

(TRAVAIL DE L'INSTITUT SÉROTHÉRAPIQUE DE L'ÉTAT DANOIS)

TOXINES ET ANTITOXINES

SUR LE POISON DU BOTULISME ET SON ANTITOXINE.

PAR

TH. MADSEN.

(PRÉSENTÉ À LA SÉANCE DU 16. DÉCEMBRE 1904.)

Lorsque j'ai essayé, il y a quelques années, de trouver la relation quantitative entre le poison du botulisme et son antitoxine, j'ai rencontré un phénomène qui s'opposait à la détermination de la courbe de toxine-antitoxine.

M. le prof. Forssmann, de Lund, avait bien voulu mettre à ma disposition et la toxine et l'antitoxine en question.

La mensuration fut entreprise sur des cobayes de 250 gr.

D'après la détermination de la toxicité (Tab. I), 0.0004 cc. peuvent être pris comme la dose mortelle minima.

Ensuite, on a examiné combien il fallait d'antitoxine pour annuler l'effet de 0.1 cc. de toxine (env. 250 dose mortelle). Le mélange fut placé pendant 3 h. env. à 20°. Comme le montre le Tab. II, la mort fut généralement empêchée par des doses d'environ 0.0014—0.0015 cc.; avec 0.0017, et 0.0018 cc., on observa encore l'atonie caractéristique pendant des semaines, tandis que 0.002 cc. éloignèrent parfaitement tout effet toxique. Ainsi donc, nous constatons encore ici, qu'on ne peut trouver aucun point de neutralisation proprement dit, et que la distance entre L_0 et L_+ est assez considérable.

Ainsi, un mélange de 0.1 cc. de poison botulique et de 0.002 cc. d'antitoxine reste sans effet appréciable sur les cobayes (Tab. III). Mais si l'on injecte $\frac{1}{5}$ de ce mélange, il y a un peu de perte de poids, et l'animal présente la mollesse caractéristique des muscles abdominaux pendant environ une semaine; $\frac{1}{100}$ de ce mélange se montre décidément plus toxique que le mélange propre, toutefois moins toxique que $\frac{1}{5}$. Un mélange avec 0.0015 cc. de sérum (Tab. IV) présente des effets toxiques extrêmement faibles, tandis que $\frac{1}{5}$ du même mélange tue les cobayes en 5 jours, et que $\frac{1}{100}$ produit une atonie très considérable d'une durée de plusieurs semaines. Ces expériences semblent indiquer que nous nous trouvons devant un phénomène assez singulier, mais elles étaient trop peu nombreuses pour inspirer confiance. On voit parfois, en déterminant des courbes de toxines-antitoxines diphtériques des séries où la plus grande dilution offre la plus grande toxicité. D'ordinaire on attribue ces sortes d'irrégularités à des fautes d'expérience, et les observations continuées ont aussi fait voir le phénomène normal: toxicité décroissante avec dilution croissante.

Pour élucider ce phénomène, on a entrepris 2 séries assez longues d'expériences avec des mélanges de 0.1 cc. de poison et respectivement 0.0015 cc., et 0.0013 cc. d'antitoxine. Comme le montre le Tab. V, on injecta à des cobayes de même poids dix fois autant, cinq fois autant, $\frac{1}{1}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{5}$, etc. de ces mélanges.

Dans les expériences faites avec 0.0013 cc. d'antitoxine il devint clair dès le lendemain de l'injection, que le maximum de toxicité se trouvait autour de la fraction $\frac{1}{10}$, tandis que $\frac{1}{5}$ était un peu moins toxique, à peu près correspondant à $\frac{1}{20}$, et que $\frac{1}{1}$ était égal à $\frac{1}{100}$. Des dilutions jusqu'à $\frac{1}{200}$ provoquèrent encore de faibles effets toxiques. D'un autre côté, on apprit qu'en augmentant successivement la quantité jusqu'à

dix fois du mélange primitif, toute trace d'effet pouvait parfaitement disparaître.

La série correspondante de 0.0015 cc. de sérum donna un résultat tout à fait analogue. Ici encore, la plus grande toxicité fut de même trouvée à $\frac{1}{10}$, avec toxicité décroissante des deux côtés; seulement la zone toxique était moins large: de $\frac{1}{5}$ à $\frac{1}{40}$ contre $\frac{1}{2}$ à $\frac{1}{80}$ avec la moindre quantité d'antitoxine, savoir 0.0013 cc.

Ce phénomène singulier n'est pas spécial à ce poison botulique et à son antitoxine. Quelques années plus tard l'expérience fut refaite avec une nouvelle toxine et une nouvelle antitoxine, également dues à la bienveillance de M. le prof. Forssmann, et le résultat fut identique, comme il ressort des Tab. VI, VII, VIII.

Les recherches poursuivies au cours de ces dernières années ont montré que des phénomènes analogues à celui-ci, s'observent très souvent dans les études relatives à l'immunité (Voir p. ex. les observations de Loeffler et Abel¹, de Pfeiffer², de Neisser et Wechsberg³, de Neisser et Friedemann⁴, de Lipstein⁵, de Halban et Landsteiner, d'Eisenberg et Volk⁶, de Dreyer, et d'autres encore). Behring⁷ déclare que des mélanges de toxine tétanique et d'antitoxine tétanique sont quelquefois plus toxiques en dilution forte qu'en dilution faible. Avec Walbum⁸, j'ai fait moi-même des observations semblables quant à la *tétanolysine*, et il n'y a pas longtemps, nous avons observé le phénomène à un degré très marqué pour deux substances probablement très différents des toxines et

¹ LOEFFLER u. ABEL: Centralblatt f. Bakt. etc. Bd. 19. 1896. p. 51.

² PFEIFFER: Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. 20. 1895. pag. 198.

³ NEISSER u. WECHSBERG: Münch. med. Wochenschr. Nr. 18. 1901.

⁴ NEISSER u. FRIEDEMANN: Ibid. Nr. 11. 1903.

⁵ LIPSTEIN: Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. 31. 1902.

⁶ EISENBERG u. VOLK: Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. 40. 1902. p. 155.

⁷ BEHRING: Beiträge zur Experimentellen Therapie. Heft 7. 1904.

⁸ MADSEN et WALBUM: L'influence de la température sur la vitesse de réaction I. Oversigt o. D. Kgl. D. Vidensk. Selsk. Forh. 1904. p. 534.

antitoxines au sens ordinaire de ces termes, je veux dire *la saponine et la cholestérine*. On mélange 0.33 cc. $\frac{1}{100}$ n. de cholestérine avec les quantités indiquées ci-dessous de solution 2 % de saponine, et le volume est complété dans tous les cas jusqu'à 4 cc. par une solution physiologique de *Na Cl*. Les mélanges sont placés pendant 2 heures à 37°; puis des quantités décroissantes sont ajoutées aux éprouvettes contenant le sang. On emploie 8 cc. de sang de cheval de 1 % complété avec autant de *Na Cl* que, dans tous les cas, le volume devient constant (10 cc.). — Les tubes de sang furent laissés pendant 3 h. à 37° et ensuite placés sur glace; le lendemain, on mesura l'hémolyse. Les chiffres se trouvant au Tab. IX en avant de la dose, indiquent le degré de l'hémolyse en %. L'hémolyse totale est égale à 100.

On voit que dans toutes les séries et aussi dans les deux expériences de contrôle avec de la saponine seule, il y a un minimum bien marqué, au-dessous duquel le pourcentage hémolytique monte de nouveau, mais très lentement; — avec des quantités encore plus petites, il y a encore de l'hémolyse décroissante, ce qui ressort d'expériences autres que celles communiquées ici. — On voit clairement par le Tableau, comment le mélange de saponine et de cholestérine devient de plus en plus hémolytique, plus on ajoute de saponine, jusqu'à ce que, avec 2 cc., il devienne presque aussi actif que la solution pure de saponine.

Le fait constaté, à savoir qu'il n'y a pas de proportion directe entre la masse et l'effet, se retrouve donc fréquemment ailleurs. Biltz¹ vient de décrire des optima tout à fait analogues de sédimentations dans les précipitations inorganiques: hydroxyde de zircon vis-à-vis des solutions colloïdales d'or, hydroxyde de thorium vis-à-vis d'une solution de sulfide d'antimoine. Voilà peut-être le chemin à suivre pour résoudre le problème.

¹ BILTZ: Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. 48. 1904.

Tabl. I.
Dose mortelle minima. Cobayes 250 gr.

Dose en c. c.	Résultat	Dose en c. c.	Résultat	
0.001	† 1½ jours	0.0004	† 3 jours	
0.0009	† 2½ " "	0.00035	† 2½ " "	
0.0008	† 2½ " "	—	† 7 " "	} Perte de poids, mollesse do.
0.0007	† 2½ " "	—	—	
0.0006	† 1½ " "	0.0003	—	
0.0005	† 1½ " "	—	† 6 " "	
0.0004	† 1½ " "	0.0002	† 7 " "	
—	† 1½ " "	0.0001	—	} Un peu de mol- lesse

Tabl. II.

0.1 c. c. de toxine + n c. c. d'antitoxine n		
0.002	—	Pas de symptômes morbides
0.0018	—	Un peu de mollesse durant 3 semaines
—	—	Mollesse minimale durant quelques jours
0.0017	—	do.
0.0016	—	Mollesse durant 1 semaine
—	† 2½ jours	
0.0015	—	do.
—	—	Mollesse durant 2 semaines
0.0014	† 3 " "	
—	—	Perte de poids, mollesse durant 3 semaines
—	—	
0.0012	† 3 " "	
0.001	† 3 " "	
0.0002	† 1 " "	

Tabl. III.

0.1 c. c. de toxine + n c. c. d'antitoxine n	Divisé par	
0.002	1 : 5 : 100	Pas de symptômes Mollesse durant 1 semaine Un peu de mollesse

Tabl. IV.

0.1 c. c. de toxine + n c. c. d'antitoxine n	Divisé par		
0.0015	1 : 5 : 100	— † 5 jours —	Pas de symptômes Mollesse durant 1 semaine

Tabl. V.

0.1 c. c. de toxine + n c. c. d'antitoxine n	Divisé (multiplié) par		
0.0015	× 10	—	Pas de symptômes
	× 2	—	Trace de mollesse
	1	—	Mollesse durant 4 jours
	1	—	Mollesse durant 5 jours
	: 2	—	Mollesse durant 1 semaine
	: 5	† 5½ jours	
	: 10	† 2 " "	
	: 20	† 4½ " "	
	: 40	† 6 " "	
	: 75	—	Mollesse durant 1 semaine
	: 100	—	do.
	: 150	—	do.
	: 200	—	do.
: 250	—	do.	
0.0013	× 10	—	Pas de symptômes
	× 2	—	Mollesse minimale
	1	—	Mollesse durant 1 semaine
	1	—	Mollesse durant 4 jours
	: 2	† 5½ jours	
	: 5	† 4½ " "	
	: 10	† 2 " "	
	: 20	† 3½ " "	
	: 40	† 4½ " "	
	: 80	† 8 " "	
	: 100	—	Mollesse durant 1 semaine
	: 200	—	Un peu de mollesse
	: 300	—	Trace de mollesse durant 1 jour

Tabl. VI.
Dose mortelle minima.

Dose en c. c.		
0.0015	† 1 jours	
0.0013	† 6 "	
0.001	† 4 "	
—	† 5½ "	
—	† 5½ "	
0.0009	—	Mollesse durant 3 semaines
—	—	
—	—	
0.0007	—	Mollesse durant 1 semaine
0.0005	—	

Tabl. VII.

0.1 c. c. de toxine + n c. c. d'antitoxine		
<i>n</i>		
0.001	—	Pas de symptômes
0.0009	—	Mollesse durant 2 semaines
0.0008	† 4 jours	
0.0007	† 3 "	
0.0006	† 2 "	
0.0005	† 2 "	
0.0001	† 1½ "	

Tabl. VIII.

0.1 c. c. de toxine + n c. c. d'antitoxine	Divisé (multiplié) par		
<i>n</i>			
0.0009	× 10	—	Trace de mollesse durant 2 jours
	× 5	—	do. 4 à 5 "
	1	—	do. 10 "
	: 2	—	do. 2 semaines
	: 5	† 60 heures	
	: 10	† 20 "	
	: 20	† 96 "	
	: 50	† 120 "	
	: 100	—	Mollesse durant 2 semaines

Tabl. IX.
Saponine-Cholestérine.

Dose en c. c.	0.33 c.c. 0.01 n Cholestérine + quantités ci-dessous, en c.c. de 2 % sol. de saponine										Saponine sans Cholesté- rine	
	0.05	0.1	0.25	0.5	0.75	1.0	1.25	1.5	1.75	2.0	I	II
2.0	70											
1.7	55											
1.5	42											
1.3	35	100										
1.0	14	90										
0.7	6	75										
0.5	8	40										
0.4	10	27										
0.3	14	12										
0.25	18	40										
0.2	18	16										
0.17	35	20	100									
0.13			80									
0.1			30	100								
0.07			14	90								
0.05			30	55	100							
0.04			35	35	90	100						
0.03			37	14	42	90						
0.025			37	14	32	70	100					
0.02			45	18	12	45	80	100				
0.017				35	14	14	40	80	100			
0.013				47	25	14	20	40	70	65		
0.01				60	35	16	14	20	37	35	35	35
0.007					37	40	18	16	12	16	14	18
0.005					45	45	37	30	27	12	20	16
0.004					50	55	50	45	30	20	30	30
0.003								45	37	25	37	35
0.0025								40	37	35	40	32
0.002								35	45	33	50	40
0.0017								45	55	40	37	45
0.0013										45	40	45
0.001										50	43	45
0.007										45	47	43
0.005											50	43