

## TRAVAUX ORIGINAUX

### Contribution à l'Étude des Antigènes Formolisés

#### I. L'antigène pneumococcique *in vitro*

Par C. E. PICO et J. NEGRETE.

On sait déjà que les suspensions de *D. pneumoniae* dans les milieux aqueux perdent ou diminuent considérablement sa capacité antigénique *in vivo*. D'autre part, l'expérience acquise à l'Instituto Bacteriológico (D. N. H.), nous démontre que ces suspensions de pneumocoques formolisées au 5 o/oo, conservent longtemps la propriété de produire des anticorps.

Ces faits, nous ont conduit à faire l'étude comparative de l'antigène pneumococcique formolisé et du même antigène sans formol, surtout au point de vue de sa complexité, selon les recherches de HEIDELBERG, AVERY, SAVINO, etc.

On peut résumer les résultats des recherches de ces auteurs, que nous avons pu corroborer, en la forme suivante:

L'extraction aqueuse de l'antigène pneumococcique permet la séparation de trois fractions: une insoluble, formée par les corps bactériens, susceptible d'agglutiner avec l'antisérum correspondant; autre fraction, soluble, dans laquelle on peut encore séparer deux fractions: une première qui pourrait être représentée par le précipitinogène (substance spécifique soluble, à nature hydrocharbonée) et une seconde par l'antigène fixateur du complément, à nature complexe, et où certaines nucléoalbumines auraient un rôle important, qui a la propriété de différencier l'espèce *D. pneumoniae* mais pas le type.

D'après nos travaux, l'antigène formolisé a des propriétés toutes spéciales au point de vue de la solubilité des antigènes. En voici un résumé.

D'abord, la substance spécifique soluble ne s'extrait pas avec la même facilité que celle de l'antigène naturel. Il faut, avec l'antigène formolisé, un pH de 4.7, et une haute température pour obtenir la libération du précipitinogène. A température du laboratoire on ne peut pas séparer le précipitinogène soit à pH 4.7, ou à 7, 7.6 ou 8; à 100° C., on extrait seulement le précipitinogène à pH 4.7. Cette observation pourrait expliquer la persistance de la valeur antigénique des suspensions pneumococciques formolisées que nous avons déjà mentionné. Nous devons faire noter que le pneumocoque du type III a besoin d'une concentration de formol plus grande (10 o/oo au lieu de 5 o/oo) que les autres types (I y II), pour éviter l'extraction de la substance hydrocharbonnée spécifique.

En considérant la fixation du complément, on observe aussi une différence entre l'antigène formolisé et celui sans formol. Pendant que la fraction aqueuse de ce dernier est inactive ou presque à pH 4.7, elle est nettement fixatrice avec l'antigène formolisé; avec la fraction insoluble on n'observe pas de grandes différences.

La technique employée dans nos expériences a été la suivante:

Les cultures de *D. pneumoniae* en bouillon glycosé de pH 8,3, on été tuées par le formol: 5 o/oo pour les types I et II, et 10 o/oo pour le type III. Après un séjour de 4 à 5 jours à la température du laboratoire les microbes on été séparés par centrifugation et émulsionnés dans la solution physiologique jusqu'à une concentration de 20 milliards par centimètre cubique. Cette suspension a été portée au pH. voulu et conservée jusqu'au lendemain à la température du laboratoire ou portée pendant 10 à 15 minutes à 100°. Les microbes séparés par centrifugation et suspendus dans l'eau physiologique d'une part, et le liquide surnageant, de l'autre, on constitué les antigènes que nous avons étudié.

Pour démontrer que l'absence du précipitinogène dans la fraction aqueuse de l'antigène formolisé était un fait réel et non dû à une possible inhibition

exercée par le formol sur le phénomène, nous avons fait des expériences de control en ajoutant du formol, à la même concentration aux extraits acquex de *D. pneumoniae* sans addition préalable de formol et nous avons pu constater qu'ils donnaient encore l'anneau de précipitation en présence de l'anti-sérum correspondant.