERNI et BANDI), etc.

Les microbes morts sont toxiques à des doses qui varient, suivant les espèces, de quelques milligrammes à des grammes. Ils peuvent occasionner un empoisonnement aigu par libération de leurs toxines; ils peuvent engendrer des lésions. C'est ainsi que l'inoculation de *Bacilles tuberculeux* morts produit des tubercules (non réinoculables), comme l'ont vu PRUDDEN et HORDENPYL, STRAUS et GAMALEIA.

Pour extraire les poisons des corps microbiens, on s'est adressé à la macération, à l'expression. On trouvera ces procédés à propos de chacun des microbes (DEUXIÈME PARTIE). On se contente, le plus souvent, d'injecter la totalité de la culture tuée par la chaleur : liquides et cadavres microbiens. Parfois on utilisera les humeurs riches en germes, stérilisées.

Il n'y a pas toujours de limite bien tranchée entre les toxines solubles proprement dites et les poisons des corps microbiens. Telle toxine diffuse, mais diffuse imparfaitement et lentement.

3° Propriétés des produits solubles microbiens. — Les *produits solubles microbiens*, quelle que soit leur nature intime, peuvent se diviser en deux grandes classes suivant qu'ils engendrent la maladie ou qu'ils modifient simplement le terrain organique en vue d'une infection ultérieure.

A. PRODUITS SOLUBLES TOXIQUES. — La première classe comprend les *produits toxiques*, les *toxines* dans la plus large acception de ce mot. Les toxines engendrent la fièvre, les hémorragies, les inflammations de toutes sortes, etc., les lésions et symptômes, en un mot, de toutes les maladies infectieuses. Les cultures filtrées des microbes pathogènes produisent chez l'animal des effets identiques à ceux causés par l'inoculation de la culture complète (culture complète signifie l'ensemble des produits solubles et du microbe vivant).

Citons quelques exemples. CHARRIN a reproduit tous les symptômes et toutes les lésions de la maladie pyocyanique avec les toxines du *B. pyocyaneus*. ARLOING a étudié les effets phlogogènes d'une diastase sécrétée par le *Pneumobacillus liquefaciens bovis*, les effets gangréneux des produits du *Bacillus heminecrobiphilus*. DE CHRISTMAS a fait du pus avec une diastase provenant de *Staphylocoque pyogène*. KNUD FABER a reproduit les contractures tétaniques avec la toxine du *B. de Nicolaïer*. ROUX et YERSIN ont fait des paralysies avec la toxine diphtérique. J. COURMONT et RODET¹ ont fait, avec la culture filtrée du *Staphylocoque pyogène* : des contractures, de l'anesthésie, du Cheyne stokes, des troubles cardiaques, de l'hypothermie, des néphrites, etc. Les mêmes auteurs ont vu que la toxine du *V. septique* a une action inhibitrice sur le centre inspirateur et que celle du *Streptocoque pyogène* agit spécialement sur le cœur. Certaines toxines agissent sur les centres vaso-moteurs pour produire soit la vaso-dilatation (ectasines de BOUCHARD) (ARLOING), soit la vaso-constriction (anectasines) (CHARRIN et GLEY, ARLOING, MORAT et DOYON). On a même fait des tubercules avec des cadavres du *B. tuberculeux* (PRUDDEN et HORDENPYL, STRAUS et GAMALEIA). Il faut nous borner. Ajoutons que la mort est en général le terme de ces intoxications, si la toxine est assez active et injectée à une dose suffisante.

¹ J. COURMONT et RODET. *Etude expérimentale des substances solubles toxiques élaborées par le Staphylocoque pyogène*, Soc. de Biologie, 23 janvier 1892. — *Revue de médecine*, février 1893. Leçons d'ARLOING sur la Tuberculose et les Septicémies. Leçons 7 et 9 sur les Septicémies.

Il y a, dans un liquide filtré, non pas une toxine, mais un *mélange de toxines* (notion depuis longtemps défendue par Bouchard), à effets parfois antagonistes (*Staphylocoque pyogène*, J. COURMONT et RODET) et qu'il faut alors dissocier.

Les toxines peuvent se subdiviser en deux groupes.

a. Le premier comprend la majorité des produits solubles qui agissent sur l'organisme *comme une substance soluble quelconque*. Ces toxines à effets immédiats sont des produits volatils pour CHARRIN et GUILLEMONAT (1902).

b. A propos de leurs études sur le *poison tétanique*, J. COURMONT et DOYON¹ ont attiré l'attention sur un second groupe qui mérite d'être classé bien à part, en raison des propriétés particulières des toxines qui le composent et dont la *toxine tétanique* est le type. Ces propriétés sont les suivantes :

1° *Période d'incubation constante* entre l'injection de toxine et l'apparition des premiers symptômes objectifs; cette période d'incubation peut être raccourcie, mais ne peut être supprimée; il y a un temps minimum nécessaire à l'éclosion des symptômes. On n'observe aucun accident morbide, pendant des heures, quelle que soit la dose injectée. Cette période d'incubation n'existe pas avec les toxiques connus en physiologie;

2° *Importance relativement faible de la dose injectée*. A partir d'une dose donnée, on peut centupler la quantité de poison injectée, on ne raccourcit plus l'incubation. C'est un corollaire de la nécessité de l'incubation. Par contre, la période malade peut être raccourcie par l'augmentation des doses; la mort est hâtée;

3° *Importance considérable de la température ambiante*. La grenouille n'est sensible à la toxine tétanique que si elle est chauffée;

4° *Existence fréquente, mais non constante, dans le corps des malades de substances immédiatement toxiques*, produites par l'organisme, qui réagit contre les toxines à incubation;

5° *Absence de lésions anatomiques*, nécessaires à la production

¹ J. COURMONT et DOYON, Société de Biologie, 1893 à 1898. Archives de Physiologie 1896, etc. *Le tétanos*, monographie, Baillière, 1899.

des symptômes, et qui expliqueraient la période d'incubation.

Ces toxines peuvent être seules (*toxine tétanique*; J. COURMONT et DOYON) ou mélangées à des toxines à effet immédiat (*toxine diphtérique*, J. COURMONT et DOYON, ENRIQUEZ et HALLION). Elles ont d'ailleurs leurs analogues dans *certaines poisons végétaux* qui n'agissent aussi qu'après incubation.

Quelle que soit l'explication théorique que l'on donne de ces propriétés si spéciales de quelques toxines, la classe de J. COURMONT et DOYON doit être conservée, avec la nécessité de l'incubation comme principal caractère. *On a même tendance actuellement à les regarder comme les seules toxines spécifiques*.

c. Pour l'étude des effets des produits solubles toxiques on mettra en œuvre toutes les ressources de la physiologie et de l'histologie. On injectera des doses variables à différentes espèces animales, par des voies multiples, on observera l'animal comme un véritable malade (température, urines, alimentation, amaigrissement, symptômes nerveux, etc., etc.). Le moyen le plus précieux d'investigation sera la *méthode graphique* introduite en bactériologie par CHAUVEAU et ARLOING, CHARRIN et GLEY, J. COURMONT et RODET. On se servira, autant que possible, de grands animaux. Pour faire une étude suivie des effets d'une toxine jusqu'à la mort de l'animal, il est indispensable d'opérer avec de grands appareils graphiques, comme ceux qui existent dans les Laboratoires de Lyon, depuis leur création par CHAUVEAU (voir page 4). L'expérience peut ainsi avoir une durée indéfinie, pour ainsi dire sans interruption du tracé. D'ARSONVAL et CHARRIN ont recherché les *troubles de la calorification* produits par les toxines. ARLOING et LAULANIÉ ont fait de même en y ajoutant l'étude des *combustions organiques*. A l'heure actuelle, un Laboratoire bien outillé de physiologie est indispensable au bactériologiste; celui-ci n'a pas fait le quart de sa tâche lorsqu'il a constaté les propriétés botaniques d'un microbe. Les lésions dues aux toxines seront soigneusement coupées et examinées au microscope (p. 287); il faut donc être également histologiste.

CHARRIN et LEVADITI (1899) ont attiré l'attention sur l'influence du titre isotonique ou anisotonique des solutions minérales sur

l'activité des toxines dissoutes dans ces solutions. L'anisotonie favorise l'intoxication; les produits microbiens pénètrent plus rapidement les cellules.

d. A côté des toxines, EHRLICH a créé le groupe des toxoïdes et des toxones. Les *toxoides* sont des produits de transformation des toxines, ayant une composition analogue, et qui existent dans les cultures filtrées alors que les toxines ont disparu ou, tout au moins, se sont considérablement atténuées. Ces toxoïdes peuvent, comme les toxines, servir à l'immunisation; ils peuvent neutraliser les antitoxines. Ils produisent des symptômes différents de ceux de la toxine. Ce sont des toxines masquées dans le mélange par la toxine principale. Les *toxones* ne sont pas le produit d'une transformation des toxines; ce sont des corps créés concurremment par le microbe et pouvant occasionner des troubles sérieux (paral. diphtériques).

Ces expériences ont été faites sur la toxine diphtérique (voy. p. 625).

Il faut ranger parmi les produits solubles toxiques, ceux qui ont la propriété de détruire les globules blancs (*leucocidines*) ou les globules rouges (*hémolysines*).

e. *Leucocidines*. — Si on inocule du *Staphylocoque pyogène* dans la plèvre d'un lapin, l'exsudat pleural, d'ailleurs très riche en leucocytes dégénérés, altère les leucocytes normaux qu'on lui ajoute. Un chauffage de 10 minutes à + 58° ou + 60° détruit cette propriété. La leucocidine existerait, à petite dose, dans les cultures (VAN DE VELDE, KRAUSS, NEISSER, BAIL).

L'exsudat péritonéal du cobaye, inoculé par cette voie, avec du *B. pyocyannique*, jouit des mêmes propriétés.

f. *Hémolysines*. — La culture filtrée du *B. tétanique* contient de la *tétanolysine* (MADSEN), qui disparaît d'ailleurs vite. Les hématies du cheval et du lapin sont spécialement sensibles.

Il existe aussi une *pyocyanolysine* dans les cultures filtrées du *B. pyocyannique* (BULLOCH et HUNTER). Un chauffage de 15 minutes à + 100° la détruit. Les globules rouges de beaucoup d'animaux sont sensibles.

NEISSER (1901) a signalé une *staphylolysine*; les cultures filtrées de neuf à treize jours dissolvent les hématies du lapin.

Pour lui, sa production est un caractère constant du staphylocoque typique.

Le *Streptocoque de Marmorek* fabrique *in vivo* sur le lapin une hémolysine très active. BESREDKA l'a reproduite *in vitro* (p. 743).

B. PRODUITS SOLUBLES VACCINANTS OU PRÉDISPOSANTS. — Le second groupe des produits solubles microbiens comprend ceux qui, toxiques ou non, *modifient la réceptivité du terrain* animal qu'ils imprègnent, vis-à-vis d'une infection ultérieure.

Les uns sont *vaccinants* (TOUSSAINT, CHAUVEAU, CHARRIN, etc., etc.), et ce sont les plus nombreux. On vaccine l'animal contre le tétanos, la diphtérie, le choléra, et contre la plupart des infections en lui injectant des doses progressivement croissantes de cultures filtrées des microbes de ces maladies.

Mais il existe aussi des produits solubles qui ont un effet inverse, qui sont *prédisposants*. J'ai découvert cette classe de produits solubles en 1889¹. Les cultures filtrées d'un bacille tuberculeux du bœuf que je venais d'isoler (sans rapports avec le bacille tuberculeux de KOCH; voy. p. 517) introduites sous la peau d'un cobaye ou d'un lapin, à la dose de 1 centimètre cube par kilogramme, rendaient pour longtemps ces animaux prédisposés à l'action du bacille dans la proportion de 1 à 16; ceux-ci mouraient 16 fois plus vite que les témoins. J'ai retrouvé, avec RODET, ces mêmes produits solubles prédisposants dans les cultures du *Staphylocoque pyogène*. BOUCHARD les a constatés dans les cultures du *B. pyocyannique*, et ROGER dans celles du *B. Chauvæi* et du *Streptocoque pyogène*.

Ces produits prédisposants peuvent être mélangés à des produits vaccinants (J. COURMONT et RODET, ROGER).

C. Nous résumerons les notions précédentes sur les propriétés des produits solubles dans le tableau suivant :

¹ J. COURMONT, *Substances solubles prédisposant à l'action pathogène de leurs microbes producteurs*, Ac. des sciences, 22 juillet 1889, Soc. de Biologie, 21 déc. 1889, Revue de médecine, oct. 1891, Soc. de Biologie, 21 mars 1891, et Ac. des sciences, octobre 1891.

Exemples :

PRODUITS SOLUBLES	Toxiques . . .	{	Toxines à effets imméd.	Presque tous les microbes.
			Toxines à incubation	B. tétanique, etc.
	Leucocidines	{	Toxones. Toxoïdes.	B. diphtérique.
				Staphylocoque pyogène.
	Hémolysines	{		B. pyocyannique.
			B. tétanique.	
Vaccinants	{		B. pyocyannique.	
			Staphylocoque pyogène.	
Prédisposants	{	à action immédiate	Streptocoque de Marmorek.	
		mais passagère.	Presque tous les microbes.	
			B. Chauvæi.	
			B. pyocyannique.	
			Staphylocoque pyogène.	
			B. tuberculeux de J. Courmont.	
			Staphylocoque pyogène.	
			Streptocoque pyogène.	

4° Nature des produits solubles microbiens. — Au moment de la découverte du rôle des produits solubles microbiens en pathologie infectieuse, on savait bien que les microbes pouvaient sécréter des ferments solubles, des diastases digestives ou autres; mais on ne croyait pas que les produits solubles toxiques ou vaccinants puissent appartenir à cette classe de substance. On ne pensait qu'aux *ptomaines*.

a. Depuis les recherches de PANUM (1856), de BERGMANN et SCHMIEDEBERG (1868), de A. GAUTIER (1872), de SELMI, de NENCKI, etc., on avait l'attention attirée sur les *alcaloïdes* toxiques qu'on pouvait retirer des substances putréfiées, du pus, etc., et qu'on appelait *ptomaines*¹, ou que sécrétaient les cellules des organes sains (*leucomaines*).

Le terme de « ptomaines » devrait, d'après HUGOUNEQ, être réservé aux bases alcalines qui se produisent pendant la putréfaction cadavérique; le terme général doit être : *toxines alcaloïdiques*.

Les toxines alcaloïdiques sont des corps basiques (CHAz ou CHAzO), qui se dissolvent bien dans l'alcool, l'éther et les dis-

¹ Les ptomaines sont « les déchets ultimes, provenant de la désagrégation, graduelle et par voie d'hydratation, des matières albuminoïdes attaquées par les microbes de la putréfaction ». (HUGOUNEQ.)

solvants des substances riches en charbon. Elles se combinent aux acides pour donner des sels solubles, bien cristallisés. Elles s'unissent au chlorure d'or et au chlorure de platine. L'oxygène, la lumière, les acides en excès les altèrent. Elles sont précipitées par l'iodure de potassium ioduré, le tannin, l'acide picrique, etc. Elles ont la réaction de Selmi.

Les alcaloïdes oxygénés (CHAzO) cristallisent à l'état de liberté ou à l'état de sels. Ils se dissolvent médiocrement dans l'alcool (exemple : choline).

Les alcaloïdes résistent à de hautes températures.

Ne parlons que des toxines alcaloïdiques retirées des cultures pures. BRIEGER isola des ptomaines toxiques des cultures du *B. typique*, du *Staphylocoque pyogène*, du *Bacille de Nicolaïer*, (4 alcaloïdes basiques), du *Vibron cholérique*. LEBER fit du pus avec une ptomaine retirée des cultures du *Staphylocoque pyogène*. Bref, on recherchait systématiquement les produits solubles microbiens dans le groupe des alcaloïdes.

b. C'est alors qu'ARLOING¹ découvrit la nature diastasique des produits solubles phlogogènes contenus dans les cultures du *Pneumo-bacillus liquefaciens bovis*, et dans la sérosité du poumon de bœuf atteint de péricapnémie. La voie était ouverte; la classe des substances solubles albumosiques, ayant des propriétés pathogènes, des *toxalbumines*, était créée. Or, à l'heure actuelle, presque toutes les toxines sont considérées comme des corps albuminoïdes; les ptomaines existent, mais ont une importance bien moindre en pathologie.

A la suite des travaux d'ARLOING, on découvre coup sur coup : la diastase pyogène du *Staphylocoque pyogène* (de CHRISTMAS), les propriétés diastasiques des substances vaccinantes du sang charbonneux (ROUX et CHAMBERLAND), des toxines diphtérique (ROUX et YERSIN) et tétanique (KNUD FABER), des produits solubles du *Bacillus heminecrobiophilus* (ARLOING), d'une partie des toxines du *Staphylocoque pyogène* (J. COURMONT et RODET), etc. HUGOUNEQ et ERAUD font une étude soignée des toxines de

¹ ARLOING, Ac. des sciences, 7 mai et 18 juin 1888.

l'*Orchiocoque* (1891-1893) et en retirent une substance phlogogène voisine des peptones.

Ce sont donc les *toxalbumines* qui jouent le rôle capital en pathologie infectieuse. Ce sont des corps amorphes, solubles dans l'alcool faible, insolubles dans l'alcool absolu, l'éther, le chloroforme, la benzine, le sulfure de carbone, etc. Ils sont très solubles dans l'eau. La plupart, à l'état de solution dans l'eau, s'altèrent à + 65°. Leur composition est très mal connue. Ils sont quaternaires avec soufre et phosphore. Beaucoup se comportent comme de véritables albumines; beaucoup ont des propriétés zymotiques. Ces différents corps ont, en somme, entre eux des analogies plus apparentes que réelles, et semblent s'éloigner des véritables matières albuminoïdes par leur faible teneur en azote. HUGOUNENQ estime que ces substances sont peut-être des intermédiaires entre les albumines vraies et les alcaloïdes. A. GAUTIER vient de soutenir la même idée¹. Les toxalbumines agissent à des doses infinitésimales.

Les toxalbumines microbiennes ont leurs analogues dans les *toxines végétales* (abrine, ricine) et dans les *toxines animales* (venins, sérums d'anguille).

c. Ajoutons que CHARRIN, GLEY, GUILLEMONAT, font jouer un rôle important aux *produits solubles volatils*.

5° Origine des produits solubles microbiens. — On est encore bien peu fixé sur l'origine des toxalbumines microbiennes. Sont-elles sécrétées de toutes pièces par le microbe, ou ne sont-elles que des transformations des substances albuminoïdes existant normalement dans les bouillons de culture? Pour résoudre la question il faudrait obtenir des toxalbumines en cultivant les microbes dans des milieux ne contenant pas de substances protéiques. C'est ce qu'ont fait certains auteurs (ARNAUD et CHARRIN, GUINOCHET, OUCHINSKY, etc.), cultivant le *B. pyocyanique*, le *Vibron cholérique* et le *Bacille diphtérique* dans des milieux dépourvus de substances albuminoïdes (voy. leur composition, page 81). OUCHINSKY a retiré de ses liquides

¹ A. GAUTIER, *Les toxines microbiennes et animales*, B. Leauté, 1896.

des toxalbumines ayant les mêmes propriétés que celles qui proviennent des cultures en bouillon. Les microbes pourraient donc fabriquer de toutes pièces, *par synthèse*, des substances albuminoïdes en empruntant l'azote à des corps minéraux. Malheureusement les conclusions d'OUCHINSKY n'ont pu être confirmées (HUGOUNENQ, DOYON); on ne doit pas encore se prononcer. Il se pourrait, d'ailleurs, que les toxalbumines ne soient pas des corps albuminoïdes, mais *adhèrent simplement à ces derniers*. BRIEGER et BAER, dans leur étude des toxines diphtérique et tétanique, concluent que la substance active n'a pas les réactions de l'albumine ou de la peptone et représente « un groupement atomique inconnu en chimie ». Peut-être même les soi-disant toxalbumines ont-elles des propriétés vitales qui les placent au-dessus des matières amorphes!

§ 2. — PRÉPARATION DES PRODUITS SOLUBLES

Pour préparer et isoler les produits solubles d'une culture, il faut opérer en plusieurs temps.

1° Virulence de la semence. — Il faut d'abord posséder à l'état de pureté un échantillon, aussi virulent que possible, du microbe dont on veut essayer les produits. Certains microbes se conservent longtemps avec leur virulence, d'autres (comme le *B. tuberculeux*) ont une virulence assez fixe; il suffira de les employer tels quels. Le plus souvent il faudra *renforcer la virulence* de la semence, et ce premier temps sera quelquefois très laborieux.

On renforce, en général, la virulence d'un microbe, en le faisant passer un grand nombre de fois par l'organisme d'un animal très récepteur. On arrive ainsi à posséder des cultures d'une activité inouïe; or, les produits solubles en seront toxiques en proportion. C'est PASTEUR qui a créé cette méthode, en renforçant le microbe du rouget du porc par le passage dans l'organisme du pigeon, et celui du charbon en le faisant passer par le jeune cobaye.

On a exalté la virulence du *Staphylocoque pyogène* en le

faisant passer par le lapin (RODET) ; on injecte la culture dans le sang et, à la mort de l'animal, on puise la semence dans le sang du cœur ; on injecte un nouveau lapin avec la culture très jeune, ou directement avec le sang, et ainsi de suite ; les lapins meurent de plus en plus vite, et les microbes qui en proviennent sont de plus en plus virulents. C'est par cette méthode (d'abord sur des souris, puis sur des lapins) que MARMOREK a pu obtenir un *Streptocoque* tuant le lapin à $\frac{1}{100\ 000\ 000}$ ou même quelquefois $\frac{1}{4\ 000\ 000\ 000}$ de centimètre cube.

On renforce le *Bacille de la diphtérie* en le faisant passer par le cobaye. ROUX, METCHNIKOFF et TAURELLI-SALIMBENI ont exalté la virulence du *Vibrion cholérique*, au point de posséder des cultures tuant le cobaye à $\frac{1}{160}$ de centimètre cube. Pour cela, ils alternent un grand nombre de fois des cultures sur gélose, et des cultures en solution de peptone dans un sac de collodion placé dans le péritoine du cobaye (voy. p. 150).

On n'a pas toujours besoin de faire passer un microbe par l'animal pour lui restituer sa virulence. ARLOING et TRUCHOT ont pu renforcer la virulence du *Streptocoque* en changeant la composition du bouillon. ARLOING conseille aussi de faire une sélection parmi les individus microbiens d'une culture. On fait végéter dans des conditions légèrement dysgénésiques, on réensemence dès le premier trouble, et ainsi de suite pendant plusieurs passages. Ce sont les individus les plus vivaces qui ont résisté.

La semence virulente obtenue, il faut la conserver à cet état, ce qui est souvent très difficile. Le *Vibrion cholérique*, le *Pneumocoque*, perdent très rapidement leur virulence. On cultivera les microbes dans des milieux appropriés. C'est ainsi que MARMOREK conserve la virulence de son *Streptocoque* en le cultivant dans un mélange de sérum et de bouillon (voir p. 90). Il faut surtout réensemencer fréquemment les cultures, le vieillissement étant une des causes les plus sûres de l'atténuation. Il suffira de renouveler tous les quatre à cinq jours des cultures de *Staphylocoque pyogène* en bouillon ordinaire pour leur conserver leur virulence.

Lorsqu'un microbe est très atténué, on peut l'inoculer en

l'associant à un autre microbe et obtenir ainsi la mort de l'animal (exemple : l'association du *Staphylocoque* au *Bacille atténué de la morve*).

Il n'est pas prouvé, qu'il soit nécessaire pour avoir des produits solubles très *vaccinants*, d'employer une semence aussi virulente. Cette habitude de l'exaltation préalable sera peut-être à réformer.

2° Culture définitive. — Lorsqu'on possède une semence bien virulente, il faut choisir les conditions dans lesquelles on fera la culture destinée à être expérimentée pour l'extraction des produits solubles.

Le milieu sera de préférence liquide¹ ; il sera approprié au microbe. On retrouvera, p. 90, et à la DEUXIÈME PARTIE les bouillons les plus convenables pour obtenir les toxines les plus communément employées (*Staphylocoque pyogène*, *Streptocoque pyogène*, *Bacille de Löffler*, *B. de Nicolaïer*). Le *Vibrion cholérique* sera cultivé dans sa solution peptonée et gélatinée déjà indiquée (p. 89), avec l'addition d'un peu de sérum. Nous nous sommes servis, avec RODET, d'un bouillon très pauvre en peptone (simple infusion de viande) pour étudier les toxines du *Staphylocoque pyogène*.

Il sera bon d'avoir des bouillons assez riches en sels minéraux. On évitera, autant que possible, les sucres dont la fermentation engendre des acides.

La culture est faite en général à + 37°.

Elle végétera, naturellement, dans le vide pour les microbes anaérobies. HUEPPE et SCHOLL croyaient même que le *V. cholérique* (facultatif) fabriquait plus de toxines dans le vide qu'à l'air ; J. COURMONT et DOYON ont vu le contraire. On aura souvent avantage à faire passer un courant d'air à la surface du bouillon de culture étalé en couche mince, comme cela se pratiquait autrefois pour la préparation de la toxine diphtérique (p. 823).

¹ On a quelquefois extrait des produits solubles de cultures solides : par exemple la tuberculine, de cultures sur agar de *Bacilles de Koch*, mais ce sont alors des produits intraprotoplasmiques.