

# Contribution à l'étude des réactions immunitaires chez les invertébrés

Autor(en): **Porchet, Berthe**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Bulletin de la Société Vaudoise des Sciences Naturelles**

Band (Jahr): **56 (1925-1929)**

Heft 221

PDF erstellt am: **29.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-271636>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

**Contribution à l'étude  
des  
Réactions immunitaires chez les invertébrés**

PAR

**Berthe PORCHET**

---

**INTRODUCTION**

Tout organisme vivant oppose une réaction défensive à un élément étranger, germe microbien ou produit de ce germe, qui tend à troubler son métabolisme normal.

Cette opposition peut être assez puissante pour enrayer l'action nocive du parasite: celui-ci est détruit ou mis hors d'état de nuire, grâce aux anticorps élaborés par l'organisme. Dans ce cas, la maladie ne se produit pas ou bien l'individu infecté guérit. Dans certains cas, la guérison lui confère l'immunité, c'est-à-dire le pouvoir de résister à une nouvelle attaque du même germe.

On peut donc définir l'immunité: le pouvoir de résistance d'un organisme à une infection parasitaire ou à une intoxication.

Si la réaction est trop faible, la parasite se multiplie à l'intérieur du corps de l'hôte, met en liberté des toxines ou des endotoxines et l'individu, n'ayant pu se défendre efficacement, succombe.

L'étude des réactions qui créent l'état immunitaire a été très approfondie chez les vertébrés supérieurs, l'homme en particulier. Ce sont ces recherches qui ont conduit à la découverte des vaccins et sérums; il est inutile d'insister sur leur importance en thérapeutique moderne, dans le diagnostic et le traitement des maladies infectieuses.

Les investigations faites sur les invertébrés ont été beaucoup moins nombreuses, et cette branche de l'immunologie, comme la nomme Paillot<sup>14</sup>, en est encore à ses débuts.

Quoi qu'il en semble, ces études n'offrent pas qu'un intérêt purement théorique et spéculatif. Il est possible qu'elles contribuent à faire mieux comprendre les réactions immunitaires des vertébrés et qu'indirectement elles conduisent à des résultats pratiques de haute importance.

Il est nécessaire de les poursuivre si l'on veut essayer d'établir une théorie générale de l'immunité chez les êtres vivants; nous disons « essayer », car il est peut-être téméraire de vouloir établir des lois simples régissant des phénomènes extrêmement complexes, variés et variables.

Peut-être pourra-t-on saisir chez les invertébrés les stades premiers des réactions complexes observées chez les êtres supérieurs, ou, au contraire, y découvrir des processus particuliers et spécifiques. Quoi qu'il en soit du résultat final, il est intéressant d'observer et de comparer.

L'étude de l'immunité chez les invertébrés fut abordée par Metchnikoff, qui, sans approfondir les réactions immunitaires observées, les assimila d'emblée à celles des vertébrés, auxquels il s'intéressait particulièrement. Etudiant la digestion intracellulaire des particules alimentaires dans le tube digestif des Daphnies, Metchnikoff constata la destruction par les leucocytes des spores, pathogènes pour ce crustacé, d'une levure *Monospora*. Ce fut sa première observation d'un phénomène de défense chez un invertébré<sup>13</sup>.

Pour Metchnikoff, tous les phénomènes qui tendent à établir l'immunité chez un animal, sont des phénomènes cellulaires. Ce sont les leucocytes du sang qui assurent la défense de l'organisme. Expérimentant sur les vertébrés supérieurs, il constata qu'une injection de bacilles à un animal provoque un afflux des leucocytes qui, en émettant des pseudopodes, englobent les bacilles, puis les digèrent à l'intérieur du cytoplasme, enrayant ainsi l'infection. C'est le phénomène de phagocytose. Il y a entre leucocytes et bacilles une chimiotaxie, positive ou négative. Lorsqu'il y a attraction entre une espèce bacillaire et les globules blancs du sang, ceux-ci éliminent du sang les éléments pathogènes. L'animal résiste à l'infection.

S'il y a répulsion, les bacilles se multiplient librement, mettent en liberté des toxines ou des endotoxines et l'animal, que ses phagocytes n'ont pas défendu, succombe.

Outre le phénomène de phagocytose, Metchnikoff observa

que les bacilles restés libres dans le plasma, au bout d'un temps variable suivant l'animal étudié, l'espèce bacillaire, etc., étaient réduits en granulations et disparaissaient peu à peu du milieu. Cette dissolution ou lyse des bactéries s'opérait grâce à une substance en solution dans le plasma. Metchnikoff a voulu voir l'origine de cette bactériolyse dans les leucocytes eux-mêmes, qui la mettraient en liberté par le processus suivant :

Les bacilles injectés altèrent les leucocytes, les immobilisent, les désagrègent. Il se dégage du corps leucocytaire une substance qui réduit les bactéries en granulations. Cette phagolyse est le premier temps de la réaction. Cette action est insuffisante pour détruire tous les bacilles : ceux qui n'ont pas subi l'action lysante sont englobés et digérés par de nouveaux phagocytes normaux, apparus au deuxième temps de la réaction. L'injection de bouillon, qui stimule la phagocytose, renforce les leucocytes, supprime le phénomène de bactériolyse, et permet à l'animal d'enrayer l'infection par la seule action phagocytaire.

Ce processus compliqué s'observerait surtout nettement chez les individus en état d'immunité acquise. Ces expériences furent faites avec le vibrion cholérique sur le cobaye.

Metchnikoff expérimenta sur les insectes des bacilles pathogènes pour les animaux à température constante (charbon, choléra). Il constata que les insectes qui ont peu de leucocytes (Lépidoptères, Mouches, Hyménoptères) sont plus sensibles que les autres aux infections bactériennes.

Metchnikoff, élève de Metchnikoff, a étudié l'immunité chez les insectes, en particulier chez la chenille de la mite des abeilles : *Galleria mellonella*<sup>12</sup>. Il a inoculé à ces chenilles des germes très divers, ainsi que des toxines solubles et des endotoxines.

Il a constaté que les bacilles très pathogènes pour l'homme (tuberculose, peste, tétanos) sont inoffensifs pour les chenilles, qui s'en débarrassent rapidement par phagocytose. Au contraire, les bacilles saprophytes (*coli*, *subtilis*, *anthracoides*) provoquent la mort des chenilles. Surtout sensibles aux endotoxines, elles sont réfractaires aux toxines solubles : tétanique, diphtérique, botulinique.

Dans les cas d'infection massive, les phagocytes ont tendance à s'agglomérer pour former des plasmodes ou cellules



géantes, localiser ainsi l'infection et augmenter la quantité de sucs digestifs. Ces plasmodes dégèrent, de nouveaux leucocytes affluent autour de ces masses, les entourent, formant ainsi une capsule à l'intérieur de laquelle les bacilles sont peu à peu détruits sans avoir pu se répandre dans l'organisme. La formation de capsules chez les chenilles s'observe surtout dans l'infection tuberculeuse.

La bactériolyse extracellulaire que Metalnikov constate comme phénomène secondaire de défense serait due aux sécrétions des leucocytes, spécialement autour des plasmodes et des capsules.

Metalnikov a pu aussi immuniser des chenilles en leur injectant trois ou quatre fois, à 24 heures de distance, une émulsion faible de culture virulente, une culture atténuée par la chaleur ou le vieillissement. Une nouvelle inoculation faite quelques jours après, d'une dose de culture mortelle pour les chenilles non immunisées, ne provoque pas la mort des individus immunisés, les bacilles ayant été rapidement lysés. Il y a donc eu production d'anticorps bactériolytiques, sécrétés par les cellules du liquide cavitare. Par l'injection successive de doses faibles de culture, ces cellules sont rendues plus sensibles; elles réagissent plus rapidement et plus énergiquement à l'introduction d'une nouvelle quantité de bacilles. L'immunité acquise serait due à un phénomène d'hypersensibilité cellulaire.

Les chenilles de la mite des abeilles étant réfractaires à la tuberculose, Metalnikov a constaté qu'elles réagissent contre le bacille de Koch en l'immobilisant dans des cellules géantes, puis des capsules, par le processus indiqué plus haut: à l'intérieur des capsules, les bacilles sont réduits rapidement en granulations, puis en masses de pigment brun. Cette lyse des bacilles tuberculeux est due à la sécrétion active des lipases par les leucocytes; ces ferments dissolvent l'enveloppe cireuse du bacille et le détruisent. Les chenilles de *Galleria mellonella* se nourrissant exclusivement de cire, produisent en abondance des ferments lipolytiques qui la digèrent. Mises en présence de la couche adipo-cireuse du bacille de Koch, les lipases la dissolvent rapidement.

De l'ensemble des travaux de Metalnikov, qui viennent d'être brièvement résumés, se dégagent les conclusions suivantes, analogues à celles de Metchnikoff: L'immunité chez les insectes

est une immunité cellulaire: phagocytose, cellules géantes, capsules, sécrétions bactériolytiques des leucocytes, anticorps, ferments d'origine cellulaire. La phagocytose est la réaction essentielle de défense; le phénomène de bactériolyse extracellulaire est secondaire, et n'empêche pas la mort de l'animal. En effet, la bactériolyse des vibrions cholériques dans le corps de la chenille ne la sauve pas. Si les phagocytes sont détruits ou paralysés par les toxines, l'animal meurt, même dans le cas où les bacilles sont transformés en granulations.

Metchnikov admet en outre, sans insister longuement sur ce point, une action du système nerveux sur les processus immunitaires. Il a constaté expérimentalement l'impossibilité d'immuniser contre le choléra, des chenilles dont il avait supprimé, par brûlure au fil de platine rouge, la troisième paire de ganglions thoraciques et celle-là seule. La phagocytose cesse aussi.

Paillot, directeur de la Station entomologique de St Génis-Laval, a étudié, dans plusieurs travaux, et spécialement dans son dernier ouvrage: « Les maladies bactériennes des insectes »<sup>14</sup>, les réactions immunitaires des insectes. Paillot a inoculé divers bacilles: *Bacillus liparis*, *B. melolonthæ* non liquefasciens, *Diplobacillus pieris*, à des chenilles de *Limantria dispar*, *Euproctis chrysorrhæa*, *Pieris brassicæ*. Il serait trop long d'entrer dans le détail des expériences fort intéressantes de l'auteur. Nous nous bornerons à signaler ses conclusions, opposées à celles de Metchnikoff et de Metchnikov.

Très attaché, comme il le dit lui-même, à la théorie phagocytaire de Metchnikoff, Paillot a été conduit par ses expériences à infirmer la théorie cellulaire de l'immunité chez les insectes.

Il a constaté, en effet, le rôle prépondérant que joue dans la défense de l'organisme la bactériolyse extracellulaire. Il considère la phagocytose comme un adjuvant, lui assigne un rôle de soutien, et lui dénie, dans la majorité des cas, le pouvoir d'enrayer l'infection.

L'attraction des microbes par les leucocytes, puis leur pénétration à l'intérieur du phagocyte est un phénomène d'ordre physico-chimique, du moins jusqu'au moment où les bacilles subissent l'action des ferments digestifs; il n'y a pas émission de pseudopodes, puis englobement des bactéries.

L'élévation de la température augmente l'intensité de la phagocytose. Il est en effet plausible que les changements thermiques modifient l'état physico-chimique des phagocytes et des bacilles.

La lyse des bacilles par les substances bactéricides du sang ne semble pas pouvoir être expliquée par le même mécanisme que chez les vertébrés. On sait que chez les animaux supérieurs, la lyse est due à l'action de deux substances: l'une existant dans tout sérum normal, détruite par le chauffage à 55° et par le vieillissement, appelée alexine ou complément; l'alexine est active contre les microbes et les globules sanguins étrangers, mais elle ne peut les détruire seule. Pour Bordet, cellules et bacilles doivent être préparés à son action par une deuxième substance qui prend naissance dans l'organisme après l'inoculation; c'est la sensibilisatrice. Pour Ehrlich, cette substance sensibilisante est un ambocepteur qui se fixe, d'une part sur l'élément cellulaire, d'autre part sur le complément, et alors seulement le groupe zymotoxe du complément peut déterminer la lyse des bacilles et des cellules sanguines. Une goutte de sérum frais ajouté à un sérum dont l'alexine a été détruite par la chaleur ou le vieillissement (sérum inactivé) lui rend ses propriétés actives.

Or, Paillot n'a jamais pu constater une concordance entre le phénomène bactériolytique des invertébrés et celui des vertébrés. Les propriétés bactéricides du liquide de la cavité générale des insectes ne sont pas détruites par le chauffage à 55°; ce n'est qu'au delà de 70° que le liquide cavitaire perd son pouvoir lytique; on ne peut le réactiver par addition de liquide neuf. Ces faits s'opposent donc nettement à ceux qui ont été observés chez les vertébrés.

La bactériolysine des insectes est-elle une substance diastatique, sécrétée par les cellules du sang, diffusant à travers la paroi ou mise en liberté par phagolyse? Paillot élimine cette hypothèse, car il n'a jamais observé, soit *in vivo*, soit dans le liquide cavitaire centrifugé, une réaction bactériolytique plus intense au voisinage des leucocytes.

Paillot voit dans cette destruction des bacilles dans le sang « la phase dernière d'une série de réactions colloïdales entre les microbes, leurs produits et certains constituants du sang. Entre les microbes et le sang, se produisent des réactions colloïdales complexes qui modifient plus ou moins profondément

la nature des uns et des autres. Si l'on admet que le microbe est en état d'équilibre instable, il suffira d'un changement insensible dans la composition du sang, de l'addition, par exemple, d'un électrolyte normalement présent dans le sang, pour rompre l'état d'équilibre et déclencher les phases ultimes de la réaction humorale (granulose et bactériolyse). »

« Le fait dominant de l'immunité chez les insectes, c'est la diversité des réactions de défense de l'organisme, suivant les espèces microbiennes et les individus, et l'extrême complexité du processus réactionnel chez un même individu. »

Parmi de nombreux travaux récents, nous citerons ceux de Cantacuzène, qui a cherché à découvrir et à provoquer chez les invertébrés des anticorps: bactériolysines, agglutinines, précipitines, hémolysines<sup>2</sup>.

Il a constaté chez certains Siponcles, chez quelques crustacés marins (Maia, Eupagurus) une réaction cellulaire à l'infection bactérienne.

Ce sont les amibocytes du cœlome qui assurent la destruction des bacilles; il a observé aussi la formation de cellules géantes, à type de tubercules.

Le sérum normal de certains décapodes marins (Homarus, Maia) et de certains mollusques, possède un pouvoir agglutinant vis-à-vis de certaines bactéries; des décapodes appartenant au même genre et à une espèce différente, présentent des réactions nettement négatives.

Les hémolysines sont moins fréquentes.

Ces propriétés agglutinantes et lysantes disparaissent par chauffage à 56° et le sérum chauffé ne peut être réactivé.

On ne peut déceler chez les invertébrés une substance analogue au complément des vertébrés.

L'existence d'une immunité acquise est prouvée chez certains décapodes marins et des siponcles, comme chez les insectes.

Les animaux vaccinés intensifient leurs processus d'immunité naturelle et acquièrent souvent des propriétés humorales nouvelles.

Les modes de réaction des invertébrés aux infections sont multiples: 1. Réactions de phagocytose, dues aux amibocytes de la cavité générale et à certains organes phagocytaires, agglomérations cellulaires nettement délimitées qui ont été si-

gnalées par différents auteurs chez quelques vers et mollusques. — 2. Réactions humorales diverses: bactériolyse, agglutination. — 3. Réactions appelées par Cantacuzène: réactions de contact, c'est-à-dire une agglutination et une lyse au contact de certains tissus et de certaines cellules, à l'exclusion des autres. Il cite par exemple l'agglutination du *Bacterium coli* dans les branchies d'un pagure, phénomène qui ne se produit pas dans le sang circulant et dans aucune autre partie du corps.

Cantacuzène estime téméraire d'assigner un rôle prépondérant à l'un ou l'autre groupe de réactions. L'immunité s'établit par des processus variés, extrêmement complexes, agissant concurremment; les réactions varient d'une espèce à une autre, même d'un individu à l'autre. Cantacuzène maintient cependant aux faits établis par Metchnikoff leur entière valeur; pour lui, la résistance de l'individu est fonction de l'énergie et de la précocité de la phagocytose.

De tous ces travaux, dont nous n'avons résumé ici que les principaux, se dégage l'idée de l'extrême complexité des réactions immunitaires chez les invertébrés. Paillot et Cantacuzène entre autres, insistent sur la prudence avec laquelle il faut expérimenter, la circonspection avec laquelle il faut examiner les résultats, leur conserver leur caractère particulier et relatif et éviter de hâtives généralisations.

---

## EXPOSÉ DU TRAVAIL EXPÉRIMENTAL

Nos recherches ont eu pour objet l'étude comparative des réactions immunitaires déterminées chez différentes classes d'invertébrés par le même bacille.

C'est du *Mycobacterium aquæ* que nous nous sommes servi. Cette bactérie a été trouvée en 1912 par Galli-Valerio dans les robinets d'eau potable<sup>7</sup>. Mlle Marchant<sup>10</sup> a également signalé la présence du *Mycobacterium aquæ* dans de nombreux robinets et réservoirs.

Ce bacille appartient au groupe des acido-résistants; il est très voisin du *Mycobacterium tuberculosis*, avec lequel on pourrait le confondre, et du *Mycobacterium lepræ*. Il se présente sous forme de bâtonnets de  $2-6\mu \times 0,3\mu$ . On peut le cul-



tiver à 20° et à 37° sur milieu glycérimé et glycosé (œuf, pomme de terre, carotte); il forme des colonies épaisses, orangées.

Le *Mycobacterium aquæ* est une bactérie saprophyte, non pathogène pour l'homme.

La grande analogie qu'il présente avec le bacille de la tuberculose rend son étude très intéressante. Galli-Valerio et Bornand<sup>8</sup> ont cherché expérimentalement à transformer ce bacille saprophyte en une espèce sûrement pathogène dont l'action serait voisine de celle du bacille tuberculeux. Inversément, il serait peut-être possible de démontrer expérimentalement l'origine saphrophytique du bacille de Koch. Des inoculations furent faites aux vertébrés et invertébrés pour tenter d'exalter la virulence du *Mycobacterium aquæ* par passage sur les animaux.

Injecté aux vertébrés à sang chaud (cobaye, lapin, rat, souris), il a déterminé des lésions locales à type d'abcès, mais le bacille ne s'est pas généralisé dans l'organisme; il n'y a eu ni lésions ganglionnaires, ni formation de tubercules typiques. La mort a été constatée dans quelques cas, due probablement à une intoxication par endotoxines.

La virulence du bacille, par passages successifs, ne paraît pas avoir augmenté. Les mêmes résultats furent obtenus par passage sur les poissons.

Chez les invertébrés, *Mycobacterium aquæ* provoque quelquefois la mort, par action des endotoxines, et parfois par envahissement des organes par les bacilles.

Il est très difficile d'obtenir des races de bacilles sûrement pathogènes, à cause des réactions très variables des individus inoculés, qui, bien que de même espèce, supportent l'infection très différemment. Il faudrait faire des inoculations en série dans une même famille, sensible à la bactérie saprophyte. Il est probable que par passages successifs sur des individus également sensibles, on arriverait à former un bacille sûrement pathogène.

### Technique.

Grâce à son acido-résistance, *Mycobacterium aquæ* se prête fort bien à l'examen microscopique et à l'étude des phénomènes de lyse et de phagocytose.

Nous avons procédé de la façon suivante:

Une anse de culture de *Mycobacterium aquæ* de 10 jours environ, sur carotte glycinée et glycosée, est émulsionnée dans 1 cc. d'eau stérile.

Au moyen d'une seringue de Pravaz, des doses variant de 0,1-0,5 cc. sont inoculées, à travers les parois du corps, dans la cavité générale des invertébrés.

Après des laps de temps variables, nous sacrifions un ou plusieurs animaux. Un animal au minimum a été consacré à chaque observation. En aucun cas, nous n'avons suivi les différents stades de la réaction sur le même individu.

Le liquide de la cavité générale est étalé en frottis sur porte-objet, fixé à la flamme, coloré à chaud par la fuchsine de Ziehl, qui colore en rouge tous les éléments de la préparation.

On décolore ensuite par l'acide nitrique  $\frac{1}{3}$  qui laisse seuls colorés les bacilles acido-résistants.

Une deuxième coloration au bleu de méthylène au thymol, colore le fond, en particulier les éléments figurés du liquide cavitair, en bleu.

Nous observons donc toujours des bacilles rouges sur fond bleu, ce qui donne une grande netteté à l'examen microscopique.

Nous avons étudié l'action du *Mycobacterium aquæ* chez divers invertébrés de nos régions que nous avons pu nous procurer en grand nombre et inoculer assez facilement:

Vers — Arthropodes — Mollusques.

---

## VERS

### Annelés.

#### CHÉTOPODES OLIGOCHÈTES

##### *Lumbricus terrestris.*

On inocule, dans la cavité générale de 5 *Lumbricus terrestris*, 0,3 cc. d'émulsion bactérienne.

Une affinité extraordinaire s'est établie entre leucocytes et bacilles. Les globules blancs, groupés par 10 à 100, forment



des plages, de vrais plasmodes; les bacilles, en nombre considérable, sont collés à la surface de ces plasmodes, agglutinés en faisceaux comme les bacilles lépreux, par amas de 10 ou 20. Cette tendance à l'agglomération en faisceaux, qui est caractéristique du bacille de la lèpre, se retrouve chez le *Myc. aquæ*. Si, comme il vient d'être indiqué, de nombreux bacilles restent collés à la surface des leucocytes, il en est d'autres qui pénètrent à l'intérieur. Il est des plages entières de leucocytes bourrés de bacilles; on ne perçoit plus que le contour du globule; tout le protoplasme est rempli de bactéries. Nous observons donc, quatre heures après l'injection, une réaction phagocytaire énorme, une défense rapide, un isolement des bacilles à l'intérieur des phagocytes.

Les deux phénomènes d'accolement des bacilles et d'englobement se constatent sur la même préparation; ils apparaissent comme parallèles.

Dans le plasma, de nombreux bacilles libres n'ont subi aucune transformation. Ce n'est que 24 heures après l'injection que la bactériolyse se manifeste dans le plasma et dans les phagocytes. Les bacilles sont fragmentés, granuleux.

On constate qu'une forte proportion des éléments microbiens sont restés adhérents à la paroi leucocytaire, sans pénétrer à l'intérieur du cytoplasme.

Des amas de bacilles granuleux et de fragments protoplasmiques amorphes font croire à une destruction des globules blancs par les endotoxines mises en liberté par les amas de bacilles qu'ils contiennent. Ce phénomène de phagolyse a déjà été observé par les auteurs qui se sont occupés de la question.

Un des vers, mort après 24 heures, présente le même stade de réaction que les animaux examinés quatre heures après l'injection. La défense semble s'être arrêtée brusquement et l'animal a succombé.

Après 48 heures, les vers encore en observation sont trouvés morts. On ne trouve plus dans la cavité générale que des amas de granules extracellulaires, des leucocytes avec de grosses vacuoles.

Il est fort probable que les vers ont succombé à une intoxication par les endotoxines mises en liberté, car des témoins, non inoculés, ont supporté plusieurs jours encore les conditions de vie en laboratoire.

En résumé, les *Lumbricus terrestris* ont réagi énergiquement contre l'infection microbienne: d'abord par phagocytose, phénomène de beaucoup le plus important, qui se manifeste dès les premières heures après l'injection; ensuite par bactériolyse, phénomène secondaire n'apparaissant que 24 heures après l'inoculation.

### Hirudinées.

#### GNATHOBDELLIDES

##### *Hirudo medicinalis.*

On injecte 0,3 cc. d'émulsion bacillaire dans le corps de 5 *Hirudo medicinalis*.

Après quatre heures, le liquide irriguant le parenchyme contient des bacilles libres, intacts.

Après 24 heures, l'aspect est le même. Après 48 heures, 4 jours, 12 jours, aucune défense; aucune réaction ne s'est produite, aucun signe de maladie ou d'infection chez la sangsue.

Cette passivité des hirudinées étudiées était fort surprenante. C'était la première fois qu'au cours de nos observations pareil phénomène se produisait.

Il était intéressant d'essayer d'en découvrir les causes. En étudiant le problème de la transmission des germes des maladies infectieuses par les sangsues que l'on transportait d'un individu infecté à un individu sain, on a constaté que les risques d'infection sont minimes. En effet, les sangsues, absorbant des bacilles par voie buccale les lysent, les détruisent dans leur bouche même.

Le *Bacterium anthracis*, par exemple, persiste jusqu'à quatorze jours dans la bouche de la sangsue, mais, 24 heures après avoir absorbé le sang d'un individu charbonneux, la sangsue est incapable de transmettre l'infection à un animal sain, les bacilles ayant été lysés dans la cavité buccale et réduits en granulations qui ne disparaissent que lentement, mais sont inoffensives.

Pour voir si un phénomène analogue se produisait avec *Mycobacterium aquæ*, nous avons fait absorber à des sangsues une émulsion de bacilles.

Une demi-heure plus tard, on sectionne la ventouse buccale; on fait un frottis. On constate la présence de bacilles intacts. Après quelques heures, on fait la même opération à une autre sangsue. Alors on observe nettement un phénomène de lyse; les bacilles deviennent granuleux. Après 48 heures, la lyse est stationnaire.

Il y a donc, dans la bouche de la sangsue, un principe lytique qui n'existe pas dans la cavité du corps. On peut supposer que c'est à l'hirudine qu'est due cette action lysante, et l'explication finaliste de l'absence de lysine dans le parenchyme serait la suivante: les sangsues détruisent au niveau de la ventouse les bacilles qu'elles absorbent et d'autres substances de défense leur sont par conséquent inutiles. D'autre part, Kowalewsky, dans un travail paru en russe et cité par Cantacuzène, a signalé chez les Hirudinées des organes phagocytaires, enfoncés dans le pavillon de la néphridie, qui isoleraient et détruiraient les éléments étrangers pénétrant dans l'organisme.

Cette absence de défense s'observe-t-elle aussi dans la couche musculo-cutanée?

Pour répondre à cette question, nous avons fait les expériences suivantes:

Injection intramusculaire dans la paroi du corps, de 0,2 cc. d'émulsion de culture.

Après 24 heures, à l'endroit inoculé, le muscle prélevé montre des bacilles libres bien conservés.

Après 48 heures, l'aspect est le même. Il n'y a eu aucune action du milieu sur les bacilles. Extérieurement, aucune tache, aucun phénomène qui rappelle un abcès ne déce le point d'inoculation.

La réaction dans la couche musculo-cutanée est donc nulle.

Une autre question se pose. Cette passivité est-elle peut-être une caractéristique du groupe entier des Hirudinées? Pour étudier ce problème, nous avons expérimenté sur des sangsues sans mâchoires et sans hirudine:

#### *Nepheleis vulgaris.*

Ce sont des animaux de 1 cm. de long.  $\times$  3 mm. de large, très difficiles à inoculer. Nous avons pu cependant introduire dans leur corps des gouttes d'émulsion.

Après huit heures, on constate des bacilles intacts disséminés dans le corps; aucune phagocytose.

Ce n'est qu'après 24 heures que la lyse apparaît; après 48 heures, les bacilles sont réduits en granulations; aucun cas de phagocytose n'a été observé.

Donc, les sangsues sans hirudine réagissent à l'inoculation.

Les sangsues sécrétant l'hirudine ne présentent aucune réaction.

Il n'est pas impossible qu'il existe une relation de cause à effet entre la présence d'hirudine dans la bouche des sangsues et l'absence de substances lysantes dans la cavité du corps, les éléments de l'organisme n'ayant pas été amorcés pour la production d'anticorps.

---

## ARTHROPODES

### Crustacés.

#### ISOPODES

##### *Oniscus murarius.*

Une goutte d'émulsion est inoculée à des cloportes. Après trois heures, on observe une faible lyse des bacilles libres dans le plasma, aucune phagocytose.

Après six heures, la lyse s'accroît; la phagocytose ne se manifeste pas.

Au bout de 24-48 heures, la plupart des bacilles sont granuleux. Nous n'avons pas constaté une seule fois la présence de leucocytes renfermant des bacilles.

Aucun des animaux en observation n'est mort.

### Insectes.

#### ORTHOPTÈRES

##### *Locusta viridissima.* — *Stenobothrus viridulus.*

0,1 cc. d'émulsion a été inoculé à 10 sauterelles.

Au bout d'une heure et demie, on trouve les bacilles répandus dans le sang; certains sont déjà attaqués.

Après six heures, la bactériolyse se manifeste générale. Les leucocytes qui contiennent des bacilles sont exceptionnels; à ce moment, la réaction phagocytaire apparaît comme négligeable.

Après 19 heures, la lyse est très avancée; les bacilles sont réduits à des chapelets de granulations, souvent en amas. La phagocytose a augmenté. De nombreux leucocytes renferment des granulations acido-résistantes.

24 heures après l'inoculation, tous les bacilles sont à l'état de granules qui s'agglutinent et disparaissent. La phagocytose est plus accentuée. On rencontre des leucocytes bourrés de granulations: d'autres n'en contiennent qu'un petit nombre; la plupart des leucocytes ne renferment pas d'éléments bactériens.

Au bout de 48 heures, plusieurs sauterelles sont mortes. Gardées en captivité, elles ont probablement succombé du fait de leurs conditions anormales d'existence au laboratoire.

L'aspect du liquide cavitaire des individus morts après 24, 36, 48 heures ne diffère pas de celui des individus vivants observés.

Des *Forficula auricularia* inoculés succombent 6 heures après l'injection. L'examen du sang montre une forte lyse extra-cellulaire, donc une réaction humorale très vive, mais aucune phagocytose.

## COLÉOPTÈRES

### Larves de *Cerambycidæ*.

Ces larves ont reçu une goutte de culture émulsionnée. Une heure après l'injection, une larve est sacrifiée; le liquide cavitaire, jaune verdâtre, étalé en frottis, renferme des bacilles disséminés dans le plasma; ils subissent déjà un début de granulose, faible, mais manifeste cependant. Aucun phagocyte contenant des bacilles n'a été observé.

Après 2 heures, la lyse extracellulaire s'accroît; on constate quelques cas de phagocytose.

Après 5 heures, la lyse est forte; les bacilles deviennent granuleux; la phagocytose reste rare.

Après 24 heures, la lyse est générale et très avancée; les bacilles sont réduits en granulations acido-résistantes qui s'agglutinent. La phagocytose est peu fréquente. 30 heures après

l'injection, la phagocytose augmente; on rencontre de nombreux leucocytes contenant des granulations.

Dans ce cas, il semble que la phagocytose joue un rôle très secondaire intervenant après la lyse pour englober les granulations.

Quelques larves, inoculées dans les mêmes conditions que les précédentes, furent placées dans un bocal de verre à l'étuve à 37°.

Le liquide cavitaire examiné 5 heures après l'injection, présente des bacilles déjà fortement granuleux et une forte phagocytose.

Après 24 heures, on ne trouve que des granulations dans le plasma et à l'intérieur de nombreux leucocytes qui en sont bourrés.

L'élévation de la température a donc manifestement activé les deux réactions immunitaires envisagées: bactériolyse extracellulaire et phagocytose.

Cette constatation concorde avec les résultats obtenus en pareilles conditions par Paillot<sup>14</sup>.

Après avoir étudié chez ces larves les réactions *in vivo*, nous les avons comparées à celles qui se produisent *in vitro*, sur porte-objet ou dans éprouvette, lorsqu'on met en présence le liquide cavitaire de la larve tel qu'il sort lorsqu'on incise la peau et une émulsion de culture.

Après une heure de contact entre les deux liquides, on fait un frottis. Aucun phénomène ne s'est produit.

Deux heures après, une lyse extracellulaire se manifeste, encore faible. Elle augmente progressivement au cours des heures suivantes et, au bout de 24 heures, elle est générale. On observe une certaine attraction entre bacilles et leucocytes, c'est-à-dire que les bacilles adhèrent à la paroi du globule blanc, sans pénétrer à l'intérieur.

Donc les réactions immunitaires chez ces larves ne dépendent pas strictement de l'organisme vivant. Ces expériences démontrent que le liquide cavitaire contient des substances lysantes agissant hors de l'organisme et dont l'activité n'est pas absolument liée à la vie de l'individu. Il ne faut pas cependant généraliser cette idée. Le liquide qui a été utilisé pour nos observations *in vitro* était extrait du corps de larves saines, dont le métabolisme était tout à fait normal.

Or nous avons fait l'expérience inverse: nous avons ino-



culé des larves qui, pour différentes raisons (insuffisance de nourriture, température trop basse, lésions faites par la seringue) étaient en état d'infériorité physiologique. Chez ces individus, les réactions furent ralenties, et cessaient complètement après la mort.

Nous avons tenté l'injection sur les nymphes de ces larves saines. Examiné 48 heures après l'injection, le contenu de la cavité du corps était rempli de bacilles qui semblaient s'être multipliés à l'intérieur de la chrysalide. Ces bacilles sont granuleux; ils ont subi la lyse; mais la réaction n'est cependant pas si intense que chez les larves.

Il est ainsi nettement observé que l'organisme se défend, même à l'état de vie latente.

Nous n'avons pas pu obtenir la transformation en nymphe et insecte parfait des larves inoculées.

Les mêmes expériences, répétées sur des larves de *Buprestidæ*, nous ont donné les mêmes résultats que ceux que nous venons d'exposer.

Différents Coléoptères: *Carabus violaceus* — *Cicindela campestris* — *Geotropes mutator* — *Staphylinus olens*, injectés à l'état d'imago, ont présenté une remarquable concordance dans leurs réactions.

Trois heures après l'inoculation, la lyse extracellulaire commence à se manifester; phagocytose nulle.

Après 6 heures, la lyse s'accroît. Les leucocytes sont rares dans le champ du microscope. Quelques phagocytes ont englobé des bacilles.

Après 12 heures, la lyse est forte; la phagocytose reste faible; 20 heures après l'injection, la phagocytose devient plus importante; de nombreux leucocytes renferment des granulations. Elle augmente de 24-30 heures après l'inoculation, isolant à l'intérieur des leucocytes les granulations bacillaires provenant de la bactériolyse.

Les résultats, chez les coléoptères, sont très nets. Le premier phénomène qui apparaît est la lyse extracellulaire très active, qui, en 12 heures parfois, réduit les bacilles en granulations. La phagocytose apparaît ultérieurement, englobant les bacilles déjà granuleux et les phagocytant.



### HYMÉNOPTÈRES

*Xylocopa violacea*, inoculé dans la cavité thoracique, a présenté une forte lyse extracellulaire six heures après l'inoculation. Aucun phénomène phagocytaire n'a été observé. Les bacilles ont envahi la musculature du thorax, où ils ont été également réduits en granulations.

### LÉPIDOPTÈRES

Nous avons procédé à de nombreuses expériences sur des chenilles de divers genres, en particulier *Malacoderma alpicola* et *Vanessa antiopa*.

Des chenilles de *Malacoderma* ont reçu quelques gouttes d'émulsion dans la cavité générale.

Après une heure, les bacilles sont disséminés dans le plasma: quelques-uns commencent à se morceler.

On observe une forte attraction des bacilles vers les phagocytes; ils adhèrent à la surface sans pénétrer à l'intérieur.

Après 2 heures, la lyse est générale: la phagocytose apparaît comme phénomène secondaire, accessoire, rare.

Après 2½ heures, la lyse est forte et générale; les bacilles sont granuleux; la phagocytose n'a pas progressé.

Dans l'étude des réactions des chenilles de *Malacoderma*, nous avons observé, pour la première fois au cours de ce travail, des variations individuelles très sensibles. Des nombreux essais que nous avons faits se dégage l'idée que la résistance individuelle joue un rôle prépondérant dans les réactions de défense, comme chez les vertébrés. Les résultats que nous venons d'exposer ne sont qu'une moyenne. En effet, certaines chenilles sont plus lentes que d'autres à réagir; il en est qui, sacrifiées 2 heures après l'inoculation, renfermaient des bacilles intacts; d'autres contenaient des bactéries déjà fortement lysées. Chez certains individus, la réaction s'est arrêtée au bout de 6-7 heures, sans que la chenille meure.

Mais les différences observées furent seulement quantitatives, variations dans la vitesse de réaction. D'une façon constante, nous avons observé la bactériolyse comme phénomène initial et prépondérant, la phagocytose comme secondaire.

Répétant avec le sang des chenilles de *Malacoderma* les

expériences *in vitro* faites avec les larves de coléoptères, nous avons constaté l'action bactéricide du sang sur les bacilles après une heure de contact, ainsi que quelques cas de phagocytose typique.

Avec les chenilles de *Vanessa antiopa*, nous avons obtenu des résultats pareils à ceux que nous venons d'exposer chez *M. alpicola*. Chez ces deux genres, les variations individuelles furent très grandes.

Il apparaît fort plausible que la résistance à l'infection varie d'un individu à l'autre, au sein d'une même espèce, par conséquent la défense que l'organisme oppose au germe nuisible. C'est un fait accepté dans l'étude de l'immunité chez les vertébrés. On ne voit pas de raison pour qu'un phénomène analogue ne se produise pas chez les invertébrés. Mais d'autre part, il faut tenir compte des conditions défavorables dans lesquelles les chenilles vivent au laboratoire. Certains individus ont fort peu réagi, étant en état de grand affaiblissement.

Les résultats exposés plus haut sont ceux que nous ont donné des chenilles normales, n'ayant subi aucun dépérissement à la suite de la vie anormale en captivité et du fait mécanique de l'inoculation.

Aucune n'est morte 24 heures après l'injection.

Quelques chenilles isolées, sur lesquelles nous n'avons pas pu entreprendre d'étude en série, *Tericallia matronula*, *Phragmatobia fuliginosa*, nous ont fourni des résultats très semblables à ceux que nous avons consignés précédemment. 6 heures après l'injection, une forte lyse extracellulaire se manifeste, on observe très peu de leucocytes dans le plasma.

Après 24 heures, la lyse est complète, les bacilles entièrement granuleux. De nombreux phagocytes contiennent des granulations bacillaires.

Chez toutes les chenilles étudiées, les résultats ont été pareils: la première et la plus importante des réactions immunitaires est la bactériolyse. La phagocytose apparaît postérieurement en englobant les bactéries déjà morcelées et granuleuses.

## DIPTÈRES

### Larves de *Calliphora erythrocephala*.

Des larves de *C. erythrocephala* reçoivent une goutte d'émulsion. Trois heures après, les bacilles sont disséminés dans le liquide de la cavité générale. Beaucoup sont en amas dans le voisinage des leucocytes. La lyse des bacilles dans le plasma est très avancée; elle atteint un stade qui, au bout de trois heures, n'avait jamais été signalé chez les insectes; la phagocytose est nulle.

Après 20 heures, la lyse est terminée. Les phagocytes interviennent activement pour englober les granulations. Quelques bacilles encore intacts adhèrent aux parois des globules blancs.

Après 24 heures, après trois jours, l'aspect n'a pas varié. On constate encore dans le plasma et à l'intérieur des phagocytes la présence de granulations.

Plusieurs des larves inoculées se sont transformées en nymphes au bout de quelques jours.

Deux jours après la métamorphose, des nymphes sont examinées. Leur liquide cavitaire présente un aspect analogue à celui des dernières larves observées.

Les bacilles granuleux ou intacts ont subsisté dans le corps.

Enfin nous avons pu, en suivant la dernière transformation des nymphes en insecte parfait, noter le passage des bacilles de la pupa à l'imago.

Plusieurs auteurs ont nié cette possibilité. Nous sommes donc en mesure d'affirmer qu'une telle transmission existe, du moins chez les mouches étudiées, qui sont les seuls insectes dont nous ayons pu suivre tous les stades de développement.

Des essais *in vitro*, mettant en contact le liquide de la cavité générale des larves de mouche et une émulsion bacillaire, nous ont prouvé que, comme pour les chenilles, les réactions observées *in vivo* se reproduisaient *in vitro* et qu'elles étaient très vives. Ainsi, après 15 minutes de contact, la lyse des bacilles commence; après 30 minutes, elle s'accroît; après une heure elle est complète.

Nous pouvons conclure de nos observations que ce sont parmi les Arthropodes les diptères, en particulier les mou-

ches étudiées, qui réagissent avec le plus d'intensité et de rapidité.

D'une façon générale, les résultats fournis par l'étude sur les Arthropodes ont été remarquablement concordants entre eux, remarquablement nets. Les Arthropodes ont réagi très vivement. L'introduction de *Mycobacterium aquæ* dans la cavité générale a provoqué une réaction très nette, une bactériolyse extracellulaire qui a débuté 1-2 heures après l'injection. Après 24 heures, les bacilles ont en général disparu. Dès le début de la réaction, on observe une attraction des bacilles par les leucocytes. Mais la phagocytose n'apparaît qu'après 6-12 heures d'incubation; c'est un phénomène secondaire dans le temps et dans le rôle qu'il joue. Il intervient pour englober les bactéries granuleuses ou déjà attaquées par la substance lysante du plasma.

Ces conclusions concordent avec celles données par Paillet à la suite d'expériences faites avec l'autres bacilles sur d'autres espèces d'insectes<sup>14</sup>.

## MOLLUSQUES

Ce sont nos études relatives aux réactions des mollusques qui ont été les plus approfondies et les plus détaillées. Le matériel est abondant (limaces et escargots), facile à garder en terrarium et à inoculer. Nos observations ont été faites pour la plupart au printemps et en été; dès octobre, nous avons constaté une mortalité du 50 % chez les limaces gardées au laboratoire. Est-ce l'abaissement de température, l'excès d'humidité ou de sécheresse de la terre, ou bien observe-t-on aussi dans la nature la disparition des limaces après la ponte, au début de l'hiver? Il est difficile de préciser. En octobre, les limaces que nous élevions au laboratoire ont pondu d'énormes quantités d'œufs. La plupart se sont desséchés; mais quelques-uns ont donné naissance à de jeunes limaces, de 1-2 cm. de long, qui nous ont servi aussi de matériel d'expérience.

Les espèces employées furent: *Arion rufus* (de beaucoup la plus fréquente), *Limax maximus*, *L. variegatus*, *Helix pomatia*, *Helix nemoralis*. La dimension du corps des limaces

et des escargots permettant l'injection de doses plus fortes que chez les classes étudiées plus haut, nous avons inoculé des doses d'émulsion voisines de 0,5 cc.

Les prélèvements ont été faits dans la liquide de la cavité générale et sur les parois internes du corps où l'on rencontre la plus forte proportion de leucocytes.

Les très nombreuses inoculations faites aux *Arion* dans la cavité générale ne nous ont pas donné des résultats aussi nets que les expériences analogues faites sur les Arthropodes. Avant d'en exposer le détail, il faut remarquer, d'une façon générale, l'apathie physiologique de ces animaux et la variation des réactions d'un individu à l'autre.

Toutes autres choses étant égales, le temps après lequel les réactions immunitaires se sont déclenchées a varié d'une série d'expériences à l'autre, ainsi que le temps nécessaire à l'élimination des bacilles de la cavité générale.

Les réserves ci-dessus étant faites, nous exposerons les résultats les plus nets, fournis concordamment par plusieurs séries d'inoculations faites avec la même culture dans les mêmes conditions.

Dix *Arion rufus* sont inoculées.

Une heure après l'injection, les bacilles sont disséminés dans le liquide cavitaire; d'une façon très générale, on observe un afflux de leucocytes qui se groupent en un amas et à la périphérie desquels adhèrent les bacilles.

Après deux heures, l'englobement des bacilles par les phagocytes s'est produit. On rencontre dans le champ du microscope un phagocyte sur deux bourré de bacilles. De nombreux bacilles libres dans le plasma subissent un début de lyse.

Au cours des heures suivantes, la lyse extracellulaire augmente, la destruction intraphagocytaire s'accroît. Il semble même que l'on assiste parfois à la phagolyse des globules blancs, détruits par les bactéries qu'ils contiennent.

Après 24 heures, on ne trouve plus que des amas granuleux en voie de disparition.

L'organisme s'est donc défendu par les deux modes observés jusqu'à maintenant: phagocytose et bactériolyse. Chez les limaces, il est vraiment difficile de dire lequel joue le plus grand rôle. En effet, avant que la lyse se soit manifestée dans le plasma, nous avons constaté l'englobement des bacilles par les phagocytes. Mais ce n'est qu'une partie des leu-

cocytes, souvent même une faible proportion, qui phagocytent le *Mycobacterium aquæ*. Nous ne pouvons, dans aucun des cas observés, rapprocher cette phagocytose partielle de la réaction typique et essentielle, notée chez les vers annelés.

La lyse joue aussi un rôle très important, car la plus grande partie des bactéries injectées restent libres dans le plasma et sont attaquées par les substances lytiques du milieu.

Les deux phénomènes s'observent; ils ne s'excluent pas l'un l'autre; ils sont concomitants. D'une façon générale, la réaction est lente, souvent peu nette. Cela n'a rien de surprenant chez les Mollusques, dont la physiologie n'a jamais été aussi intéressante que celle des autres classes d'Invertébrés, des Arthropodes surtout.

#### **Inoculation aux jeunes limaces.**

Les deux jeunes limaces qui ont éclos des œufs pondus en terrarium ont été inoculées avec 0,2 cc. d'émulsion.

Après 6 heures, l'une est sacrifiée. Les bacilles sont en amas, attirés par les leucocytes. Pas de lyse extracellulaire, la phagocytose est exceptionnelle.

Après 24 heures, la lyse extracellulaire est très nette et la phagocytose énorme; la plupart des bacilles sont englobés.

Une limace adulte, inoculée comme témoin, a présenté, après 24 heures, une réaction beaucoup moins intense.

Chez les individus jeunes, la réaction phagocytaire a été plus forte que chez les adultes et ne s'est manifestée qu'après plusieurs heures d'incubation.

#### **Inoculation de culture morte aux *Arion rufus*.**

0,5 cc. d'émulsion de culture tuée par la chaleur (1 h. à 80°) sont inoculés aux *Arion*.

Six heures plus tard, on observe une forte lyse extracellulaire: les bacilles sont en amas, en faisceaux, déjà fortement attaqués. On constate quelques cas de phagocytose.

Après 7 heures, la lyse est stationnaire, mais la phagocytose a augmenté. 10 % des globules blancs sont bourrés de bacilles, dont beaucoup sont déjà granuleux.

Au bout de 24 heures, la phagocytose est devenue générale; la lyse a progressé; les bacilles libres dans le plasma sont réduits en granulations.



Dans ce cas précis d'injection du culture morte, c'est la lyse extracellulaire qui entre la première en jeu. La phagocytose apparaît secondairement et devient de plus en plus intense. Les leucocytes englobent les bacilles déjà attaqués par la lysine du plasma, déjà affaiblis. Ces expériences ont montré le rôle grandissant que joue la phagocytose, au cours des 24 heures qui suivent l'inoculation.

Nous avons essayé sur les limaces l'injection de divers liquides stériles pour observer leur action sur les phénomènes immunitaires, qui peuvent être intensifiés par l'addition au sérum de différentes substances.

*a) Bouillon peptoné.*

Deux anses de culture fraîche sont émulsionnées dans 3 cc. de bouillon et sont inoculées immédiatement à 4 *Arion*.

Après 3 heures, une forte réaction s'est produite: une lyse énorme: la plupart des bacilles sont déjà réduits en granulations: aucune phagocytose n'a été constatée.

Une heure plus tard, parmi les bacilles lysés, on constate quelques phagocytes contenant des bacilles.

Six heures après l'injection, les globules blancs, groupés en amas, sont bourrés de bactéries; la lyse est très forte.

Après 24 heures, les bacilles intacts sont exceptionnels. On ne trouve plus que des granulations isolées ou en amas, voisinant avec des débris protoplasmiques. Il y a tout lieu de croire à une phagolyse due aux endotoxines.

L'injection de bouillon a intensifié la réaction humorale et, postérieurement, la phagocytose.

Un seul des *Arion* inoculés est mort trois jours plus tard. La défense par lyse s'est arrêtée au stade que nous avons constaté quelques heures après l'inoculation. Les bacilles sont faiblement attaqués; ils sont agglutinés en amas sphériques simulant des bacilles lépreux. On croirait à un phénomène typique d'agglutination; la phagocytose est exceptionnelle. La réaction a été trop faible pour enrayer l'infection. Cet exemple est caractéristique des variations de résistance individuelle.

*b) Solution physiologique NaCl.*

0,5 cc. de solution physiologique sont inoculés à 4 *Arion rufus*.

24 heures plus tard, ces *Arion* reçoivent 0,5 cc. d'émulsion aqueuse de culture virulente.



Après 2 heures, une forte lyse extracellulaire se manifeste à côté d'une forte phagocytose.

Après 6 heures, la réaction humorale s'accroît; la phagocytose augmente.

Après 48 heures, la phagocytose est générale; des plages de leucocytes agglutinés sont bourrés de bacilles; la lyse est faible.

Trois témoins, n'ayant pas été préparés par la solution physiologique présentent, avec les individus préalablement injectés, une différence qui, très légère au début, va en s'accroissant jusqu'à 48 heures après l'inoculation. Cette différence se manifeste chez les individus témoins par une lyse extracellulaire moins forte au début et une phagocytose beaucoup moins intense.

Il semble donc que l'injection de solution physiologique 24 heures avant l'inoculation de la culture stimule la réaction phagocytaire et la réaction humorale.

*c) Alcool dilué (alcool 95 %, dilué à 2 %).*

0,5 cc. sont inoculés à 4 *Arion rufus*. 24 heures plus tard, on injecte 0,5 cc. d'émulsion bacillaire.

Après 2 heures, les leucocytes ont réagi intensément en affluant sous forme d'amas, occupant souvent tout le champ du microscope; une attraction considérable se manifeste entre ces plasmodes et les bacilles qui adhèrent à leur surface. Dans quelques cas, ils ont pénétré à l'intérieur du cytoplasme, mais c'est rare.

Après 6 heures, la phagocytose se manifeste; la lyse extracellulaire est faible.

Depuis lors, la réaction progresse lentement. Après 48 heures, on observe des granulations extracellulaires et intraphagocytaires.

*d) Alcool concentré (95 %).*

0,05 cc. d'alcool concentré sont inoculés dans les mêmes conditions que l'alcool dilué, la culture 24 heures plus tard. Les résultats obtenus sont pareils à ceux que nous venons de citer. Il semble donc qu'une forte dose d'alcool dilué ou une faible dose d'alcool concentré jouent le même rôle et stimulent l'activité des phagocytes.

Certains auteurs ayant signalé l'action inhibitrice de l'alcool concentré sur les réactions immunitaires, nous avons voulu vérifier cette assertion. Mais les limaces n'ont pas supporté des doses d'alcool supérieures à 0,05 cc.

### Essais d'immunisation.

Il nous a paru intéressant d'essayer de provoquer chez les limaces une immunité acquise, par injections successives de faibles doses d'antigène.

a) 0,2 cc d'émulsion faible de culture virulente sont inoculés toutes les 24 heures et pendant 4 jours à 5 *Limax maximus*.

Le cinquième jour, ces limaces reçoivent 0,5 cc. d'émulsion forte de culture virulente.

Après une heure, on observe une énorme phagocytose. Presque tous les leucocytes dans le champ du microscope sont bourrés de bacilles, les uns intacts, les autres granuleux. Dans le plasma, les bacilles sont en partie lysés.

Après 24 heures, l'aspect est le même; chez certains individus, la phagocytose est moins forte; il y a afflux de leucocytes groupés en amas, auxquels adhèrent les bacilles groupés par 10 ou 20.

Après 3 heures, la phagocytose reste prépondérante. Une limace meurt après 20 heures. Le liquide de la cavité générale présente le même aspect qu'aux temps précédemment cités: forte phagocytose, bacilles lysés dans le plasma.

Une autre limace meurt après 48 heures.

L'immunité ne paraît pas s'être établie; la mort, au contraire, semble due à une surinfection.

Il est indéniable cependant que cette préparation des limaces par injections préalables ait stimulé la phagocytose, qui est la réaction de beaucoup la plus fréquente.

Quant à la lyse extracellulaire, il est impossible de dire si les bacilles granuleux observés sont ceux des inoculations préalables, antérieures de plusieurs jours à l'injection définitive. Quoiqu'il en soit, la lyse est complète et générale au bout de 20 heures.

b) Des résultats analogues nous ont été fournis par les limaces immunisées par de faibles doses successives de culture morte (chauffée 1 heure à 80°).

La phagocytose se manifeste très forte dès le début. Une limace morte après trois jours a montré une faible défense; peu de phagocytose, la plupart des bacilles bien conservés. La mort est probablement due aussi à une surinfection.

c) Une ancienne culture de 2 mois est émulsionnée dans 8 cc. d'eau stérile, et maintenue 6 jours à l'étuve à 37°. 0.2 cc. de cet autolysat sont inoculés toutes les 24 heures et pendant 3 jours à 6 *Arion rufus*.

Trois jours plus tard, une seule limace a survécu aux inoculations. On lui injecte 0,3 cc. d'émulsion de culture jeune. Elle meurt après 48 heures. L'examen du liquide cavitaires montre une forte lyse extracellulaire et une très faible phagocytose.

Les témoins, n'ayant pas reçu d'autolysat, présentent des résultats analogues.

Il est probable que les limaces ont succombé aux endotoxines introduites dans leur corps par l'autolysat; les témoins ont survécu.

#### Expériences in vitro.

a) Le liquide cavitaires d'*Arion rufus* est mis en contact sur porte-objet ou verre de montre avec une émulsion de culture.

L'examen, après 30 minutes, montre un début de lyse extracellulaire qui, d'heure en heure, s'accroît.

b) Des *Arion* reçoivent 0,5 cc. de bouillon peptoné.

24 heures plus tard, on prélève le liquide du corps pour le mettre en contact avec une émulsion de *Mycobacterium aquæ*.

Après demi-heure, la lyse débute et s'accroît aux temps suivants.

L'injection de bouillon ne paraît pas accélérer la réaction.

Donc, comme chez les Arthropodes, le liquide de la cavité du corps réagit in vitro, sans l'intervention directe de l'organisme vivant.

#### Injections musculo-cutanées.

Nous avons injecté dans la paroi musculo-cutanée du corps 0,3 cc. d'émulsion de culture.

48 heures après, un *Arion* est mort; aucun signe extérieur n'est visible au point d'inoculation. Les bacilles sont dissé-

minés dans le tissu musculaire et conjonctif. Ils sont lysés, la phagocytose est faible.

L'examen d'autres limaces, 72 heures après l'injection, nous a donné des résultats analogues.

Nous n'avons jamais observé au point d'inoculation de réaction leucocytaire intense, comme on l'observe chez les vertébrés.

La réaction de défense a été lente; l'animal a réagi par la lyse extracellulaire et la phagocytose, qui fut alors secondaire.

Ces essais d'injection dans la musculature n'ont apporté aucun fait nouveau à nos recherches. Les limaces qui ont péri n'ont probablement pas succombé à l'inoculation bacillaire.

Dans un seul cas, nous avons observé, chez une limace qui a résisté à l'infection, une tache noire au point d'inoculation.

Dans toutes les expériences relatées jusqu'ici, les deux genres *Arion* et *Limax* ont réagi d'une façon analogue à l'inoculation de *Mycobacterium aquæ*. *Limax variegatus* cependant paraît moins résistante que les autres espèces.

#### *Helix nemoralis*. — *Helix pomatia*.

Nous avons répété sur les escargots les expériences faites sur les limaces. Les injections furent faites à travers le pied dans la masse viscérale.

24 heures après l'inoculation, le liquide cavitaire d'*Helix nemoralis* présente la lyse des bacilles et une faible phagocytose.

Après 48 heures, la lyse a augmenté, ainsi que la phagocytose. Il n'est pas rare de trouver dans les préparations microscopiques des amas de leucocytes chargés de granulations.

Quatre jours après l'injection, on trouve encore des granulations.

Chez *Helix pomatia*, la réaction, observée dès 6 heures après l'inoculation, a donné les mêmes résultats. La lyse extracellulaire apparaît d'abord, accompagnée, dès la 24<sup>e</sup> heure, d'une phagocytose qui augmente progressivement aux temps suivants. Il semble, dans ce cas, que la phagocytose se généralise lorsque les bacilles ont déjà été affaiblis par l'action lysante du sang.

Les mollusques étudiés, limaces et escargots, ont réagi à l'infection du *Mycobacterium aquæ* et cela d'une façon très variable.

Le bacille ne paraît pas sûrement pathogène pour ce groupe d'invertébrés: il a rarement, et cela seulement dans des cas de surinfection, provoqué la mort.

C'est par lyse extracellulaire et par phagocytose que ces animaux se sont défendus. Il est difficile d'assigner un rôle prépondérant à l'une ou à l'autre de ces réactions, qui sont parfois simultanées, ou, au contraire, débutent à quelques heures de distance l'une de l'autre.

L'injection de substances telles que le bouillon peptoné, la solution physiologique, l'alcool, les faibles doses de cultures atténuées, stimulent la phagocytose, et, parfois, la bactériolyse.

Plus que dans aucun des groupes étudiés, les réactions individuelles ont été sensibles, déconcertantes parfois, rendant toute généralisation impossible, ou du moins téméraire.

## CONCLUSIONS

De notre étude sur les réactions de divers invertébrés à l'inoculation du *Mycobacterium aquæ*, se dégagent les conclusions suivantes:

Les deux processus réactionnels que nous avons observés sont la phagocytose et la bactériolyse extracellulaire. Nous n'avons jamais constaté l'action exclusive de l'un ou de l'autre. Tantôt la réaction cellulaire prédomine, tantôt la réaction humorale. Elles se complètent mutuellement. Le rôle de chacun de ces moyens de défense varie, non seulement d'un embranchement au suivant, mais d'une classe à l'autre, d'une espèce à la voisine, et l'intensité de la réaction dépend de la résistance propre de chaque individu.

Nous répéterons brièvement pour chaque embranchement les résultats globaux auxquels nos recherches ont abouti.

**Vers.** — *OLIGOCHÊTES.* — *Lumbricus terrestris.*

La réaction principale est la phagocytose, qui apparaît très forte dès les premières heures après l'injection. Elle est accompagnée de la lyse extracellulaire qui ne se manifeste qu'ul-

térieurement, comme phénomène secondaire. Les réactions sont très nettes. Dans aucune des autres classes étudiées, nous n'avons observé une réaction cellulaire si intense. *Mycobacterium aquæ* paraît pathogène pour *Lumbricus terrestris*; des vers ont succombé au bout de quelques jours.

Les *HIRUDINÉES* possédant des mâchoires et sécrétant l'hirudine (*Hirudo medicinalis*) n'ont réagi d'aucune façon à l'infection à l'intérieur du corps et dans la couche musculocutanée. Au contraire, dans la bouche, au niveau de la ventouse, les bacilles sont lysés au bout de 12-24 heures.

Les sangsues sans mâchoires et sans hirudine (*Nephelis vulgaris*) réagissent lentement par lyse extracellulaire.

On serait tenté d'admettre un rapport entre la présence d'hirudine dans la bouche des sangsues et la lyse qui s'y opère; d'autre part, l'existence dans la cavité buccale d'un principe lytique pourrait être expliquée par la passivité absolue du liquide coelomique dans la défense contre l'infection bactérienne.

Il est possible aussi que les organes phagocytaires cités par Kowalewsky entrent aussi en jeu pour isoler les bacilles et les empêcher de nuire.

Les **Arthropodes**: *CRUSTACÉS* (*Oniscus murarius*). *INSECTES*: *Coléoptères*, *Hyménoptères*, *Lépidoptères*, *Diptères*, *Orthoptères*.

Les Arthropodes étudiés ont présenté des résultats très concordants entre eux, que l'on observe les larves ou les insectes parfaits. Ils réagissent activement à l'inoculation des bacilles.

C'est la lyse extracellulaire qui intervient d'abord, très forte. La phagocytose n'apparaît que postérieurement, englobant les bacilles déjà granuleux ou affaiblis.

Nous avons noté chez les mouches (*Calliphora erythrocephala*) la transmission des bacilles de la larve par la nymphe à l'insecte parfait; plusieurs auteurs avaient nié cette possibilité.

Les résultats généraux sur les réactions immunitaires des Arthropodes concordent avec ceux qu'ont obtenu Galli-Valerio et Bornand<sup>8</sup> sur *Melolontha vulgaris* inoculé avec *Mycobacterium aquæ*. Ce bacille s'est révélé pathogène pour le hanneton, qui a détruit les bactéries inoculées par lyse extracellulaire, accompagnée de rares phagocytoses.



Nous aboutissons également aux mêmes conclusions que Paillet, qui a travaillé avec d'autres bacilles et d'autres insectes que ceux avec lesquels nous avons expérimenté. La réaction humorale est prépondérante, dans toute la classe des insectes: la phagocytose n'est qu'un adjuvant<sup>14</sup>.

Par contre, nous sommes en opposition avec Metalnikov, qui, tout en constatant la lyse extracellulaire du vibron du choléra chez les chenilles de *Galleria mellonella*, confère à la phagocytose le rôle principal. Ce sont les leucocytes qui sécrètent les lysines, qui englobent les bacilles lysés, qui se groupent pour former des cellules géantes où les bactéries sont détruites. L'immunité naturelle et acquise chez les insectes est une immunité cellulaire<sup>12</sup>.

Les **Mollusques**. — *GASTÉROPODES*: *Arion*, *Limax*, *Helix*, n'ont pas présenté des réactions aussi nettes que celles que nous venons d'exposer dans les précédents embranchements. Ils ont réagi moins énergiquement que les Vers et les Artéropodes et il est difficile de préciser lequel des processus réactionnels prédomine.

Dans certains cas, la phagocytose est la plus active; dans d'autres elle n'apparaît que postérieurement à la lyse, comme phénomène secondaire.

*Mycobacterium aquæ* n'est pas toujours pathogène pour les Mollusques étudiés.

Galli-Valerio et Bornand ont constaté une forte mortalité chez les *Limax* et les *Arion* infectés par ce même bacille. Ils ont constaté aussi une faible défense, par lyse extracellulaire et phagocytose secondaire.

Nos essais d'immunisation ont provoqué la mort des *Arion* par surinfection. Il n'y a donc pas eu d'immunité acquise.

Nous avons pu artificiellement intensifier la lyse par l'action de la chaleur, l'injection de bouillon peptoné et de solution physiologique. L'élévation de température, l'injection de bouillon, de solution physiologique, d'alcool, de faibles doses successives de culture virulente stimulent la phagocytose.

Il est probable que la variété des réactions immunitaires chez les Invertébrés dépend de facteurs encore mal connus: composition du liquide cavitaire, teneur en albumine, en sels minéraux, acidité ou alcalinité du milieu interne, état physico-chimique du plasma, des leucocytes et des bacilles. Ce



sont autant de problèmes à élucider. Dans l'état actuel de nos connaissances, on ne peut pas superposer les réactions immunitaires des invertébrés à celles des animaux supérieurs.

Le problème de l'immunité des êtres inférieurs est extrêmement complexe. L'étude n'en est qu'à ses débuts, à la phase expérimentale: plus les faits observés deviennent nombreux, plus la question se complique.

Il faut donc user d'une grande prudence dans l'interprétation des résultats expérimentaux, ne pas perdre de vue ce qu'ils ont de partiel, et se garder de généraliser des solutions qui, extrapolées d'un groupe zoologique à un autre, perdent toute leur valeur.

### BIBLIOGRAPHIE

- <sup>1</sup> BORDET. — Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. Paris 1920.
- <sup>2</sup> CANTACUZÈNE. — C. R. Soc. de Biologie, t. LXXIII, 1912, p. 664.  
—                   »           »           t. LXXIV, p. 409 à 411.  
—                   »           »           t. LXXXIV, 1921, p. 1007.  
—                   »           »           t. LXXXIX, 1923, vol. jub. p. 48.
- <sup>3</sup> COUVREUR. —                   »           »                   »           »           p. 120.
- <sup>4</sup> COUVREUR et CHAHOVITCH. — C. R. Ac. des Sc., t. 471, p. 1126 et 711.
- <sup>5</sup> ERBER (Berthe). — C. R. Soc. de Biologie, t. LXXXIX, 1923, vol. jub., p. 423.
- <sup>6</sup> FIESSINGER, — Les ferments des leucocytes, Paris 1920.
- <sup>7</sup> GALLI-VALERIO. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 63, 1912, p. 559.
- <sup>8</sup> GALLI-VALERIO et BORNAND. — Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. 101, p. 182. 1926.
- <sup>9</sup> KOLLMANN. — Annales Soc. nat. de Zool. t. VIII, p. 1-239, 9<sup>e</sup> série.
- <sup>10</sup> LEFEVRE DE ARRIC. — C. R. Soc. de Biologie, 1921, p. 671.
- <sup>11</sup> MARCHANT (Mlle). — Thèse Faculté de Médecine, Lausanne 1927.
- <sup>12</sup> MÉTALNIKOW. — C. R. Soc. de Biologie, t. LXXXIII, p. 119, 1920.  
—                   C. R. Ac. Soc., t. 471, p. 757, 1920.  
—                   Annales de l'Institut Pasteur, 1923, p. 528 et 680.  
—                   L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles *Galleria mellonella* (Monographies inst. Pasteur 1927), Paris.
- <sup>13</sup> METCHNIKOFF. — L'immunité dans les maladies infectieuses, Paris 1901.  
—                   Annales de l'Institut Pasteur 1895, p. 433 et 462.
- <sup>14</sup> PAILLOT. — C. R. Ac. Sc., 1919, t. 169, p. 1122.  
—                   C. R. Soc. Biol., t. LXXXIII, p. 425, p. 278.  
—                   »                   t. LXXXIV, p. 737, 1921.  
—                   Les maladies bactériennes des insectes (Annales des épiphyties, t. VIII, p. 95), 1922.
- <sup>15</sup> ZOTTA. — C. R. Soc. Biol. 1921, t. LXXXIV, p. 928.