

III

ÉTUDE

SUR

LA PHAGOCYTOSE DES STREPTOCOQUES

ATTÉNUÉS ET VIRULENTS

Par M. le Dr L. MARCHAND

(TRAVAIL DE L'INSTITUT DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN)

(Planches I et II.)

INTRODUCTION

Les expériences qui suivent ont pour but de rechercher la raison pour laquelle un streptocoque non virulent est incapable de produire une infection chez les animaux, tandis qu'un streptocoque virulent détermine facilement des affections mortelles.

Pour autant que nous le sachions, des expériences systématiques, dans lesquelles on étudiait sur les animaux l'action d'un même microbe tantôt atténué tantôt virulent, n'ont pas encore été entreprises. Nous pouvons donc nous dispenser de faire l'historique de cette question et nous abordons immédiatement notre sujet.

PRÉLIMINAIRES

CHOIX DES STREPTOCOQUES. — LEUR VIRULENCE.

Nous avons employé dans nos recherches quatre streptocoques d'origines différentes que nous désignerons par des lettres de l'alphabet.

Le streptocoque A	isolé dans un cas d'angine.
— B	— de péritonite post-opératoire (hystérectomie).
— C	— d'angine.
— D	— d'arthrite.

Ces streptocoques pouvaient être considérés comme peu virulents; en effet, pour produire l'érysipèle,

Avec le streptocoque A	il fallait plus de 0,1 c.c.
— B	— 1 c.c.
— C	— 1 c.c.
— D	— 0,5 c.c.

On sait qu'après quelques passages un streptocoque acquiert facilement un pouvoir pathogène tel qu'il donne l'érysipèle mortel au 0,00005 de cm. cube et même au 0,00001 de cm. cube. Pour conserver ces microbes avec leur faible pouvoir pathogène, nous les avons de temps en temps repiqués sur bouillon, agar, gélatine, etc., sans les faire passer par le corps d'un animal. Ajoutons que toutes les cultures employées dans nos expériences ont pour point de départ une seule colonie bien isolée de ses voisines.

Devant étudier comparativement le microbe atténué et le microbe pathogène du même échantillon, il nous a fallu obtenir des variétés très virulentes. Dans ce but nous avons fait avec nos quatre variétés des passages par le lapin et au bout d'un certain nombre de ces passages nous avons obtenu :

de la variété A	un microbe virulent au 0,0001 de c.c.
— B	— 0,00001 —
— C	— 0,0005 —
— D	— 0,000002 —

Répetons encore une fois que ces passages ont été faits avec nos cultures dérivant d'une seule colonie. De sorte que nos espèces très virulentes sont les *descendantes directes* de nos variétés atténuées.

Au point de vue de la manière dont nos streptocoques se développent dans le bouillon, nous devons également mentionner que les variétés atténuées se présentaient sous forme de chaînettes plus ou moins longues se composant de

10 à 30 organismes, tandis que les microbes très virulents ne se trouvaient dans le bouillon que sous forme de coques, diplocoques et très courtes chaînettes.

Ce fait se remarque d'ailleurs pour la généralité des streptocoques à peu d'exceptions près. Nous insistons sur ce point parce que, comme nous le verrons plus loin, on doit en tenir compte pour se faire une idée exacte du nombre d'organismesensemencés dans les tubes en expérience.

Parmi nos quatre variétés il y en a trois (B, C, D), qui, à côté de l'inflammation locale, produisent la généralisation dans le sang; l'autre espèce (A) ne se généralise pas, mais produit uniquement une inflammation intense de l'oreille.

C'est surtout le streptocoque D qui nous a servi dans nos expériences.

Disons enfin que nous avons toujours soigneusement contrôlé la virulence de nos variétés avant de les employer.

PREMIÈRE PARTIE

Comment nos streptocoques atténués et virulents se comportent-ils vis-à-vis des deux grands facteurs de l'immunité : le pouvoir bactéricide du sérum et les globules blancs ?

Si l'on se demande pourquoi un streptocoque inoculé à certaine dose dans l'oreille d'un lapin ne produit aucun trouble marquant, tandis que le même microbe, après quelques passages, y détermine des lésions importantes, on peut formuler trois hypothèses basées toutes trois sur ce que nous savons des moyens de défense dont dispose l'économie :

1° On peut supposer que le streptocoque atténué est détruit ou rendu impuissant par la propriété microbicide du sérum, tandis que la variété virulente échappe à cette action.

2° On peut admettre que la variété atténuée est englobée par les leucocytes et détruite, tandis que l'autre, échappant à cette action, pullule et produit la lésion.

3° Il est permis de penser que ces deux facteurs produisent ensemble leur action nuisible sur la variété non

pathogène, tandis qu'ils sont sans effets sur la variété virulente.

Nous exposerons successivement les expériences faites *in vitro* et *in corpore* d'abord chez le lapin, puis chez le cobaye, et enfin chez le chien.

I. — EXPÉRIENCES CHEZ LE LAPIN

A. — EXPÉRIENCES « IN VITRO »

§ 1. *Action du sérum.* — Avant d'aborder l'examen de ces hypothèses sur les animaux chez lesquels les conditions sont complexes et où surtout ces deux facteurs de l'immunité ne peuvent être séparés l'un de l'autre, nous avons commencé nos recherches *in vitro* et nous avons soumis les streptocoques à l'action du sérum dans des tubes.

Pour nous procurer le sérum nous saignons un lapin par l'artère carotide, le sang était battu et immédiatement centrifugé. Nous obtenions ainsi un liquide incolore, transparent, ne renfermant plus d'éléments organisés. Ce sérum était divisé en plusieurs parts. Dans les unes onensemait la variété atténuée, dans les autres la variété virulente. Dans les tubes qui devaient être comparés entre eux, nous avons eu soin d'introduire des quantités égales de nos deux variétés; afin de rendre les résultats plus décisifs, nous avons parfoisensemencé une quantité un peu plus forte de streptocoques non virulents, dans le but de faire ressortir davantage, s'il y avait lieu, l'action nuisible du sérum sur les streptocoques atténués.

Pour avoir une idée du nombre d'organismes contenus dans le sérum aux différents moments de l'expérience nous avons utilisé, outre les préparations microscopiques, la méthode des plaques. Comme on le sait, cette méthode consiste à prélever des tubes en expériences une certaine quantité de liquide toujours la même (deux anses, par exemple), de l'ajouter à de l'agar fondu et de couler ensuite celui-ci en plaques. On répète cette opération à plusieurs intervalles déterminés.

Voici quelques expériences :

EXPÉRIENCE I. — Cette expérience est faite avec deux tubes contenant du sérum de lapin. Le premier estensemencé avec la variété atténuée, le second avec la variété virulente du streptocoque D.

Pour que l'examen des chiffres du tableau suivant ne prête pas à erreur, nous devons faire deux remarques importantes :

1° En ne considérant que les chiffres, l'ensemencement paraît être plus considérable dans le tube II, tandis que c'est plutôt le contraire qui est vrai. En effet, comme nous l'avons vu plus haut, le streptocoque atténué est ordinairement réuni en belles chaînettes de 5, 10, 20 individus et plus, tandis que dans le bouillon de la variété virulente on ne rencontre que des coques, diplocoques et courtes chaînettes. On comprend dès lors qu'une colonie d'une plaque faite avec le tube I équivaut au *minimum* à 5-6 individus, tandis que pour le tube II elle ne correspond au *maximum* qu'à 2-3 organismes.

2° Le deuxième fait important dont on doit tenir compte, c'est qu'en se développant dans le sérum, beaucoup de chaînettes du streptocoque atténué sont en amas, tandis que dans le tube II les courtes chaînettes et diplocoques sont restés pour la plupart séparés.

Si donc la pullulation paraît plus lente dans le tube I, cela tient à ce que les organismes sont restés réunis en belles chaînettes et en petits amas, comme le démontre l'examen microscopique.

	DE SUITE après l'ensemencement	1 HEURE 1/2 après	2 HEURES APRÈS ²	4 HEURES après
Tube I Sérum + streptocoques D <i>atténués</i> .	14 136 ¹	28 576	Plusieurs petits amas de chaînettes par champ.	560 200
Tube II Sérum + streptocoques D <i>virulents</i> .	23 788	126 400	Beaucoup de coques, diplocoques et courtes chaînettes par champ.	1 245 320

1. Ces chiffres, comme ceux des expériences suivantes, indiquent le nombre de colonies développées sur les plages d'agar.
2. Le nombre d'organismes paraît égal dans les deux préparations.

EXP. II. — L'ensemencement est fait avec le streptocoque A. Le sérum est divisé en six portions. Trois tubes (I, III, V) sontensemencés avec des doses différentes de bouillon de la variété atténuée et les trois autres portions (tubes II, IV, VI) avec les mêmes doses de la variété virulente.

	DE SUITE après l'ensemencement	4 HEURES après	6 HEURES APRÈS
Tube I strept. <i>atténué</i> . .	2 436	14 484	60 672 Beaucoup d'organismes.
Tube II strept. <i>virulent</i> . .	2 002	10 650	47 376 Beaucoup d'organismes sous forme de courtes chaînettes.
Tube III strept. <i>atténué</i> . .	3 140	78 848	369 820 Petite culture, coques et chaî- nettes, pas d'amas.
Tube IV strept. <i>virulent</i> . .	»	34 000	100 480 Petite culture, chaînettes non agglomérées.
Tube V strept. <i>atténué</i> . .	5 240	182 880	652 800 Forte culture, diplocoques et petites chaînettes.
Tube VI strept. <i>virulent</i> . .	5 780	99 360	322 560 Petite culture, chaînettes non agglomérées.

De ces expériences nous devons conclure que *la variété atténuée et la variété virulente de nos streptocoques ne sont aucunement détruites par le sérum de lapin normal mais que toutes deux y pullulent sans retard ni difficultés.*

En présence de ces résultats nous devons rejeter notre première hypothèse, à savoir : que la raison pour laquelle nos variétés atténuées sont si peu dangereuses pour l'organisme consistait dans une sensibilité particulière de leur part vis-à-vis de la substance bactéricide du sérum.

Nous pouvons donc passer à l'examen de notre seconde supposition et voir comment se comporte vis-à-vis de nos streptocoques un autre moyen de défense de l'organisme : les leucocytes.

§ 2. *Rôle des globules blancs du lapin.* — Pour étudier la phagocytose nous nous procurons des globules blancs suivant le procédé connu, consistant à injecter dans la plèvre d'un lapin une suspension de staphylocoques tués par la chaleur.

Si l'on sacrifie l'animal après une douzaine d'heures, on trouve généralement dans la plèvre quelques cm. cubes d'un liquide plus ou moins trouble.

Comme l'examen microscopique le montre, le manque de transparence est dû à la présence d'un nombre plus ou moins considérable de leucocytes tous bien vivants. Les microbes morts injectés ont complètement disparu. Cet exsudat est centrifugé et la partie liquide est remplacée par du sérum obtenu, lui aussi, par l'action centrifuge.

La suspension de leucocytes dans le sérum est divisée en plusieurs parts qui sontensemencées les unes avec le streptocoque atténué, les autres avec le streptocoque virulent.

Immédiatement après l'ensemencement une préparation est faite soit à l'état frais, soit après coloration. Elle a pour but de donner une idée exacte des rapports qui existent entre les leucocytes et les microbes.

Les tubes renfermant les différentes parts sont mis dans un bain-marie maintenu à 38°. De temps en temps, tous les quarts d'heure par exemple, nous prélevons une petite goutte du mélange que nous examinons soit à l'état frais, soit après coloration.

Les préparations faites à l'état frais ont le grand avantage de donner une idée très exacte du nombre des organismes libres. Il suffit pour cela de prélever au moyen d'une anse de fil de platine des quantités égales du mélange et de couvrir les préparations de couvre-objets de même grandeur. On obtient alors des couches de liquide d'épaisseur sensiblement égale et qui conviennent très bien pour juger du nombre de microbes libres. Mais les préparations à l'état frais ont encore un autre avantage: si l'on fait l'observation à la température de 38°, les leucocytes présentent leurs déformations amiboïdes connues. On peut ainsi juger de leur état de mort ou de vie et même assister à l'acte de la phagocytose lui-même.

A côté de ces avantages les préparations à l'état frais présentent un inconvénient, les streptocoques phagocytés sont très peu apparents. Pour les mettre bien en évidence il est nécessaire de colorer la préparation. Le milieu qui nous a fourni les meilleurs résultats est un liquide préparé comme suit :

Eau	100
Acide phénique.	5
Bleu de méthylène	2

Après avoir laissé la préparation sécher à l'air on la met en contact avec une goutte de ce liquide, on lave à l'eau, on sèche et l'on monte dans l'essence de térébenthine ou le baume de Canada. On obtient ainsi des préparations dans lesquelles les microbes sont très bien colorés, ce qui permet de les distinguer très nettement à l'intérieur des leucocytes.

Il n'y a guère de danger de les confondre avec les granulations amphophiles si communes dans les leucocytes du lapin.

En premier lieu ils s'en distinguent très bien par leur volume et leur forme régulière; en second lieu ils se colorent en bleu pur tandis que les granulations se colorent en violet.

Voici quelques-unes de nos expériences à ce sujet :

Exp. III. — Cette expérience, ainsi que les deux suivantes, est faite avec deux tubes contenant chacun une certaine quantité de sérum de lapin additionné de globules blancs.

Le premier tube estensemencé avec la variété atténuée, le second avec la variété virulente du streptocoque D.

	SÉRUM DE LAPIN + GLOBULES BLANCS	
	TUBE I additionné de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II additionné de strept. D <i>virulents.</i>
De suite après ensemencement.	Beaucoup de chaînettes par champ.	Beaucoup de coques et diplocoques par champ.
1/2 heure après.	Quantité notable de micro- bes libres; <i>phagocytose</i> déjà bien marquée; 25 p. 100 des globules renferment des microbes.	Petite culture, coques et diplocoques; <i>pas un seul globule avec phagocytose.</i>
1 heure après.	Très peu de microbes libres; <i>belle phagocytose.</i>	Culture de coques et diplocoques libres; <i>pas de phagocytose.</i>

Exp. IV. — Elle est faite sur le même plan que la précédente. L'en-

ensemencement a été ici de 1/4 cm. cube de bouillon pour 1 cm. cube de sérum avec globules.

	SÉRUM DE LAPIN + GLOBULES BLANCS	
	TUBE I additionné de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II additionné de strept. D. <i>virulents.</i>
De suite après ensemencement.	Quantité notable de chaî- nettes par champ.	Quantité notable de coques et diplocoques par champ.
3/4 d'heure après ensemencement.	Peu de chaînettes libres ; <i>phagocytose bien marquée.</i>	Beaucoup de coques et diplocoques ; <i>pas de phagocytose.</i>
2 heures après.	Rares chaînettes libres ; <i>belle phagocytose.</i>	Culture, coques et diploco- ques ; <i>pas de phagocytose.</i>
	<i>Globules ont de beaux mouvements.</i>	

EXP. V. — Dans cette expérience, la dose de microbes ensemencés a été considérable, c'est-à-dire parties égales de bouillon de streptocoques et de sérum avec globules. C'est ce qui explique que dans le tube I contenant les microbes atténués, un nombre respectable d'organismes sont restés libres et ont échappé à la phagocytose.

Pour se faire une idée de la quantité de microbes mis en présence des globules blancs, nous dirons que sur une plaque faite immédiatement après l'ensemencement en prélevant deux anses (0 gr. 014) de liquide, on comptait 370 000 colonies pour le premier tube et 400 000 pour le second.

	SÉRUM DE LAPIN + GLOBULES BLANCS	
	TUBE I additionné de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II additionné de strept. D <i>virulents.</i>
De suite après ensemencement.	Petite culture de chaînettes libres.	Petite culture de coques et diplocoques.
1 heure après.	Encore beaucoup de chaînettes libres ; <i>phagocytose bien marquée.</i>	Culture de coques et diplocoques ; <i>pas de phagocytose.</i>
2 heures après.	Quantité notable de microbes libres ; <i>phagocytose encore plus marquée.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>

Ces expériences peuvent donner lieu à une petite objection. Nos globules blancs se trouvent immergés dans du sérum. Or, dans bien des cas, ce n'est pas dans ce milieu que se fait la rencontre des microbes et des globules blancs. C'est dans les interstices et fentes lymphatiques.

Nous n'attachons aucune importance à cette différence de milieu. Néanmoins, pour enlever tout scrupule touchant la légitimité de nos recherches, nous avons institué des expériences avec des leucocytes ne se trouvant plus en suspension dans du sérum, mais dans l'exsudat où ils se sont accumulés. Ce milieu représente exactement le milieu où streptocoques et globules se rencontrent si souvent.

Exp. VI. — Elle est faite de la même manière que les trois expériences précédentes; seulement le sérum est ici remplacé par la partie liquide de l'exsudat. L'ensemencement est de 1/4 de cm. cube de bouillon pour 1 cm. cube d'exudat.

	EXSUDAT COMPLET DE LAPIN	
	TUBE I additionné de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II additionné de strept. D <i>virulents.</i>
De suite après ensemencement.	Beaucoup de chaînettes par champ.	Beaucoup de coques et diplocoques par champ.
1/2 heure après.	Très rares microbes libres ; <i>très belle phagocytose ;</i> 50 p. 100 des globules avec phagocytose.	Culture de coques et diplocoques libres ; <i>pas de phagocytose.</i>

Exp. VII. — L'ensemencement est également de 1/4 de cm. cube de bouillon par cm. cube d'exsudat.

	EXSUDAT COMPLET DE LAPIN	
	TUBE I additionné de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II additionné de strept. D <i>virulents.</i>
De suite après ensemencement.	Quantité notable de chaî- nettes libres.	Quantité notable de coques et diplocoques libres.

	EXSUDAT COMPLET DE LAPIN	
	TUBE I additionné de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II additionné de strept. D <i>virulents.</i>
1/4 d'heure après.	Peu de microbes libres ; <i>déjà très belle phagocytose ;</i> plus de la moitié des globules contiennent des microbes.	Beaucoup de coques et diplocoques libres ; <i>pas de phagocytose.</i>
1 heure 1/2 après.	Plus vu de microbes libres ; <i>50 p. 100 des globules</i> <i>avec phagocytose.</i>	Culture, coques et diplocoques libres ; <i>pas de phagocytose.</i>

EXPÉRIENCE VIII.

	EXSUDAT COMPLET DE LAPIN	
	TUBE I additionné de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II additionné de strept. D <i>virulents.</i>
De suite après ensemencement.	Beaucoup de chaînettes libres par champ.	Quantité notable de coques et diplocoques par champ.
1 heure après.	Peu de chaînettes libres ; la moitié des globules renferment des microbes.	Culture de microbes libres ; <i>pas de phagocytose.</i>
2 heures après.	Rares microbes libres ; <i>phagocytose, 75 p. 100</i> <i>des globules.</i>	Culture serrée de coques et diplocoques ; <i>pas vu de phagocytose.</i>
3 heures après.	Plus vu de microbes libres ; <i>phagocytose ;</i> nombre de globules renfer- mant des microbes est manifestement moindre que 2 heures après.	Culture serrée de coques et diplocoques ; <i>pas de phagocytose.</i>

Ces trois expériences font bien ressortir l'énergie avec laquelle s'opère la phagocytose des streptocoques atténués. En une ou deux heures, les leucocytes se sont emparés de presque tous les microbes atténués mis en leur présence.

Exp. IX. — Cette expérience montre l'action des globules sur les streptocoques A, B et C atténués et virulents. Comme on le voit, ces microbes se comportent exactement comme le streptocoque D employé dans les expériences précédentes, c'est-à-dire phagocytose de la variété atténuée, non-phagocytose de la variété virulente.

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN					
STREPTOCOQUE A		STREPTOCOQUE B		STREPTOCOQUE C	
TUBE I variété <i>atténuée.</i>	TUBE II variété <i>virulente.</i>	TUBE III variété <i>atténuée.</i>	TUBE IV variété <i>virulente.</i>	TUBE V variété <i>atténuée.</i>	TUBE VI variété <i>virulente.</i>
De suite après ensemencement.					
Beaucoup de chaînettes libres par champ.	Beaucoup de coques, diplocoques et courtes chaînettes par champ.	Beaucoup de chaînettes par champ.	Beaucoup de coques, diplocoques et courtes chaînettes par champ.	Beaucoup de chaînettes par champ.	Beaucoup de coques et diplocoques par champ.
1 heure après.					
Quantité notable de chaînettes libres ; phagocytose modérée.	Petite culture de microbes libres ; <i>pas de</i> phagocytose.	Quantité notable de chaînettes libres ; <i>belle</i> phagocytose.	Culture coques et diplocoques ; <i>pas de</i> phagocytose.	Quantité notable de microbes libres ; phagocytose bien évidente.	Culture, coques, diplocoques et courtes chaînettes ; <i>pas vu de</i> phagocytose.
3 heures après.					
Peu de microbes libres ; <i>phagocytose bien</i> marquée.	Culture ; <i>pas de</i> phagocytose.				

L'inspection des 4 figures 1, 2, 3, 4 dessinées d'après les préparations colorées de l'expérience VIII, donne une idée de ce qui se passe *in vitro*, lorsqu'on ensemence dans deux portions d'exsudat d'un côté la variété virulente, de l'autre la variété atténuée d'un même streptocoque. Les figures 1 et 2 correspondent respectivement aux tubes I et II de suite après l'ensemencement, les figures 3 et 4 à ces mêmes tubes

après 1 heure de couveuse. D'après les figures 1 et 2 (planche I) nous pouvons juger du nombre de microbesensemencés. Comme on le voit la quantité de streptocoques atténués (fig. 1) est manifestement supérieure à celle des streptocoques virulents (fig. 2). Si nous jetons maintenant un coup d'œil sur la figure 3 (planche I) nous constatons qu'après 1 heure de couveuse il s'est passé dans le tube I une modification importante : les microbes, au lieu de se trouver en dehors des leucocytes, sont presque tous englobés par ceux-ci, tandis que, comme l'indique la figure 4 (planche I), les microbes virulents sont tous restés en dehors des globules blancs et ont pullulé activement.

Les préparations colorées ne permettent pas d'assister à tous les stades de la phagocytose, elles ne montrent que le fait accompli. Pour surprendre toutes les phases de l'englobement des streptocoques atténués par les globules blancs, il est nécessaire de s'adresser aux préparations à l'état frais. Le procédé le plus simple est le suivant : On dépose une goutte d'exsudat sur un porte-objet, on y ajoute une anse de bouillon de streptocoque atténué et on recouvre d'un petit verre. La préparation est ensuite placée sous un microscope maintenu dans la chambre de Zeiss à une température de 38°. On a soin de luter la préparation à la paraffine pour empêcher la dessiccation.

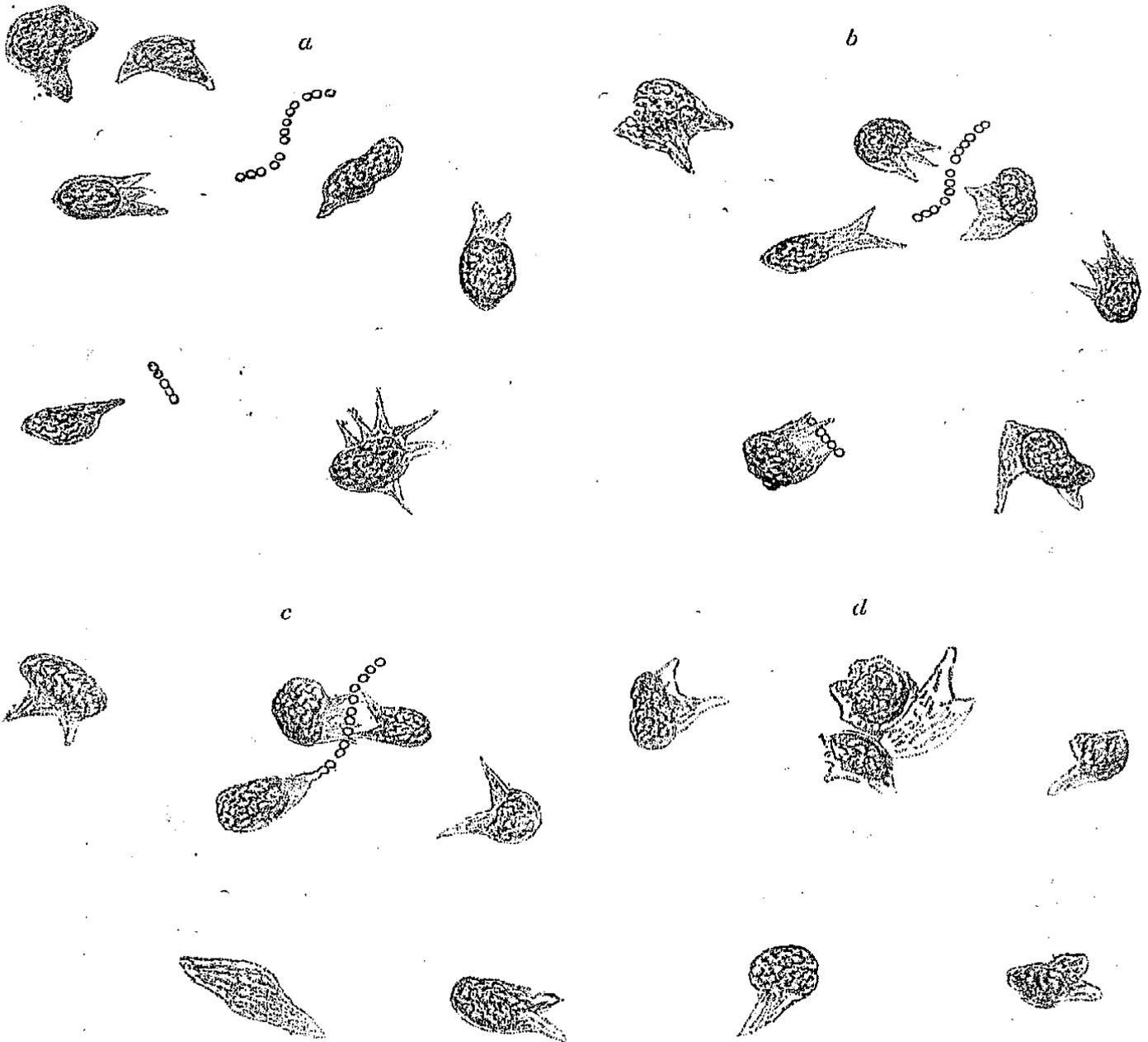
La figure ci-après montre tous les stades de la phagocytose observée à un endroit pris au hasard dans une préparation faite de cette façon.

Pendant les 3 à 4 premières minutes les globules se déforment, poussent et retirent leurs pseudopodes, mais n'englobent pas de microbes. Puis la phagocytose se déclare brusquement. C'est à ce moment que commence notre observation : en *a*, on voit deux chaînettes, une longue et une courte, en présence d'un certain nombre de globules blancs.

En *b*, le globule voisin de la courte chaînette s'est avancé et l'entoure déjà de ses pseudopodes. Pendant ce temps trois globules se dirigent vers la longue chaînette.

En *c*, le globule qui commençait à englober la courte chaînette s'est étiré sur elle et l'a fait disparaître. En même

temps, des trois globules qui entouraient la longue chaînette



a, b, c, d : phases successives de la phagocytose des streptocoques atténués par les globules blancs de lapin normal.

deux l'attaquent latéralement, le troisième la saisit par son extrémité.

Enfin, en *d*, le leucocyte qui s'est accaparé la courte

chaînette a repris sa forme ordinaire et pousse déjà des prolongements pour s'éloigner. Les trois globules qui se sont emparés de la longue chaînette ont achevé de l'englober.

Tous les phénomènes que nous venons de décrire se succèdent très rapidement. En quelques minutes on peut assister à la phagocytose de 15-20 chaînettes. Après 10 minutes de séjour à la température du corps on ne retrouve plus de chaînettes libres dans la préparation. Si à ce moment on la colore, l'examen microscopique montre une préparation dans le genre de la figure 3, c'est-à-dire de rares microbes libres et presque tous les globules blancs bourrés d'organismes.

De toutes ces expériences se dégage nettement la conclusion suivante : *In vitro le streptocoque peu pathogène est un organisme phagocyté activement par les leucocytes ; au contraire le streptocoque pathogène ou virulent est laissé en liberté ; tout au plus y a-t-il quelques rares individus pris par des globules blancs.*

B. — EXPÉRIENCES « IN CORPORE »

Nous devons maintenant examiner jusqu'à quel point les conclusions fournies par des recherches dans les tubes, concordent avec les phénomènes qui se passent à l'intérieur de l'animal.

La façon d'opérer la plus démonstrative nous a paru la suivante :

Injecter dans le péritoine d'un lapin soit le streptocoque pathogène soit le non pathogène et poursuivre leur sort par des ponctions répétées. Cette opération se fait sans difficultés. Il suffit d'avoir un tube de verre effilé à extrémité émoussée avec lequel on traverse la peau, les couches musculaires, pour arriver dans le péritoine. Comprimant alors la cavité abdominale on obtient quelques gouttes, même plusieurs cm. cubes de liquide que l'on examine à l'état frais et après coloration. L'examen à l'état frais a surtout pour but de nous renseigner sur la quantité de leucocytes, leur vitalité

et le nombre de microbes libres. Les préparations colorées nous donnent des renseignements particulièrement précieux sur la phagocytose.

Injection d'un streptocoque non pathogène dans le péritoine du lapin. — Quand on veut faire l'expérience avec le streptocoque non virulent, il est nécessaire d'injecter de grandes quantités d'organismes, 10-20 centimètres cubes. Si l'on en injecte de petites quantités, le phénomène de la phagocytose ne se laisse pas bien constater, les microbes se trouvant entraînés par les lymphatiques dans le courant sanguin. Faisons remarquer en passant que cette dose considérable serait certainement mortelle si on l'injectait sous la peau, mais le pouvoir pathogène de notre streptocoque D est beaucoup plus faible quand il se trouve dans le péritoine ou une autre séreuse : 10 à 20 cm. cubes introduits dans une de ces cavités laissent l'animal en vie.

L'absorption rapide des microbes par les séreuses a été mise surtout en évidence par les expériences de MM. Denys et Leclef¹, dans lesquelles ils injectaient dans la plèvre d'animaux des organismes quelquefois de très grande taille (bacilles du foin, par exemple). Ils constataient qu'il était impossible de trouver des microbes 2 à 3 heures après l'injection.

Dans le péritoine, la résorption est tout aussi rapide et même, pour bien constater la phagocytose, il est nécessaire de faire une nouvelle injection de microbes plusieurs heures après la première.

Sous l'influence de la première injection et malgré le départ des microbes, il s'opère peu à peu une diapédèse de globules blancs et une transsudation plus abondante de lymphe.

Quelques heures après la première injection, le péritoine renferme quelques cm. cubes d'un liquide opalescent.

Quand on examine ce liquide au microscope, on y constate de nombreux globules blancs doués de mouvements

1. J. DENYS et J. LECLER, Sur le mécanisme de l'immunité chez le lapin vacciné contre le streptocoque pyogène (*la Cellule*, tome IX, 1895, 1^{er} fascicule, p. 206 et suivantes).

amiboïdes, mais on n'y rencontre plus guère de microbes aussi bien en dedans qu'en dehors des cellules¹.

C'est le moment de procéder à la deuxième injection. Les microbes se trouvent en présence d'une quantité considérable de leucocytes et beaucoup échappent au simple entraînement mécanique. Pour constater une abondante phagocytose, il suffit d'attendre une dizaine de minutes avant de faire la ponction au moyen du tube en verre. Si l'on colore une goutte de l'exsudat ainsi obtenu, on constate que beaucoup de leucocytes renferment un nombre plus ou moins considérable de streptocoques, preuve que la phagocytose s'est exercée très activement et avec une grande rapidité. Elle n'est pas moins marquée qu'*in vitro*.

La figure 5 (planche I) montre une préparation colorée d'une goutte de liquide après la deuxième injection.

Comme on le voit, il n'y a plus de microbes libres; ils se trouvent tous à l'intérieur des globules.

Injection dans le péritoine du streptocoque virulent. — A la rigueur, nous aurions pu nous passer de faire cette expérience. En effet, les expériences de MM. Denys et Leclef² nous permettent de prévoir les résultats auxquels nous devons aboutir. Ces auteurs ont en effet constaté que le streptocoque pathogène, injecté dans l'oreille, n'est phagocyté que dans une proportion extrêmement minime et que cette phagocytose ne s'observe que dans les premiers moments qui suivent l'inoculation.

M. Bordet³ a confirmé ces données dans une étude sur le sort du streptocoque de Marmorek virulent dans le cas

1. Cet exsudat riche en leucocytes convient très bien pour suivre toutes les phases de la phagocytose. Plus haut, nous avons déjà décrit ces phénomènes, mais l'expérience était faite au moyen d'exsudat obtenu avec des staphylocoques tués. Des esprits rigoristes pourraient nous objecter que nous faisons intervenir des leucocytes qui se sont trouvés sous d'autres influences que celles du streptocoque. Nous pouvons facilement écarter l'objection en nous servant de globules obtenus par le streptocoque même. Si l'on y ensemence des streptocoques atténués, on constate que les phénomènes sont absolument les mêmes que ceux observés dans l'exsudat obtenu par les staphylocoques tués. L'identité est tellement complète qu'elle nous dispense de revenir sur ce phénomène en détail.

2. J. DENYS et J. LECLEF, *loc. cit.*, p. 210.

3. J. BORDET, Contribution à l'étude du sérum antistreptococcique (*Ann. de l'Institut Pasteur*, 1897, p. 183).

d'injection de doses mortelles. Il a également constaté que la phagocytose était si peu marquée qu'elle n'entraît pas en ligne de compte. L'immense majorité des microbes restait libre et entraît en pullulation.

Néanmoins, nous avons tenu à refaire ces expériences d'abord parce que nous avons travaillé avec d'autres streptocoques et ensuite parce qu'il nous importait de comparer une variété *atténuée* et une variété *virulente* issues d'une même colonie. La dose injectée n'a jamais dépassé la dose de 5 cm. cubes de bouillon. Contrairement à ce qui se passe avec le streptocoque atténué, la variété pathogène se retrouve toujours facilement dans l'exsudat obtenu par ponction. Après quelques heures, il forme une véritable culture. Les leucocytes apparaissent dans l'exsudat en *aussi grand nombre et aussi rapidement* que chez le lapin inoculé avec la variété atténuée. De plus, ils conservent leur vitalité, alors même que les microbes sont devenus innombrables, comme on le constate facilement en examinant une préparation d'exsudat à 38° à la chambre de Zeiss. Quant aux microbes, nous n'en avons jamais trouvé à l'intérieur des leucocytes. Autant ce fait apparaît clairement après l'injection de la variété atténuée, autant il fait défaut quand on a inoculé la variété virulente. La figure 6 (planche I) montre une goutte d'exsudat prélevé chez le lapin injecté avec la variété virulente après le même temps que celui relatif à la figure 5.

L'expérience X résume en un tableau ce que nous venons de dire touchant le sort des streptocoques atténués et virulents dans le péritoine du lapin.

De toutes nos expériences sur le péritoine, nous pouvons conclure que les phénomènes qui se passent *in vitro* concordent parfaitement avec ceux observés dans le corps de l'animal. Aussi nous ne craignons pas de dire : *Un streptocoque atténué est un streptocoque facilement phagocyté, un streptocoque très virulent est un microbe délaissé par les leucocytes.* Enfin nous pouvons donner à notre pensée une tournure encore plus précise : *Un streptocoque est virulent parce qu'il n'est pas phagocyté.*

EXPÉRIENCE X.

	LAPIN I reçoit dans le péritoine 10 c.c. de strept. <i>atténués</i> .	LAPIN II reçoit dans le péritoine 5 c.c. de strep. <i>virulents</i> .
Ponctions faites 2 heures après l'injection.	Liquide à peine trouble; peu de globules blancs; <i>pas de microbes</i> ni à l'inté- rieur ni à l'extérieur des leucocytes.	Liquide légèrement trouble; peu de globules blancs; <i>petite culture</i> de coques, diplocoques tous en dehors des globules blancs.
Ponctions faites 4 heures après l'injection.	Beaucoup de globules blancs; pas de microbes.	Beaucoup de globules blancs bien vivants; microbes serrés les uns contre les autres.
4 heures 1/2 après réinjection.	10 cc. de bouillon de streptocoques <i>atténués</i> .	
Ponction 10 minutes après la réinjection.	Grande quantité de globules blancs; très rares mi- crobes libres; <i>belle phagocytose</i> (fig. 5) (planche I). Animal survit.	Grande quantité de globules blancs; culture excessivement serrée de coques, diplocoques; <i>pas de phagocytose</i> (fig. 6) (planche I). Lapin trouvé mort le lendemain.

Expériences chez le cobaye et chez le chien. — La proposition que nous venons de formuler ne s'applique qu'au lapin et il est intéressant de savoir si elle n'énonce qu'un fait particulier à cet animal, ou si elle doit s'appliquer à un grand nombre d'animaux et même à toute la série des mammifères.

Dans ce but, nous avons fait chez le cobaye et le chien les mêmes expériences que chez le lapin. Toutes nos recherches chez les animaux ont été faites avec le streptocoque D.

II. — RECHERCHES CHEZ LE COBAYE

A. — EXPÉRIENCES « IN VITRO »

§ 1. *Action du sérum de cobaye.* — Examinons d'abord comme pour le lapin si le sérum du cobaye exerce une action bactéricide sur nos variétés de streptocoques.

La manière de procéder est ici exactement la même que pour le lapin, et les résultats auxquels nous sommes arrivés sont également identiques. Nous nous contenterons de ne rapporter ici qu'une seule de nos expériences sur ce sujet.

EXP. XI. — Elle est faite avec quatre tubes contenant chacun 1 cm. cube de sérum de cobaye. Deux de ces tubes (tube I et III) sont additionnés respectivement d'une anse et de deux anses de bouillon de streptocoques D *atténués*. Les deux autres tubes (II et IV) sont additionnés des mêmes quantités de la variété *virulente* de ce streptocoque.

		DE SUITE APRÈS l'ensemencement	2 HEURES APRÈS	4 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS
SÉRUM DE COBAYE	+ Tube I streptocoques <i>atténués</i> .	1 872	9 652	71 840	594 048
	+ Tube II streptocoques <i>virulents</i> .	2,764	7 180	87 800	776 000
	+ Tube III streptocoques <i>atténués</i> .	5 956	90 856	187 840	1 235 180
	+ Tube IV streptocoques <i>virulents</i> .	10 346	128 400	219 200	1 194 240

Cette expérience établit nettement que le *sérum de cobaye* ne jouit pas d'un pouvoir bactéricide vis-à-vis du streptocoque atténué, pas plus que vis-à-vis du streptocoque virulent. Les deux variétés s'y développent aussi rapidement l'une que l'autre.

§ II. *Rôle des globules blancs de cobaye.* — Voyons maintenant si la phagocytose intervient chez le cobaye, comme chez le lapin, pour défendre cet animal contre le streptocoque.

Les recherches ont été faites avec un exsudat produit dans la plèvre du cobaye par une injection de staphylocoques tués. L'exsudat ainsi obtenu, riche en globules blancs n'offrant plus de traces des coques injectés, est divisé en plusieurs portions qui sont additionnées de streptocoques atténués et virulents. Les données sont absolument les mêmes que pour l'exsudat du lapin : phagocytose énergique pour

l'un, pas de phagocytose pour l'autre. L'expérience suivante le prouve clairement.

EXPÉRIENCE XII.

EXSUDAT COMPLET DE COBAYE		
	TUBE I + 1/3 de bouillon de strept. D <i>atténués.</i>	TUBE II + 1/3 de bouillon de strept. D <i>virulents.</i>
1 heure après ensemencement.	Quantité notable de microbes libres ; <i>bonne phagocytose.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>
2 heures après.	Très peu de microbes libres ; <i>belle phagocytose.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>

B. — EXPÉRIENCES « IN CORPORE »

Si nous passons maintenant à l'animal lui-même, l'identité de réaction entre le lapin et le cobaye se maintient.

EXPÉRIENCE XIII.

	COBAYE DE 375 GR. reçoit dans le péritoine 10 c.c. de strept. D <i>atténués.</i>	COBAYE DE 450 GR. reçoit dans le péritoine 10 c.c. de strept. D <i>virulents.</i>
1 ^{re} ponction, 3 h. 1/2 après injection.	Tout le tube se remplit d'un liquide trouble ; <i>beau- coup de globules blancs, peu de microbes libres ; phagocytose très belle ;</i> un grand nombre de globules sont bourrés de coques, jusqu'à 20, 30 par globules (fig. 7) (planche II).	Liquide trouble ; <i>beaucoup de globules blancs</i> tous vivants avec beaux mou- vements ; <i>culture serrée de coques et diplocoques ; pas de phagocytose</i> (fig. 8) (planche II).
2 ^e ponction, lendemain.	Liquide à peine trouble ; <i>plus de microbes libres ; rares globules avec phagocytose.</i> <i>L'animal survit sans avoir présenté de fièvre, n'a eu seulement qu'une légère diminution de poids qui n'a duré que quelques jours.</i>	Trouvé + le lendemain 2 c.c. environ d'exsudat très trouble renfermant un nombre considérable de microbes.

L'injection dans le péritoine de la variété non virulente détermine une phagocytose énergique, tandis que ce phénomène fait défaut pour la variété virulente. Nous pouvons résumer les résultats obtenus en citant l'expérience ci-dessus.

Nous pouvons conclure que le cobaye se comporte comme le lapin : ses leucocytes absorbent très énergiquement les streptocoques atténués et délaissent les virulents.

III. — EXPÉRIENCES CHEZ LE CHIEN

A. — EXPÉRIENCES « IN VITRO »

§ 1. — *Action du sérum de chien.* — Le sérum de chien a-t-il une action bactéricide sur nos variétés de streptocoques? Les expériences faites par M. Denys et Havet¹ nous permettent déjà de répondre non. En effet ces auteurs ont constaté que le sérum de chien *par lui-même* n'a aucune action microbicide. Quoi qu'il en soit, nous avons tenu à refaire l'expérience avec nos streptocoques et nous sommes arrivés aux mêmes résultats. Voici une expérience de ce genre :

Exp. XIV. — Elle est faite avec deux tubes contenant du sérum de chien préparé de la même manière que celui de lapin : l'un est ense-

	DE SUITE APRÈS ensemencement	2 HEURES APRÈS	4 HEURES APRÈS	6 HEURES APRÈS
Tube I + streptocoques <i>atténués.</i>	7 280	15 312 Deux amas de chainettes par champ.	74 420 Plusieurs grands amas par champ.	Culture. Nombreux grands amas par champ.
Tube II + streptocoques <i>virulents.</i>	13 440	172 800 Quantité notable de coques et diplocoques par champ.	1 280 370 Culture.	Culture.

1. J. DENYS et HAVET, Sur la part des leucocytes sur le pouvoir bactéricide du chien (*la Cellule*, 1893, tome X).

mencé avec la variété *atténuée* et l'autre avec la variété *virulente*. Nous devons noter, comme nous l'avons déjà fait plus haut à propos du lapin :

1° Que le nombre d'organismes ensemencés est égal dans les deux tubes, mais à cause des chaînettes d'un côté (tube I) et des coques et diplocoques de l'autre (tube II), le chiffre est plus élevé dans le second tube.

2° L'examen des chiffres seuls induirait en erreur si l'on ne tenait pas compte de la formation de grands amas de chaînettes dans le tube I.

§ 2. — *Rôle des leucocytes de chien.* — Nous nous servions pour le chien, comme pour le lapin et le cobaye, de globules blancs provenant d'un exsudat pleural obtenu par l'injection de staphylocoques tués.

Des nombreuses expériences que nous avons faites pour étudier la phagocytose chez le chien nous nous contenterons d'en citer deux. La première faite avec le sérum additionné de globules, la seconde avec l'exsudat complet.

EXP. XV. — Elle est faite avec deux tubes contenant chacun 2 cm. cubes de sérum de chien additionné de globules. Le premier tube est ensemencé avec 1/2 cm. cube de la variété atténuée, le second tube avec la même quantité de la variété virulente du streptocoque D.

	SÉRUM DE CHIEN + GLOBULES	
	TUBE I + strept. <i>atténués</i> .	TUBE II + strept. <i>virulents</i> .
2 heures après ensemencement.	Quantité notable de chaînettes libres ; 20 p. 100 des globules avec phagocytose.	Beaucoup de microbes libres, presque petite culture ; pas vu de phagocytose.
5 heures après..	Rares microbes libres. 25 p. 100 des globules avec phagocytose.	Culture, coques, diplocoques et courtes chaînettes ; pas vu de phagocytose.

EXP. XVI. — Même expérience que la précédente, mais avec l'exsudat complet. L'ensemencement est également le même.

EXSUDAT COMPLET DE CHIEN		
	TUBE I + strept. <i>atténués</i> .	TUBE II + strept. <i>virulents</i> .
2 heures après ensemencement.	Vu un seul petit amas de chainettes. 15 p. 100 des globules avec <i>phagocytose</i> .	Beaucoup de microbes libres ; <i>pas vu de phagocytose</i> .
5 heures après.	Plus de microbes libres ; <i>tous les microbes à l'intérieur des leucocytes</i> .	Culture serrée ; <i>pas de phagocytose</i> .

Ces expériences montrent donc de nouveau que la variété atténuée est phagocytée activement par les leucocytes de chien, tandis que la variété virulente ne l'est pas.

B. — EXPÉRIENCES « IN CORPORE »

Voyons maintenant si ces expériences se confirment sur le vivant :

EXP. XVII.— Nous injectons deux chiens, dont l'un, pesant 3 kg. 300, reçoit 20 cm. cubes de bouillon de streptocoques *atténués*.

Et le second, pesant 3 kg. 200, reçoit 12 cm. cubes de bouillon de streptocoques *virulents*.

Une ponction est faite 4 h. 1/4 après l'injection et donne les résultats suivants :

CHIEN INJECTÉ AVEC LE *strept. atténué*.

Liquide blanchâtre contenant
*beaucoup de globules blancs ;
pas vu de microbes libres ;
phagocytose bien évidente.*
(fig. 9, planche II).

L'animal survit sans avoir jamais
présenté aucun symptôme.

CHIEN INJECTÉ AVEC LE *strept. virulent*.

Liquide tout aussi trouble, beaucoup
de globules blancs bien vivants ;
*culture de microbes libres ;
quelques globules renferment
5 à 6 microbes chacun (fig. 10,
planche II).*

Il a déjà de la fièvre (39°) 3 heures
après l'injection et meurt 10 heures
après.

Autopsie : Le péritoine contient 3 c.c.
d'un liquide purulent contenant une
culture serrée de streptocoques. Il
n'y a pas de microbes dans le sang.

En résumé cette double expérience nous montre de nouveau la raison intime pour laquelle la variété virulente parvient à tuer le chien, tandis que la variété atténuée le laisse en vie. La première est phagocytée d'une façon tellement faible que le phénomène reste sans influence sur la marche ultérieure de l'infection. Les microbes laissés en liberté l'emportent tellement qu'ils provoquent la mort de l'animal par une vraie infection. Au contraire la variété peu virulente est si bien prise par les leucocytes que l'infection se trouve supprimée.

En résumé, de tout ce qui précède, nous trouvons qu'*un streptocoque devient très dangereux pour le lapin, le cobaye et le chien quand et parce qu'il n'est pas pris par les globules blancs*. Il est infiniment probable que d'autres mammifères se comporteraient de même et que notre proposition devient une loi applicable à la plupart d'entre eux sinon à tous.

DEUXIÈME PARTIE

Pourquoi le streptocoque est-il tantôt accaparé et tantôt délaissé par les leucocytes ?

Le singulier phénomène présenté par les microbes dérivant d'une même souche et qui tantôt sont accaparés avidement par les leucocytes et dans d'autres cas délaissés avec une indifférence presque complète, amène naturellement la question suivante : pourquoi ces microbes sont-ils tantôt accaparés, tantôt laissés en liberté ? On est conduit immédiatement à invoquer *la chimiotaxie positive ou négative* : suivant que le streptocoque attirerait ou repousserait les leucocytes, il serait dévoré ou laissé en liberté par celui-ci.

D'après nous ce phénomène ne peut nous rendre raison de la différence qui existe entre nos deux variétés d'organismes atténués et virulents. En effet, pour nous occuper en premier lieu de la chimiotaxie positive, en quoi consiste ce phénomène ? Il réside dans une attraction que les microbes exerceraient sur les leucocytes.

Sous l'influence de cette attraction les leucocytes sont

amenés sur le terrain occupé par les microbes. Si cette action joue quelque rôle dans la façon dont se comportent nos deux variétés de streptocoques, elle doit se manifester par une diapédèse plus énergique des leucocytes sous l'influence des microbes atténués. Or cette supposition est en contradiction flagrante avec les phénomènes observés. Déjà MM. Denys et Leclef¹ ont montré que l'arrivée des leucocytes et l'englobement des microbes sont deux phénomènes tout à fait différents.

Ces auteurs ont constaté que si l'on inocule un streptocoque *virulent* dans l'oreille d'un lapin normal, il se produit une diapédèse aussi rapide et aussi considérable que chez des lapins vaccinés. Chez ces deux sortes d'animaux on rencontre au bout du même temps (quelques heures) une infiltration serrée de leucocytes dans la région inoculée; mais tandis que chez les animaux vaccinés ce phénomène se complète par l'absorption des microbes, chez les lapins non vaccinés, cette absorption fait défaut ou se constate d'une manière très faible dans les premiers moments qui suivent l'inoculation. Dans nos expériences sur les animaux nous avons constaté un phénomène absolument analogue. Soit que l'on injecte des streptocoques atténués, soit que l'on injecte des streptocoques virulents, *la diapédèse s'opère avec la même rapidité*, l'exsudat est également abondant, il est également trouble et au microscope il montre le *même nombre de leucocytes doués d'un haut degré de vitalité*.

Il est vrai que d'un lapin inoculé avec les streptocoques atténués, on retire parfois un liquide plus riche en leucocytes que du lapin correspondant inoculé avec les microbes virulents, mais on observe aussi le contraire, et à prendre les expériences dans leur ensemble, on doit avouer que la diapédèse s'opère avec la même rapidité des deux côtés. M. Van de Velde² a signalé la même chose dans l'injection des staphylocoques non virulents et virulents chez le lapin.

L'injection de ces deux organismes amène dans la plèvre

1. DENYS et LECLEF, *loc. cit.*, p. 210 et suiv.

2. H. VAN DE VELDE, Étude sur le mécanisme de la virulence du staphylocoque pyogène (*la Cellule*, tome X, 2^e fascicule, 1894, p. 412).

le même nombre de leucocytes et cela indépendamment du nombre des staphylocoques injectés.

Tout ceci démontre clairement que le streptocoque virulent ne doit pas son pouvoir pathogène à son absence de propriétés chimiotaxiques positives sur les globules blancs ; au contraire il les attire avec la même force que le streptocoque atténué. Bien plus, non seulement l'injection de la variété virulente est suivie d'une diapédèse énergique, mais ces microbes ne diminuent en rien la vitalité des leucocytes.

Il suffit de comparer à ce point de vue une goutte d'exsudat provoquée par la variété atténuée avec une goutte d'exsudat obtenue par la variété pathogène. Si l'on examine les deux liquides sur le même porte-objet dans la chambre chauffée de Zeiss, les globules blancs se déforment aussi rapidement dans l'une des préparations que dans l'autre.

Dans l'exsudat obtenu avec le virulent on voit notamment les globules blancs, entourés d'organismes, modifier incessamment leur forme. Dans ces déplacements continuels ils heurtent ou sont heurtés par les streptocoques, en d'autres termes ils entrent avec eux en contact intime ; néanmoins la phagocytose ne se manifeste pas et le micro-organisme conserve sa liberté. *Pour que l'englobement ait lieu il faut donc des conditions nouvelles autres que celles qui régissent la diapédèse des leucocytes.*

Quelles sont ces conditions ?

Dans le but de pénétrer dans l'essence du phénomène nous nous sommes d'abord demandé si ces conditions n'étaient pas liées à la vitalité des microbes. Dans ce but nous avons fait les deux expériences suivantes :

Exp. XVIII. — Elle est faite avec quatre tubes contenant de l'exsudat complet de cobaye : les deux premiers servent de témoins et sontensemencés : le premier tube avec la variété *atténuée*, le second avec la variété virulente du streptocoque vivant. Les tubes III et IV sontensemencés avec les mêmes bouillons atténué et virulent, mais tués par le chauffage pendant 1 heure à 60°.

Il est superflu d'ajouter que, pour nous entourer de toutes les précautions possibles, des cultures sur agar ont été faites avec ces deux derniers bouillons et n'ont donné lieu à aucun développement.

EXSUDAT COMPLET DE COBAYE			
Témoins.		TUBE III	TUBE IV
TUBE I	TUBE II	+ strept. atténués	+ strept. virulents
+ strept. atténués		+ strept. virulents	
Vivants.		Tués à 60°.	
1/2 heure après l'ensemencement.			
		Peu de microbes libres bien colorés ; <i>très bonne phagocytose.</i>	
1 heure après.			
Encore beaucoup de microbes libres ; <i>bonne phagocytose.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>	Très peu de chaînettes libres ; <i>phagocytose bien marquée.</i>	Beaucoup de microbes libres ; <i>pas de phagocytose.</i>
2 heures après.			
Très peu de chaînettes libres ; <i>belle phagocytose.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>	Très rares microbes libres bien colorés ; <i>bonne phagocytose, microbes à l'intérieur des globules sont très pâles.</i>	Nombre de microbes libres n'a pas diminué, ils sont bien colorés ; <i>pas de phagocytose.</i>
5 heures après.			
Plus de microbes libres ; <i>belle phagocytose (beaucoup de globules en amas).</i>	Culture serrée ; <i>pas de phagocytose.</i>	<i>Pas de microbes libres ; encore quelques globules renferment coques très pâles.</i>	Beaucoup de microbes libres ; <i>pas de diminution ; pas de phagocytose.</i>

Exp. XIX. — Cette expérience est la même que l'expérience précédente, seulement, au lieu de tuer les streptocoques par le chauffage à 60°, nous les avons soumis à une température de 120° pendant 10 minutes. Les résultats sont identiques.

EXSUDAT COMPLET DE COBAYE			
Témoins.		TUBE III	TUBE IV
TUBE I	TUBE II	+ strept. atténués	+ strept. virulents
+ strept. atténués			
+ strept. virulents			
Vivants.		Tués à 120°.	
1 heure après l'ensemencement.			
Encore beaucoup de microbes libres ; <i>bonne phagocytose.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>	Rares microbes libres ; <i>bonne phagocytose.</i> (un certain nombre de globules en renferment beaucoup).	Quantité notable de microbes libres ; <i>pas de phagocytose.</i>
2 heures après.			
Très peu de microbes libres ; <i>phagocytose.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>	Très rares microbes libres bien colorés. <i>bonne phagocytose</i> (microbes à l'intérieur des globules sont pâles).	Quantité notable de microbes libres ; <i>pas de phagocytose.</i>
3 heures après.			
Rares microbes libres ; <i>belle phagocytose.</i>	Culture serrée ; <i>pas de phagocytose.</i>	Pas de microbes libres ; il n'y a plus beaucoup de globules renfermant encore des microbes.	Microbes libres toujours aussi nombreux. <i>pas de phagocytose.</i>

CONCLUSION : *La différence se maintient aussi nettement avec les microbes morts qu'avec les microbes vivants.*

Après avoir constaté les résultats négatifs fournis par l'action de la chaleur pour l'interprétation du phénomène nous nous sommes demandé si la façon différente dont se comportent les microbes n'était pas due à quelque produit spécial sécrété par l'un ou l'autre et dont la *présence* ou l'*absence* serait une condition nécessaire pour *provoquer* ou *empêcher* la phagocytose. *A priori* on peut interpréter le phénomène de deux façons :

1° Dans la première hypothèse le streptocoque atténué

sécréterait un produit dont l'intervention détermine la phagocytose.

Ce produit ne serait pas sécrété par la variété virulente et par conséquent l'englobement ferait défaut,

2° Dans la seconde hypothèse le streptocoque atténué serait phagocyté sans l'intervention d'aucun autre facteur par l'entrée en jeu des propriétés naturelles des leucocytes, mais cette fonction normale serait annihilée par quelque produit qui serait sécrété par la variété pathogène.

Nous avons fait trois séries d'expériences pour élucider la question.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Dans cette première série d'expériences nous opérions comme suit : nous filtrions sur la porcelaine un bouillon de streptocoques atténués, et en faisant ensuite passer sur le filtre de l'eau physiologique stérilisée, nous débarrassions les microbes de toute trace de bouillon. Nous faisons de même avec les streptocoques virulents. Nous additionnions ensuite ces deux variétés émulsionnées chacune dans un peu d'eau salée à de l'exsudat pour les soumettre à l'action des globules blancs.

Comme on le voit par l'expérience suivante, les deux variétés de streptocoques *malgré la disparition de leurs produits de sécrétion* ont conservé leurs propriétés vis-à-vis des leucocytes.

EXPÉRIENCE XX. — Les tubes I et II servent de *témoins* et sont ensemencés respectivement avec une certaine quantité de bouillon de streptocoques atténués et de streptocoques virulents. Le tube III est ensemencé avec le streptocoque atténué lavé à l'eau salée. Le tube IV avec le streptocoque virulent également lavé à l'eau salée.

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN			
TUBE I + strept. <i>atténués</i> dans leur bouillon.	TUBE II + strept. <i>virulents</i>	TUBE III + strept. <i>atténués</i> lavés à l'eau salée.	TUBE IV + strept. <i>virulents</i> lavés à l'eau salée.
De suite après l'ensemencement.			
Quantité notable de chaînettes par champ.	Quantité notable de coques et diplocoques par champ, moins que dans tube I.	Beaucoup de coques, diplocoques et courtes chaînettes par champ 1.	Quantité notable de coques et diplocoques.
1 heure après.			
Rares microbes libres; <i>phagocytose.</i>	Beaucoup microbes libres; <i>pas de phagocytose.</i>	Peu de microbes libres; <i>très belle phagocytose.</i> Beaucoup de globules renferment 20-30 organismes.	Beaucoup de microbes libres; <i>pas de phagocytose.</i>
2 heures après.			
Rares microbes libres; <i>phagocytose.</i>	Culture coques, diplocoques et courtes chaînettes; <i>pas de phagocytose.</i>	Peu de microbes libres; <i>belle phagocytose.</i>	Culture de microbes libres; <i>pas de phagocytose.</i>
1. Après avoir été filtrées et émulsionnées dans l'eau salée, les chaînettes du streptocoque atténué se dissocient en coques, diplocoques et courtes chaînettes.			

EXP. XXI. — Elle est la même que la précédente, seulement les microbes, au lieu d'être vivants, ont été tués par un chauffage de 20 minutes à 100°. De cette façon ils sont non seulement débarrassés de leurs produits de sécrétion, mais de plus, cette stérilisation empêche les microbes de modifier ultérieurement le milieu dans lequel ils se trouvent et de sécréter à nouveau les produits dont on les a débarrassés par le filtrage et le lavage à l'eau physiologique.

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN			
Témoins.		TUBE III	TUBE IV
TUBE I + strept. <i>atténués</i> . vivants dans leur bouillon.	TUBE II + strept. <i>virulents</i> .	+ strept. <i>atténués</i>	+ strept. <i>virulents</i>
tués et lavés à l'eau salée.			
De suite après l'ensemencement.			
Beaucoup de chaînettes libres.	Quantité notable de coques et diplocoques par champ.	Beaucoup de coques et diplocoques en petits amas.	Beaucoup de coques et diplocoques en petits amas.
3/4 d'heure après.			
Quantité notable de chaînettes libres, 1/3 des globules avec <i>phagocytose</i> .	<i>Petite culture</i> , microbes libres; pas de <i>phagocytose</i> .	Quantité notable de microbes libres; belle <i>phagocytose</i> .	Beaucoup de microbes; pas de <i>phagocytose</i> .
1 heure 1/2 après.			
Rares microbes libres; <i>phagocytose</i> pour presque tous les globules.	<i>Culture serrée</i> ; pas vu de <i>phagocytose</i> .	Très rares microbes libres; <i>phagocytose</i> au moins aussi belle que dans le tube I.	Nombre des microbes libres n'a pas diminué; pas vu de <i>phagocytose</i> .
3 heures après.			
Pas vu de microbes libres; nombre de globules avec <i>phagocytose</i> commence à diminuer.	<i>Culture serrée</i> , coques et diplocoques; pas vu de <i>phagocytose</i> .	Plus de microbes libres; microbes très pâles à l'intérieur des leucocytes.	Nombre des microbes libres toujours le même; pas de <i>phagocytose</i> .

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Dans cette deuxième série nous mélangeons à parties égales un bouillon de streptocoques atténués avec un bouillon de streptocoques virulents et nous ajoutons des quantités déter-

minées de ce mélange à un liquide organique, sérum ou sérosité, tenant en suspension des globules blancs. On prépare également un tube avec le streptocoque atténué SEUL et avec le virulent SEUL. Les proportions sont choisies de telle façon que le tube renfermant le mélange ne reçoive que la moitié de la quantité ajoutée aux autres tubes. De cette façon le nombre de microbes est le même dans les tubes. Ces tubes sont placés au bain-marie, et, par des préparations faites de temps en temps, on constate :

dans le tube I (streptocoque atténué seul).	{	<i>phagocytose active</i> et microbes libres disparaissent.
dans le tube II (streptocoque virulent seul).	{	<i>pas de phagocytose</i> et pullulation microbienne.
dans le tube III (mélange des streptocoques atténués et des streptocoques virulents).	{	<i>état intermédiaire</i> d'un côté, phagocytose marquée mais <i>incomplète</i> relativement au tube I en ce sens que beaucoup de microbes sont restés en liberté.

On ne peut pas douter que, dans ce dernier tube, les phagocytés soient les atténués et les libres les virulents.

EXP. XXII. — Elle est faite avec quatre tubes contenant de l'exsudat de lapin. Les trois premiers tubes sontensemencés comme il vient d'être dit (exp. XXI). Nous avons ajouté à ces trois portions d'exsudat un quatrième tube additionné d'un mélange de streptocoques virulents et de bacille du foin qui est, comme on le sait, facilement pris par les globules blancs. La forme différente de ces deux organismes mélangés permet de distinguer aisément lequel est englobé et lequel est délaissé par les leucocytes. (Voir tableau page suivante.)

Ces expériences ne nous semblent pas conciliables avec l'hypothèse de plus haut, de l'existence soit d'une substance qui excite à la phagocytose, soit qui la suspende. En effet cette substance devrait agir sur tous les leucocytes et l'on ne voit pas bien comment on pourrait arriver à une phagocytose spéciale. De plus, cette expérience nous semble intéressante à un autre point de vue, parce qu'elle nous montre *le globule blanc opérant son choix entre la variété virulente et la variété atténuée*. Ce pouvoir qu'ont les leucocytes de

choisir dans un mélange certains microbes et de délaisser les autres a été d'abord signalé par M. Havet¹ qui dans une expérience faite avec des globules blancs de chien, y avait

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN			
TUBE I + bouillon de strept. <i>atténués.</i>	TUBE II + bouillon de strept. <i>virulents.</i>	TUBE III + bouillons mélan- gés de strept. <i>atténués</i> et de strept. <i>virulents.</i>	TUBE IV + bouillons mélan- gés de <i>bacilles du foin</i> et de strept. <i>virulents.</i>
De suite après l'ensemencement.			
1 heure après.			
Rares microbes libres; <i>belle</i> <i>phagocytose.</i>	Beaucoup de microbes libres; <i>pas de</i> <i>phagocytose</i> évidente.	Beaucoup de coques et diplocoques libres; <i>bonne</i> <i>phagocytose,</i> beaucoup de leu- cocytes renferment un grand nombre de microbes.	Beaucoup de coques libres, <i>plus de</i> <i>bacilles libres;</i> à <i>l'intér. des leuco-</i> <i>cyles gros bacilles</i> <i>avec teinte vert</i> <i>pâle, 1 à 4 bacilles</i> par leucocytes (fig. 43, pl. II).
4 heures après.			
Pas de microbes libres; <i>belle</i> <i>phagocytose.</i>	<i>Culture</i> coques, diplocoques et courtes chaînettes; <i>pas de</i> <i>phagocytose.</i>	<i>Beaucoup</i> d'organismes libr.; moins de globules avec phagocytose mais ceux-ci renferment un grand nombre d'organismes.	<i>Culture</i> coques et diplocoques; <i>bacilles</i> <i>ont disparu.</i>

ajouté un mélange de coli-bacille et de microcoques, d'après les conditions dans lesquelles ils se trouvaient, les leucocytes englobaient les coques ou les bacilles ou même les deux organismes. Plus tard Bordet¹ a fait la même

1. HAVET, Du rapport entre le pouvoir bactéricide du sang de chien et sa richesse en leucocytes (*la Cellule*, tome X, 1^{er} fascicule, 1894, p. 245).

1. J. BORDET, Contribution à l'étude du sérum chez les animaux vaccinés (extrait des *Annales de la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, tome IV, 1895, p. 9).

observation en opérant avec un exsudat de cobaye très riche en streptocoques virulents et qu'il additionnait d'une certaine quantité de culture de *proteus vulgaris*. Les globules blancs refusaient les streptocoques virulents mais s'emparaient avidement des bâtonnets.

TROISIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES

Passons maintenant à notre troisième série d'expériences, qui consiste à mettre notre streptocoque atténué dans les sécrétions du virulent et réciproquement.

Nous avons filtré sur porcelaine un bouillon de streptocoques atténués; après avoir recueilli le filtrat, nous avons versé sur la bougie de l'eau physiologique stérilisée à l'effet de laver le streptocoque et de le débarrasser complètement du bouillon. Nous avons fait de même avec le bouillon du streptocoque virulent. Nous avons mis ensuite la variété non virulente dans le filtrat de la variété virulente et *vice versa* les microbes de la variété virulente dans le bouillon filtré de la variété atténuée. De cette façon les produits de sécrétion d'une variété se trouvaient avec l'autre. A ces cultures, nous avons ajouté de l'exsudat suivant les mêmes principes donnés plus haut et nous avons observé comment la phagocytose allait se passer. Comme les expériences suivantes le démontrent, cette substitution n'a absolument rien changé au phénomène.

Exp. XXIII. — Les tubes I et IV servent de témoins.

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN			
<i>Témoins.</i>		TUBE III	TUBE IV
TUBE I + strept. atténués.	TUBE II + strept. virulents.	+ strept. atténués dans filtrat du virulent.	+ strept. virulents dans filtrat de l'atténué.
1/4 d'heure après l'ensemencement.			
Quantité notable de chainettes par champ.	Quantité notable de coques et diplocoques par champ.	Quantité notable de coques et diplocoques; <i>phagocytose</i> commence; vu deux cellules avec microbes.	Beaucoup de coques, diplocoques et courtes chainettes par champ.

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN			
Témoins.		TUBE III	TUBE IV
TUBE I	TUBE II	+ strept. atténués dans filtrat du virulent.	+ strept. virulents dans filtrat de l'atténué.
+ strept. atténués.			
+ strept. virulents.			
3/4 d'heure après.			
Nombre de microbes libres a diminué ; <i>phagocytose commence</i> ; quelques cellules avec phagocytose.	Petite culture ; <i>pas de phagocytose.</i>	Beaucoup de microbes libres en petits amas ; <i>phagocytose aussi forte que dans le tube I.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>
1 heure 1/2 après.			
Rares microbes libres ; <i>belle phagocytose.</i>	Culture ; <i>pas de phagocytose.</i>	Quantité notable de microbes libres ; <i>très belle phagocytose.</i>	

EXPÉRIENCE XXIV.

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN			
Témoins.		TUBE III	TUBE IV
TUBE I	TUBE II	+ strept. atténués dans filtrat du virulent.	+ strept. virulents dans filtrat de l'atténué.
+ strept. atténués.			
+ strept. virulents.			
De suite après l'ensemencement.			
Plusieurs chaînettes par champ.	Beaucoup de coques et diplocoques par champ.	Beaucoup de coques et diplocoques par champ.	Beaucoup de coques et diplocoques par champ.
1 heure après.			
Rares microbes libres ; <i>belle phagocytose</i> , c.-à-d. nombreux leucocytes renfermant beaucoup de microbes.	Petite culture ; <i>pas de phagocytose.</i>	Pas de microbes libres ; <i>phagocytose</i> comme dans tube I.	Petite culture ; <i>pas de phagocytose.</i>

De toutes ces expériences nous pouvons conclure que le

microbe atténué, associé avec le bouillon du virulent, est phagocyté avec la même facilité et la même intensité que s'il était dans son propre bouillon, et que l'addition du bouillon filtré de la variété atténuée à la variété virulente, ne favorise en aucune façon sa phagocytose.

A la rigueur notre façon d'opérer est passible d'une objection : entre le moment où les microbes sont transportés d'un bouillon dans un autre et celui où nous faisons nos premières préparations pour constater la phagocytose il s'écoule un certain temps et l'on peut admettre que ce temps est suffisant pour permettre aux microbes de modifier leurs milieux de culture, de sécréter des substances spéciales et par conséquent d'annihiler les résultats désirés par la supposition.

A priori nous pourrions par plusieurs raisons démontrer combien cette supposition a peu de fondement et notamment, nous pourrions insister sur le temps très court entre le moment du mélange et l'apparition du phénomène. Comme le montrent les expériences, la phagocytose est déjà évidente après un quart d'heure. Mais nous avons préféré montrer directement que cette supposition ne peut être admise en introduisant dans notre expérience une légère modification. Cette modification consiste à tuer les microbes avant de changer de bouillon : naturellement, toute sécrétion de poison de leur part est ainsi supprimée.

Voici une expérience de ce genre.

EXP. XXV. — Les tubes I et IIensemencés avec des microbes vivants servent de témoins. (Voir le tableau page suivante.)

On obtient les mêmes résultats avec des globules de cobaye ou de chien. Nous croyons inutile d'exposer ici en détail les mêmes expériences faites avec l'exsudat de ces deux autres animaux.

A notre avis, toutes ces expériences montrent clairement que la raison déterminante de l'entrée en jeu de la phagocytose ne dépend pas de l'un ou l'autre produit sécrété par le streptocoque. L'hypothèse qui nous semble la plus rationnelle consiste à admettre que *l'englobement ou le délaissement*

EXSUDAT COMPLET DE LAPIN			
Témoins.		TUBE III	TUBE IV
TUBE I + strept. atténués.	TUBE II + strept. virulents.	+ strept. atténués tués dans filtrat du virulent.	+ strept. virulents tués dans filtrat de l'atténué.
1/4 d'heure après.			
		Déjà forte phagocytose ; il y a des globules qui renferment bien 100 organismes.	Beaucoup de microbes libres :
1 heure après.			
Quelques microbes libres ; belle phagocytose.	Petite culture ; pas de phagocytose.	Pas de microbes libres ; belle phagocytose.	Beaucoup de microbes libres ; pas de phagocytose.

du microbe consiste dans quelque propriété physique de celui-ci, propriété que le leucocyte perçoit grâce à une sensibilité tactile spéciale.

Il n'est pas si facile d'enlever au microbe la propriété qui le rend phagocytable. Nous avons fait quelques expériences à l'effet de rechercher si l'on ne pouvait pas modifier le streptocoque atténué de façon à le rendre indifférent pour les leucocytes et le streptocoque virulent de façon à le faire englober.

Nous avons fait agir sur ces microbes :

de l'acide chlorhydrique à 1,8 p. 1 000	} pendant 4 à 12 heures.
du carbonate de soude à 2,5 p. 1 000	
de l'alcool à 90°.	
des matières colorantes (bleu de méthylène en solution dans l'acide phénique)	

Au sortir du bain nous avons soin de laver les microbes sur un filtre Chamberland pour enlever toute trace de matière nuisible.

Les microbes ainsi lavés ont été soumis à l'action des globules blancs, et partout le résultat a été le même : malgré les divers traitements auxquels ils avaient été soumis, ils avaient conservé les mêmes propriétés que lorsqu'ils étaient

traités par la chaleur, preuve évidente que cette qualité qui rend un microbe phagocytable ou non est bien plus inhérente à lui qu'on pourrait le croire *a priori*.

CONCLUSIONS

Les conclusions qui se dégagent de notre travail nous semblent assez claires pour nous dispenser d'y revenir en détail.

Le problème que nous nous sommes posé est le suivant :

Si nous inoculons à un animal un streptocoque atténué, *pourquoi cette inoculation reste-t-elle sans effet? Et pourquoi l'inoculation d'une dose beaucoup plus faible d'un organisme virulent devient-elle le point de départ d'une infection mortelle due à une pullulation microbienne considérable?*

Pour répondre à cette question nous nous sommes adressé au streptocoque pyogène, et pour la mener à bonne fin, nous avons cru absolument nécessaire de comparer entre elles non pas des variétés atténuées prises dans telles maladies et des variétés virulentes recueillies dans d'autres maladies, mais des *variétés atténuées et virulentes dérivant d'un seul et même individu*.

C'était la même façon d'échapper à l'objection qu'on aurait pu nous faire avec raison, à savoir que les différences observées par nous n'étaient pas dues au degré variable de virulence, mais à des propriétés individuelles, variables suivant les espèces de streptocoques. En conséquence nous avons isolé dans quatre maladies différentes chez l'homme un streptocoque pyogène peu virulent et, partant *d'une seule colonie* pour chacun d'eux, nous lui avons donné une haute virulence en le faisant passer par le corps des lapins. *A chaque variété non virulente correspondait donc une forme virulente descendant de la première.*

1° Nous nous sommes demandé d'abord si la différence d'action dépendait d'une *sensibilité inégale vis-à-vis du pouvoir bactéricide du sérum*. Dans ce but nous avonsensemencé des deux variétés dans du sérum de lapin, de chien, de cobaye. Nous avons constaté que la variété atténuée et virulente n'était aucunement détruite par ce liquide, *mais toutes*

les deux y pullulaient sans retard ni difficultés. En présence de ces résultats nous avons dû abandonner l'idée que la raison pour laquelle nos variétés atténuées étaient si peu dangereuses pour l'organisme, consistait dans une sensibilité particulière de leur part vis-à-vis des substances bactéricides contenues dans le sérum.

Faisons remarquer à ce point de vue que le streptocoque atténué se comporte autrement que le staphylocoque.

Les variétés atténuées de cet organisme subissent une action évidente de la part du sérum¹.

Nous avons ensuite examiné la façon dont se comportait vis-à-vis de nos streptocoques un autre moyen de défense de l'organisme, les leucocytes. Nous avons trouvé que tous les deux exerçaient sur les leucocytes une action attractive considérable.

A ce point de vue ils se comportent d'une façon identique, mais là s'arrête la ressemblance ; *tandis que les variétés atténuées sont phagocytées avec une très grande énergie, les variétés virulentes échappent à cette action ou tout au plus sont l'objet d'une phagocytose extrêmement faible ou même négligeable.* Cette différence se manifeste aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* avec les microbes morts ou vivants ; il ne paraît guère possible de l'expliquer par la présence d'un produit spécial soit sécrété par la variété atténuée qui pousserait à la phagocytose, soit sécrété par la variété virulente qui l'empêcherait.

Les expériences que nous avons faites à ce sujet ne permettent pas d'adopter cette manière de voir :

En effet :

1° *Les streptocoques conservent leurs propriétés vis-à-vis des globules blancs après avoir été lavés et débarrassés de tous leurs produits de sécrétion.*

2° *La phagocytose continue dans les mélanges de la forme atténuée et de la forme virulente.*

3° *Elle conserve ses caractères si l'on transporte la variété atténuée dans les sécrétions du virulent et réciproquement.* Ces raisons nous font admettre que *la phagocytose dépend de quelque propriété physique du microbe et se trouve par*

¹: VAN DE VELDE, *loc. cit.*, p. 418.

conséquent sous la dépendance des fonctions tactiles des leucocytes. Cette propriété fait partie du corps même du microbe. Des traitements énergiques avec des solutions d'acide chlorhydrique à 1,8 p. 1000, de carbonate de soude à 2,5 p. 1000, avec alcool à 90°, avec des matières colorantes, comme, par exemple, du bleu de méthylène en solution saturée dans l'acide phénique à 5 p. 100, ne les modifient pas.

Un streptocoque virulent est donc un streptocoque qui n'est pas phagocyté, et, à la question : quand tel streptocoque est-il devenu virulent ? nous pouvons répondre : quand il n'est plus pris par les globules blancs. Quant à la raison intime nous devons admettre *que c'est une raison de qualité physique*.

Avant de finir il n'est peut-être pas sans intérêt de rapprocher les conclusions dérivant de trois travaux se rattachant à la réceptivité ou à l'immunité du lapin vis-à-vis du streptocoque.

Le premier travail est celui de MM. Denys et Leclef¹ où ces auteurs étudient l'action d'un streptocoque virulent sur l'organisme du lapin normal et sur l'organisme du lapin vacciné. Ils arrivent à cette conclusion fondamentale que chez le *lapin normal il y a infection parce qu'il n'y a pas phagocytose, tandis que chez le lapin vacciné il y a immunité parce qu'il y a phagocytose*.

Le second de ces travaux est celui de MM. Denys et Mennes² dans lequel ces auteurs étudient l'immunisation du lapin contre le streptocoque virulent par le sérum antistreptococcique. Ces auteurs arrivent à la conclusion que le phénomène essentiel réside dans une phagocytose dont le *primum movens* est le sérum antistreptococcique.

Dans notre travail, le troisième, nous nous plaçons à un point de vue tout différent ; nous n'étudions plus le streptocoque sous une seule forme de ses variétés : la variété virulente ; mais nous comparons la variété atténuée à la variété virulente et nous arrivons aussi à la conclusion que c'est l'intervention ou la non-intervention de la phagocytose qui est la cause de l'absence d'infection dans le premier cas et de l'infection mortelle dans le second.

1. J. DENYS et J. LECLEF, *loc. cit.*

2. DENYS et MENNES, *Ann. de l'Acad. de méd. de Belgique*, juin 1897.

Tous ces travaux s'appuient et se complètent mutuellement et nous font voir que la résistance des animaux contre le streptocoque réside, tout au moins pour la partie essentielle, dans l'intervention des leucocytes.

Que M. le professeur Denys accepte ici l'hommage de notre profonde gratitude. Ses conseils, basés sur une science profonde et sur une expérience déjà longue, nous ont été d'un grand secours dans les recherches que nous venons d'exposer.

EXPLICATION DES PLANCHES

PLANCHE I

Expériences *in vitro* :

- FIG. 1. — Exsudat de lapin + streptocoques *atténués*, de suite après l'ensemencement.
 FIG. 2. — Exsudat de lapin + streptocoques *virulents*, de suite après l'ensemencement.
 FIG. 3. — Exsudat de lapin + streptocoques *atténués*, après 1 heure de couveuse : *belle phagocytose*.
 FIG. 4. — Exsudat de lapin + streptocoques *virulents*, après 1 heure de couveuse : *pas de phagocytose* et pullulation microbienne.

Expériences *in corpore* :

- FIG. 5. — Goutte d'exsudat péritonéal prélevé chez un lapin inoculé avec un bouillon de streptocoques *atténués* : *phagocytose*.
 FIG. 6. — Goutte d'exsudat péritonéal prélevé chez un lapin inoculé avec un bouillon de streptocoques *virulents* : *pas de phagocytose* et pullulation des microbes en dehors des leucocytes.

PLANCHE II

- FIG. 7. — Goutte d'exsudat péritonéal de cobaye inoculé avec des streptocoques *atténués* : *presque tous les microbes sont phagocytés*.
 FIG. 8. — Goutte d'exsudat péritonéal de cobaye inoculé avec des streptocoques *virulents* : *pas de phagocytose*, pullulation des microbes libres.
 FIG. 9. — Goutte d'exsudat péritonéal de chien inoculé avec streptocoques *atténués* : *plus de microbes libres, tous sont phagocytés*.
 FIG. 10. — Goutte d'exsudat péritonéal de chien inoculé avec streptocoques *virulents* : *phagocytose négligeable, presque tous les microbes sont restés libres et ont pullulé*.

Expériences *in vitro* :

- FIG. 11. — Exsudat de lapin + mélange de *bacilles du foin* et de streptocoques *virulents*, de suite après l'ensemencement : les *diplocoques* et les *bacilles* tous bien colorés sont situés en dehors des leucocytes.
 FIG. 12. — Exsudat de lapin + mélange de *bacilles du foin* et de streptocoques *virulents*, après 1 heure de couveuse : *phagocytose des bacilles qui dégénèrent à l'intérieur des leucocytes, délaissement des streptocoques virulents*.

Fig. 4

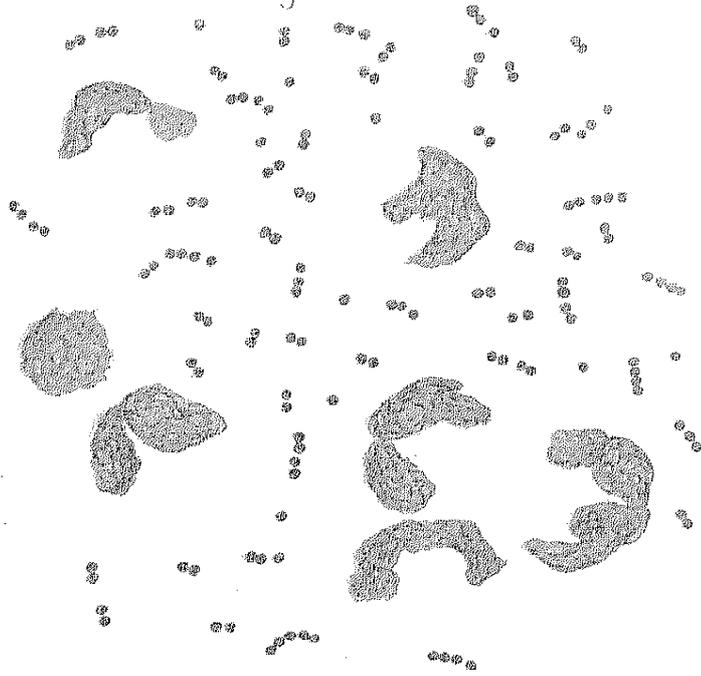


Fig. 2

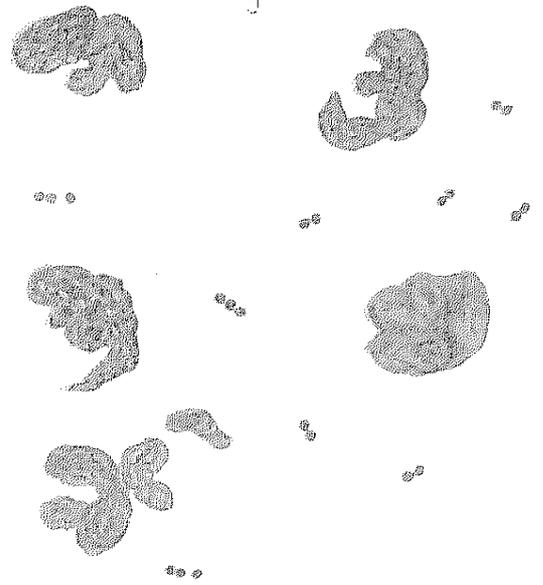


Fig. 3

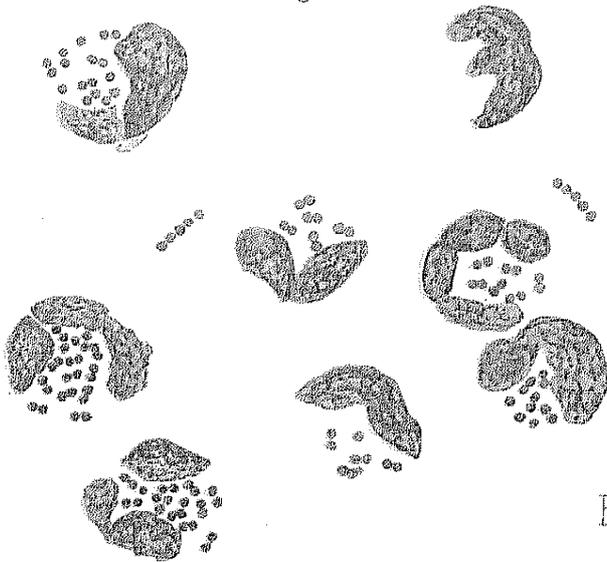


Fig. 1

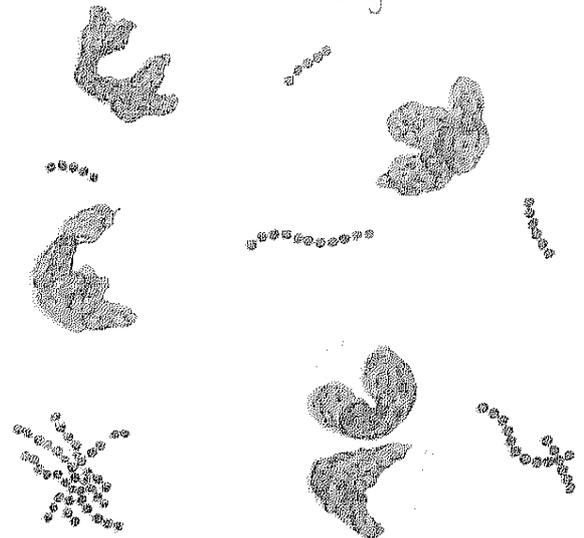


Fig. 6

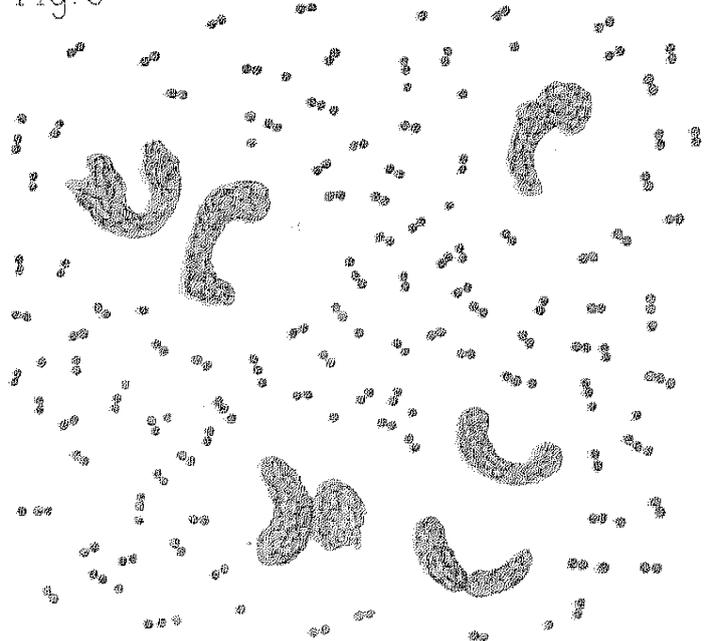


Fig. 5



Fig. 7

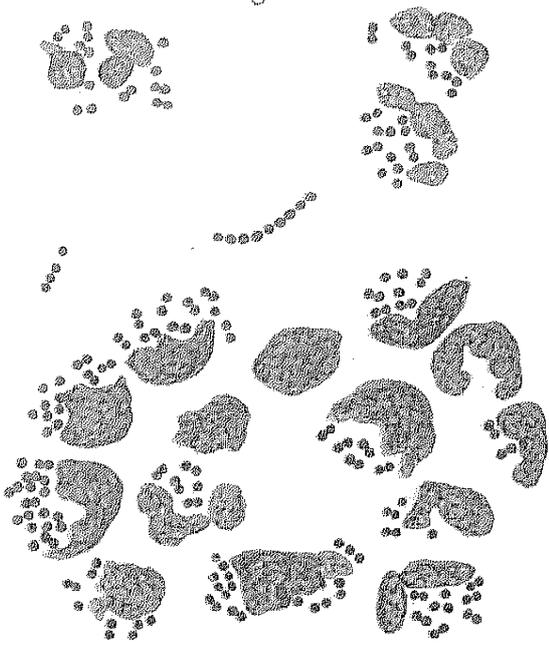


Fig. 8

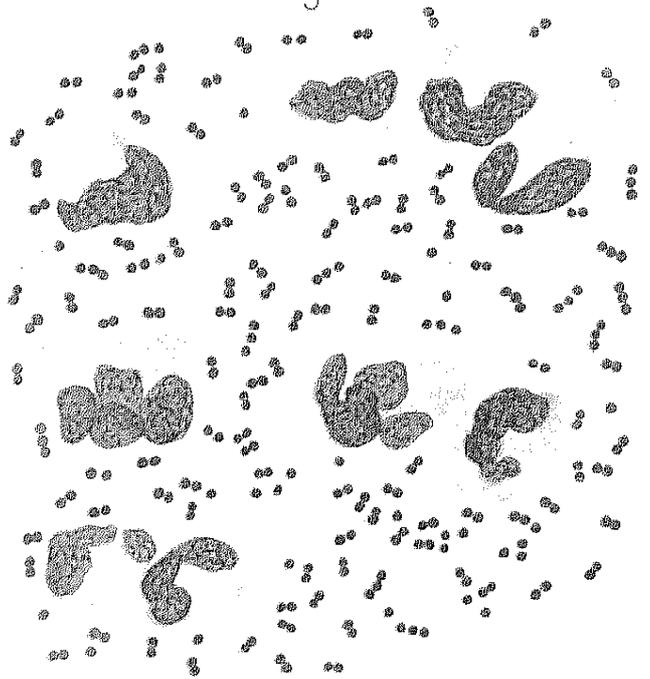


Fig. 10

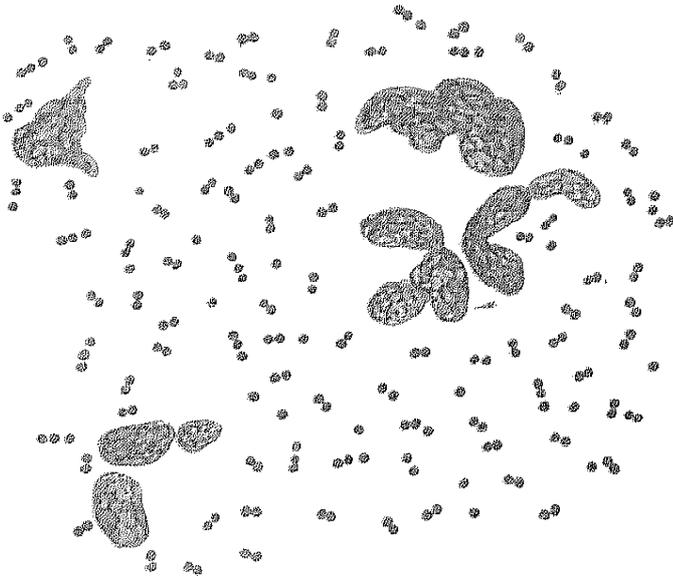


Fig. 9

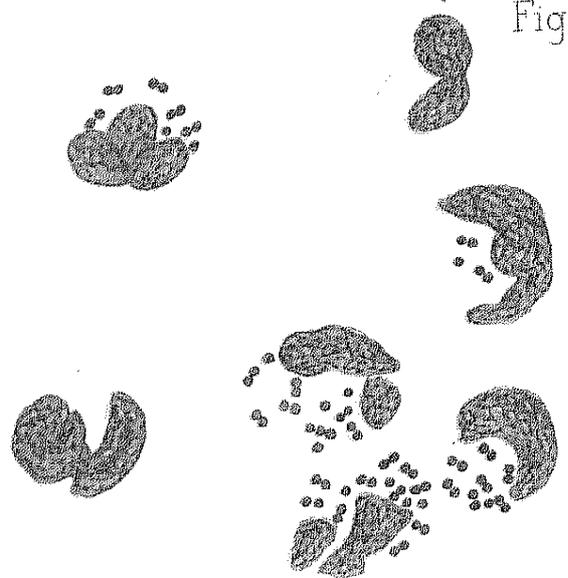


Fig. 11

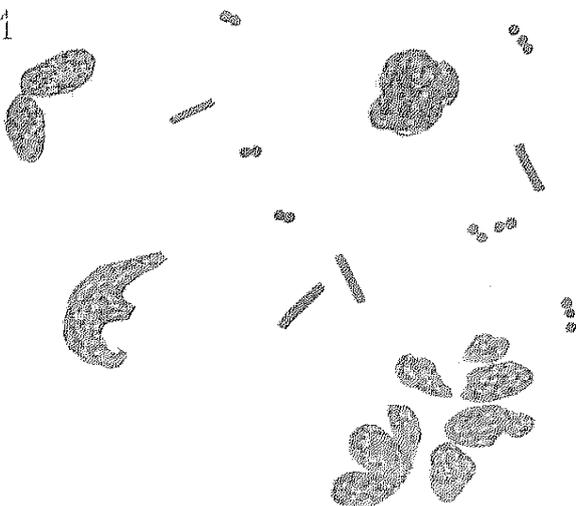


Fig. 12

