

## SUR L'IMMUNISATION A L'AIDE DES TOXONES

PAR

GEORGES DREYER ET THORVALD MADSEN

AVEC UNE PLANCHE (1)

L'effet d'un mélange de poison diphtérique avec l'antitoxine diphtérique dépend essentiellement de la proportion de ces deux substances. On peut s'en convaincre en examinant des mélanges d'une quantité donnée de poison diphtérique avec des quantités décroissantes d'antitoxine. Comme on le sait, la quantité de poison diphtérique,  $L_0$ , exactement neutralisée par 1 unité d'immunisation, contient des doses minima mortelles, en nombres atteignant 50 et même 100. Néanmoins on voit que la quantité d'antitoxine ajoutée à  $L_0$  peut baisser jusqu'à  $\frac{7}{8}$  ou  $\frac{1}{2}$  d'unité d'immunisation d'après la nature des poisons, avant de provoquer un effet toxique correspondant au poison diphtérique sans antitoxine. Avant ce moment, le mélange aura des propriétés tout autres.

Le poison diphtérique sans antitoxine tue des cobayes en quelques jours, avec lésions pathologico-anatomiques typiques, si les doses en sont considérables; à moindre dose, il produit un vaste œdème suivi de nécrose et d'alopécie. Au contraire, même en quantité très grande, ce mélange de poison et d'antitoxine avec un petit excès de poison ne possède pas le pou-

voir de tuer rapidement les animaux d'expériences; il produit seulement un œdème restreint et mou, qui ne laisse jamais de traces permanentes. Quelques semaines après l'introduction du mélange dans l'organisme, on observe presque toujours des paralysies dont le cours est tout à fait typique.

M. EHRLICH a tâché d'expliquer ces observations par la supposition que le poison diphtérique est une substance compliquée et composée d'au moins 2 éléments différents. L'un, *la toxine*, a la plus grande affinité pour l'antitoxine qui, pour cette raison, la neutralise tout d'abord; elle a la propriété déjà mentionnée de tuer instantanément. L'autre élément, *la toxone*, a pour l'antitoxine une affinité qui est bien plus faible que celle de la toxine, et pour cette raison elle ne peut être neutralisée par l'antitoxine qu'après la neutralisation de toute la toxine; comme nous l'avons dit ci-dessus, ses propriétés sont d'une nature lente. La toxine et la toxone ont ceci de commun, que le groupe haptophore fixant l'antitoxine est supposé différer du groupe toxophore qui possède les qualités toxiques<sup>1</sup>.

Dans sa théorie bien connue de la formation de l'antitoxine, dite *Seitenkettentheorie*, M. EHRLICH admet que la partie du poison qui est fixée par l'antitoxine, et la partie fixée par l'organisme, sont identiques. Comme les toxines ainsi que les toxones se fixent à l'antitoxine, on doit supposer que leurs groupes haptophores sont de même nature quoique leurs affinités soient différentes. Pourvu qu'il en soit ainsi, on devrait s'attendre à pouvoir produire l'immunité et la formation d'antitoxine en injectant des toxines, et à ce que l'antitoxine produite de cette manière aurait les mêmes effets que celle produite par l'immunisation ordinaire.

Dans son mémoire intitulé *Die Werthbemessung des Diph-*

<sup>1</sup> TH. MADSEN: *La constitution du poison diphtérique*. Annales de l'Institut Pasteur. 1899.

*therieheilserums und deren theoretische Grundlagen*<sup>1</sup>, M. EHRLICH a supposé déjà la possibilité d'immuniser avec les toxones; mais comme il n'existait pas d'essais à ce sujet, nous nous sommes décidés à examiner expérimentalement cette question. — Nos animaux d'expériences étaient un lapin, une chèvre et des chevaux. Nous avons employé trois poisons différents *C*, *E* et *F*, dont *C* et *E* déjà ont été décrits en détail<sup>2</sup>.

Voici les constantes:

	$(T) = 0^{cc},009$
le poison <i>C</i> (Cobayes)	$L_{\dagger} = 0^{cc},082$
	$L_0 = 0^{cc},6$
	Quantité de toxone = 50
	$(T) = 0^{cc},0076$
le poison <i>E</i> (Cobayes)	$L_{\dagger} = 0^{cc},76$
	$L_0 = 0^{cc},6$
	Quantité de toxone = 33
	$(T) = 0^{cc},0076$
	$L_{\dagger} = 0^{cc},61$
le poison <i>E</i> (Lapins)	$L_0 = 0^{cc},5$
	Quantité de toxone = 33
	$L_0 = 0^{cc},62$
le poison <i>F</i> (Cobayes)	Quantité de toxone = 50

On employait comme antitoxine un sérum très faible qui dans un grand nombre de déterminations minutieuses a donné continuellement 32 unités d'immunisation par centimètre cube.

Les détails des essais se trouvent indiqués dans les tableaux qui suivent. Les mélanges de poison et d'antitoxine qu'on employait à l'immunisation de la chèvre et du cheval étaient:

<sup>1</sup> *Klin. Jahrb.* 1897.

<sup>2</sup> TH. MADSEN, *l. c.* G. DREYER: *Experimentelle Undersøgelser over Difterigiftens Toxoner.* Disp. 1900.

pour le poison	$C: 0^{\text{cc}},6 + \frac{160}{200} (I)$	(la limite de toxone	$\frac{150}{200} (I)$
— —	$E: 0^{\text{cc}},6 + \frac{185}{200} -$	— —	$\frac{167}{200} -$
— —	$F: 0^{\text{cc}},62 + \frac{175}{200} -$	— —	$\frac{150}{200} -$

c'est-à-dire que dans tous les cas, la nature du mélange garantissait complètement qu'il ne pouvait produire aucune action toxique sur les cobayes.

Pour l'immunisation du lapin on employait ordinairement la proportion:

$$0^{\text{cc}},5 \text{ du poison } E + \frac{175}{200} (I) \text{ (la limite de toxone } \frac{167}{200} (I))$$

En pratiquant l'immunisation, on suivait les règles ordinaires: On commençait par les petites doses en les augmentant régulièrement; on ne faisait aucune nouvelle injection avant que la réaction de la précédente eût tout à fait disparu. Les échantillons du sang furent ordinairement prises 8 à 10 jours après la dernière injection; à ce moment, la courbe de l'antitoxine culmine le plus souvent après une seule injection de poison diphtérique<sup>1</sup>.

Les *lapins* étaient assez difficiles à immuniser, parce que beaucoup d'entre eux moururent de marasme, même longtemps après l'injection de toxone. Néanmoins il y en eut un seul chez lequel on réussit à achever l'immunisation. Le <sup>28</sup>/<sub>9</sub> 1899, il avait reçu une injection intraveineuse de 0<sup>cc</sup>,5 de poison + <sup>192</sup>/<sub>200</sub> (I), c.-à-d. 8 équivalents de toxone. 16 jours après, il fut attaqué d'une paralysie légère. 16 jours plus tard, il était parfaitement rétabli. Le <sup>25</sup>/<sub>11</sub> 99, l'animal reçut environ 62 équivalents de toxones libres, et il résista assez bien à cette quantité considérable de poison, car, environ 4 semaines après, il n'eut qu'une paralysie très légère et très courte. Dès lors on put augmenter peu à peu la dose, de sorte que, 7 mois après le commencement de l'immunisation, le lapin résistait sans inconvénient à un mélange de 50<sup>cc</sup> de poison et de <sup>17500</sup>/<sub>200</sub>

<sup>1</sup> SALOMONSEN et MADSEN: *Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie*. Annales de l'Inst. Pasteur. 1897 et 1899.

d'unités d'immunisation, ce qui équivaut à un peu plus de 6<sup>cc</sup>,25 de poison sans antitoxine ou à 2500 équivalents de toxones libres, et représente environ 100 fois le mélange qui au bout de 2—3 semaines produit sûrement une paralysie mortelle chez des lapins du même poids. Les deux premières attaques de paralysies étant heureusement passées, l'animal se porta tout à fait bien pendant tout le reste de l'immunisation; il n'apparut pas d'œdème au point d'injection, l'appétit n'était pas affecté, la température ne montait pas et le poids augmentait régulièrement de jour en jour.

Il s'y était donc évidemment produit *une immunité prononcée contre l'action toxique des toxones*. Pour savoir s'il en était de même dans le cas de la toxine, le  $\frac{12}{5}$  1900, on injecta dans la veine d'une oreille 6<sup>cc</sup>,25 du poison sans antitoxine: c'est 822 fois la dose mortelle ou, en équivalents, justement la même quantité de poison non neutralisé que dans le dernier mélange injecté: 50<sup>cc</sup> de poison +  $\frac{17500}{200}$  (I). On ne constata aucune réaction chez l'animal, ni après la première injection ni après la dernière. Plus tard on put injecter impunément 15<sup>cc</sup> de poison. *L'animal avait donc acquis l'immunité et contre les toxones et contre les toxines*.

Avant de commencer l'immunisation du lapin, on avait constaté que son sérum ne contenait pas normalement de l'antitoxine. — Plus tard aussi il était impossible de découvrir dans son sang des traces d'antitoxine, pas même par une saignée faite le  $\frac{4}{5}$  00, alors que l'animal avait reçu plus de 5000 équivalents de toxone représentant plus de 13<sup>cc</sup> de poison non neutralisé. Comme le montrait le mesurage du  $\frac{15}{6}$  00 à cet égard, il n'y avait aucune différence quand au lieu des toxones on employait du poison ordinaire.

Quant à la chèvre, on constata la possibilité d'augmenter la dose assez rapidement dans le courant d'environ deux mois — jusqu'à 150<sup>cc</sup> de poison +  $\frac{46250}{200}$  (I) — sans que l'animal en fût sensiblement affecté. Une fois seulement l'injection fut

suivie d'une petite augmentation de la température et d'un œdème insignifiant, qui dura 24 heures; on n'a jamais observé aucune autre réaction locale ni des altérations dans son bien-être. Avant le commencement de l'expérience, la teneur du sang en antitoxine était au-dessous de 0,1 (*I*) (c'est-à-dire qu'elle était trop petite pour permettre des mesures exactes); le traitement en question la porta à 5 et même à 10 unités d'immunisation par centimètre cube. Plus tard, la même chèvre a supporté sans inconvénient de grandes quantités du poison exempt d'antitoxine.

Deux des quatre *chevaux*, sur lesquels les expériences ont été faites, les n<sup>os</sup> 18 et 26, ont été traités exactement avec les mêmes *quantités* de toxone (poison *E*). Cependant il ne fut pas possible de faire les injections aux mêmes *intervalles* de temps pour les deux animaux, parce qu'ils réagirent d'une manière extrêmement différente.

Pendant toute l'expérience, le n<sup>o</sup> 18 ne donna presque pas de réaction. Seulement il arriva quelquefois qu'après l'injection de grandes doses du poison sous la peau, on put observer un minime œdème local qui a toujours disparu dans les 24 heures et qui était quelquefois accompagné d'une augmentation de température de quelques dixièmes de degrés.

Au contraire, le cheval n<sup>o</sup> 26 souffrit considérablement dès les premières petites injections de toxone et, la dose ayant été augmentée, de temps en temps, chaque injection fut suivie d'un fort œdème qui descendait sous le ventre et dans les jambes; en même temps, la température s'élevait jusqu'à environ 40°, ce qui durait plusieurs jours pendant lesquels l'animal était assez souffrant et son appétit faible.

L'examen du sérum de ces animaux révéla aussi de grandes différences. Le cheval n<sup>o</sup> 18 ayant reçu en tout 111<sup>cc</sup> de poison mélangé avec environ 170 (*I*), équivalant seulement à 8<sup>cc</sup> de poison pur, son sang prit une teneur d'antitoxine entre 50 et 100 unités d'immunisation par centimètre cube. L'immunisa-

tion fut continuée durant les 5 semaines suivantes et, pendant ce temps-là, la teneur du sérum de ce cheval augmenta considérablement de sorte qu'après l'injection de  $120^{\text{cc}} + \frac{37500}{200} (I)$  le sérum donnait plus de 100 (*I*) par centimètre cube, et après  $300^{\text{cc}}$  de poison  $+ \frac{92500}{200} (I)$  le sérum contenait entre 160 et 200 (*I*) par centimètre cube. Aux phases correspondantes, le cheval n° 26 ne possédait qu'environ 30 unités d'immunisation par centimètre cube de sérum, teneur qu'il n'excéda jamais. Après une injection totale de  $130^{\text{cc}}$  de poison libre pendant toute l'immunisation, on constata pour le n° 18, même entre 350 et 400 (*I*) par centimètre cube, 9 jours après la dernière injection d'environ  $800^{\text{cc}}$  d'un mélange de poison et d'antitoxine.

Par leurs grandes *différences individuelles vis-à-vis des toxones*, ces deux chevaux montrent une analogie frappante avec ce qu'on vient de constater pour la toxine<sup>1</sup>. L'un des chevaux ne présentait presque aucune réaction ni locale ni générale et son sang gagnait rapidement une quantité d'antitoxine assez considérable; l'autre montrait au contraire une réaction excessivement forte après l'injection de quantités de toxone exactement identiques, sans que la teneur de son sérum en antitoxine gagnât notablement.

L'immunisation des deux autres chevaux n°s 24 et 25 fut commencée avec le poison *E* de la même manière que pour les deux précédents. Après l'injection d'environ  $174^{\text{cc}}$  en tout du mélange de poison et d'antitoxine, c.-à-d. l'équivalent d'environ  $35^{\text{cc}}$  de poison libre, les animaux ne montraient pas 40 (*I*) par centimètre cube; on commença alors à injecter le poison *F*, et pendant les deux mois suivants on injecta environ  $1600^{\text{cc}}$  du mélange de poison et d'antitoxine, l'examen du sang faisant constater que le n° 24 n'avait que 50, et le n° 25 seulement 100 (*I*) par centimètre cube.

<sup>1</sup> SALOMONSEN og MADSEN: *Om individuel Prædisposition til Antitoxindannelse*. Overs. over D. Kgl. Danske Vidensk. Selskabs Forh. 1898.

Après l'injection du poison *C*, les chevaux ne montraient qu'une réaction minimale, mais après l'injection du poison *F* le cas était tout autre. C'étaient surtout les grandes doses de ce poison qui provoquaient un œdème considérable et une élévation de la température d'environ 39°—40°. En somme, les toxones du poison *F* semblaient avoir un effet plus intense que celles des poisons *E* et *C*. Ayant constaté par une saignée, le  $\frac{12}{3}$  00, que le sérum du n° 18 avait baissé jusqu'à 150 (*I*) par centimètre cube, nous avons recommencé l'immunisation avec le poison *F*, injecté dans la proportion 0<sup>o</sup>,62 de poison +  $\frac{175}{200}$  (*I*). Quoiqu'on eût commencé avec un nombre d'équivalents de toxones (2000) bien moindre que le nombre contenu dans la dernière injection du poison *E* (19950), l'effet, tant local que général, était bien plus grand. Par la suite, cette forte réaction fut constatée pour toutes les injections des toxones du poison *F*.

Chez les petits animaux d'essai nous avons déjà constaté *une différence analogue dans les propriétés qu'ont différentes toxones de provoquer des œdèmes et des paralysies.*

Avant de commencer l'immunisation des 4 chevaux, on a examiné si d'ordinaire leur sang *contenait de l'antitoxine.* Les 3 chevaux n'en avaient pas du tout; mais le n° 26 seul contenait une quantité minimale d'antitoxine représentant environ  $\frac{1}{4}$  (*I*).

Comme on l'a mentionné auparavant, c'était le cheval qui après l'immunisation montrait les plus minimes quantités d'antitoxine, soit environ 30 unités d'immunisation par centimètre cube. Cette observation semble contredire la conjecture que les animaux ayant normalement dans leur sang une quantité notable d'antitoxine seraient les meilleurs pour la production de l'antitoxine.

Les expériences mentionnées ont démontré que les toxones permettent d'obtenir l'immunité et qu'en les employant, on a réussi à produire de l'antitoxine, quelquefois même en quantité

assez considérable dans le sang des animaux d'essai de différentes espèces.

Néanmoins on ne peut pas nier que ces expériences ne prêtent à la critique. On a déjà démontré que certains mélanges de poison et d'antitoxine qui agissent comme les toxones sur les cobayes, produisent sur les lapins<sup>1</sup> les effets des toxines. Comme les constantes et la limite des toxones ne sont pas connues pour les deux espèces d'animaux employés, cheval et chèvre, nous sommes hors d'état de décider si le mélange de poison et d'antitoxine employé pour l'immunisation ne s'est pas comporté comme les toxines vis-à-vis de ces deux espèces d'animaux. Il est évident qu'il est impossible d'élever cette objection contre les essais sur le lapin, car alors on était absolument sûr que le mélange avait seulement l'effet des toxones.

Il serait intéressant d'examiner comment les animaux immunisés à l'aide des toxones réagissent contre le poison diphtérique ordinaire. Comme on peut supposer que les groupes haptophores de la toxine et de la toxone agissent avec une avidité différente, on pouvait croire qu'une injection de toxine produirait une réaction toute différente de celle de la quantité équivalente de toxone, c'est-à-dire la quantité de toxone capable de neutraliser la même quantité d'antitoxine que la toxine.

Après l'immunisation par les toxones, le lapin, la chèvre et les quatre chevaux ont reçu des quantités de poison équivalant à la quantité de toxones à laquelle ils avaient résisté après la dernière injection. Le poison ordinaire n'a jamais produit une plus grande réaction que les toxones, et ne semble pas avoir provoqué une production d'antitoxine plus forte que les toxones.

Ces faits permettaient de supposer qu'il n'y avait pas de différence essentielle entre la production d'antitoxine par les toxines et par les toxones. Nous avons cherché à répondre

<sup>1</sup> DREYER, *l. c.*

à cette question en comparant des *courbes d'antitoxine pour le poison pur et pour la quantité équivalente des toxones*.

Cet examen a été fait par rapport au cheval n° 18. On employa le mélange déjà mentionné: 0<sup>cc</sup>,62 du poison  $F + \frac{175}{200}(I)$ , où  $\frac{1}{8}$  du poison est libre. Le  $26/4$  1900, on injecta 800<sup>cc</sup> de ce poison  $+ \frac{224000}{200}(I)$ , équivalant à 100<sup>cc</sup> de poison libre. Le  $14/5$ , l'animal reçut 100<sup>cc</sup> de ce même poison sans antitoxine. Les réactions locales et générales furent presque tout à fait les mêmes après les deux injections. Les courbes annexées indiquent la teneur des sérums en antitoxine.

En considérant les deux courbes on s'aperçoit que leur allure est presque identique, ce qui est en faveur de la supposition exprimée plus haut sur l'identité des groupes haptophores de la toxine et de la toxone.

Les expériences mentionnées ont montré qu'à l'aide *d'injections systématiques des toxones, dont les propriétés diffèrent tant de celles des toxines, on peut produire chez les différentes espèces d'animaux une immunité et contre les effets toxiques des toxones et contre ceux des toxines*. On réussit aussi à produire la *substance antitoxique* chez la chèvre et le cheval, mais pas chez le lapin. Cette antitoxine agissait non seulement sur les toxones, mais aussi sur les toxines, fait rendu évident par l'applicabilité à l'antitoxine des mesures d'après la dernière méthode de M. EHRLICH.

Les observations indiquées montrent qu'on se trompe en supposant qu'une forte réaction soit nécessaire pour produire beaucoup d'antitoxine. Au contraire, on a réussi à produire chez un animal un sérum très efficace en injectant dans son organisme une substance qui ne produit pas de symptômes morbides notables.

Peut-être avons-nous justement dans cette propriété immunisante un moyen de démontrer l'existence du poison libre dans un mélange de poison et d'antitoxine apparemment neutre

ou d'un poison dont les propriétés sont trop faibles pour produire aucune action délétère.

Il est probable que cette propriété immunisante est précisément notre meilleur réactif dans le cas d'un poison incapable d'exercer aucun effet toxique sur l'organisme.

Immunisation d'une chèvre.

Injection.						Saignée		Réaction après l'injection
Date	Mode d'injection	Poison	Dose			Date	(I) par centimètres cubes sérum	
			en centimètres cubes $+\frac{x}{200}$ (I)	Quantité de poison non neutralisé en centimètres cubes	Nombre d'équival. de toxones libres			
5/1299	subcut.	E	0,3 + $\frac{92,5}{200}$	0,023	7,5	4/12 99	< 0,1	Pas de réaction, ni locale ni générale.
12/1299	"	"	0,6 + $\frac{185}{200}$	0,045	15			—
20/1299	"	"	1,2 + $\frac{370}{200}$	0,09	30			—
28/1299	"	"	2,4 + $\frac{740}{200}$	0,18	60			—
6/100	"	"	6 + $\frac{1850}{200}$	0,45	150			—
13/100	"	"	15 + $\frac{4625}{200}$	1,13	375			—
20/100	"	"	30 + $\frac{9250}{200}$	2,26	750			—
29/100	"	"	60 + $\frac{18500}{200}$	4,51	1500			Petit œdème, disparu en 24 heures.
7/200	"	"	150 + $\frac{46250}{200}$	11,28	3750	17/2 00	> 5 < 10	Pas de réaction.

## Immunsation d'un lapin.

Date	Injection.						Saignée		Réaction après l'injection
	Poids du lapin grammes	Mode d'injection	Poison	Dose			Date	(I) par centimètres cubes sérum	
				en centimètres cubes $+ \frac{x}{200} (I)$	Quantité de poison non neutralisé en centimètres cubes	Nombre d'équival. de toxones livres			
28/9 99	1240	intravein.	E	0,5 + $\frac{192}{200}$	0,02	8	22/9 99	< 0,1	Pas de réaction. 14/10. Paralyse légère, complètement disparue le 30/10 99.
25/11 99	1790	"	"	1,25 + $\frac{437,5}{200}$	0,16	63			Pas de réaction; bon appétit. Le poids augmente. 27/12 99, Trace de paralyse, disparue après 4 jours.
6/3 00	2130	"	"	5 + $\frac{1750}{200}$	0,63	250			Pas de réaction.
14/3 00	2150	"	"	10 + $\frac{3500}{200}$	1,25	500			—
22/3 00	2200	"	"	15 + $\frac{5250}{200}$	1,88	750	26/3 00	< 0,1	—
14/4 00	"	subcut.	"	25 + $\frac{8750}{200}$	3,15	1250			Petit œdème, disparu en 24 heures; bon appétit. Pas de paralyse.
25/4 00	"	"	"	50 + $\frac{17500}{200}$	6,25	2500	4/5 00	< 0,1	—
12/5 00	2240	intravein.	"	6,25					Pas de réaction.
22/5 00	2280	"	"	9					—
1/6 00	2290	subcut.	"	12					Petit œdème, disparu en 2 jours. Pas de nécrose; pas de paralyse. Bon appétit.
11/6 00	"	"	"	15			15/6 00		12/6. Fort œdème. 16/6. Abscès au point d'injection. Diminution du poids. 18/6. Mort de pneumonie et d'empyème.
								< 0,1	

Immunisation du cheval n° 18.

Injection.						Saignée		Réaction après l'injection
Date	Mode d'injection	Poison	Dose			Date	(I) par centimètres cubes sérum	
			en centimètres cubes + $\frac{x}{200}$ (I)	Quantité de poison non neutralisé en centimètres cubes	Nombre d'équival. de toxones livres			
27/1199	subcut.	E	0,3 + $\frac{92.5}{200}$	0,023	7,5	24/1199	< 0,1	Pas de réaction locale. Bon appétit. Elévation de la température jusqu'à 37°,2.
5/1299	"	"	0,6 + $\frac{185}{200}$	0,045	15			Pas de réaction.
12/1299	"	"	1,2 + $\frac{370}{200}$	0,09	30			—
20/1299	"	"	1,8 + $\frac{555}{200}$	0,135	45			—
29/1299	"	"	4,8 + $\frac{1480}{200}$	0,36	120			—
5/100	"	"	12 + $\frac{3700}{200}$	0,9	300			—
12/100	"	"	30 + $\frac{9250}{200}$	2,26	750			—
19/100	"	"	60 + $\frac{18500}{200}$	4,51	1500	23/100	> 50 < 100	—
26/100	"	"	120 + $\frac{37000}{200}$	9,02	3000	30/100	> 90 < 100	Petit œdème, disparu en 24 heures. Petite élévation de la température.
3/200	"	"	300 + $\frac{92500}{200}$	22,56	7500	3/200	< 100	Pas de réaction locale. Bon appétit. Elévation de la température jusqu'à 38°,3.
						10/200	> 160 < 200	
13/200	"	"	399 + $\frac{123025}{200}$	30,00	9975	17/200	> 200	—
						26/200	> 300	
25/200	"	"	798 + $\frac{246050}{200}$	60,00	19950	6/300	> 350 < 400	Petit œdème, disparu en 24 heures. Petite élévation de la température.
						12/300	> 150	
33/300	"	F	50 + $\frac{14200}{200}$	6,25	2000			
30/300	"	"	100 + $\frac{28000}{200}$	12,5	4000			
8/400	"	"	200 + $\frac{56000}{200}$	25	8000			Après les injections, élévation de la température jusqu'à 39° et œdème assez fort, qui persiste 4-6 jours.
17/400	"	"	400 + $\frac{112000}{200}$	50	16000	20/400	> 100	
26/400	"	"	800 + $\frac{224000}{200}$	100	32000			
14/500	"	"	100					

## Immunisation du cheval n° 26.

Injection.						Saignée		Réaction après l'injection
Date	Mode d'injection	Poison	Dose			Date	(I) par centimètres cubes sérum	
			en centimètres cubes + $\frac{x}{200}$ (I)	Quantité de poison non neutralisé en centimètres cubes	Nombre d'équival de toxones livres			
15/300	subcut.	E	0,3 + $\frac{92,5}{200}$	0,023	7,5	1/500	< 0,1	Pas de réaction.
23/300	"	"	0,6 + $\frac{185}{200}$	0,045	15			—
30/300	"	"	1,2 + $\frac{370}{200}$	0,09	30			Petit œdème. Pas d'élévation de la température.
8/400	"	"	1,8 + $\frac{555}{200}$	0,135	45			Fort œdème, disparu en 8 jours. Élévation de la température jusqu'à 39°—40°.
17/400	"	"	4,8 + $\frac{1440}{200}$	0,36	120			—
25/400	"	"	12 + $\frac{3700}{200}$	0,9	300			—
2/500	"	"	30 + $\frac{9250}{200}$	2,26	750			—
9/500	"	"	60 + $\frac{18500}{200}$	4,51	1500			—
11/500	"	"	120 + $\frac{37000}{200}$	9,2	3000	24/500	30	Réaction très forte. Tp. jusqu'à 40°. Fort œdème, qui descendait sous le ventre et était constatable encore le 11/6.
11/600	"	"	300 + $\frac{92500}{200}$	22,56	7500	20/600	env.30	Réaction très forte.

