

ACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LILLE

ANNÉE SCOLAIRE
1922-1923

THÈSE

N° 29

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le 29 Juin 1923, à 5 heures 1/2

PAR

POTENTIER (MAURICE-GUSTAVE)

Né le 23 Novembre 1899, à La FÈRE (Aisne)

La réaction au sérum frais

par la méthode de saturation d'ESCHBACH et E. DUHOT

pour le diagnostic de la Syphilis

*Le Candidat répondra, en outre, aux questions qui lui seront adressées
sur les différentes parties de l'enseignement médical*

Président de la thèse : M. COMBEMALE

MM. BRETON

Suffragants :

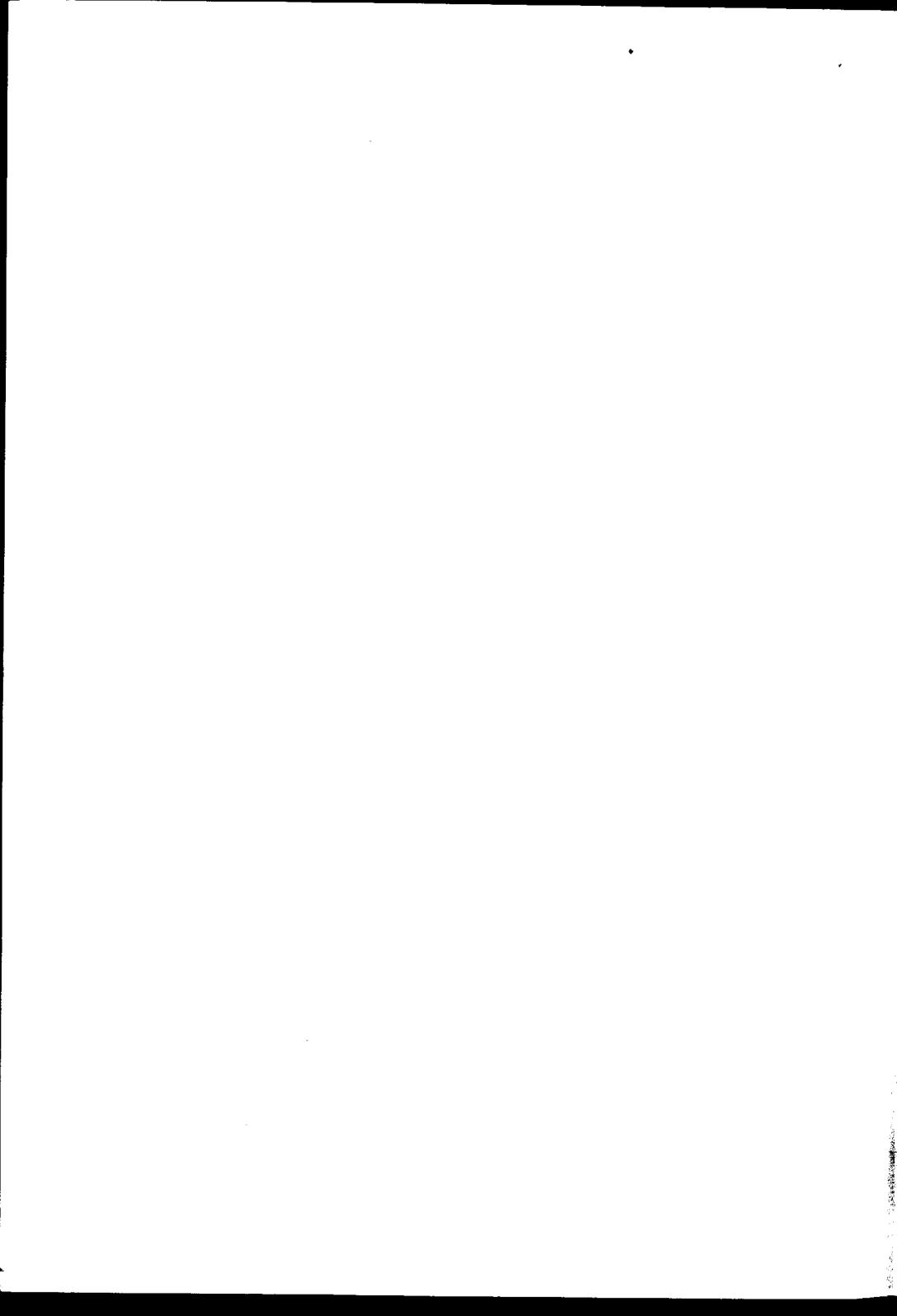
PIERRET

DUHOT

Imp. LEBLANC & DURANT
204, Rue Solférino
LILLE







FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LILLE

ANNÉE SCOLAIRE
1922-1923

THÈSE

N° 29

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

Présentée et soutenue le 29 Juin 1923, à 5 heures 1/2

PAR

POTENTIER (MAURICE-GUSTAVE)

Né le 23 Novembre 1899, à La FÈRE (Aisne)

La réaction au sérum frais

par la méthode de saturation d'ESCHBACH et E. DUHOT

pour le diagnostic de la Syphilis

*Le Candidat répondra, en outre, aux questions qui lui seront adressées
sur les différentes parties de l'enseignement médical*

Président de la thèse : M. COMBEMALE

MM. BRETON

Suffragants :

PIERRET

DUHOT

Imp. LEBLANC & DURANT

204, Rue Solférino

LILLE



UNIVERSITÉ DE LILLE

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : M. P. CHARMEIL (*, I. ☼). — **Assesseur :** M. GÉRARD E. (*, I. ☼)

Clinique médicale	MM. LEMOINE (*, I. ☼), professeur
	COMBEMALE (O. *, I. ☼, M), id.
	GAUDIER (*, ☼, I. ☼), id.
Clinique chirurgicale	LAMBRET (O. *, I. ☼), id.
Clinique des mal. cutanées et syphilit.	CHARMEIL (*, I. ☼), id.
Clinique obstétricale	BUE (*, I. ☼), id.
Pathologie interne et expérimentale et Clinique des maladies de l'appareil digestif	SURMONT (*, I. ☼), ☼ id.
Pathologie externe et Clinique des maladies des voies urinaires	POTEL (*, ☼, I. ☼), id.
Anatomie pathol. et Pathol. générale.	CURTIS (*, I. ☼), id.
Hygiène et Bactériologie.	BRETON (*, I. ☼), id.
Physiologie	DUPOIS (I. ☼), id.
Anatomie	DEBIERRE (*, I. ☼), id.
Histologie.	LAGUESSE (*, I. ☼), id.
Chimie minérale et Toxicologie	VALLÉE (I. ☼), id.
Chimie organique	LAMBLING (*, I. ☼), id.
Physique médicale	DOUMER (*, I. ☼), id.
Matière médicale et Botanique	FOCKEU (*, I. ☼, ☼, ☼), id.
Pharmacie et Pharmacologie	GÉRARD (Ernest), (*, I. ☼), id.
Zoologie médicale et pharmaceutiq	VERDUN (*, I. ☼, ☼), id.
Accouchements et Hygiène de la pre- mière enfance	DESOL (*, I. ☼), suppl.
Clinique chirurgicale infantile et or- thopédie.	PAUCOT (A. ☼), Professeur
Clinique psychiatrique	LE FORT O. *, ☼, I. ☼, O. ☼, pr
Clinique médicale infantil	RAVIART (*, I. ☼), id.
Thérapeutique	CARRIÈRE (*, I. ☼), id.
Médecine opératoire.	MINET (I. ☼), id.
	VANVERTS (*, I. ☼), id.

Professeurs titulaires non pourvus de chaire

MM. BEDART (O. *, I. ☼, ☼), GÉRARD (Georges), (I. ☼, ☼), INGELRANS (I. ☼),

Cours complémentaires

Clinique opthalmologique	MM. GÉRARD (G.), (I. ☼, ☼, ☼) Chargé du Cours
Clinique des maladies du syst. nerv.	INGELRANS (I. ☼), id.
Clinique oto-rhino-laryngologique	DEBEYRE (M.), (*, ☼, I. ☼), id.
Crénothérapie & Climatothérapie.	PIEKRET René (A. ☼), id.
Médecine légale	LECLERCQ (*, ☼, I. ☼), id.
Chimie analytique	OLONOWSKI (☼, A. ☼), id.
Physique pharmaceutique	SONNEVILLE (A. ☼), id.
Parasitologie	DUHOT, id.
Déontologie	BERTON (*, I. ☼), id.

Doyens honoraires : MM. DE LAPERSONNE (*, I. ☼), COMBEMALE (O. *, I. ☼, M).
Professeurs honoraires : MM. MONIEZ (O. *, I. ☼), MORELIE (I. ☼), CALMETTE
 (C. *, LESCEUR (I. ☼), BAUDRY (*, I. ☼, ☼), DUBAR (O. *, I. ☼),
 WERTHEIMER (*, I. ☼).

Agrégés en exercice

MM. DESCOMPS (I. ☼), DEBEYRE (*, ☼, A. ☼), PIERRET (A. ☼), LECLERCQ (*, ☼
 I. ☼), DESOL (*, I. ☼), PELLISSIER (A. ☼), DUHOT, GÉRARD M. (☼, A. ☼),
 MORVILLEZ, POLONOWSKI (☼, A. ☼).

La Faculté a décidé que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend y attacher aucune approbation ni improbation. (Décision de la Faculté en date du 28 février 1878.)

A MA FEMME

*Je dédie ce travail qui n'est qu'un
faible témoignage de ma pro-
fonde affection.*

A MES PARENTS

*Gage de reconnaissance pour le
grand amour que vous n'avez
jamais cessé de me témoigner.*

A MON BEAU-PÈRE
LE DOCTEUR JULES LEPOUTRE

A MON BEAU-FRÈRE
LE DOCTEUR MARCEL LEPOUTRE

A TOUS MES AMIS
DE L'UNION DES ETUDIANTS DE L'ETAT

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE
MONSIEUR LE PROFESSEUR COMBEMALE

Médecin-Chef de l'Hôpital de la Charité
Professeur de Clinique Médicale
Officier de la Légion d'Honneur

A TOUS MES MAÎTRES DE LA FACULTÉ
& DES HÔPITAUX DE LILLE

ET PARTICULIÈREMENT

A MONSIEUR LE PROFESSEUR-AGRÉGÉ DUHOT

Médecin des Hôpitaux
Chargé du Cours de Parasitologie

Reconnaissance respectueuse.



Généralités sur la réaction de fixation

Qu'il nous soit d'abord permis de rappeler succinctement les principes élémentaires de la réaction de fixation ; nous le ferons en employant la terminologie classique actuelle dérivée des hypothèses d'Erlich, bien que nous soyons convaincus du caractère plus scientifique des idées défendues par Bordet sur les interactions colloïdales.

In vivo, un *antigène* (microbe, protéine, hématie) introduit dans un organisme y détermine l'apparition de propriétés antagonistes capables de préparer sa destruction (microbes et protéines) ou de le détruire directement (hématies) ; ces propriétés considérées pour la commodité du langage comme de véritables substances sont désignées sous le nom de *sensibilisatrices* ou *ambocepteur*, anticorps spécifiques vis-à-vis d'un antigène déterminé et résistant à 56 degrés ; elles agissent grâce à l'intervention obligée d'un élément constant et banal, existant dans tout sérum, disparaissant à 56 degrés, l'*alexine* ou complément.

In vitro, lorsque l'*antigène* se trouve en présence de la *sensibilisatrice* correspondante (par exemple, vibron cholérique et sérum anticholérique), il y a fixation de l'*alexine* mise au contact. Cette fixation de l'*alexine* est un phénomène invisible que l'on met en évidence à

l'aide d'une véritable réaction colorée : pour cela, on ajoute un nouvel *antigène* et une nouvelle *sensibilisatrice* correspondante en choisissant pour le premier des hématies de mouton par exemple et, pour la seconde, un sérum hémolytique, antimouton dans ce cas.

Si l'alexine a été fixée par le premier complexe aucune action ne peut plus être exercée sur le second système, l'hémolyse n'a pas lieu, la réaction est *positive*, indiquant l'existence dans le premier couple mis en présence de l'antigène et de la sensibilisatrice correspondante (en l'espèce vibrion cholérique et sérum anticholérique).

Au contraire, si l'alexine est restée libre au contact du premier complexe, l'action s'opère sur le second système, l'hémolyse a lieu : la réaction est négative, indiquant l'absence dans les premiers éléments mis en présence, soit de l'antigène, soit de la sensibilisatrice correspondante (par exemple vibrion cholérique en présence de sérum antityphique ou bien bacille typhique en présence du sérum anticholérique).

Nous pouvons maintenant concevoir comment les choses se passent en ce qui concerne le séro-diagnostic de la syphilis qui présente, dans son mécanisme, des différences certaines avec celui de la réaction de Bordet-Gengou, mais bénéficie cependant d'une technique identique.

Pour ce séro-diagnostic, deux techniques essentielles peuvent être utilisées : *une réaction au sérum chauffé* et *une réaction au sérum frais*, dont nous allons brièvement exposer les différences.

Dans la réaction au sérum chauffé, à l'antigène on

ajoute du sérum à examiner (contenant ou non la sensibilisatrice spécifique) préalablement inactivé à 56 degrés pour détruire le complément humain en raison de la variabilité existant à ce point de vue entre les divers sérums ; puis, ce complexe est mis en présence d'alexine empruntée à un sérum frais de cobaye et exactement titrée.

Après un séjour à l'étuve on ajoute dans tous les tubes une quantité *fixe* d'hématies de mouton sur laquelle agit une quantité toujours uniforme également d'hémolysine antimouton artificielle.

Dans la réaction au sérum frais, à l'antigène on ajoute le sérum à examiner (contenant ou non la sensibilisatrice syphilitique) utilisé à l'état frais et apportant ainsi son alexine propre, d'abondance variable suivant les sérums humains. Après le séjour à l'étuve, on ajoute une quantité d'hématies de mouton *variable* avec la teneur en alexine du sérum considéré, l'hémolysine antimouton étant constituée par l'hémolysine naturelle du sérum humain.

On peut schématiser les faits de la façon suivante :

MÉTHODE AU SÉRUM CHAUFFÉ

Antigène syphilitique :

+ sérum humain chauffé (anticorps)

+ sérum frais de cobaye (alexine)

Une heure à 37°

Hématies de mouton :

+ sérum hémolytique antimouton

MÉTHODE AU SÉRUM FRAIS

Antigène syphilitique :
+ sérum humain frais (anticorps +
alexine + hémolysine)
Une heure à 37°
Hématies de mouton

Eventualités) Absence d'hémolyse = résultat positif
) Hémolyse = résultat négatif

Les avantages de l'utilisation du sérum frais

Le séro-diagnostic de la syphilis présente une importance pratique qui lui a valu une attention toute particulière. Sans doute, le résultat de la réaction de fixation doit être accueilli par le clinicien non comme un arrêt sans appel, mais comme un document précieux devant être interprété ainsi que les divers éléments du diagnostic ; son intérêt n'en est pas moins primordial et les services rendus par elle sont indéniables. Des procédés plus récents qu'on a voulu lui substituer avec quelque bruit, comme la réaction de Vernes, se sont montrés finalement inférieurs à elle. Mais il est absolument indispensable d'adopter les techniques de choix si l'on veut conserver à la réaction toute sa valeur.

La standardisation de la réaction de Bordet-Wassermann au sérum chauffé tend à se réaliser aujourd'hui en France par la technique de Calmette et Massol ou méthode des doses croissantes d'alexine, qui donne la mesure exacte de la quantité d'alexine fixée et réalise avec la plus entière sûreté l'étude quantitative des phénomènes biologiques ; nous n'insisterons pas ici sur les nombreux avantages, énoncés dans diverses publications antérieures, que présente cette technique.

Cependant, il nous semble qu'à la méthode au sérum chauffé, il y a lieu d'annexer une méthode au sérum



frais, car la sensibilité plus grande de cette dernière réaction en fait un procédé de choix pour une étude purement qualitative ; et nous avons l'intention d'étudier particulièrement ici la technique de MM. Eschbach et E. Duhot, qui semble réaliser les conditions les plus favorables.

Les avantages qui peuvent être reconnus à la méthode au sérum frais sont en effet les suivants :

1° Le chauffage des sérums à 56° détruit dans une forte proportion la « réagine syphilitique ». Cette constatation déjà faite par Hans Sachs a été précisée par Noguchi qui a établi des courbes montrant que le chauffage réduit l'anticorps spécifique au tiers en cinq minutes au, quart ou au cinquième en trente minutes ; les études de Thomsen, Weinberg, Steinitz, Hallion et Bauer, Busila, ont été confirmatives. Les statistiques de Boas, Brückner et Galasesco, Leredde et Rubinstein, Eschbach et E. Duhot, P. Gérard, ont établi l'importance pratique de cette notion.

2° Dans le procédé au sérum chauffé on se sert du complément de cobaye qui entre en contact avec le sérum du malade et l'antigène pendant une heure d'étuve. Or, le sérum frais de cobaye est une albumine hétérogène et l'on sait que l'addition dans les tubes de toute albumine hétérogène, avant et pendant le temps que doit s'effectuer à l'étude la fixation du complément, trouble le phénomène.

3° Une autre cause d'erreur est le fait que le sérum de cobaye peut, dans certains cas, par suite de son pouvoir anticomplémentaire, provoquer lui-même la positivité ; c'est le cas lorsqu'il provient d'une femelle de

cobaye en état de gestation. Il y a donc intérêt de premier ordre à n'employer que des cobayes mâles ; cependant le sérum d'un cobaye mâle peut aussi donner des mécomptes s'il provient d'un animal en période digestive : on a vu des sérums de cobaye dévier le complément parce que prélevés chez un cobaye au sortir du repas.

4° Notons encore que la ponction cardiaque trop fréquemment répétée ou faite à intervalles trop rapprochés peut donner un sérum privé ou du moins pauvre en complément.

5° Enfin, dans un sérum trop ancien on peut voir les anticorps se détruire spontanément avec le temps et disparaître ainsi en trois jours, on dit en pareil cas, que les anticorps sont *chronolabiles*.

En résumé, altération de la « réagine » syphilitique par le chauffage à 56°, addition d'une albumine hétérogène, cause d'erreur due à la positivité du sérum de cobaye, à la pauvreté en complément ou aux propriétés chronolabiles du sérum de cobaye, ce sont brièvement les écueils de la méthode au sérum inactivé qui ne sont pas tous supprimés par la méthode de Calmette et Maszol elle-même, et que la méthode au sérum frais se propose d'éviter par une technique toute différente.

Mais il importe au plus haut point que la sensibilité de la réaction ne soit pas acquise aux dépens de la rigueur même ; c'est l'objection qui peut être légitimement faite à certaines des techniques dérivées des procédés de Bauer-Hecht. L'utilisation de sérum humain suspect, à la fois en tant que sensibilisatrice syphilitique éventuelle, alexine propre, hémolysine antimouton,

apporte à la réaction une grande complexité et peut multiplier les interprétations inexactes. C'est pourquoi MM. Echbach et Duhot se sont attachés à mettre au point une technique satisfaisante au moment où la simplification du matériel était rendue nécessaire par les circonstances mêmes (1917).

Variabilité du Pouvoir hémolytique des sérums frais

Les auteurs ont au préalable fait sur 600 sérums humains frais examinés simultanément au point de vue de leur action sur les hématies de mouton et de lapin une étude du pouvoir hémolytique qui a démontré son extrême variabilité. Le pouvoir hémolytique global évalué ainsi vis-à-vis des deux variétés d'hématies n'est à vrai dire que l'expression des relations réciproques qui unissent l'alexine et les sensibilisatrices naturelles, chacun de ces facteurs pouvant suppléer à l'insuffisance de l'autre dans une certaine mesure : il n'en permet pas moins diverses déductions.

En ce qui concerne l'alexine, sa présence est absolument constante dans les sérums frais de 6 heures et même 24 heures. En effet, dans tous les cas, sans exception, l'hémolyse d'une ou plusieurs unités globulaires de lapin a été obtenue par la seule sensibilisatrice antilapin naturelle : par contre, l'hémolyse d'une unité globulaire de mouton n'a pas été réalisée par la seule sensibilisatrice antimouton naturelle dans 48 cas (8 %), mais dans 45 de ces cas, l'hémolyse a pu être provoquée par l'addition de sensibilisatrice antimouton artificielle : pour les trois derniers sérums (0,5 %), l'absence d'hémolyse, dans ces conditions, est liée à une action particulière sur la

sensibilisatrice antimouton et non à l'absence de l'alexine, puisque ces mêmes sérums ont provoqué l'hémolyse des hématies de lapin.

En ce qui concerne les sensibilisatrices naturelles, on note que la sensibilisatrice antimouton et la sensibilisatrice antilapin ne présentent entre elles aucun rapport quantitatif : une dose nulle ou faible de sensibilisatrice antimouton peut s'observer en même temps qu'une dose forte de sensibilisatrice antilapin ; inversement, une dose minime (sans jamais être nulle) de sensibilisatrice antilapin peut coexister avec une dose élevée de sensibilisatrice antimouton.

Dans leurs rapports avec l'alexine, les sensibilisatrices naturelles antimouton et antilapin se trouvent généralement en proportions insuffisantes par rapport à cette alexine dont l'excès reste ainsi en liberté, sans emploi pour l'hémolyse : c'est là un fait particulièrement à noter.

Prenant pour point de départ cette étude, les auteurs ont élaboré et décrit une technique personnelle surtout applicable à la syphilis : *la méthode de saturation*.

Technique de la méthode de saturation d'ESCHBACH & E. DUHOT

Il est indispensable comme on vient de le voir, de tenir compte dans chaque cas de l'importance du pouvoir hémolytique présenté par le sérum étudié ; la notion des différences qu'offrent à cet égard les sérums humains frais est l'origine du progrès considérable qui a été réalisé sur les techniques primitives, notamment sur celle de Hecht.

Pour parvenir à ce but, Levaditi et Latapie ont préconisé la lecture des résultats comparativement à un tube témoin sans temps de séjour fixé à l'étuve et Tribondeau a conseillé l'appréciation de la richesse en hémolysines par la rapidité même de l'hémolyse, tandis que Telmon tendait à ramener chaque sérum au même titre par vieillissement ou séjour à 37° et que Ronchèse utilisait un système hémolytique humain avec une quantité de sensibilisatrice antihumaine appropriée à l'alexine dosée de chaque sérum.

La plupart des auteurs, tels que : Weinberg, Gradwohl, Busilla, emploient la *détermination de l'index hémolytique* en recherchant préalablement ou parallèlement la dose maxima d'hématies de mouton hémolysées par chaque sérum, qui sera la dose ajoutée par la suite dans la réaction.

La modification de Rubinstein comparant dans les mêmes conditions de temps et de concentration le titre hémolytique des sérums seuls et des sérums en présence de l'antigène semble à cet égard la technique la plus précise.

La méthode Eschbach-Duhot a pour caractéristique d'ajouter à chaque sérum au cours même de la réaction des doses égales de suspension globulaire jusqu'à épuisement du pouvoir hémolytique. C'est ce que nous nommerons la *saturation du pouvoir hémolytique* par addition de quantités d'hématies variables avec l'activité du sérum. D'où lecture de la réaction dans des conditions telles que l'on ne puisse craindre l'action nuisible d'un excès de complément ou bien d'un excès d'hémolysine. Il est bien évident que l'addition d'une nouvelle dose de suspension globulaire ne doit avoir lieu qu'autant qu'il y a eu hémolyse complète dans les trois tubes, l'un d'eux étant le tube témoin.

La technique de la réaction est la suivante :

Trois tubes de calibre rigoureusement égal reçoivent une même quantité de sérum humain frais, soit trois gouttes à la pipettes Pasteur (0 cc 1). Le premier tube témoin est additionné de 0 cc 2 d'eau salée physiologique ; les deux autres (tubes de la réaction respectivement de 0 cc 1 d'eau salée et de 0 cc 1 d'antigène, de 0 cc 2 d'antigène. Etuve à 37° pendant 1 heure 30.

Les tubes reçoivent alors trois gouttes d'hématies de mouton diluées au 1/20^e, puis sont replacés à l'étuve sous une surveillance constante.

Voici ce que nous pouvons résumer dans le tableau ci-dessous :

	Tube témoin	Tube, N° 1	Tube N° 2
Sérum humain frais suspect..	III g ^{tt} es	III g ^{tt} es	III g ^{tt} es
Eau salée physiologique.....	0 cc, 2	0 cc, 1	0
Antigène	0	0 cc, 1	0 cc, 2

Etuve à 37° pendant 1 h. 30

Suspension d'hématies de mouton diluées au 120 III g^{tt}es III g^{tt}es III g^{tt}es

Mélanger, porter à l'étuve à 37° et surveiller l'apparition de l'hémolyse puis continuer comme ci-dessous :

Lorsque le tube témoin est hémolysé, deux cas peuvent se présenter :

A) Les tubes de réaction ne sont pas hémolysés, la fixation totale est ainsi indiquée : le résultat acquis d'emblée est *positif*.

B) Les tubes de réaction sont eux aussi hémolysés : l'expérience doit être poursuivie. On ajoute à nouveau dans les trois tubes trois gouttes d'hématies de mouton et en replace à l'étuve sous surveillance étroite. On peut encore être amené après nouvelle hémolyse à renouveler cette addition jusqu'à ce qu'on arrive à l'une des deux éventualités suivantes :

1° Le tube témoin est hémolysé et les tubes de réaction ne le sont plus ; par là, on voit qu'il y a eu une *fixation partielle d'alexine* dans ces derniers : la réaction est *positive*.

2° Le tube témoin et les tubes de réaction cessent en même temps d'hémolyser : cet arrêt simultané indique que la même dose d'alexine est restée libre dans les trois tubes et la réaction est *négative*.

On ne doit naturellement tenir compte que des différences d'hémolyse nettes et franches.

S'il arrive qu'aucun tube ne marque d'action sur les premières gouttes d'hématies, cela est dû à l'absence de sensibilisatrice naturelle antimouton à laquelle on supplée (dans 8 % des cas environ) par l'addition d'une quantité uniforme de sensibilisatrice artificielle (pratique également recommandable à la fin de la réaction pour s'assurer que la totalité de l'alexine a été utilisée). Quant à l'alexine elle fut toujours trouvée présente par MM. Eschbach et E. Duhot et par MM. Duhot et Crampon dans les sérums employés au cours des 24 heures qui suivent la ponction veineuse ; lorsque les sérums sont mis à la glacière, ils peuvent encore être parfaitement utilisés après plusieurs jours, ce qui a son importance dans la pratique.

Pour les liquides céphalo-rachidiens, la même réaction est applicable en leur apportant l'alexine et la sensibilisatrice par addition de trois gouttes d'un sérum humain négatif préalablement examiné et parallèlement contrôlé.

Ajoutons qu'on peut encore simplifier la réaction en la pratiquant avec deux tubes seulement : le témoin et le tube contenant la dose forte d'antigène. En effet, il n'y a pas d'intérêt réel à faire varier la dose d'antigène pourvu qu'on le fasse intervenir à dose nécessaire et suffisante (L. Boëz). Ce dernier point mérite d'ailleurs qu'on s'y arrête spécialement.

On a dit en effet (Rubinstein et Ronchèse) qu'une cause d'erreur dans les méthodes au sérum non chauffé et notamment dans la méthode de saturation tient au pou-

voir anticomplémentaire que peut posséder ou acquérir l'antigène ; en effet, s'il est devenu anticomplémentaire, il fixera le complément et laissera en présence d'un sérum négatif croire à une réaction faussement positive. On a même insisté sur le fait que la conservation d'une dilution d'antigène conduit souvent cette dilution à acquérir un pouvoir anticomplémentaire notable (Roddillon).

Il est certain que le point capital est l'emploi d'un antigène n'exerçant absolument aucune action anticomplémentaire propre, afin d'éviter la possibilité de fixation non spécifique surtout en fin de réaction et MM. Eschbach et E. Duhot ont toujours tenu à y insister et ont bien précisé les précautions nécessaires à prendre.

Chaque antigène nouveau doit être essayé par la méthode de saturation elle-même :

1° Au point de vue de l'action *anticomplémentaire banale* en présence d'une série de sérums négatifs avec lesquels la dose à élire ne doit permettre de déceler rigoureusement aucune fixation par rapport au tube témoin.

2° Au point de vue de l'action *fixatrice spécifique* en présence d'une série de sérums positifs avec lesquels son activité est contrôlée parallèlement à celle d'un antigène étalon.

Les auteurs ont d'abord utilisé comme antigène le foie de fœtus hérédo-syphilitique à une dilution convenable. Nous avons employé avec toute satisfaction l'antigène préparé suivant le procédé de Bordet et Ruelens à sa dilution ordinaire du quarantième, suivant la dose de 0 cc 1 et 0 cc 2.

Cette cause d'erreur strictement écartée grâce aux précautions ci-dessus énoncées, la réaction Eschbach-Duhot se montre d'une extrême précision.

Se basant très étroitement sur son principe, le Docteur Fichet, de l'Hôpital Maritime de Lorient, a élaboré la technique suivante :

a) L'*antigène* est constitué par une émulsion de lipoides de cœur de veau insolubles dans l'acétone, suivant la formule de Naguchi-Tribondeau, titrée et contrôlée avec tous les soins désirables. Les doses employées correspondent à $1/4$, $1/6$, $1/12$, $1/25$ de D. M., c'est-à-dire la *dose maxima* qui, lors des épreuves de titrage, permet encore l'hémolyse. A de tels taux, il ne saurait être question du pouvoir anticomplémentaire propre de l'antigène, d'autant que son absence est une des supériorités les mieux reconnues des lipoides Noguchi.

b) La *réaction*. Après une *première lecture* et l'élimination des séries positives, il est fait une addition supplémentaire de 0 cc 5 de globules dilués dans tous les tubes (témoin et diagnostic) des séries négatives.

Après quinze minutes à 37° , *deuxième lecture* et élimination des séries positives s'il y a lieu.

Dans celles où l'hémolyse persiste partout, deuxième addition supplémentaire de 0 cc 5 de globules et troisième séjour à l'étuve, quinze minutes à 37° . A la sortie, *troisième lecture définitive*.

c) Le *témoin*. A la première addition le témoin reçoit une dose double de globules, soit 0 cc 2, au lieu de 0 cc 1, dans les tubes de diagnostic (selon la technique de Dressine, à Toulon).

Le témoin doit, à toutes les lectures, donner H (hémolyse).

lyse), sinon le résultat correspondant est nul, le seul valable est celui de la lecture précédente : donc négatif. (S'il ne donne pas d'hémolyse à la première lecture, c'est que le pouvoir hémolytique du sérum est insuffisant ; la réaction est refaite avec adjonction d'une minime quantité de sérum humain reconnu négatif qui apporte ainsi hémolysine et complément).

d) *Résultat.* Il est compté d'après le nombre de tubes de diagnostic non hémolysés de 4 sur 4 à 0, tout début d'hémolyse étant compté H.

Mais, à chaque lecture au-delà de la première, il est décalé d'autant de rangs qu'il a fallu faire d'additions supplémentaires de globules.

Par exemple, un résultat de 2 sur 4 n'est compté que de 1 s'il est définitif à la deuxième lecture et négatif s'il ne l'est qu'à la troisième.

En résumé, la méthode de saturation d'Eschbach et E. Duhot permet de titrer comparativement le pouvoir hémolytique du sérum seul et du mélange sérum + antigène ; elle est d'une extrême sensibilité.

Elle est également d'une rigueur entièrement satisfaisante pourvu qu'on prenne les précautions indiquées pour le dosage de l'antigène et qu'on ne tienne naturellement compte que des réactions franches.

La seule critique qu'on puisse lui adresser dans ces conditions est celle qui concerne l'emploi des sérums frais en général : possibilité de fixation non spécifique dans des sérums riches en colloïdes (tuberculeux, paludéens en cours d'accès, fébricitants) ; c'est d'ailleurs là une objection qu'on a beaucoup exagérée et dont la réaction au sérum chauffé n'est pas elle-même entièrement

exempte ; on voit cependant qu'il peut y avoir intérêt à confronter dans certains cas particuliers les deux méthodes.

Étude des résultats

L'analyse d'un nombre considérable de faits sur des centaines de sujets soumis à la réaction dans un laboratoire militaire a montré à MM. Eschbach et E. Duhot que la méthode de saturation permet d'obtenir entre les données cliniques et le séro-diagnostic une concordance plus grande que celle donnée par les autres méthodes ; ils y ont insisté dans leurs diverses communications, notamment à la Société Médicale des Hôpitaux de Paris, le 19 juillet 1918.

Dans un travail consacré aux affections du domaine psychiatrique et exécuté sous leur direction par Z. Kammal, on relève par cette réaction 100 % de résultats positifs dans la paralysie générale affirmée par l'examen clinique et les procédés de laboratoire (42 cas) contre 24 % sur l'ensemble des états chroniques (233 cas) et 14 % ~~seulement~~ chez les sujets atteints de psychose aiguë (136 cas).

Dans une étude sur les méthodes de choix pour le séro-diagnostic de la syphilis L. Boëz, de Strasbourg, après une longue expérimentation, accorde à la technique de saturation la première place parmi les réactions au sérum frais.

M. Fichet, chef du Laboratoire de Bactériologie de l'Hôpital Maritime de Lorient, a publié à la Société

Médicale des Hôpitaux de Paris une statistique de 674 réactions, dont 259 positives à des degrés divers et 415 négatives. Il estime que la méthode de saturation donne une approximation très sensiblement plus grande que toutes les autres méthodes au sérum frais et a fortiori au sérum chauffé, la proportion d'erreurs possibles étant de l'ordre de 3 % environ, ce qui lui paraît parfaitement acceptable dans une expérience qui n'a aucune prétention à l'absolu. Cette technique est d'ailleurs adoptée dans de nombreux laboratoires maritimes et coloniaux, notamment à l'Institut Pasteur de Tananarive.

Dans son ouvrage récent, M. G. Rodillon fait remarquer que la critique qu'on peut adresser à la méthode d'Eschbach et E. Duhot aboutit en somme « à lui reprocher assez paradoxalement son excès de sensibilité » mais c'est là une objection que les précautions énoncées plus haut permettent même d'éviter.

L'étude que nous allons faire nous permettra de justifier les avantages de la méthode en nous basant sur une série de recherches pratiquées d'une part par MM. Duhot et Crampon, d'autre part, par M. le Docteur Crampon isolément, à l'Institut Pasteur de Lille. Ces travaux, en effet, ont été effectués en étudiant les sérums de malades bien observés, parallèlement par la méthode au sérum inactivé de Calmette et Massol et par la méthode au sérum frais d'Eschbach et E. Duhot.

Nous noterons d'abord les résultats concordants, puis les cas discordants en donnant autant qu'il est possible une observation pour chaque cas. Les statistiques que nous allons présenter reposent sur deux séries :

Résultats concordants

Le 15 octobre 1921, MM. Duhot et Crampon signalaient déjà les faits suivants :

1° 77 cas négatifs par les deux méthodes : La grande majorité d'entre eux étaient des sujets en traitement dans le Service de la Clinique Médicale de l'Hôpital de la Charité de Lille pour affections diverses et chez qui la syphilis n'était décelable ni par des signes cliniques, ni par des antécédents.

Dans trois cas cependant il s'agissait de sujets à coup sûr spécifiques, deux avaient déjà subi un traitement intensif, le troisième était un syphilitique atteint de tuberculose cavitaire et en état de cachexie extrême.

2° 83 réactions furent trouvées positives par les deux méthodes : Nous relevons ici les diagnostics de nombreux sujets spécifiques porteurs de lésions ordinaires ou en cours de traitement pour des affections aortiques ou nerveuses : myélites, tabes, paralysie générale. Dans deux cas de paralysie générale, MM. Duhot et Crampon avaient obtenu une réaction positive sur le liquide céphalo-rachidien.

3° 12 fois où les résultats furent discordants seront examinées plus loin.

Enfin, dans une seconde statistique de 114 cas établie à l'Institut Pasteur par le Docteur Crampon, nous relevons :

1° 70 cas concordants négatifs, se décomposant ainsi : affections viscérales, nerveuses et diverses : 28 cas ; lésions génitales sans tréponème ni signe de syphilis (chancres mous, herpès génital) : 9 cas ; psoriasis : 3 cas ; Wassermann de précaution chez des sujets ne présentant aucun signe de syphilis mais porteurs d'affections sans étiologie nette : 9 cas. Suivent 15 réactions chez des malades ayant présenté une manifestation cutanée de syphilis mais ayant été rigoureusement traités, 2 cas de syphilis très douteuse, 2 cas de syphilis latente et deux autres d'hérédospecificité probable.

2° 21 cas concordants positifs, comprenant des syphilis primaires, secondaires, latentes ou en activité, des syphilis viscérales ou nerveuses, quelques-unes insuffisamment traitées, négligées ou au début du traitement.

Dans un cas cependant il s'agissait d'une femme de 50 ans, se plaignant de douleurs lombaires vagues et chez qui on ne put mettre en évidence aucun signe de syphilis dans les antécédents.

3° 23 réactions donnèrent des résultats discordants que nous allons reprendre.

Résultats discordants

Dans la première série de séro-réactions donnée par MM. Duhot et Cranpon dans l'Echo Médical du 15 octobre 1921, nous relevons :

A) 10 cas où la réaction est positive par la méthode au sérum frais et négative par la méthode au sérum chauffé:

1° Femme ayant fait de nombreux avortements et fortement suspecte de syphilis.

2° Sujet dont la syphilis est certaine et qui présente des signes de tabes incipiens.

3° Tabes incipiens.

4° Femme ayant accouché d'un prématuré mort-né et dont le placenta présentait les lésions caractéristiques de la syphilis.

5° Homme atteint d'hémiplégie dont la spécificité est certaine et dont le Wassermann (Calmette-Massol) fut antérieurement trouvé positif à deux reprises différentes, soit avant le traitement, soit en cours du traitement.

6° Syphilis, myélite.

7° Homme de 50 ans, sans antécédents spécifiques décelables, présentant les signes cliniques de tumeur maligne du gros intestin, sujet que nous n'avons pu suivre.

8° Ulcération suspecte du col utérin d'origine très probablement syphilitique.

9° Ulcère gastrique chez un homme que nous avons suivi et chez qui nous avons vu s'installer tous les signes du tabes incipiens.

10° Myélite syphilitique en cours de traitement ; le Calmette et Massol avait été antérieurement positif à deux reprises.

B) 2 cas où la réaction fut négative par la méthode des sérums frais et positive par la méthode au sérum chauffé :

1° Tabes certain, fixé depuis très longtemps.

2° Sujet présentant des gommés multiples cliniquement d'allure syphilitique et considérablement amélioré par le traitement antisyphilitique.

Parmi les cas discordants, ceux de la première catégorie A nous paraissent nettement en faveur de la méthode Eschbach et E. Duhot ; nous formulerons seulement des réserves pour le cas n° 7 sur lequel nous ne pouvons nous prononcer. Quant à ceux de la deuxième catégorie B, ils plaident en faveur de la méthode au sérum chauffé.

La seconde statistique comprenant 23 cas discordants nous indique :

A) 19 cas où le Calmette et Massol ayant été négatif, la méthode au sérum frais a donné un résultat franchement positif :

1° Syphilis secondaire soignée largement à différentes reprises (le malade aurait eu au début du traitement des accidents de cette période, actuellement céphalée mais pas de signes objectifs). Le Calmette et Massol avait été trouvé antérieurement une fois positif et donna pour la seconde fois un résultat négatif.

2° Réaction de précaution, histoire clinique et thérapeutique inconnue.

3° Syphilis en mars 1922, jamais de lésions secondaires, reçoit deux séries de novarsénobenzol et dix injections d'huile grise, actuellement, 8 septembre 1922, Calmette et Massol négatif.

4° Malade présentant des plaques muqueuses récidivantes. (Syphilis résistant à l'arsenic et au mercure).

5° Syphilis secondaire mal soignée.

6° Syphilis primaire (chancre datant de 5 jours ?).

7° Syphilis ancienne après trois traitements.

8° Syphilis secondaire latente mal traitée au début, résultats après une série de novarsénobenzol.

9° Syphilis secondaire latente traitée par une série.

10° Syphilis secondaire latente ; ce malade a déjà reçu trois séries de novarsénobenzol.

11° Syphilis latente déjà soignée à deux reprises, inégalité pupillaire et hyperalbuminose rachidienne.

12° Exemple de réinfection. Individu ayant présenté en décembre 1921, un chancre du pubis. Le Wassermann a été négatif par deux séries de traitement (novarsénobenzol intraveineux et huile grise). En août 1922, apparition d'un second chancre typique du méat avec tréponèmes à l'ultra-microscope. Le 16 septembre 1922, le Calmette et Massol est négatif, la méthode au sérum frais donne un résultat positif.

13° Jeune malade, âgé de 15 ans $\frac{1}{2}$, présentant des troubles oculaires surtout caractérisés par une vision trouble, une paralysie du muscle droit externe gauche entraînant ne diplopie homonyme. Les pupilles sont égales, réagissent bien à la lumière et à l'accommodation.

A noter quelques vertiges. On ne décèle aucun signe de spécificité héréditaire (à signaler seulement une voûte palatine en ogive). Réflexes normaux.

14° et 15° Deux tabes anciens, dont l'un remonte à 18 ans.

15° et 16° L'un d'eux est un anévrisme de l'aorte, l'autre un rétrécissement aortique.

17° Malade porteur de syphilis très ancienne ayant été traité très insuffisamment. Entré à l'hôpital pour troubles mentaux, ne présente aucun autre signe de spécificité.

18° et 19° Deux cas de syphilis ancienne traités largement à plusieurs reprises.

B) Dans trois cas, le Calmette et Massol a été trouvé négatif et la méthode au sérum frais a donné un résultat faiblement positif.

20° Balanite érosive.

21° Un cas de psoriasis.

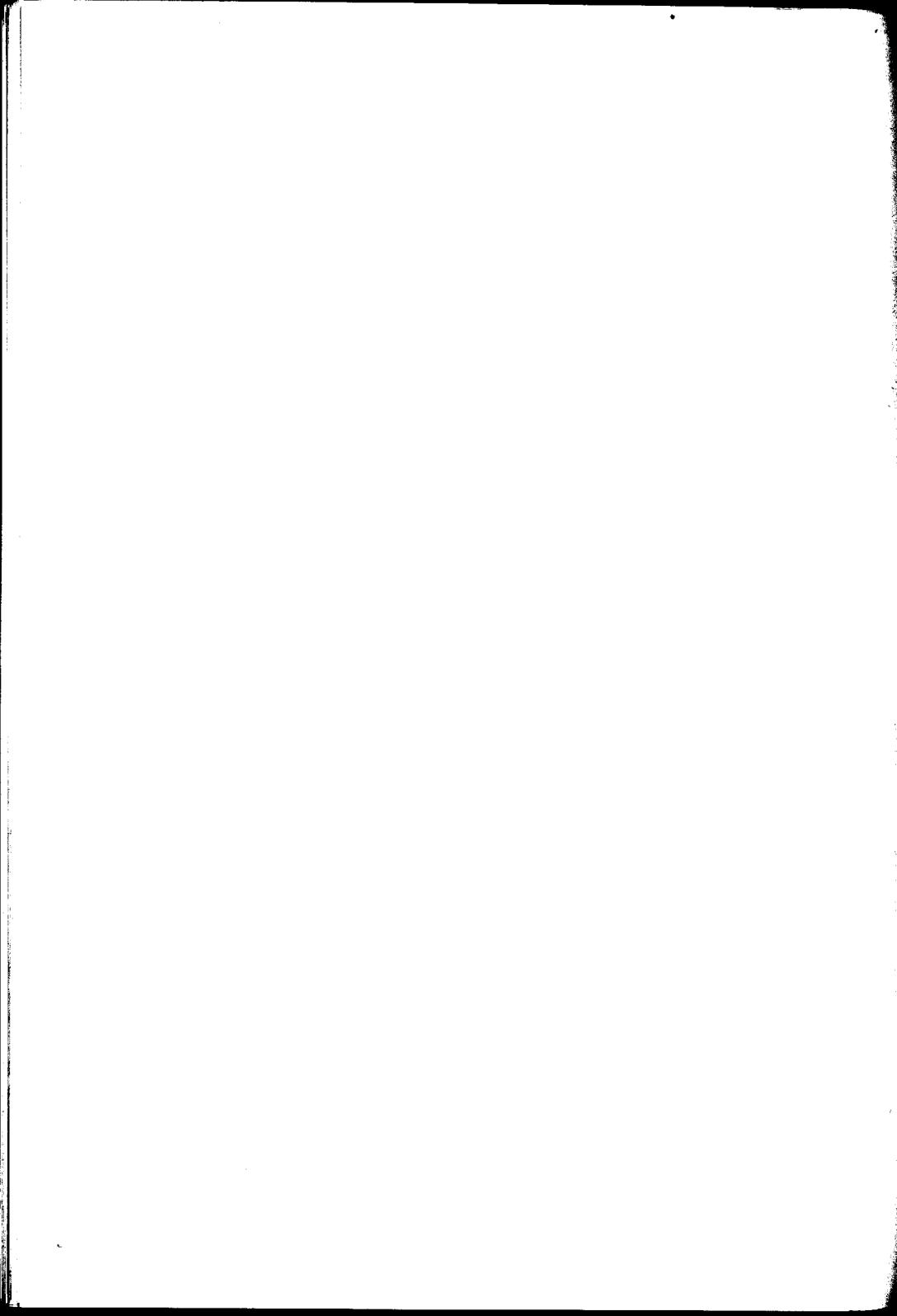
22° Cas douteux, cet homme aurait reçu une injection dans la cuisse. Pas de traces d'accidents, blennorrhagie en évolution.

C) Enfin, une seule fois le parallèle a été favorable à la réaction au sérum chauffé.

23° Il s'agit d'un homme n'ayant aucun souvenir de syphilis mais qui aurait été traité auparavant, en 1920, à l'occasion d'une éruption squameuse (?). Actuellement, quelques cicatrices pigmentées douteuses et quelques ganglions disséminés, aucun symptôme nerveux. Le 29 décembre 1921, le Bordet-Wassermann est trois fois positif, il reçoit alors 1 gr. 45 de 914, jusqu'à la date du 9 janvier 1922. Le 12 janvier 1922, le Bordet-Wasser-

mann est encore trois fois positif. Deux séries complètes de 5 gr. 85 de 914 et 40 centigrammes de biodure de mercure donnent comme résultat, le 8 septembre 1922 : sérum chauffé = trois fois positif ; sérum frais = résultat négatif.

Mais, le 12 octobre 1922, le Calmette-Massol est trouvé encore trois fois positif et le sérum frais donne cette fois une positivité franche (2 sur 2). Se trouve-t-on dans ce cas en face d'une hérédo-spécificité ou d'une syphilis acquise ? Faut-il considérer cette éruption squameuse comme une manifestation de syphilis héréditaire ou comme une manifestation secondaire ? En tous cas, si l'Eschbach-Duhot semble en défaut ici, c'est aussi le seul cas et le seul qui soit cliniquement sujet à discussion.



CONCLUSION

La méthode de réaction au sérum frais avec saturation du pouvoir hémolytique élaborée par MM. Eschbach et E. Duhot se montre d'une application simple et d'une grande sensibilité pour le séro-diagnostic de la syphilis : elle offre un intérêt réel pour dépister l'affection à son extrême début, ainsi que pour révéler une syphilis ancienne, à localisation unique, viscérale ou nerveuse ; surtout elle est précieuse pour suivre l'évolution de la maladie et l'application d'un traitement, car persistant plus longtemps que la réaction au sérum chauffé, elle indique, ainsi qu'il y a lieu, *de poursuivre l'action thérapeutique au-delà de ce qu'on serait parfois tenté de faire.*

Les statistiques obtenues en étudiant parallèlement les sérums par la méthode au sérum chauffé de Calmette et Massol et au sérum frais d'Eschbach et E. Duhot, donnent les résultats suivants :

Pour la première série, sur 122 cas, suivis cliniquement, 90 % de résultats concordants par les deux méthodes, 10 % de résultats discordants, dont 2 % en faveur de la méthode au sérum chauffé et 8 % en faveur de la sensibilité du sérum frais ; dans ce dernier pourcentage nous trouvons 3 cas de *tabes incipiens*, 2 myélites,

1 némiparésie, 3 femmes dont l'observation obstétricale et gynécologique a fait suspecter la syphilis et un cas douteux.

Pour la deuxième série, de 114 cas, 80 % de résultats concordants, 20 % de résultats discordants, parmi ces derniers, un seul cas paraît en faveur du sérum chauffé, mais il est cliniquement très douteux ; en faveur du sérum frais il existe au contraire 15 cas de syphilis certaine (latentes, largement traitées, en cours de traitement), 2 cas de tabes, 2 cas d'anévrysme de l'aorte et d'aortite ; enfin, 3 réactions trouvées négatives au sérum chauffé et faiblement positives au sérum frais méritent des réserves.

Bien que la spécificité de la réaction au sérum frais nous paraisse très grande, nous pensons cependant qu'il est d'une excellente pratique d'employer parallèlement, ainsi qu'on le fait à présent à Lille, la méthode de Calmette et Massol et la méthode d'Eschbach et E. Duhot, ce qui permet l'interprétation des réactions douteuses et donne le maximum de garanties.

BON A IMPRIMER :
Le Président de la Thèse.
D^r COMBEMALE.

VU : *Le Doyen,*
D^r CHARMEIL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Le Recteur de l'Académie,
G. LYON.

BIBLIOGRAPHIE

- ESCHBACH et E. DUHOT. — La saturation du pouvoir hémolytique des sérums humains frais au cours du séro-diagnostic de la syphilis. — C. R. Société de Biologie, 22 Décembre 1917.
- Id. — Etude comparée du pouvoir hémolytique des sérums humains frais sur les hématies de mouton et de lapin (alexine et sensibilisatrice naturelles). — C. R. Société de Biologie, 3 Juin 1918.
- Id. — La syphilis avérée et son séro-diagnostic. La méthode de saturation. — Société Médicale des Hôpitaux de Paris, 19 Juillet 1918.
- Id. — Sur la saturation du pouvoir hémolytique des sérums humains frais dans le séro-diagnostic de la syphilis. — C. R. Société de Biologie, 10 Mai 1919.
- Id. — Etude critique sur la technique de la séro-réaction de la syphilis. — Paris Médical, 5 Avril 1919.
- L. KAMAL. — Le séro-diagnostic de la syphilis à l'asile d'aliénés de Bordeaux. — Thèse de Bordeaux, 1918.
- M. BRETON et E. DUHOT. — La réaction de fixation par les techniques de Calmette et Massol et ses applications à la clinique. — Bulletin de l'Institut Pasteur, tome XVII, 15 Décembre 1919.
- L. BOËZ. — Le séro-diagnostic de la syphilis : principes, méthode de choix, technique. — La Pratique Médicale Française, Décembre 1920.
- E. DUHOT et P. CRAMPON. — Le séro-diagnostic de la syphilis au sérum frais. — Echo Médical du Nord, 11 Octobre 1921.

- M. FICHET. — Le séro-diagnostic de la syphilis avec saturation des hémolysines et les données cliniques. — Société Médicale des Hôpitaux de Paris, 28 Juillet 1922.
- RONCHÈSE. — La séro-diagnostic de la syphilis, Paris 1919.
- RUBINSTEIN. — Traité de sérologie et de séro-diagnostic. — Paris 1920.
- G. ROBILLOX. — La réaction de Wassermann rendue simple et précise. — Paris 1923.



