

(Laboratoire de Bactériologie Médicale de l'Université de Copenhague)

Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie.

Par

Carl Jul. Salomonsen et Thorvald Madsen.

(Avec planche.)

(Présenté dans la séance du 29 octobre 1896.)

En 1891 Ehrlich a le premier indiqué une méthode pour donner en nombres exacts le degré d'immunité; peu après il démontra que par l'allaitement les antitoxines peuvent passer de mère à nourrisson.

En 1892, s'appuyant sur ces deux bases, il fit en collaboration avec M. Brieger¹⁾ une série de recherches sur la marche de l'immunisation chez une chèvre rendue immune contre le tétanos. La chèvre, traitée pendant quelque temps à dose croissante de toxine, fut injectée de 75 cc. de bouillon tétanique très virulent et dans le cours des sept semaines qui suivirent, on contrôla le pouvoir immunisant du lait tous les deux jours ou chaque jour. Les dosages furent faits d'après la méthode des multiples, en injectant à des souris 0,2 cc. de lait et au bout de vingt-quatre heures du poison tétanique à dose variable.

En procédant ainsi Ehrlich et Brieger réussirent à prouver que, dans les vingt-quatre heures qui suivent immédia-

¹⁾ Ehrlich und Brieger. Beiträge zur Kenntniss der Milch immunisirter Thiere (Zeitsch. f. Hygiene XIII. Bd. 1893.)

tement l'injection, le pouvoir antitétanique du lait tombe de 4000 à 1000, puis se met à remonter pendant les deux jours suivants, pour atteindre en dix-sept jours un maximum de 9000, sur quoi, durant les treize jours qui suivent, ce pouvoir baisse jusqu'à 4000, point auquel il reste assez longtemps stationnaire, s'y maintenant jusqu'au relèvement produit par une nouvelle injection. Ehrlich et Brieger désignent ce phénomène sous le nom de *marche ondulatoire* de l'immunisation. D'après eux l'explication la plus plausible de la chute est que le virus tétanique neutralise ou détruit de quelque autre manière l'antitoxine du sang et que la hausse est due à une surproduction de cette substance, surproduction par laquelle l'organisme cherche à couvrir sa perte, comme on le voit si souvent en biologie. Durant les jours qui suivent, l'équilibre se rétablit. Les deux auteurs font remarquer que leurs recherches ont aussi de l'importance pour la prompt fabrication d'un sérum très actif. En effet, si au bout de dix-sept jours on renouvelle l'injection de tétanotoxine, on aura les meilleures chances de renforcer le pouvoir antitétanique du sang.

Depuis qu'Ehrlich et Brieger ont communiqué leurs recherches sur la marche de l'immunisation, personne, autant que nous sachions, n'a publié de pareille série d'expériences soit sur le tétanos soit sur d'autres maladies infectieuses. Et pourtant, en poursuivant sur le même animal et assez longtemps de telles séries de mensurations exactes du pouvoir immunisant, on obtiendrait sans doute des renseignements précieux sur plus d'un point obscur de la doctrine de l'immunité — tout en faisant abstraction de la nécessité de pareilles recherches pour la préparation rationnelle des divers antisérums à l'application thérapeutique desquelles Behring a donné l'impulsion. Nous avons tenté la même voie qu'Ehrlich et Brieger pour fournir notre contingent à la connaissance de la marche de l'immunisation active vis-à-vis de la diphtérie.

L'animal servant à nos expériences était une jument qui

pesait 665 K.; le pouvoir de la toxine diphtérique employée (culture en bouillon filtrée) était tel qu'à la dose de 0,1 cc., il tuait en moins de 48 heures un cobaye de 500 gr. On commença par une dose de 1 cc. et continua par doses croissantes¹⁾ jusqu'au 119^e jour; alors le total des injections sous-cutanées de toxine atteignait 3540 cc.; la dernière dose fut de 1000 cc.²⁾ La jument se montra pleine, et pour éviter un avortement comme nous en avons observé chez des chèvres employées pour des expériences analogues sur l'immunisation contre la tuberculose, nous avons cessé les injections pour ne les reprendre qu'après la parturition; celle-ci eut lieu le 154^e jour après le début de l'immunisation. Une saignée d'essai pratiquée le 135^e jour, fit constater que le sérum de la jument contenait 150 unités d'immunisation par centimètre cube; mais le 23^e jour après la parturition on trouva que le pouvoir était tombé à 45³⁾ tandis que le pouvoir antidiphtérique du lait se tenait entre $\frac{1}{2}$ et $\frac{3}{4}$, le sang du nourrisson donnant 9. On reprit donc les injections en augmentant la dose de toxine de 100 à 1000 cc. et la jument ayant de la sorte reçu une nouvelle quantité de 4400 cc., ce qui porte le total à environ 8 litres de toxine diphtérique, nous commençâmes nos mensurations le 242^e jour après le début de l'immunisation.

Le lait fut recueilli chaque jour à la même heure et avec la plus grande propreté possible, dans des flacons stérilisés qu'on maintenait sur la glace.

¹⁾ Voir tableau I.

²⁾ Pour les petites doses on employa des cultures au bouillon, stérilisées au filtre Chamberland; pour les doses plus fortes on se servit d'une toxine en solution plus concentrée (10 à 20 fois) et préparée en précipitant les cultures au bouillon à l'aide de sulfate d'ammoniaque et dissolvant dans une solution de chlorure de sodium à 1 0/0. Toutefois, dans ce qui suit, les doses sont indiquées comme cultures au bouillon filtrées et ayant le pouvoir désigné dans le texte.

³⁾ Dans un travail ultérieur nous nous occuperons plus en détail de la baisse du pouvoir antidiphtérique du sérum observée souvent chez les chevaux immunisés.

Le sang fut tiré, soit de la veine jugulaire, soit, par simple ponction à la lancette, d'une veine hypodermique.

Nous employâmes à nos mensurations la méthode indiquée par Ehrlich en 1894¹⁾. D'après notre expérience, c'est la plus précise et la plus rapide de celles pratiquées jusqu'ici, et à laquelle de plus suffisent le moindre nombre de cobayes et les plus jeunes²⁾.

Comme on le sait, le but de cette méthode est de déterminer quelle est la quantité minima de sérum suffisante pour neutraliser complètement les effets d'une dose de toxine diphtérique égale à la dose dix fois mortelle pour un cobaye de 250 gr. Comme cette méthode semble être employée d'une manière un peu différente dans les divers laboratoires, nous ajouterons que nos injections du mélange ont toujours eu lieu à la dose de 4 cc. sous la peau du côté gauche de la paroi abdominale; que le cobaye employé pesait 250 gr. et subissait le contrôle durant les 4 jours qui suivaient l'inoculation. La toxine était regardée comme complètement neutralisée quand l'état sanitaire général des animaux était bon, que leur poids augmentait et qu'au bout des quatre jours ils ne présentaient aucun signe d'infiltration sur le point injecté, soit qu'elle n'eût pas eu lieu du tout, soit qu'elle eût tout à fait disparu avant l'expiration dudit terme.

La dose minima de notre toxine de contrôle, sûrement mortelle pour un cobaye de 250 gr., fut fixée à 0,026 cc. d'après des expériences faites sur 98 animaux.

Quant au pouvoir antidiphtérique du sang, on tâcha de le déterminer avec une exactitude de 5 unités d'immunisation

¹⁾ Ehrlich u. Wassermann: Ueber die Gewinnung der Diphterie-Antitoxine aus Blutserum u. Milch immunisirter Thiere. Zeitschr. f. Hygiene 1894 XVIII 239.

²⁾ Dans un ouvrage de Th. Madsen: Recherches expérimentales sur la toxine diphtérique, Copenhague 1896, on trouvera in extenso une critique donnant la valeur des diverses méthodes de mensuration appliquées au pouvoir du sérum antidiphtérique.

par cc.; celui du lait le fut à $\frac{1}{8}$ près de cette unité. Les fortes oscillations du pouvoir antidiphthérique qui se manifestent dans l'immunisation active, rendaient impossible de déterminer au préalable le pouvoir du sérum le plus convenable pour le premier essai. Or, c'est justement en pareille circonstance que la méthode Ehrlich est de grande valeur par sa *rapidité*.

En général, dès la fin du premier ou du second jour, on peut voir quelle direction l'on doit donner aux essais qui suivront et, tant le lait que le sang, bien conservés sur la glace, se maintiendront assez longtemps sans altération pour qu'on puisse découvrir le juste degré du pouvoir.

Nous avons fait nos suprêmes efforts pour détourner toutes les sources d'erreur autres que celle qui provient, sans qu'on puisse l'éviter, des divergences purement individuelles des animaux d'expériences. Autant que possible nous n'avons employé que des animaux élevés par nous-mêmes et veillé à ce que tous fussent alimentés d'une manière identique et vécut dans des conditions tout à fait pareilles. Dans le cas où nous dûmes acheter des animaux ailleurs, nous eûmes soin de les acclimater avant de nous en servir dans nos expériences. Comme on l'a dit, la méthode est excellente et nous pouvons nous ranger d'emblée à l'avis d'Ehrlich et Wassermann sur les garanties qu'elle présente. A titre d'exemple on citera ici les mensurations effectuées le troisième jour de l'expérience sur le pouvoir antidiphthérique du lait; le tableau suivant pourra donner une idée de la manière dont le cobaye réagit sur les différents mélanges.

Un aperçu de toutes les mensurations se trouve au tableau II, où O signifie «pas d'infiltration» et * «infiltration».

Le résultat de la série complète des mensurations se présente sous une forme graphique dans la planche ci-jointe. Les points relatifs au sang sont indiqués en rouge, ceux qui correspondent au lait, en noir. Les jours d'expériences ont

Mensurations du pouvoir antidiphthérique du lait le troisième jour après l'injection de la toxine.

Nombre d'unit. d'imm. par cc.	Poids en grm.	Poids les jours d'expérience	Infiltration	Remarques
$\frac{2}{8}$	270	295	nulle	vivant
		290	nulle	
		290	nulle	
		300	nulle	
$\frac{3}{8}$	270	270	faible	vivant
		260	faible	
		280	presque disparue	
		300	presque disparue	
$\frac{4}{8}$	270	260	faible	vivant
		260	faible	
		270	faible	
		250	faible	
$\frac{5}{8}$	268	250	faible	vivant
		260	forte	
		270	forte	
		250	forte	
$\frac{6}{8}$	250	245	forte	vivant
		230	forte	
		225	forte	
		220	forte	
$\frac{7}{8}$	250	250	forte	mort
		240	forte	
		235	forte	
		†	†	

été pris pour abscisses, les degrés du pouvoir antidiphthérique pour ordonnées. Les ordonnées du lait sont reproduites à une échelle 200 fois plus grande que celles du sang¹⁾.

¹⁾ La relation entre les pouvoirs antidiphthériques du sang et du lait durant la période d'essai est indiquée exactement par le nombre 194, tel qu'il résulte des chiffres cités page 453.

1. En commençant par considérer les rapports du lait, nous trouvons que son pouvoir antidiphthérique subit, immédiatement après la première injection de toxine, une chute très forte. Dès le lendemain de l'injection de 1000 cc. de toxine, le pouvoir tombe à $\frac{4}{8}$; le troisième jour il a baissé jusqu' à $\frac{2}{8}$ pour se relever du 3^e au 9^e jour et atteindre $\frac{7}{8}$. Le 10^e jour encore le lait garde ce même pouvoir, mais le 13^e jour il est tombé à $\frac{5}{8}$ et se maintient à ce point, sans altération, du 13^e au 22^e jour; alors une forte saignée suscite une modification de l'état. Donc chez le cheval immunisé contre la diphthérie, nous retrouvons après l'injection de toxine la *marche ondulatoire* observée par Ehrlich et Brieger chez la chèvre immunisée contre le tétanos, savoir la chute soudaine et la hausse raide suivie d'une nouvelle baisse jusqu'à ce que le lait s'arrête à un certain degré de pouvoir. Abstraction faite des dates, puisque le pouvoir atteint son maximum le 9^e ou 10^e jour dans les expériences antidiphthérimétriques sur le cheval et le 17^e ou 18^e jour dans les expériences antitétanométriques sur les chèvres, la concordance est complète. La *marche ondulatoire* se reproduit (voir la planche) tant après l'une qu'après l'autre des injections de toxine qui suivirent, bien qu'avec certaines dissemblances sur lesquelles nous reviendrons plus tard.

2. Un examen plus précis des relations entre les pouvoirs antidiphthériques respectifs du sang et du lait, offre un grand intérêt sous divers rapports. Tant que notre ignorance sera complète sur les lieu et mode de formation de l'antitoxine dans l'animal immunisé, sur l'aptitude de tous les tissus du corps à produire cette substance ou sur le privilège de certaines espèces de cellules particulières et déterminées, nous ne saurions prétendre établir a priori que les relations entre le pouvoir antidiphthérique du sang et celui du lait restent constantes durant la marche de l'immunisation. Des expériences en grand sur cette question sont impraticables sur des animaux de petite taille, et c'est à peine si les chèvres s'y prêtent. Par contre

le cheval ne présente aucune difficulté notable pour une pareille série d'expériences: aussi avons nous profité de l'occasion pour opérer sur notre jument poulinière. En tout nous avons fait 19 déterminations du pouvoir que manifestent simultanément le sang et le lait; mais à cause de quelques accidents il nous faut en défalquer la détermination du pouvoir du lait faite le premier jour d'expériences. Malheureusement il manque une détermination du pouvoir du sang afférente au troisième jour, parce que n'étant pas préparés à une hausse si rapide, nous remîmes la saignée au 4^{me} jour. Voici le résultat des mensurations; les nombres indiquent les unités d'immunisation par cc.

Jour	Lait	Sang	Jour	Lait	Sang
1	$\frac{6}{8}$ (?)	120	26	$\frac{4}{8}$	100
2	$\frac{4}{8}$	"	28	$\frac{4}{8}$	100
3	$\frac{2}{8}$	"	30	$\frac{4}{8}$	"
4	$\frac{5}{8}$	115	32	$\frac{4}{8}$	100
5	$\frac{5}{8}$	"	33	$\frac{3}{8}$	70
7	$\frac{6}{8}$	120	34	$\frac{5}{16}$	65
9	$\frac{7}{8}$	"	35	$\frac{5}{16}$	"
10	$\frac{7}{8}$	170	36	$\frac{5}{16}$	70
13	$\frac{5}{8}$	120	37	$\frac{3}{8}$	"
16	$\frac{5}{8}$	120	39	$\frac{4}{8}$	115
19	$\frac{5}{8}$	120	41	$\frac{5}{8}$	115
22	$\frac{5}{8}$	120	42	$\frac{5}{8}$	"
23	$\frac{4}{8}$	100	43	$\frac{5}{8}$	120
25	$\frac{3}{8}$	85			

Un regard sur la planche produira aussitôt l'impression d'une concordance tout à fait extraordinaire entre les hausse et baisse du pouvoir antidiptérique du sang et du lait. Ces deux liquides se longent, soit que les variations du pouvoir proviennent de l'injection de toxine (1^{er} au 13^e jour et 32^e au 41^e jour), soit qu'elles aient pour cause la saignée (22^e au 26^e jour.) Les périodes intermédiaires (13^e au 22^e jour, 26^e au

32^e jour), ne présentent non plus aucun déplacement des relations entre lesdits degrés du pouvoir. La fidélité de cette impression se justifie aussi par une analyse mathématique des dix-huit observations présentées.

Or, en songeant qu'ici l'on a à faire à deux substances dont la nature nous est tout à fait inconnue (toxine et antitoxine diphthériques) et dont le dosage ne peut être pratiqué qu'à l'aide d'une réaction physiologique sur un animal d'une espèce déterminée, on se sent à l'abri du reproche de témérité si l'on admet que les petits écarts sont dus aux erreurs d'expériences inévitables et qu'en réalité le rapport entre les pouvoirs antidiphthériques respectifs du sang et du lait a été absolument le même à n'importe quel moment des 43 jours durant lesquels ces déterminations furent faites.

Si l'on prend en considération les relations décrites ici, savoir que le pouvoir antidiphthérique du sang était environ 200 fois plus fort que celui du lait; que ce rapport se maintint constant durant une si longue partie de la période de lactation; que le lait copiait exactement les oscillations du sang tant faibles que fortes, soit qu'elles fussent causées par l'injection de toxine ou par la saignée; alors on trouve extrêmement invraisemblable que les cellules des glandes mammaires participent en des proportions assez saillantes à la formation de l'antitoxine. Le plus probable sera d'admettre que, la substance antidiphthérique toute faite soit transmise du sérum au lait et lorsque, dans son remarquable aperçu critique des théories cellulaires de l'immunité¹⁾, Metschnikoff, cherchant à expliquer pourquoi le pouvoir antitoxique du lait est relativement considérable, argüe de son exubérance en cellules et détritibus de cellules et veut trouver dans cette proportion un point d'appui pour la doctrine de l'origine cellulaire des antitoxines, cela ne nous paraît pas assez fondé, vu les résultats ci-dessus communiqués.

¹⁾ Lubarsch und Ostertag: Ergebnisse d. allg. Aetiologie. 1896 p. 337.

3. Comme nous l'avons déjà fait remarquer, ce qu'on appelle *marche ondulatoire* fut constaté après chacune des trois injections de toxine pratiquées respectivement le 1^{er}, le 32^e et le 43^e jours. Mais, bien que dans ces trois cas la quantité de virus fût tout à fait la même, l'effet ne fut aucunement identique. Après la première injection la chute fut très considérable ¹⁾, et la hausse qui suivit, eut lieu en proportion (de 120 à 170); après la seconde injection la chute fut moindre (de 100 à 65) et la hausse le fut également (de 100 à 120); enfin la chute fut encore plus faible après la troisième injection qu'après la deuxième (de 120 à 105); dans la hausse qui vint après, le pouvoir monte jusqu'à 135. C'est à peine si, dans l'état actuel, plein de lacunes, de nos connaissances sur le mode de production des antitoxines et sur ce qu'elles deviennent dans l'organisme, il est possible d'interpréter d'une manière satisfaisante les relations décrites. En ce qui concerne les diverses phases de la marche ondulatoire, c'est tout d'abord la chute raide succédant immédiatement à l'injection de toxine, qui réclame une explication. En effet il est évident que l'antagonisme existant entre les deux substances, toxine et antitoxine, se manifeste d'une tout autre manière dans le sang du cheval vivant que dans le mélange *in vitro*. Prenons par exemple les nombres trouvés après la seconde injection: nous y verrons une baisse de 100 unités d'immunisation par cc. à 65 u. i. par cc.. Ce fort abaissement est dû à un litre de toxine qui contient 38461 fois la dose minima (0,026 cc.) sûrement mortelle pour un cobaye de 250 gr.; or, le 32^e jour, le pouvoir antidiphthérique du sang de cheval était 100; par conséquent environ 3,8 cc. de sang de cheval suffiraient à neutraliser complètement l'action de la quantité de

¹⁾ Conformément à ce qu'on a communiqué plus haut, nous sommes d'avis qu'on peut prendre pour point de départ le fait que la chute du pouvoir du sang a été, même le troisième jour d'expériences, proportionnelle à celle du pouvoir du lait.

toxine injectée. Le cheval pesait 665 kg. et, comme la masse de son sang peut en conséquence s'estimer à 51 litres, le pouvoir antidiphthérique du sang n'aurait pas dû, si l'addition de toxine avait eu lieu *in vitro*, baisser de plus de $\frac{1}{13000}$ tandis qu'après injection dans le sang, ce pouvoir baissa de plus de $\frac{1}{3}$.

A priori il n'y a absolument rien qui empêche d'admettre que la toxine diphtérique exerce une tout autre action sur l'antitoxine du sang en circulation dans l'individu vivant que sur le sang extrait et sans vie. Vu la concordance des recherches faites par Roux et Vaillard, Buchner, Wassermann, Calmette et autres, on doit aussi regarder comme établi, qu'en tout cas certaines toxines et antitoxines ne s'entredétruisent pas par le mélange *in vitro*, mais cela n'empêche pas que, *in vivo*, il puisse y avoir saturation ou destruction de l'antitoxine après l'injection de la toxine, ainsi que l'admettent Ehrlich et Brieger. Cependant cette hypothèse est contredite par les effets très différents des trois injections. On employa pour la seconde injection exactement la même toxine que pour la première et à dose strictement identique. Si dans la première injection, la quantité totale de toxine fut introduite en un seul point de la peau, tandis que la seconde fois on la répartit sur trois points¹⁾, on ne saurait y voir une différence appréciable; elle-

¹⁾ Dans le but de prévenir la formation des abcès qui se produisent relativement avec fréquence après une grande injection de toxine précipitée. Onze abcès faisant suite à l'injection de toxine concentrée, (v. page 448 note du bas) ont subi un examen bactériologique. Le pus a été examiné au microscope et de plus cultivé, tant aérobiquement qu'anaérobiquement, dans du bouillon et dans de la gélose nutritive. Dans trois cas le pus contenait des micrococci et dans deux cas des gros bâtonnets trop peu nombreux pour empêcher de révoquer fortement en doute leur importance pyogène. *Dans six des onze cas le pus était stérile.* La toxine employée avait été stérilisée dans quatre cas par le toluol, dans deux cas par simple filtration Chamberland. En aucun cas les abcès causés par la toxine, ne firent constater une élévation de la température du cheval: mais du reste ces abcès différaient beaucoup d'aspect clinique. Tels d'entre eux eurent une période très aiguë: à

même la saignée pratiquée onze jours avant, et à la suite de laquelle l'équilibre antitoxique s'était rétabli depuis déjà six jours, n'y est sans doute pour rien. On ne peut pas non plus voir dans la circonstance qu'avant la première injection, le sang de cheval avait un pouvoir de 120, avant la deuxième injection un pouvoir de 100, une explication admissible de la différence entre les deux chutes, s'il était question de saturation ou de destruction. L'explication la plus naturelle de la différence de réaction du cheval aux deux injections est qu'au 32^e jour l'animal avait absorbé 1 litre de toxine de plus qu'au premier jour: qu'en d'autres termes, il avait plus de résistance à la toxine lors de la seconde injection qu'à la première. Cette hypothèse conduirait peut-être à expliquer la forte chute du pouvoir antidiphthérique après l'injection de toxine. Nous avons déjà fait ressortir plus haut notre ignorance pour ainsi dire complète sur le mode de production de l'antitoxine et sur ce qu'elle devient dans l'organisme. Le pouvoir spécifique des antitoxines et la hausse que l'accroissement des doses de toxine fait donner au pouvoir antitoxique du sang, firent naturellement surgir aussitôt l'opinion qu'il y avait là une transformation directe de la substance toxique, sous l'influence de certaines espèces de cellules déterminées ou peut-être de toutes les cellules de l'organisme intoxiqué. Les célèbres ex-

peine au cinquième ou sixième jour après l'injection, ils donnèrent signe d'une large fluctuation et causèrent une nécrose cutanée restreinte. D'autres eurent un cours trainant et ne furent ouverts que trente ou quarante six jours après l'injection. Une seule fois le pus fut filant et glaireux, tandis que le plus souvent il était épais et floconneux, parfois même grumeleux. Une fois évacués, les abcès cicatrisèrent généralement très vite.

Trois fois on a déterminé les pouvoirs antidiphthériques simultanés du sang et du sédiment cellulaire du pus. Voici les résultats:

	Unités d'imm. par 1 cc.		
Sang	25	40	50
Pus	10	15	25

Comparer les expériences faites dans le même sens sur le tétanos par Roux et Vaillard, Annales de l'Institut Pasteur VII 1893. p. 82.

périences de Roux et Vaillard sur l'antitoxine du tétanos devaient cependant faire prendre à la pensée une autre direction. Ils constatèrent qu' en quelques jours on pouvait, en répétant les saignées, enlever à un lapin immunisé contre le tétanos, une quantité de sang égale à la masse totale du sang de l'animal, et que pourtant le pouvoir antitoxique du sang ne baissait pas notablement. Si la poursuite de ces recherches permettait de généraliser lesdits résultats, on pourrait concevoir ainsi le changement produit dans l'organisme par l'intoxication: Les cellules influencées par la toxine subiraient une modification durable et acquerraient la propriété de sécréter une nouvelle substance jusqu'alors étrangère à l'organisme, savoir: l'antitoxine. L'organisme se trouverait ainsi doté d'une nouvelle fonction sécrétoire. En procédant plus loin dans ce cercle d'idées et admettant que l'organisme d'un cheval activement immunisé soit le foyer d'une production et d'une destruction incessantes de la substance antidiphthérique, la chute abrupte qui suit les injections de toxine pourrait être regardée comme la manifestation d'une intoxication des cellules qui produisent l'antitoxine, ces cellules s'accoutumant au poison et, par là, se trouvant de nouveau moins entravées dans leurs fonctions de sécrétion à chaque nouvelle inoculation. Toutefois la justesse de cette hypothèse ne peut être contrôlée qu'à l'aide de documents d'expériences bien plus abondantes que les nôtres.

4. Dans ce qui précède nous nous en sommes tenus principalement à comparer entre elles les réactions qui suivent la première et la seconde injection de toxine. Si l'on y joint la troisième, on voit de plus en plus sauter aux yeux la décroissance d'action de cette même dose de toxine. Mais on verra que l'effet de cette troisième injection n'est pas absolument comparable à celui des première et deuxième injections. Ces deux-ci furent pratiquées à un moment où le sang de cheval était arrivé à *l'équilibre antitoxique*, c. à d., où son pouvoir antidiphthérique s'était maintenu sans altération durant

une suite de jours, tandis que la troisième injection fut faite à un moment où le pouvoir antidiphthérique du sang prenait de l'accroissement ou venait d'atteindre son point culminant dans la période de surcompensation (Ehrlich et Brieger). Mais aussi le but de cette troisième injection était autre que celui des précédentes: nous l'entreprîmes pour essayer s'il serait possible de pousser très haut la propriété immunisante du sang en injectant une forte quantité de toxine le jour où le sang avait atteint son maximum de pouvoir antidiphthérique après l'injection de toxine précédente. Ce procédé avait donné à Ehrlich et Brieger de bons résultats dans leurs expériences pour immuniser les chèvres contre le tétanos. Comme le montre la planche, la chute du pouvoir du lait après la première injection fut très raide: ce pouvoir ne resta qu'un jour à $\frac{2}{8}$, d'où il remonta vivement pour atteindre $\frac{7}{8}$, son point le plus élevé, au bout de six jours, c. à d., le 9^e ou 10^e jour après l'inoculation. Après la seconde injection la chute du pouvoir du lait fut aussi, il est vrai, fort brusque; mais ce pouvoir se maintint durant les trois jours suivants à son minimum $\frac{5}{16}$, après quoi il remonta à $\frac{5}{8}$ dans l'espace de cinq jours, soit le neuvième jour après l'injection. Il y demeura stationnaire durant trois jours, du dixième au douzième jour. Comme, après l'examen provisoire des cobayes inoculés les 39^e, 41^e et 42^e jours, nous étions fondés à supposer que le pouvoir du sang avait atteint son point culminant, nous fîmes une nouvelle injection de toxine le 43^e jour, c. à d., le douzième jour après la dernière injection. Le résultat fut qu'après une très faible baisse (de 120 à 105) qui dura quatre jours, on constata un accroissement relativement faible atteignant 135, et ce degré du pouvoir fut atteint dix jours après l'injection de toxine. Ce qui saute immédiatement aux yeux ici, c'est qu'à côté des dissemblances qu'on a fait ressortir entre les trois périodes de réaction qui suivirent les injections, on trouve certains points où la concordance est bonne. Dans les trois

cas la hausse mit *cinq à six* jours pour passer du plus bas au plus haut degré de l'échelle du pouvoir antidiphthérique et dans ces trois cas le maximum fut atteint *le 9^e ou 10^e jour* après l'injection. Dorénavant le mieux à faire sera de choisir pour saigner le cheval le dixième jour après l'injection quand on voudra lui soutirer un sérum aussi puissant que possible et, le cas échéant, il faudra aussi choisir le dixième jour après la dernière injection de toxine pour faire une nouvelle injection dans le but de pousser le pouvoir à son extrême hauteur. Avons-nous ici à faire à une particularité individuelle du cheval examiné, ou bien le maximum du pouvoir antitoxique est-il en général atteint le dixième jour chez les chevaux activement immunisés contre la diphthérie? c'est ce que nous ne pouvons pas décider, car nous ne disposons pas de séries d'observations analogues pour d'autres chevaux à la même phase de l'immunisation. Si de pareilles séries présentaient ce genre de relations, ce serait beaucoup de gagné pour la pratique de la fabrication du sérum.

Tableau I.

Doses de toxine employées pour l'immunisation active du cheval (v. page 448.)

Jour	Doses de toxine	Remarques	Jour	Doses de toxine	Remarques
1	1 cc		154		Parturition
6	1 "				
12	3 "		177		Saignée d'essai, 45 unités d'imm. pr. cc.
15	5 "		184	100 cc	
23	10 "		188	200 "	
27	20 "		195	400 "	
36	25 "		205	700 "	
41	50 "		213	800 "	
45	75 "		223	600 "	
50	100 "		232	600 "	Somme
57	150 "		242	1000 "	7940 cc.
72	250 "				
81	450 "		242		Saignée d'essai
92	600 "				120 unités d'imm. pr. cc.
104	800 "	Somme			
119	1000 "	3540 cc.			
135		Saignée d'essai 150 unités d'imm. pr. cc.			

Tableau II.

Aperçu des expériences sur les cobayes.

* signifie «infiltration»; o signifie «pas d'infiltration».

(La série horizontale des chiffres indique les jours d'expériences.)

Unités d'ammon pr. cc.	1	2	3	4	5	7	9	10	13	16	19	22	23	25	26	28	30	32	33	34	35	36	37	39	41	42	43	45	47	49	51	53	55	57	61	68	70	
12/8	"	"	"	"	"	*	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	
11/8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
10/8	"	"	"	"	"	*	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
9/8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
8/8	"	"	"	"	"	"	"	*	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
7/8	"	"	"	"	"	"	"	"	*	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
6/8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	*	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
5/8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
4/8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
3/8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
5/16	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"
2/8	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"

Lait.

