

L'âge auquel la culture doit être employée, est très variable suivant les microbes. On filtre une culture bien aérée de diphthérie en bouillon ordinaire vers le vingt et unième jour, en bouillon Martin le cinquième jour, une culture de *Staphylocoque pyogène* vers le vingtième jour (J. COURMONT et RODET), une culture de tétanos vers le dix-huitième ou vingtième jour, une

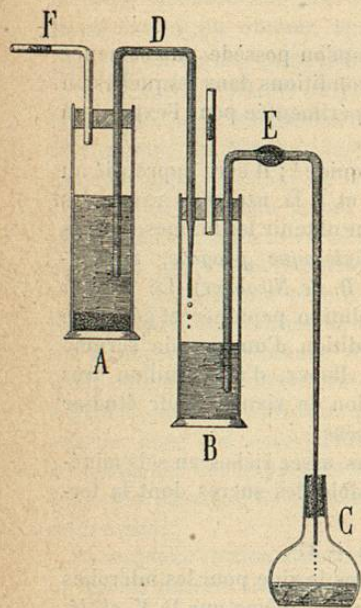


Fig. 196.

Dispositif d'ARLOING pour la séparation (décantation, filtration sur coton) des produits solubles du *B. anthracis*. (Voy. p. 68).

*pyogène*, le *B. tuberculeux*, ne troublent pas le bouillon, végétant, le premier en flocons au fond du ballon, le second en croûtes à la surface; on pourrait donc à la rigueur décanter avec soin le bouillon limpide. Pour les microbes qui troublent le bouil-

lon, il faut laisser reposer de vieilles cultures dans de hautes éprouvettes. On voit que tous ces procédés sont defectueux, et surtout n'offrent aucune sécurité pour l'asepsie de la toxine. C'est cependant par décantation suivie d'une filtration sur coton (fig. 196) qu'ARLOING a pu isoler certaines substances solubles sécrétées par le *Bacillus anthracis*.

### 3° Séparation physique des substances solubles. Stérilisation de la culture.

— La culture est prête à être employée. Il faut séparer l'ensemble des substances solubles des individus microbiens; il faut obtenir un liquide débarrassé de tout germe vivant. Plusieurs moyens ont été employés.

a. *Décantation*. — Ce serait le procédé de choix s'il n'exposait à avoir une toxine renfermant encore des microbes vivants; il éviterait l'action toujours nocive des filtres, de la chaleur, etc. Certains microbes, tels que le *Streptocoque*

lon, il faut laisser reposer de vieilles cultures dans de hautes éprouvettes. On voit que tous ces procédés sont defectueux, et surtout n'offrent aucune sécurité pour l'asepsie de la toxine. C'est cependant par décantation suivie d'une filtration sur coton (fig. 196) qu'ARLOING a pu isoler certaines substances solubles sécrétées par le *Bacillus anthracis*.

b. *Filtration*. — C'est le procédé le plus usuel. Nous avons donné tous les détails des procédés de filtration au chapitre II, page 52 et suivantes; nous n'avons rien à ajouter. Nous rappelons simplement que les filtres en porcelaine retiennent une très grande quantité de produits solubles et peuvent même modifier ceux qui passent (ARLOING, HUGOUNENQ, J. COURMONT et RODET, PHISALIX, p. 52).

Certaines cultures sont tellement épaisses ou glaireuses que le filtre est vite encrassé; on fera bien de les filtrer au préalable sur papier. On éprouvera aussi de grandes difficultés à filtrer les bouillons glycinés. Pour les liquides peu toxiques, on pourra évaporer dans le vide afin de réduire le volume du substratum.

c. *Dialyse*. — Ce procédé a été employé par P. CARNOT et L. FOURNIER (1900) pour étudier les produits solubles ou *Pneumocoque*. Le principe consiste à cultiver le microbe en milieu liquide contenu dans un vase dont les parois dialysables laissent sortir les toxines et entrer de nouvelles substances nutritives. On peut ainsi maintenir longtemps la végétabilité de la culture et extraire journellement des toxines dont les modifications sont intéressantes à étudier.

Un flacon (A) (fig. 197) est bouché par un bouchon en caoutchouc percé de deux orifices inégaux. L'un livre passage à un tube de verre (B), percé de trous et tapissé de collodion, absolument comme on fabrique les sacs de collodion (voyez p. 150). L'autre maintient

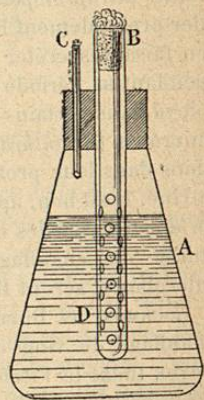


Fig. 197.

Dialyseur de CARNOT et FOURNIER.



un petit tube en verre (C). Tous deux sont bouchés à la ouate. Le liquide nutritif (D) remplit aux deux tiers le flacon (A) et le tube (B). Le tout est stérilisé à l'autoclave.

On ensemece l'intérieur du tube (B), on prélève les toxines et on ajoute les matériaux nutritifs par le tube (C).

Voyez page 354 et fig. 199.

d. *Chauffage*. — Un autre procédé consiste à stériliser la culture par la chaleur. On ne peut mettre ce procédé en parallèle avec le précédent. Tandis qu'avec la filtration on n'obtient que les substances solubles sécrétées par le microbe de son vivant et ayant diffusé dans le bouillon (et même une partie seulement de ces substances), on a, par le chauffage : la totalité des produits solubles soit diffusibles (*substances extraprotoplasmiques*), soit retenus dans le protoplasma pendant la vie du microbe et que ce dernier abandonne en mourant (*substances intraprotoplasmiques*). En outre, le chauffage peut modifier profondément les produits solubles, soit directement, soit en faisant sécréter des substances différentes par le microbe pendant sa période d'agonie. Le chauffage doit donc être employé dans certains cas, et la filtration dans d'autres. Certains microbes (*B. anthracis*, *B. tuberculeux*) retiennent leurs sécrétions dans leur protoplasma ; la filtration ne livrerait pas la toxine. Il est bon, après le chauffage, de filtrer sur papier pour se débarrasser des cadavres microbiens. La température et la durée du chauffage varieront naturellement suivant les microbes et seront toujours réduites au minimum nécessaire.

J. COURMONT et RODET tuent le *Staphylocoque pyogène* par un chauffage de vingt-quatre heures à + 55°. J. COURMONT et DOYON tuent le *Vibron cholérique* en l'exposant pendant quarante-huit heures à + 53°. Il faut l'ébullition prolongée pour les microbes à spores. On obtiendra en général un liquide beaucoup plus toxique par le chauffage que par la filtration (*Staphylocoque pyogène*) ; cependant, les cultures chauffées de *V. cholérique* ne sont pas plus actives que les cultures filtrées (ROUX, J. COURMONT et DOYON).

Citons comme exemple la préparation de la *tuberculine brute*. On sait que le *Bacille tuberculeux* se cultive à la surface du

bouillon glycérimé (p. 450). On fait bouillir la culture, au bain-marie, dans une capsule de porcelaine, en agitant fréquemment avec une baguette de verre. Lorsque le liquide est réduit au 1/10<sup>e</sup> de son volume, on filtre sur papier. L'ébullition prolongée a tué tous les bacilles. C'est ainsi que la tuberculine est bien, comme l'avait dit KOCH d'une façon assez obscure : un

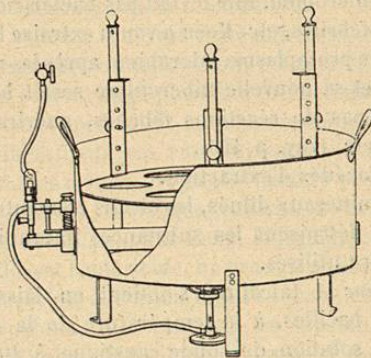


Fig. 198.

Bain-marie avec régulateur métallique de Roux.

*extrait glycérimé de cultures pures de bacilles de la tuberculose ; mais c'est un extrait des produits solubles intraprotoplasmiques des microbes.*

Le chauffage d'une culture peut se faire à l'autoclave lorsqu'on a besoin d'une température supérieure à + 100°. Sinon, on exposera simplement la culture dans une étuve réglée à la température voulue, ou on chauffera au bain-marie. Nous recommandons le bain-marie, schématisé figure 198, construit par WIESNEEG sur les indications de NOCARD ; il est muni d'un régulateur métallique de ROUX (voy. p. 140) qui est contenu dans un manchon métallique traversant l'eau. Ce bain-marie servira encore pour les évaporations, etc., etc.

e. *Trituration mécanique des microbes*. — La *tuberculine* préparée par le procédé indiqué par KOCH, en 1891, et que nous venons de résumer, n'ayant donné que des résultats



désastreux, plusieurs auteurs (BRIEGER et PROSKAUER, KLEBS, HUNTER, KÜHNE, ROEMER) ont cherché à la purifier, à en extraire le principe curateur entrevu par KOCH. En 1897, KOCH<sup>1</sup> est revenu sur cette question en apportant les résultats de six ans de travail. La première tuberculine était un extrait des substances, solubles dans la glycérine, facilement livrées par le protoplasma microbien. Elle n'était pas bactéricide, provoquait des réactions fébriles, etc. KOCH a voulu extraire les substances retenues par le protoplasma microbien, après les manipulations précédentes, et sa nouvelle tuberculine serait bactéricide, ne provoquerait pas de réactions fébriles, guérirait le cobaye tuberculeux, etc. (voy. p. 496).

Voici ses procédés d'extraction.

Les acides minéraux dilués, les alcalis concentrés, employés à l'ébullition, détruisent les substances immunisantes et ne doivent pas être utilisés.

La *tuberculine A* (alcaline) s'obtient en laissant pendant trois jours les bacilles, à la température de la chambre, au contact d'une solution de soude caustique à 40 p. 100. On filtre sur papier et on neutralise. Les bacilles sont morts, mais il en reste un certain nombre dans le liquide. Cette tuberculine a les mêmes propriétés que la tuberculine brute; elle a, en plus, l'inconvénient de produire des abcès dus aux cadavres bacillaires; il ne faut pas l'employer.

Les autres tuberculines sont obtenues en *triturer* les bacilles pour en extraire *mécaniquement* les substances intraprotoplasmiques. Cet écrasement des bacilles tuberculeux est très difficile, impossible si on ne se soumet pas aux règles suivantes. On fait dessécher des cultures *dans le vide*, et on les triture, sans rien y ajouter, dans un mortier d'agate, avec un pilon de même substance, longuement, jusqu'à ce que le microscope montre la destruction des corps bacillaires. Pendant cette opération, très dangereuse, on vit au milieu de poussières constituées par des *bacilles tuberculeux* à l'état de pureté. Avec le magma ainsi obtenu, on peut obtenir deux tuberculines.

<sup>1</sup> KOCH, *Deutsche medicinische Wochenschrift*, 1<sup>er</sup> avril 1897.

On émulsionne le résidu dans l'eau distillée, et on centrifuge pendant trente ou quarante-cinq minutes (4 000 tours par minute). Le liquide obtenu est la *tuberculine O*, qui contient les substances solubles dans la glycérine, et se rapproche beaucoup de la tuberculine brute ou de la tuberculine A; elle ne produit pas d'abcès, mais n'est pas immunisante; elle ne sera pas employée pour le traitement de la tuberculose.

Le précipité boueux, qui est resté adhérent aux parois du vase, après la première centrifugation, est repris, séché à nouveau, retrituré, recentrifugé plusieurs fois de suite. On épuise ainsi presque tout le précipité; la masse entière de la culture des bacilles tuberculeux est successivement transformée en liquides, qui ont les mêmes propriétés (sauf le premier: tuberculine O). Ces liquides, mélangés, constituent la *tuberculine R* (résiduelle) qui constitue, pour KOCH, le liquide curateur de la tuberculose. Elle est bactéricide, ne produit ni abcès ni réaction fébrile à doses faibles, elle immunise le cobaye et le guérit s'il est déjà tuberculeux. Elle contient les substances *insolubles dans la glycérine*; elle n'a donc aucun rapport de nature avec les autres tuberculines (voy. p. 496).

Pour que la tuberculine R produise tous ses effets, il faut : 1° posséder une culture très virulente (il y a de grandes différences dans la virulence des cultures même récentes); 2° une culture très jeune; 3° une culture ayant végété à l'abri de la lumière; 4° dessécher dans le vide; 5° employer de suite la poussière obtenue; 6° triturer longuement dans un mortier d'agate; 7° centrifuger avec un appareil puissant.

f. *Antiseptiques*. — On a essayé de tuer les microbes au moyen d'antiseptiques, mais la présence de ceux-ci dans la toxine est une mauvaise condition d'expérimentation. On a aussi tué les microbes par l'action prolongée du chloroforme.

g. *Précipitation*. — Les toxines adhèrent à certains précipités. On peut ainsi les extraire du liquide ambiant.

On ajoute, par exemple, au liquide toxique quelques gouttes d'une solution concentrée de phosphate de soude, puis quelques gouttes d'une solution de chlorure de calcium; le précipité de phosphate de chaux est rassemblé par centrifugation.



Ce sont surtout les substances diastasiques qui adhèrent ainsi aux précipités. Cette adhérence est tellement forte que plusieurs lavages successifs ne suffisent pas, le plus souvent, à priver le précipité des propriétés toxiques acquises.

**4° Isolement chimique des substances solubles.** — On emploie, en général, les produits solubles à l'état de dilution et de mélange dans le bouillon de culture, simplement privé de germes vivants, comme il vient d'être dit.

Pour l'étude chimique de ces produits, il faut aller au delà <sup>1</sup>.

A. EXTRACTION DES TOXINES ALCALOÏDIQUES (dont les ptomaines font partie — ptomaine n'est pas synonyme d'alcaloïde).

a. *Extraction par l'alcool.* — Nous avons l'habitude de séparer les alcaloïdes par la précipitation des substances albuminoïdes au moyen de l'alcool.

Voici la marche suivie par HUGOUNEQ et ERAUD (1891) dans leur étude des toxines de l'*Orchiocoque*. Le liquide filtré est légèrement acidulé à l'acide tartrique et additionné immédiatement de 15 à 20 volumes, au moins, d'alcool à 95°. On laisse vingt-quatre heures à l'obscurité. On filtre; les substances albumosiques ont précipité et restent sur le filtre. On distille sous pression réduite à + 45°. Tout l'alcool étant évaporé, on acidule franchement par l'acide tartrique, et on laisse digérer quelques heures à + 45°. On filtre et on lave le résidu à l'alcool fort. On évapore au bain-marie, à + 45°, jusqu'à consistance sirupeuse. Le sirop est mélangé à 8 ou 10 fois son volume d'alcool absolu, pour précipiter les sels minéraux. On laisse vingt-quatre heures, on filtre et on chasse l'alcool en disposant la capsule sur l'eau tiède.

Le résidu acide est épuisé à deux ou trois reprises par de l'éther et du pétrole bouillant vers + 40° qu'on décante à tra-

<sup>1</sup> Consulter à ce sujet le remarquable article de HUGOUNEQ, in *Traité de pathologie générale* de BOUCHARD, t. II, p. 243, ch. x. de l'article *Infection* de CHARRIN. Nous lui empruntons beaucoup. Consulter aussi le chapitre XVIII du *Précis de Chimie physiologique*, de HUGOUNEQ. Doin, 1897. Même bibliothèque.

vers un filtre déjà imprégné de dissolvant. L'éther est abandonné à l'évaporation spontanée.

Le résidu, toujours acide, est repris d'abord par la benzine, puis par le chloroforme.

On alcalinise alors le résidu par un léger excès d'ammoniaque, et on l'épuise par l'éther de pétrole, la benzine, le chloroforme, l'alcool amylique.

On évapore la liqueur mère et on traite le sirop par l'alcool fort; on filtre, et on dissout le résidu dans l'eau. On peut encore extraire de nouvelles substances.

On purifie par redissolution et cristallisation.

En général, on se sert d'une méthode moins longue et moins coûteuse pour savoir si les alcaloïdes d'une culture ont des propriétés toxiques. On précipite par 5 ou 6 volumes d'alcool à 95°, maintenus vingt-quatre heures en présence, on filtre pour retenir le précipité, on évapore ce qui a passé, et on reprend le résidu par l'eau. C'est ce liquide qui est injecté. C'est ainsi que nous avons opéré, avec RODER, pour les alcaloïdes du *Staphylocoque pyogène*.

b. *Extraction par l'éther.* — On alcalinise par la potasse, et on épuise par l'éther. On décante et on évapore. L'alcaloïde est purifié en le transformant en sel qu'on fait cristalliser plusieurs fois. Le produit, dissout dans l'eau alcaline, cède à l'éther la base libre, pure.

Mais, tous les alcaloïdes ne sont pas solubles dans l'éther, et la purification est difficile.

c. *Extraction par le chlorure mercurique.* — Le liquide est porté à l'ébullition, filtré et précipité par le chlorure mercurique. On filtre. Le précipité et la liqueur, traités séparément par l'hydrogène sulfuré, fournissent un précipité de sulfure mercurique qu'on sépare par le filtre, et deux liqueurs qu'on réduit par évaporation. On lave à l'alcool absolu. L'alcool de lavage est réuni aux eaux mères qu'on évapore. On précipite alors par le chlorure d'or et le chlorure de platine.

L'ébullition qui est à la base de ce procédé, dû à BRIEGER, est une condition très défectueuse.

d. *Extraction des alcaloïdes volatils.* — GAUTIER a donné un



procédé pour isoler les *alcaloïdes volatils*. Nous renvoyons au *Bulletin de l'Académie de médecine*, janvier 1886.

GAUTIER et ÉTARD (*Ac. des sciences*, XCVII, p. 263) ont imaginé une méthode pour isoler tous les corps basiques. Nous ne pouvons entrer dans les détails de ces *procédés spéciaux*<sup>1</sup>.

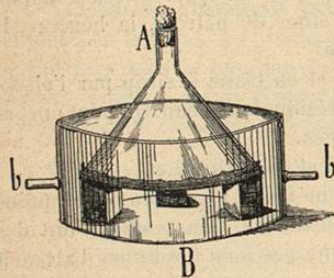


Fig. 199.  
Dialyseur.

B. EXTRACTION DES TOXINES ALBUMINOÏDES. — On n'obtiendra jamais que des produits impurs si on a cultivé le microbe en milieu contenant des matières albuminoïdes ou des peptones; ce qui est d'ailleurs le cas ordinaire.

On traite le liquide filtré (toxine) par 20 volumes d'alcool à 95°. Au bout de vingt-quatre heures, on décante la majeure partie de l'alcool, on jette sur un filtre et on lave à l'alcool. On reprend le précipité par l'eau et on *dyalise*<sup>2</sup> pendant quinze heures. On ajoute au liquide aqueux un grand excès d'alcool absolu, on laisse déposer, on filtre, on lave à

<sup>1</sup> Voir le *Précis de Chimie physiologique* de HUGOUNEQ, *Loco citato*, p. 292 et 576 (méthode de GAUTIER).

<sup>2</sup> Les toxines albumosiques *ne dialysent pas*.

Un *dialyseur* se compose de deux récipients et d'une membrane de papier parchemin. Le récipient le plus vaste est un cristalliseur contenant de l'eau distillée; l'autre a une forme variable, mais est ouvert aux deux bouts; son extrémité inférieure est fermée par un tambour en papier parchemin fortement lié par un fil. Ce dernier reçoit la substance à dialyser et est plongé dans le cristalliseur de façon que le papier affleure l'eau distillée qui doit être changée de temps en temps. Il faut s'assurer au préalable que le parchemin n'a pas de trous; pour cela on l'étend sur du papier filtré et on passe plusieurs fois une éponge mouillée; le papier filtré doit rester sec. Nous recommandons le dispositif représenté figure 199. Deux tubulures latérales (b, b.) du cristalliseur (B) permettent d'établir un courant d'eau. Le récipient central (A) repose sur des supports.

l'alcool et on dessèche dans le vide. Opérer rapidement et à l'abri de la lumière. Si on distille l'alcool, on retrouve une certaine quantité de substance non précipitée.

BRIEGER et BOER<sup>1</sup> isolent la toxine diphtérique en traitant une culture en bouillon peptoné filtrée par une solution de chlorure de zinc à 1 p. 100; ils décomposent le précipité insoluble par l'action successive du bicarbonate, du phosphate et du sulfate d'ammoniaque. La substance amorphe obtenue est soluble; elle tue le cobaye avec les symptômes classiques, et peut immuniser. Elle ne donne pas les réactions de l'albumine ou de la peptone.

Certains produits solubles diastasiques adhèrent aux précipités. C'est ainsi que ROUX et YERSIN ont vu la toxine diphtérique être entraînée par les précipités d'alumine et de phosphate de chaux.

### § 3. — CONSERVATION DES PRODUITS SOLUBLES

Les substances chimiquement pures, extraites des cultures filtrées, seront conservées d'après les préceptes ordinaires, en se souvenant de leur grande altérabilité, tout spécialement pour les substances alcaloïdes.

Nous voulons seulement parler de la conservation des *cultures filtrées*. Elles doivent être recueillies dans des récipients permettant un puisage facile de petites doses sans crainte d'altérer toute la masse. Ces récipients doivent, en outre, répondre à des conditions spéciales à chaque toxine. Beaucoup de cultures filtrées, celle du bacille de la diphtérie par exemple, peuvent être conservées comme du bouillon ordinaire, sans perdre de longtemps leur activité. D'autres, telles que les toxines du tétanos, du choléra s'altèrent avec une rapidité incroyable au contact de l'air. En quatre jours la toxine cholérique a perdu la moitié de son activité si on la laisse à l'air libre. (J. COURMONT et DOYON). Il faut conserver dans le vide des liquides aussi altérables. D'une façon générale, on devrait tou-

<sup>1</sup> BRIEGER et BOER, *Deutsche medic. Wochensch.*, 3 décembre 1896.



jours maintenir ses provisions de toxines, quelles qu'elles

soient, à l'abri du contact de l'air.

Les cultures, que nous filtrons toujours *par refoulement*, sont reçues dans un des trois récipients figurés aux chapitres II et III. Nous reproduisons ici les deux plus commodes (fig. 200 et 201); nous préférons le flacon à trois tubulures avec montage sans caoutchouc (fig. 201). La fermeture du tube ( $f^2$ ) se fait à la lampe, sans contamination pos-

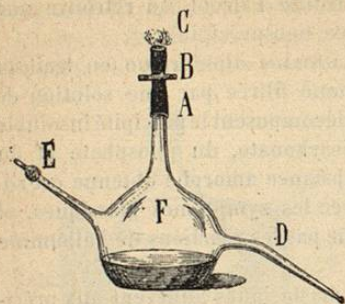


Fig. 200.

Ballon contenant les toxines après filtration.

sible. On règle la sortie de la toxine en soufflant dans le tube ( $f^3$ ).

On referme l'extrémité effilée du tube ( $f^1$ ) à la lampe après l'opération. Les bouchons de liège devront être recouverts d'un enduit de gutta-percha (dissoute dans le chloroforme), ou de paraffine, ou de cire à cacheter. Il faut avoir soin de ne pas laisser rentrer de l'air par le tube ( $f^1$ ) à la fin de l'opération sans entourer l'orifice avec la flamme d'une lampe à alcool qui stérilisera l'air à son passage.

Lorsqu'on veut conserver les cultures filtrées à l'abri de l'air, le meilleur système consiste à mettre dans le flacon

destiné à les recevoir quelques centimètres cubes d'huile de vaseline avant la stérilisation. L'huile se stérilisera avec

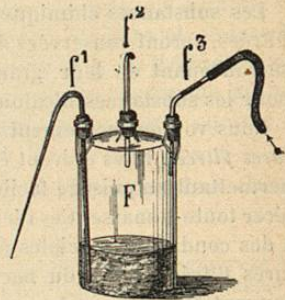


Fig. 201.

Flacon contenant les toxines après filtration.

$f^1$ , tube en U pour le puisage. —  
 $f^2$ , tube fermé ayant servi à la filtration.  
—  $f^3$ , tube pour souffler.

l'appareil. Les toxines ( $d$ ), aussitôt dans le flacon, sont recouvertes d'une couche d'huile ( $e$ ), qui surnage et les préserve du contact de l'air (fig. 202).

On pourra aussi employer notre appareil à conservation de toxines dans le vide (page 202; fig. 134).

On transvase parfois la culture filtrée dans des tubes de

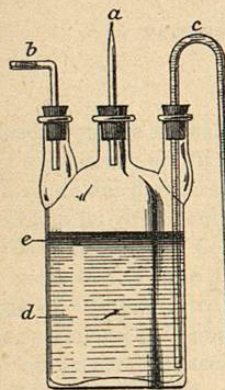


Fig. 202.

Conserve de toxine sous l'huile.  
 $d$ , toxine. —  $e$ , huile.

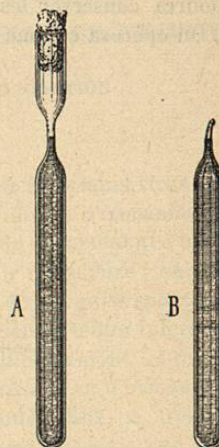


Fig. 203.

Tubes à essai pour la conserve des toxines.  
A, tube rempli. — B, tube scellé à la lampe.

verre qu'on remplit bien et qu'on scelle à la lampe. J'ai pendant longtemps conservé mes provisions de toxine tétanique dans des tubes de verre de 20 centimètres cubes, semblables à des tubes à essai, mais présentant un long étranglement (fig. 203, A). Je remplissais jusqu'au milieu de l'étranglement et je fermais à la lampe (fig. 203, B). Les toxines ainsi conservées étaient encore actives au bout de deux ans. Il ne faut pas que l'étranglement soit trop étroit; on aurait des difficultés pour introduire la toxine. Il faut attendre quelques minutes après le remplissage pour fermer à la



lampe ; si le verre était encore humide, il casserait. L'inconvénient de ce procédé est la perte à peu près fatale de toute la toxine contenue dans un tube quand on ouvre celui-ci. Nous préférons aujourd'hui la couche d'huile.

Quel que soit le récipient employé, il devra toujours être conservé à la glacière, à l'abri de la lumière.

On pourra conserver les toxines *desséchées*, à l'état pulvérent. On opérera comme pour les sérums (page 846).

## CHAPITRE XIII

### DE LA CRÉATION ARTIFICIELLE DE L'IMMUNITÉ

#### VACCINATION, IMMUNISATION

Chaque espèce animale est *sensible* à certains virus et *réfractaire* à d'autres ; on dit qu'elle est douée d'*immunité naturelle* vis-à-vis de ces derniers. Un individu appartenant à une espèce sensible à tel virus peut lui devenir réfractaire ; on dit qu'il a de l'*immunité acquise*. Celle-ci peut être acquise spontanément : par exemple à la suite d'une première atteinte infectieuse qui a guéri ; elle peut être créée artificiellement, et prend alors plus spécialement le nom de *vaccination* ou d'*immunisation*.

Si on excepte la vaccination jennérienne, la création artificielle de l'immunité, chez l'homme, vis-à-vis des infections auxquelles il est sensible, n'a pas encore reçu de solution pratique, mais l'immunisation de l'animal est le prélude obligé d'une foule d'expériences de laboratoire et de la préparation des sérums thérapeutiques (voy. TROISIÈME PARTIE.) Nous devons, en conséquence, consacrer un chapitre à l'indication rapide des différents moyens à employer pour créer, chez un animal, l'immunité artificielle.

#### § 1. — CRÉATION ARTIFICIELLE DE L'IMMUNITÉ, VIS-A-VIS D'UN MICROBE PATHOGÈNE, PAR INOCULATION PRÉALABLE D'UN AUTRE MICROBE.

On produit une maladie bénigne en inoculant un microbe inoffensif ; l'animal guéri est devenu réfractaire ou moins sen-